ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง
เลขที่รับ ๑๔๓๘
วันที่ ๒๐ พ.ค. ๒๕๖๓
เวลา ๑๕.๓๐ น.

บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ (ฝ่ายบริหาร โทร ๐๒-๑๕๙-๐๔๐๖)
ที่ กษ ๐๖๒๓/๗๙๓๐ วันที่ ๑๘ พฤษภาคม ๒๕๖๓
เรื่อง ขอความอนุเคราะห์ประชาสัมพันธ์ผลงานวิชาการบนเว็บไซต์ของหน่วยงาน
เรียน ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ทุกแห่ง

ด้วย นายรักไทย งามภักดิ์ ตำแหน่งนายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ ด่านกักกันสัตว์นราธิวาส กลุ่มควบคุม เคลื่อนย้าย และกักกัน สำนักควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ ได้จัดทำผลงานวิชาการเพื่อขอประเมินเพื่อดำรงตำแหน่ง ผู้เชี่ยวชาญด้านพัฒนาระบบและรับรองคุณภาพอาหารสัตว์อุตสาหกรรม (นายสัตวแพทย์เชี่ยวชาญ) จำนวน ๒ เรื่อง ดังนี้

๑. การเฝ้าระวังสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์

๒. การศึกษาทางเลือกอื่นเพื่อทดแทนการใช้ยาโคลิสตินผสมในอาหารสัตว์ในฟาร์มสุกรเพื่อรักษาอาการท้องเสียเนื่องจากการติดเชื้อ อี. โคไล (*E.coli*) ในลูกสุกรอนุบาล (A Study investigating alternative regimens to replace colistin mixed in feed for the treatment of *E.coli* infection in nursery pigs)

เพื่อเป็นการประชาสัมพันธ์ผลงานวิชาการดังกล่าว กองควบคุมอาหารและยาสัตว์จึงขอความอนุเคราะห์หน่วยงานของท่านเพื่อเผยแพร่ ประชาสัมพันธ์ผลงานวิชาการทั้ง ๒ เรื่องทางเว็บไซต์ของหน่วยงานท่าน

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

คณเห็นงาน TM. / คณเห็นชอบ พิจารณา ยองพร้อมพ

(นายรักไทย งามภักดิ์)
ผู้อำนวยการกองควบคุมอาหารและยาสัตว์

๒๐ พ.ค. ๒๕๖๓

ทราบ + แจ้งเวียนทั้ง ๒ คน

20 พ.ค. 63

กลุ่ม + ดำเนินการจัดประชุมพิจารณา.

21 พ.ค 63

ถึง: ผอ.ศวพ.ภาคเหนือตอนล่าง
(✓) เพื่อโปรดทราบ
(✓) เพื่อพิจารณา ( ) อนุมัติ (✓) สั่งการ ( ) อนุญาต
( ) เห็นควรแจ้ง
( ) งานบริหารฯ ( ) กลุ่มชันสูตรฯ
( ) กลุ่มระบาดฯ ( ) กลุ่มตรวจสอบฯ
( ) อื่นๆ.....

๒๐ พ.ค. ๒๕๖๓

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง
เลขที่รับ ๑๔๓๘
วันที่ ๒๐ พ.ค. ๒๕๖๓
เวลา ๑๔.๓๒ น.

บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ (ฝ่ายบริหาร โทร ๐๒-๑๕๙-๐๔๐๖)
ที่ กษ ๐๖๒๓/ว ๗๓๐ **วันที่** ๑๘ พฤษภาคม ๒๕๖๓
เรื่อง ขอความอนุเคราะห์ประชาสัมพันธ์ผลงานวิชาการบนเว็บไซต์ของหน่วยงาน
เรียน ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ทุกแห่ง

ด้วย นายรักไทย งามภักดิ์ ตำแหน่งนายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ ด่านกักกันสัตว์นราธิวาส กลุ่มควบคุม เคลื่อนย้าย และกักกัน สำนักควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ ได้จัดทำผลงานวิชาการเพื่อขอประเมินเพื่อดำรงตำแหน่ง ผู้เชี่ยวชาญด้านพัฒนาระบบและรับรองคุณภาพอาหารสัตว์อุตสาหกรรม (นายสัตวแพทย์เชี่ยวชาญ) จำนวน ๒ เรื่อง ดังนี้

๑. การเฝ้าระวังสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์

๒. การศึกษาทางเลือกอื่นเพื่อทดแทนการใช้ยาโคลิสตินผสมในอาหารสัตว์ในฟาร์มสุกรเพื่อรักษาอาการท้องเสียเนื่องจากการติดเชื้อ อี. โคไล (*E.coli*) ในลูกสุกรอนุบาล (A Study investigating alternative regimens to replace colistin mixed in feed for the treatment of *E.coli* infection in nursery pigs)

เพื่อเป็นการประชาสัมพันธ์ผลงานวิชาการดังกล่าว กองควบคุมอาหารและยาสัตว์จึงขอความอนุเคราะห์หน่วยงานของท่านเพื่อเผยแพร่ ประชาสัมพันธ์ผลงานวิชาการทั้ง ๒ เรื่องทางเว็บไซต์ของหน่วยงานท่าน

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

คุณเหริงงาม TM. / คุณเหริม พองงาม ยองพงษ์ชาญ

(นายรักไทย งามภักดิ์)
ผู้อำนวยการกองควบคุมอาหารและยาสัตว์

๒๐ พ.ค. ๒๕๖๓

ทราบ + มอบหมายทั้ง ๒ คน

20 พ.ค. 63

เรียน ผอ.ศวพ.ภาคเหนือตอนล่าง
(✓) เพื่อโปรดทราบ
(✓) เพื่อพิจารณา ( ) อนุมัติ (✓) สั่งการ ( ) ลงนาม
( ) เห็นควรแจ้ง
( ) งานบริหารฯ ( ) กลุ่มชันสูตรฯ
( ) กลุ่มระบาดฯ ( ) กลุ่มตรวจสอบฯ
( ) อื่นๆ.....

๒๐ พ.ค. ๒๕๖๓

การเฝ้าระวังสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์

รักไทย งามภักดิ์[1] วนิดา แจ้งประจักษ์[1] วีระ อิ้งสอาด[1] นารถตยา ชมนารถ[1]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราชนิด อะฟลาทอกซินรวม อะฟลาทอกซิน (บี1 บี2 จี1 และ จี2) ฟูโมนิซิน (บี1 และ บี2) และซีราลีโนน ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิด ข้าวโพดเมล็ด ข้าวโพดป่น กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด โดยเก็บตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์จากสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ สถานที่ผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ และด่านตรวจสอบอาหารสัตว์ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า ในวัตถุดิบอาหารสัตว์มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราชนิด อะฟลาทอกซินรวม คิดเป็นร้อยละ 45.27 และอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 คิดเป็นร้อยละ 45.27 22.17 1.15 และ 4.62 ตามลำดับ เมื่อคิดค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินรวมที่ตรวจพบใน ข้าวโพดเมล็ด ข้าวโพดป่น กากดีดีจีเอส และ กลูเทนข้าวโพด คิดเป็น 45.11 23.23 2.89 และ 2.36 ppb ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ อะฟลาทอกซินรวม อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ จากสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ สถานที่ผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของฟูโมนิซิน บี1 และ บี2 คิดเป็นร้อยละ 100 และ 98.85 ตามลำดับ เมื่อคิดค่าเฉลี่ยของปริมาณฟูโมนิซินที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์พบว่า ข้าวโพดป่นมีปริมาณฟูโมนิซิน บี1 สูงที่สุดคือ 1,072.20 ppb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับการปนเปื้อนในข้าวโพดเมล็ด กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด ปริมาณ 487.80 537.10 และ 688.90 ppb ตามลำดับ โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฟูโมนิซิน บี1 และ บี2 ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์สูงที่สุดมาจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบอาหารสัตว์จากแหล่งอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับการปนเปื้อนของซีราลีโนน คิดเป็นร้อยละ 33.49 ของจำนวนตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้งหมด เมื่อคิดค่าเฉลี่ยปริมาณของซีราลีโนน พบว่าในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดกลูเทนข้าวโพดมีปริมาณสูงที่สุด 146.40 ppb รองลงมาคือข้าวโพดเมล็ดปริมาณ 122.33 ppb ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกากดีดีจีเอส ปริมาณ 111.85 ppb และข้าวโพดป่น 91.65 ppb ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยของปริมาณซีราลีโนนที่ตรวจพบในวัตถุดิบอาหารสัตว์จากด่านตรวจสอบอาหารสัตว์และสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ปริมาณ 138.79 และ 124.31 ppb ตามลำดับ โดยวัตถุดิบอาหารสัตว์จากศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ตรวจพบค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนซีราลีโนนน้อยที่สุด ปริมาณ 45.87 ppb ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าบางตัวอย่างตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในระดับที่เกินมาตรฐานตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 ซึ่งได้แก่ อะฟลาทอกซินรวม หรือเกินมาตรฐานของสหภาพยุโรป ได้แก่ ฟูโมนิซิน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ยังคงมีอยู่ ดังนั้น แผนการตรวจติดตามและเฝ้าระวังสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ต้องดำเนินการอย่างต่อเนื่อง เพื่อนำข้อมูลมาวางแผนการควบคุม ป้องกันสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ตลอดจนกำหนดค่ามาตรฐานที่เหมาะสม ซึ่งจะส่งผลให้อาหารสัตว์มีคุณภาพและปลอดภัยต่อสัตว์ตลอดจนผู้บริโภคสินค้าปศุสัตว์

คำสำคัญ: อะฟลาทอกซิน ฟูโมนิซิน ซีราลีโนน วัตถุดิบอาหารสัตว์ การปนเปื้อน

ทะเบียนวิชาการเลขที่ : 63(2)-0322-032

[1] กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์

Monitoring of mycotoxins contaminated in feedstuffs

Rakthai Ngampak[1] Wanida Chaengprachak[1] Veera Eingsaard[1] Narttaya Chommanard[1]

Abstract

The objective of this study was analyzed for 3 types of mycotoxins contaminations including Total Aflatoxin, Aflatoxin (type B1, B2, G1, and G2), Fumonisin (type B1 and B2) and Zearalenone from 443 samples of corn, corn meal, DDGSs and corn gluten from raw material imported warehouses, raw materials collection centers, feed mills, farms, DLD feed checkpoints and send the samples to analyze in the laboratory. Results showed that total aflatoxin contaminations in the raw material are 45.27%. There were aflatoxin type B1, B2, G1, and G2 were 45.27% 22.17% 1.15% and 4.62%, respectively. The mean level of aflatoxin in corn, corn meal, DDGSs and corn gluten were 45.11, 23.23, 2.89, and 2.36 ppb, respectively. There were not statistically different ($P>0.05$). When compare aflatoxins contamination among raw material imported warehouse, raw materials collection centers, feed mills, and farms there were not statistically different ($P>0.05$). Moreover, fumonisin B1 and fumonisin B2 contaminations were 100% and 98.85%, respectively. The result shows that the mean level of fumonisin contamination was high in corn meal (1072.20 ppb) and there is a statistically significant difference comparing among corn (487.80 ppb), DDGSs (537.10 ppb) and corn gluten (688.90 ppb). The mean level of fumonisin B1 and fumonisin B2 contamination in the farm is the highest level when compared to the raw material imported warehouses, raw materials collection centers, feed mills, and DLD feed checkpoints ($p<0.05$). Zearalenone contaminations were 33.49% of the whole sample that corn gluten is the raw material that showed a high level of contamination (146.40 ppb) that significant differences from corn (122.33 ppb) ($p<0.05$), but not significantly different from DDGSs and corn meal were 111.85, 91.65 ppb, respectively. The mean level of zearalenone contamination of DLD feed checkpoints and raw material imported warehouses were 138.79 and 124.31 ppb, respectively and showed the lowest level at raw materials collection centers (45.87 ppb) with a statistically significant difference ($p<0.05$). In summary, mycotoxin contaminations were higher than the acceptable level of animal feed quality control act B.E. 2558. (2015) in some samples such as total aflatoxin contamination and higher than the level of the acceptable level of EU regulation such as fumonisin. Thus, this study revealed the situation of mycotoxins contamination in raw materials still impacts animal feed production, therefore the mycotoxins monitoring and surveillance plan in feed is a continued important measure which results in the quality and safety of animal feed for animals as well as consumers of livestock products.

Key words: Aflatoxin, Fumonisin, Zearalenone, feedstuffs, contamination

Research Paper No: 63(2)-0322-032

[1] Division of Animal Feed and Veterinary Products Control, Department of Livestock

บทนำ

ประเทศไทยอยู่เขตภูมิอากาศร้อนชื้น มีสภาวะเหมาะสมให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สามารถผลิตสารพิษได้ (Mycotoxin) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตผลทางการเกษตรที่ใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อนำมาประกอบเป็นสูตรอาหารสัตว์ เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ถั่วลิสง และถั่วเหลือง เป็นต้น ซึ่งการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในอาหารเป็นปัญหาที่ทั่วโลกให้ความสำคัญ โดยมีผลเสียต่อทั้งสุขภาพของสัตว์และมนุษย์ที่บริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของสารพิษนั้นเข้าไป นอกจากนี้ยังเป็นปัญหาทางการค้าระหว่างประเทศที่สำคัญด้วย การปนเปื้อนสารเมทาบอไลต์จากเชื้อรานั้น สามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ระหว่างกระบวนการผลิต กระบวนการเก็บเกี่ยว กระบวนการขนส่ง และกระบวนการเก็บรักษา ในปัจจุบันมีการตรวจพบสารพิษจากเชื้อราที่มากกว่า 300 ชนิด แต่มีเพียงประมาณ 40 ชนิดเท่านั้นที่สามารถจำแนกชนิดได้ (Erwan, 2012) สำหรับสารพิษจากเชื้อราที่มีความสำคัญและมักพบได้บ่อยในวัตถุดิบอาหารสัตว์และอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูป ได้แก่ สารพิษชนิดอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *A. paraciticus* โดยทั่วไปจะพบในวัตถุดิบอาหารสัตว์และอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษได้ 4 ชนิด คือ อะฟลาทอกซินบี 1 อะฟลาทอกซิน บี2 อะฟลาทอกซิน จี1 และอะฟลาทอกซิน จี2 สารพิษโอคราทอกซิน (Ochratoxin) สร้างโดยเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. และ *Pennicillium* spp. สารพิษโอคราทอกซินตรวจพบได้มี 2 ชนิด คือ โอคราทอกซิน เอ และ โอคราทอกซิน บี แต่ชนิดที่พบได้ตามธรรมชาติ คือ โอคราทอกซิน เอ สารพิษซีราลีโนน (Zearalenone) สร้างโดยเชื้อราในกลุ่ม *Fusarium* spp. ได้แก่ *F. graminearum* สารพิษฟูโมนิซิน (Fumonisins) สร้างจาก เชื้อราในกลุ่ม *Fusarium* spp. ได้แก่ *F. moniliforme* และ *F. proliferatum* โดยทั่วไปมักพบปนเปื้อนในข้าวโพด สารพิษทริโคทีซีน (Trichothecene) เป็นสารพิษที่สร้างจากเชื้อราหลายชนิดในกลุ่ม *Fusarium* spp. และ *Trichoderma* spp. สารพิษในกลุ่มนี้ ได้แก่ Trichothecium, Gliocladium, Myrothecium, Stachybotrys และอีกหลายชนิด แต่ที่พบตามธรรมชาติ ได้แก่ Deoxynivalenol (DON) และ T-2 toxin

โดยองค์การอนามัยโลกจัดให้สารพิษอะฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรงที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากสารอะฟลาทอกซินปริมาณเพียง 1 ไมโครกรัม สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียและทำให้เกิดมะเร็งตับในสัตว์ทดลองได้หากได้รับอย่างต่อเนื่อง สำหรับโรคที่ตรวจพบในคนอันเนื่องจากสารอะฟลาทอกซิน ได้แก่ โรคมะเร็งตับ โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคสมองอักเสบ (FAO, 2006) สำหรับสัตว์ที่ได้รับสารพิษจากเชื้อราเข้าสู่ร่างกาย สารพิษจะทำลายระบบการทำงานของร่างกาย ทำให้สัตว์เจริญเติบโตช้า ความต้านทานโรคลดลง น้ำนมลด อัตราการผสมติดลดลง อัตราการเปลี่ยนเนื้อลดลง และถ้าสัตว์ได้รับสารพิษในปริมาณสูงอาจทำให้สัตว์ตายได้ โดยในสุกรที่ได้รับสารนี้จะมีอาการผอม ขนหยาบกร้าน อุจจาระร่วงและมีสีเหลืองจัด ขาหลังอ่อนแรง ยืนตัวโก่ง สำหรับในโค-กระบือการเกิดพิษในลูกสัตว์จะมีความรุนแรงมากกว่าในสัตว์ที่โตเต็มวัยแล้ว โดยสัตว์จะแสดงอาการกระสับกระส่าย พยายามถ่ายหรือเบ่งมากจนทวารหนักทะลักออกมา และตายในที่สุด (บดินทร์, 2555) สารพิษอะฟลาทอกซินที่สำคัญและมีความรุนแรงที่สุดคือ สารพิษอะฟลาทอกซิน บี1 พบว่าเป็ดและไก่งวงจะมีความไวต่อการเป็นพิษมากกว่าไก่ หากเกิดพิษในไก่เนื้อจะทำให้คุณภาพซากไม่ดี อาจต้องคัดทิ้งทั้งฟาร์ม หรือ ถูกตัดราคาที่โรงเชือดได้ (สิทธิทัศน์, 2558) ฟูโมนิซินเป็นกลุ่มของสารพิษจากเชื้อราที่เกิดได้ในธรรมชาติพบมีหลายชนิด แต่ที่พบมากและมีความเป็นพิษรุนแรง คือ

ฟูโมนิซิน บี1 และฟูโมนิซิน บี2 โดยมักพบในข้าวโพดหรืออาหารที่มีข้าวโพดเป็นส่วนประกอบ ซึ่งพิษของมันมีผลกระทบต่อการทำงานของระบบต่างๆ ของสัตว์ เช่น ระบบประสาท ระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยเฉพาะในม้าและสุกรเป็นสัตว์ที่มีความไวต่อพิษชนิดนี้มาก ในม้าจะทำให้เกิดโรค equine leukoencephalomalacia (ELEM) และในสุกรจะทำให้เกิดโรค porcine pulmonary edema (PPE) (คมกริช, 2544) สำหรับสารพิษจากเชื้อราชนิดซีราลีโนนมักพบปนเปื้อนในข้าวสาลีและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยพิษของมันจะมีผลต่อระบบฮอร์โมนสืบพันธุ์ของสัตว์ ทำให้การผสมติดลดลง (นิธิยา, 2553)

ปัจจุบันการควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ ตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 ได้กำหนดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์ไว้ในระดับที่ต่างกันขึ้นกับประเภทของอาหารสัตว์ เช่น ในวัตถุดิบอาหารสัตว์กำหนดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินรวม ตั้งแต่ 40 - 500 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัม (กรมปศุสัตว์, 2559) สำหรับมาตรฐานของสหภาพยุโรป (EU) ตาม Commission Directive 2003/100/EC 31 October 2003 กำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน บี1 ไว้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัม แต่เนื่องจากว่าตัวอย่างอาหารสัตว์บางชนิด พบสารพิษจากเชื้อรามีค่าเกินมาตรฐานของสหภาพยุโรป หรือเกินค่ามาตรฐานที่กำหนด ตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราชนิด อะฟลาทอกซินรวม อะฟลาทอกซิน (บี1 บี2 จี1 และ จี2) ฟูโมนิซิน (บี1 และ บี2) และซีราลีโนน ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพดเมล็ด ข้าวโพดป่น กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด จากสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ สถานที่ผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ และด่านตรวจสอบอาหารสัตว์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพิจารณาค่ามาตรฐานปริมาณสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นปัจจัยหลักในการผลิตอาหารสัตว์ และเฝ้าระวังปริมาณสารพิษจากเชื้อราให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และเพื่อให้อาหารสัตว์มีความปลอดภัยต่อสุขภาพสัตว์ ส่งเสริมให้ผลิตภัณฑ์ด้านการปศุสัตว์ไทยมีคุณภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่าง

กำหนดจำนวนสถานที่เป้าหมายและจำนวนตัวอย่างอาหารสัตว์ โดยใช้โปรแกรม Win Episcope 2.0 ที่ความชุกที่คาดไว้เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ และทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบหลายขั้นตอน

ตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์จากสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ สถานที่ผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ และด่านตรวจสอบอาหารสัตว์ ระหว่างเดือนมิถุนายน 2560 - ธันวาคม 2561 จำนวน 433 ตัวอย่าง ได้แก่ ข้าวโพดเมล็ด 214 ตัวอย่าง ข้าวโพดป่น 117 ตัวอย่าง กากดีดีจีเอส 83 ตัวอย่าง และกลูเทนข้าวโพด 19 ตัวอย่าง เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา ณ ห้องปฏิบัติการพิษวิทยาและชีวเคมี/สารพิษจากเชื้อรา กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

การสกัดตัวอย่าง (สุทธิพร, 2557)

นำตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่สุ่มเก็บได้มาวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา 3 ชนิด คือ อะฟลาทอกซิน (อะฟลาทอกซินรวม บี 1 บี 2 จี 1 จี 2) ฟูโมนิซิน (บี 1 และ บี 2) และซีราลีโนน โดยวิธี High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) สกัดสารพิษจากเชื้อราในตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ตามวิธีการของ AOAC (AOAC, 2005) ดังนี้ บดตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร ชั่งตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่บดแล้ว 25 กรัม และ NaCl 5 กรัม เติม methanol 80 % ปริมาตร 100 ml นำไปปั่นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง ดูดสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำ DI 20 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่าน glass microfiber หลังจากนั้นนำไปกรองผ่าน immuno-affinity column ล้างด้วยน้ำ DI ชะสารพิษออกจากคอลัมน์ด้วย methanol (HPLC grade) เก็บสารละลายที่ชะออกมาใส่ใน cuvette เป่าให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน เติม acetonitrile 90% ปริมาตร 500 μl ผสมให้เข้ากันแล้วกรองสารละลายตัวอย่างผ่าน vial-filter ขนาด 0.45 μm

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HP 1100 จับสัญญาณด้วย Fluorescence detector และ Photochemical reactor ที่ excitation 360 nm และ emission ที่ 440 nm ใช้สภาวะในการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษจากเชื้อราของเครื่อง HPLC ดังนี้ ใช้คอลัมน์ C18 (ODS-3) 150 × 4.6 mm., 5 μm เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ใช้Methanol, DI water, และ acetonitrile ในอัตราส่วน 45 : 55 : 5 อัตราการไหล (flow rate) ที่ 1 ml/min ปริมาณสารที่ใช้ฉีดตัวอย่างที่ 10 μl เวลาในการวิเคราะห์ที่ 15 นาที สารมาตรฐานที่ใช้ได้แก่ สารมาตรฐาน Aflatoxin B1, Aflatoxin B2, Aflatoxin G1, Aflatoxin G2, Fumonisin B1, Fumonisin B2 และ Zearalenone คำนวณปริมาณสารพิษจากพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณา (Descriptive statistics) เช่น ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ความแปรปรวน และเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวม อะฟลาทอกซิน (บี1 บี2 จี1 และ จี2) ฟูโมนิซิน (บี1 และ บี2) และซีราลีโนน ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดข้าวโพดเมล็ด ข้าวโพดป่นกากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด ที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ สถานที่ผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ และด่านตรวจสอบอาหารสัตว์ พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินรวมปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์มีค่าเฉลี่ย (means±SD) อยู่ที่ 14.73±62.85 ppb ปริมาณการปนเปื้อนสูงสุด 623.79 ppb เมื่อวิเคราะห์แยกชนิดของอะฟลาทอกซิน พบว่าสารพิษจากเชื้อราชนิด อะฟลาทอกซิน บี1 อะฟลาทอกซิน บี2 อะฟลาทอกซิน จี1 และอะฟลาทอกซิน จี2 มีการปนเปื้อนเฉลี่ย (means±SD) ที่ระดับ 13.44±57.14 1.06±4.80 0.09±1.30 และ 0.13±0.80 ppb ตามลำดับ ปริมาณการปนเปื้อนสูงสุด 592.60 54.20 24.67 และ 8.71 ppb ตามลำดับ

สำหรับปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา ชนิดฟูโมนิซิน บี1 และฟูโมนิซิน บี2 มีการปนเปื้อนเฉลี่ย (means±SD) 629.44±1,009.69 และ 192.54±348.68 ppb ตามลำดับ ปริมาณการปนเปื้อนต่ำสุดที่ระดับ 0.64 และ 0.00 ppb ตามลำดับ และปริมาณการปนเปื้อนสูงสุด 8,259.41 และ 3,132.37 ppb ตามลำดับ ในส่วนของฟูโมนิซิน บี1 ตรวจพบในวัตถุดิบอาหารสัตว์ทุกตัวอย่าง

สำหรับสารพิษจากเชื้อราชนิดซีราลีโนนตรวจพบในวัตถุดิบอาหารสัตว์มีการปนเปื้อนเฉลี่ย 37.28±65.97 ppb และปริมาณการปนเปื้อนสูงสุด 431.70 ppb

ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าสถิติของข้อมูลปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (ppb)

ค่าสถิติ	อะฟลาทอกซิน					ฟูโมนิซิน		ซีราลีโนน
	AfB1	AfB2	AfG1	AfG2	Total Af	FumB1	FumB2	
N	433	433	433	433	433	433	433	433
Min	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.64	0.00	0.00
Max	592.60	54.20	24.67	8.71	623.79	8,259.41	3,132.37	431.70
Mean	13.44	1.06	0.09	0.13	14.73	629.44	192.54	37.28
SD	57.14	4.80	1.30	0.80	62.85	1,009.69	348.68	65.97

เมื่อศึกษาแยกตามชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่สุ่มตรวจ ปรากฏว่าร้อยละ 54.73 ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา และร้อยละ 45.27 ตรวจพบว่ามีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรามากที่สุดคือ ข้าวโพดป่น (81.20) รองลงมาคือ ข้าวโพดเมล็ด (42.99) กลูเทนข้าวโพด (31.58) และกากดีดีจีเอส (3.62) ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

กรณีที่ข้าวโพดป่นตรวจพบจำนวนตัวอย่างที่ปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรามากที่สุด เนื่องจากมีลักษณะทางกายภาพเป็นผงละเอียดซึ่งเหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา เนื่องจากสภาพความสมบูรณ์ของเมล็ดเป็นปัจจัยหนึ่งในการเจริญเติบโตของเชื้อรา และถ้าวัตถุดิบอาหารสัตว์นั้นมีเชื้อราอยู่แล้วและเก็บรักษาที่อุณหภูมิหรือความชื้นสูงก็จะส่งเสริมให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีและมีการสร้างสารพิษในปริมาณมาก (Piotrowska และคณะ, 2013) ส่วนกากดีดีจีเอส (DDGS : Distillers Dried Grains with Solubles) ที่พบจำนวนตัวอย่างที่ปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราน้อยที่สุด เนื่องจากกากดีดีจีเอสเป็นส่วนที่เหลือจากการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์โดยการหมักเมล็ดธัญพืช ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวไรซ์ ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ด้วยวิธีการกลั่นแยกเอาเอทิลแอลกอฮอล์ออกไป แล้วนำกากที่เหลือไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส หรือนำกากรวมกับของเหลวที่เหลือไปทำให้แห้ง (ธีราภรณ์, 2554) จึงทำให้เชื้อราเจริญเติบโตได้น้อย

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดที่พบสารพิษจากเชื้อรา

ประเภท	วัตถุดิบอาหารสัตว์				
	ข้าวโพดเมล็ด	ข้าวโพดป่น	กลูเทนข้าวโพด	กากดีดีจีเอส	รวม
จำนวนตัวอย่าง	214	117	19	83	433
ไม่พบ (ร้อยละ)	122 (57.01)	22 (18.80)	13 (68.42)	80 (96.38)	237 (54.73)
พบ (ร้อยละ)	92 (42.99)	95 (81.20)	6 (31.58)	3 (3.62)	196 (45.27)

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ตรวจพบสารพิษจากเชื้อราแต่ละชนิด

ประเภท	ชนิดสารพิษจากเชื้อรา							
	อะฟลาทอกซิน					ฟูโมนิซิน		ซีราลีโนน
	Total Af	AfB1	AfB2	AfG1	AfG2	FB1	FB2	
จำนวนตัวอย่าง	433	433	433	433	433	433	433	433
ไม่พบ (ร้อยละ)	237 (54.73)	237 (54.73)	337 (77.83)	428 (98.85)	413 (95.38)	0 (0.00)	5 (1.15)	288 (66.51)
พบ (ร้อยละ)	196 (45.27)	196 (45.27)	96 (22.17)	5 (1.15)	20 (4.62)	433 (100)	428 (98.85)	145 (33.49)

จากตารางที่ 3 วัตถุดิบอาหารสัตว์มีการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวม ร้อยละ 45.27 เมื่อวิเคราะห์แยกเป็นอะฟลาทอกซินชนิด บี1 บี2 จี1 และ จี2 พบร้อยละ 45.27 22.17 1.15 และ 4.62 ตามลำดับ ส่วนฟูโมนิซิน บี1 และฟูโมนิซิน บี2 พบร้อยละ 100 และ 98.85 ตามลำดับ และซีราลีโนนพบร้อยละ 33.49

เนื่องจากสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยที่ร้อนชื้นซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราทำให้มีโอกาสพบสารพิษจากเชื้อราได้มาก (Charoenpornsook and Kavisarasai, 2006) ซึ่งระดับของสารพิษจากเชื้อราในแต่ละชนิดก็แตกต่างกัน โดยระดับของสารพิษจากเชื้อราที่พบนั้นควรอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของสัตว์หรือเกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิด

ชนิดวัตถุดิบ	ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพิษจากเชื้อรา (ppb)							
	อะฟลาทอกซิน					ฟูโมนิซิน		ซีราลีโนน
	Total Af	AfB1	AfB2	AfG1	AfG2	FB1	FB2	
ข้าวโพดเมล็ด	45.11	41.81	5.97	0.00	3.37	487.80^{b}	151.0^{b}	122.33^{ab}
ข้าวโพดป่น	23.23	20.57	3.72	8.54	2.55	$1,072.20^{a}$	327.26^{a}	91.65^{b}
กากดีดีจีเอส	2.89	2.52	1.00	0.00	0.00	537.10^{b}	82.77^{b}	111.85^{ab}
กลูเทนข้าวโพด	2.36	2.29	0.00	0.00	0.00	688.90^{b}	392.25^{a}	146.40^{a}

^{a,b} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันมีอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิด พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวม ในตัวอย่างข้าวโพดเมล็ด ข้าวโพดป่น กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด มีปริมาณ 45.11 23.23 2.89 และ 2.36 ppb ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิด โดยข้าวโพดเมล็ดพบว่ามีค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวมสูงสุด

การที่พบค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินรวมในข้าวโพดเมล็ดสูงที่สุดนั้น เนื่องจากข้าวโพดเมล็ดเป็นวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบหลักของอาหารสัตว์ ซึ่งจำเป็นต้องใช้ข้าวโพดเมล็ดในการผลิตเป็นจำนวนมาก แต่บางช่วงเกิดภาวะขาดแคลนทำให้มีการเก็บสำรองข้าวโพดเมล็ดเป็นระยะเวลานานเพื่อให้เพียงพอต่อการผลิตอาหารสัตว์ ประกอบกับการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม ก่อให้เกิดความชื้นสูงกว่าร้อยละ 15 จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซิน (กรมปศุสัตว์, 2544)

การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อราชนิดฟูโมนิซิน บี 1 พบข้าวโพดป่นมีค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนสูงที่สุด 1,072.20 ppb ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนของข้าวโพดเมล็ด กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด ปริมาณ 487.80 537.10 และ 688.90 ppb ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของปริมาณฟูโมนิซิน บี2 พบว่ากลูเทนข้าวโพดและข้าวโพดป่นมีปริมาณ 392.25 และ 327.26 ppb ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับข้าวโพดเมล็ด และกากดีดีจีเอส ปริมาณ 151 และ 82.77 ppb ตามลำดับ ปริมาณของฟูโมนิซินส่วนใหญ่จะพบชนิด บี1 สูงกว่าชนิด บี2

การที่พบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพิษจากเชื้อราฟูโมนิซินดังกล่าวในข้าวโพดป่นสูงที่สุด เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดป่นเหมาะกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยเพื่อสำรวจปริมาณสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ที่ใช้เลี้ยงโคนมที่ผลตรวจวิเคราะห์พบปริมาณสารพิษจากเชื้อราในข้าวโพดป่นสูงกว่าข้าวโพดเมล็ด (กรมปศุสัตว์, 2544)

ส่วนสารพิษจากเชื้อราชนิดซีราลีโนนที่ตรวจพบในวัตถุดิบอาหารสัตว์ พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนในกลูเทนข้าวโพดมีปริมาณสูงสุด 146.40 ppb แต่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานสหภาพยุโรปกำหนด (European, 2003) รองลงมาคือ ข้าวโพดเมล็ดปริมาณ 122.33 ppb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกากดีดีจีเอสและข้าวโพดป่น ปริมาณ 111.85 และ 91.65 ppb ตามลำดับ

การที่พบค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนซีราลีโนนในกลูเทนข้าวโพดในปริมาณสูงที่สุดนั้นเนื่องจากกลูเทนข้าวโพดเกือบทั้งหมดนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งสารพิษจากเชื้อราชนิดซีราลีโนนเกิดจากเชื้อรากลุ่มฟูซาเรียมที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำ (Jimenez และคณะ, 1999) ดังนั้นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำเข้าจากต่างประเทศที่มีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสารพิษจากเชื้อรา จึงมีโอกาสพบสารพิษจากเชื้อราซีราลีโนนมากที่สุด นอกจากนี้ระยะเวลาการขนส่งวัตถุดิบจากต่างประเทศยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา (อำนาจ, 2562) หากการขนส่งทั้งพาหนะและตู้ขนส่งสินค้าไม่มีระบบการป้องกันการปนเปื้อนที่ดี รวมถึงการใช้พาหนะหรือตู้ขนส่งสินค้าเดียวกันในการขนส่งสินค้าต่างชนิดกันที่มิใช่อาหารสัตว์ จำเป็นต้องมีการทำความสะอาดอย่างมีประสิทธิภาพและควรมีการฆ่าเชื้อระหว่างการขนส่งสินค้าในแต่ละครั้งด้วย (กรมปศุสัตว์, 2544)

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราแต่ละชนิด ในตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์แยกตามแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพิษจากเชื้อราที่พบ (ppb)							
	อะฟลาทอกซิน					ฟูโมนิซิน		ซีราลีโนน
	Total Af	AfB1	AfB2	AfG1	AfG2	FB1	FB2	
สถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า	15.97	14.37	3.30	2.50	1.67	667.70^{bc}	197.26^{b}	124.31^{a}
ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์	58.41	53.30	10.46	0.00	1.57	751.10^{b}	228.82^{b}	45.87^{b}
สถานที่ผลิตอาหารสัตว์	26.73	24.41	3.97	9.96	3.76	495.00^{bc}	147.92^{b}	111.90^{ab}
ฟาร์มเลี้ยงสัตว์	47.40	43.16	5.16	10.34	2.36	1,428.70^{a}	467.20^{a}	98.67^{ab}
ด่านตรวจสอบอาหารสัตว์	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	172.20^{c}	58.45^{b}	138.79^{a}
รวม	32.60^{ข}	29.70^{ข}	4.80^{ข}	8.50^{ข}	2.90^{ข}	629.40^{ก}	192.80^{ข}	111.30^{ข}

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันมีอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

^{ก,ข} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแนวนอนเดียวกันมีอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวม อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ จากสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ สถานที่ผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนค่าเฉลี่ยของปริมาณฟูโมนิซิน บี1 และ บี2 ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์สูงที่สุดมาจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ เมื่อเปรียบเทียบจากแหล่งเก็บอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยของปริมาณซีราลีโนนที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เก็บจากด่านตรวจสอบอาหารสัตว์และสถานที่เก็บอาหารสัตว์นำเข้า ปริมาณ 138.79 และ 124.31 ppb ตามลำดับ โดยตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์จากศูนย์รวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์ตรวจพบปริมาณการปนเปื้อนซีราลีโนนน้อยที่สุด ปริมาณ 45.87 ppb ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากสารพิษจากเชื้อราชนิดซีราลีโนนเกิดจากเชื้อรากลุ่มฟูซาเรียมที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำ (Jimenez และคณะ, 1999) ซึ่งสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราดังกล่าว

สรุปและข้อเสนอแนะ

1. วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ศึกษาในครั้งนี้ ยังมีบางตัวอย่างตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในระดับที่เกินมาตรฐานตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 ซึ่งได้แก่ อะฟลาทอกซินรวม หรือเกินมาตรฐานของสหภาพยุโรป ได้แก่ ฟูโมนิซิน ส่วนซีราลีโนนไม่พบว่ามีวัตถุดิบอาหารสัตว์ใดที่มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราดังกล่าวเกินมาตรฐาน

2. วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรามากที่สุดคือ ข้าวโพดป่น ตรวจพบร้อยละ 81.20 รองลงมาคือ ข้าวโพดเมล็ด กลูเทนข้าวโพด และกากดีดีจีเอส โดยคิดเป็นร้อยละ 42.99 31.58 และ 3.62 ตามลำดับ

3. ค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราที่พบมากที่สุดคือชนิดฟูโมนิซิน บี1 โดยพบในข้าวโพดป่นที่ระดับ 1,072.20 ppb ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลูเทนข้าวโพด กากดีดีจีเอส และข้าวโพดเมล็ด ที่ระดับ 688.90 537.10 และ 487.80 ppb ตามลำดับ

4. ค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวม ของวัตถุดิบอาหารสัตว์พบปริมาณสูงที่สุดคือข้าวโพดเมล็ด 45.11 ppb รองลงมาคือข้าวโพดป่น กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด โดยคิดเป็น 23.23 ppb 2.89 ppb และ 2.36 ppb ตามลำดับ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในระดับที่ต่ำกว่ามาตรฐานตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558

5. เนื่องจากผลของการเฝ้าระวังสารพิษจากเชื้อรา ตรวจพบสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวมในทุกชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้งข้าวโพดเมล็ด ข้าวโพดป่น กากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด อย่างไรก็ตามปัจจุบันการกำหนดค่ามาตรฐานระดับสารพิษจากเชื้อราชนิดอะฟลาทอกซินรวม ตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 กำหนดไว้เพียงวัตถุดิบชนิดข้าวโพดเมล็ด และข้าวโพดป่นเท่านั้น ซึ่งมีระดับไม่เกิน 100 ppb ส่วนกากดีดีจีเอส และกลูเทนข้าวโพด ยังไม่ได้กำหนดระดับมาตรฐานไว้แต่อย่างใด ดังนั้นจึงควรพิจารณาในการออกประกาศกำหนดมาตรฐานให้ครอบคลุมถึงวัตถุดิบที่มีความเสี่ยง รวมถึงปรับปรุงค่ามาตรฐานให้มีความเหมาะสมในแต่ละชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ด้วย

6. สารพิษจากเชื้อราชนิดฟูโมนิซิน (บี1 และ บี2) ตรวจพบในวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งบางตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ตรวจพบในปริมาณที่สูงพอสมควร แต่ยังไม่มีประกาศกำหนดระดับมาตรฐานสารพิษจากเชื้อราชนิดฟูโมนิซินตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 แต่อย่างใด จึงเห็นควรให้พิจารณาออกประกาศกำหนดระดับมาตรฐานระดับของสารพิษจากเชื้อราดังกล่าวให้ครอบคลุมวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีความเสี่ยง

7. วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ทั้งกากดีดีจีเอส กลูเทนข้าวโพด ข้าวโพดเมล็ด มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา จึงจำเป็นต้องกำหนดมาตรการในการควบคุมการนำเข้าวัตถุดิบอาหารสัตว์ดังกล่าวให้เข้มงวดตั้งแต่ต้นทาง ระหว่างการขนส่ง และการเก็บรักษาที่ปลายทาง เพื่อลดความเสี่ยงการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราที่ก่ออันตรายต่อสัตว์และผู้บริโภคภายในประเทศ

8. วัตถุดิบอาหารสัตว์ ชนิดข้าวโพดป่น มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ประกอบกับคุณภาพของข้าวโพดที่นำมาบดเป็นข้าวโพดป่นอาจจะมีการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรามาก่อน ดังนั้นจึงควรมีมาตรการในการกำกับ ดูแล ควบคุม ในการคัดเลือกข้าวโพดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต ตลอดจนขบวนการผลิต และการเก็บรักษาที่เหมาะสม

9. มาตรการที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ลดปัญหาสารพิษจากเชื้อรา โดยใช้หลักการของระบบประกันคุณภาพ (GMP/HACCP) ซึ่งการวิเคราะห์ความเสี่ยงและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม สามารถลดการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราได้ตลอดทุกขั้นตอนในห่วงโซ่การผลิตอาหาร (Scudamore, 2004)

10. แนวทางการลดการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบอาหารสัตว์เป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งต้องเริ่มตั้งแต่การคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีมีความต้านทานต่อเชื้อรา การเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม การลดความชื้นหลังการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การควบคุมคุณภาพระหว่างการจัดเก็บ รวมถึงการจัดลำดับการใช้วัตถุดิบให้เหมาะสม (First In First Out) ซึ่งจะส่งผลให้สามารถป้องกันการเกิดเชื้อราที่สร้างสารพิษได้ (กรมปศุสัตว์, 2544)

11. จากผลการศึกษาในครั้งนี้เห็นควรให้มีการต่อยอดศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นความเสี่ยงของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำเข้าที่มีโอกาสปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราและการขยายการศึกษาออกไปในแต่ละช่วงฤดูกาล เนื่องจากปัจจัยของภูมิอากาศตามธรรมชาติมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา (ประกรณ์ และคณะ, 2559) เพื่อนำข้อมูลมาประกอบการพิจารณาหาระดับปริมาณที่เหมาะสมในการกำหนดมาตรฐาน โดยให้ครอบคลุมถึงชนิดของสารพิษจากเชื้อราและวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราดังกล่าว เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ทันสมัยสำหรับใช้ประกอบการวางแผนควบคุม ป้องกันสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ซึ่งจะส่งผลให้อาหารสัตว์มีคุณภาพและปลอดภัยต่อสัตว์ตลอดจนผู้บริโภคสินค้าปศุสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพิษวิทยาและชีวเคมี/สารพิษจากเชื้อรา กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ในการทำวิจัย ดร.เด่นพงษ์ สาฆ้อง สพ.ญ โสมศจี ศิวิลัยกุล สพ.ญ วรศร ประเสริฐกุลชัย สพ.ญ วชิราพร แสนสม และนางสาวพัชรจราวรรณ สุขเทียบ ที่ช่วยประสานและจัดรูปเล่ม และเจ้าหน้าที่กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

Association of Official Analytical Chemist. 2005. AOAC Official Method of Analysis. 18th Ed. Natural Toxins. Chapter 49. 3 - 45.

Charoenpornsook and Kavisarasai. 2006. MYCOTOXINS IN ANIMAL FEEDSTUFFS OF THAILAND. KMITL Sci. Tech. J. _Vol. 6 No. 1 Jan. - Jun. 2006. 25-28.

Erwan Leroux. (2012). Management of mycotoxin contamination in raw materials and feeds. *International Poultry Production*. 20(2). 13-17.

European Commission Regulation 1234/2003/EC(2003) OFF J.Eur.Commun.L173/6,1-8.

Food and Agriculture Organization. (FAO) 2006. Safety evaluation of certain contaminants in food. Prepared by the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). FAO Nutr Paper 82: 1-778.

Piotrowska M, Slizewska K, Biernasiak J. 2013. Mycotoxins in cereal and soybean-based food and feed. Intech open science: 185-230.

Jimenez M, Manez M, Hernandez E. 1999. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three Fusarium species. International journal of food microbiology. 29: 417-421

Scudamore, K.A. 2004. Control of mycotoxins : Secondary processing. 174-189. In N. Magan and M. Olsen, eds. Mycotoxins in Food: Detection and Control. Woodhead Publishing Ltd., England

กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2544. การแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมตามโครงการแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารและอาหารสัตว์แบบครบวงจรในส่วนรับผิดชอบของกรมปศุสัตว์ปีงบประมาณ 2539-2543. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2558. ตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2559. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ พ.ศ. 2559.

คมกริช พิมพ์ภักดี. 2544. ฟูโมนิซิน สารพิษจากเชื้อราที่มีความสำคัญต่อคนและสัตว์. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 ก.ค.-ธ.ค. 2544

ธีราภรณ์ ยืนสุข. 2554. การใช้ส่าข้าวโพดเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารข้นเลี้ยงโคนม. (ออนไลน์).สืบค้นจาก: http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/4030/1/fulltext.pdf (1/1/62).

นิธิยา รัตนาปนนท์ และ วิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2553. สารพิษในอาหาร. โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์.

บดินทร์ บุตรอินทร์. 2555. สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาทอกซิน. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. 45(2). 1-8.

ประกรณ์ จาละ, อาสูตร สงวนเกียรติ, พิษณุ ตุลยกุล, สุดธิษา เหล่าเปี่ยม และ ณัฐวุฒิ รัตนวนิชย์โรจน์. 2559. สถานการณ์สารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในประเทศไทยรายงานผลห้องปฏิบัติการระหว่างปี พ.ศ. 2553-2557. สืบค้นจาก http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/2560/KC5403014.pdf (17/7/2561)

สิทธิทัศน์ ทองคำใส. 2558. สารพิษจากเชื้อรา. มหาวิทยาลัยราชมงคลตะวันออก. สืบค้นจาก www.vet.rmutto.ac.th/wp-content/uploads/2013/11/mycotoxin.pdf (1/2/62)

สุทธิพร พิริยายน. 2557. การตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ด้านสารพิษสารตกค้างและการปนเปื้อนในอาหารสัตว์ตามมาตรฐาน ISO/IEC17025:2005. สืบค้นจาก http://qcontrol.dld.go.th/images/ejournal/ejournal%201-2558/images/58-6.pdf (1/2/62)

อำนาจ พัวพลเทพ. 2562. สารพิษจากเชื้อรา :ภัยเงียบในอาหาร. สืบค้นจาก https://thaimycotoxin.org/?p=1346 (15/8/62)

การศึกษาทางเลือกอื่นเพื่อทดแทนการใช้ยาโคลิสตินผสมในอาหารสัตว์ในฟาร์มสุกรเพื่อรักษาอาการท้องเสีย เนื่องจากการติดเชื้อ อี. โคไล. (*E. coli*) ในลูกสุกรอนุบาล

(A Study investigating alternative regimens to replace colistin mixed in feed for the treatment of *E. coli* infection in nursery pigs)

รักไทย งามภักดิ์[1], สุนิตย์ มีบำรุง[2], ภานุมาศ คงปันนา[2], เดชฤทธิ์ นิลอุบล[2]

บทคัดย่อ

การใช้ยาโคลิสตินในลูกสุกรหย่านมเพื่อลดปัญหาท้องเสีย รวมไปถึงการสูญเสีย ในช่วง 2 สัปดาห์แรกอาจเป็นสาเหตุให้เกิดเชื้อดื้อยาได้ วัตถุประสงค์งานวิจัยเพื่อศึกษาสารเสริมทดแทนยาโคลิสตินในลูกสุกรหย่านม จำนวน 222 ตัว (n=37) อายุ 24 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 6.19 ± 0.63 kg แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) อาหารงานวิจัย มี 6 กลุ่ม ได้แก่ อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 1.อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย colistin 160 ppm กลุ่มที่ 2.อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย bromelain 12.5 mg/ton กลุ่มที่ 3.อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย 1 kg apramycin และ 125 mg flavomycin กลุ่มที่ 4. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย $CuSO_4$ 3kg/ton กลุ่มที่ 5.อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย butyric acid 1 kg/ton และ yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) 1 kg/ton กลุ่มที่ 6.อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย probiotic (*Bacillus subtilis*) 1.2 kg/ton ผลการทดลองด้านสมรรถภาพการเจริญเติบโต พบว่า ค่า ADG (กรัม/ตัว/วัน) ในกลุ่ม T4 T5 และ T6 มีค่าสูงที่สุด ($p<0.01$) นอกจากนี้ T4 และ T6 มีค่าน้ำหนักสุดท้ายในวันที่ 14 ที่สูงที่สุดเช่นกัน ($p<0.01$) ผลด้านจำนวนเชื้อ *E. coli* ในมูล (log 10 cfu/g) พบว่าวันที่ 14 กลุ่ม T1 T2 และ T6 มีค่าเชื้อ *E.coli* ในมูลน้อยที่สุด ($p<0.01$) และช่วงการเปลี่ยนแปลงวันที่ 0 และ 14 ส่งผลต่อเชื้อ *E.coli* ในมูลที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ผลด้านร้อยละของสุกรที่แสดงอาการท้องเสีย พบว่าทุกกลุ่มอาหารทดลองสามารถลดอาการท้องเสียได้จากวันที่ 0 ถึง 14 นอกจากนี้ในวันที่ 7 พบว่า T2 และ T6 มีค่าร้อยละของสุกรที่แสดงอาการท้องเสียที่น้อยที่สุด ($p<0.05$) สรุปงานทดลองอาหารทั้ง 5 กลุ่ม (T2-T6) สามารถนำมาใช้เป็นสารเสริมทดแทนยาโคลิสตินได้ โดยมีคุณสมบัติที่เพิ่มสมรรถภาพการผลิต ทั้งด้านการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลชีพก่ออาการท้องเสีย และอาการท้องเสียที่แสดง

คำสำคัญ: สารเสริมทดแทน ยาปฏิชีวนะ สุกรหย่านม ประสิทธิภาพการผลิต อาการท้องเสีย

ทะเบียนวิชาการเลขที่: 63 (2)-0322-033

[1]กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์

[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

A Study investigating alternative regimens to replace colistin mixed in feed for the treatment of *E.coli* infection in nursery pigs

Rakthai Ngampak[1], Sunit Mebumroonng[2], Panumas Kongpanna[2], Dachrit Nilubol[2]

Abstract

Antibiotics, often supplemented in feed, used as treatment and prevention of diarrhea disorders caused as well as mortality associated with this disease by post-weaning diarrhea (PWD) and consequently increases antibiotic resistance. The objective of this study was to evaluate the alternative feed additive in weaning pigs. Two-hundred twenty two pigs ((Landrace x Large white) x Duroc) with an average body weight (BW) of 6.19±0.63 kg (24 days of age). A CRD design was conducted, composed of basal diet with supplementation for six experimental diet: (T1) colistin 160 ppm, (T2) 12.5mg of bromelain, (T3) 1kg of apramycin and 125 mg of flavomycin, (T4) 3 kg of CuSO4, (T5) 1 kg of butyric acid and 1 kg of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and (T6) 1.2 kg of probiotics (*Bacillus subtilis*). The results of growth performance indicated ADG (g/head/d) were significantly higher in T4, T5 and T6 ($p<0.01$). Especially, T4 and T6 also had significantly higher final BW ($p<0.01$). Fecal *E. coli* (log cfu/g) of T1, T2 and T6 were significantly higher ($p<0.01$). Chronically, all of treatment effectively significantly decreased the fecal *E.coli* ($p<0.01$) as well as % diarhea incident. There was effect of treatment on % diarhea incident at day 14 of age ($p<0.05$). T2 and T6 revealed the lowest in % diarhea incident ($p<0.05$). In summary, supplementation of antibiotics replacements and probiotics to weaned pigs (T2-T6) showed their property such benefit on performance, shift of gastro-pathogenic population and diarrhea incident.

Keywords: feed additive, antibiotics, weaning pig, growth performance, diarrhea

Research Paper No: 63 (2)-0322-033

[1] Division of Animal Feed and Veterinary Products Control, Department of Livestock Development

[2]Department of Veterinary Microbiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

บทนำ

วงจรการผลิตสุกร (life cycle production) ของสุกรในประเทศไทยจะมีรูปแบบการผลิตที่ชัดเจน คือ เริ่มต้นจากพ่อแม่พันธุ์ และมาถึงลูกสุกรตามสายพันธุ์ ซึ่งเป็นที่ทราบกันว่าลูกสุกรแรกคลอด (piglet) ต้องได้รับการดูแลจากแม่ (nursery pig) เพื่อได้รับนมน้ำเหลืองและภูมิต้านทานอย่างเต็มที่ภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลังคลอด จึงทำให้ลูกสุกรเจริญเติบโตได้ดี และเพิ่มโอกาสมีชีวิตรอดในช่วงหย่านม (survival rate) (Pigprogress, 2018) หลังจากนั้น เมื่อสุกรเข้าสู่ช่วงหย่านม (weaning pig) จะมีการเปลี่ยนแปลงขั้นวิกฤต (critical period) เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงหลายๆด้าน เช่นการเปลี่ยนแปลงสถานที่ จากเล้าคลอดไปสู่คอกสุกรหย่านม หรืออาหารที่ได้รับ ก่อนหน้าได้รับอาหารเหลวเป็นน้ำนม อาหารเลียราง (creep feed) และเปลี่ยนมาเป็นอาหารผงหรือเม็ด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงข้างต้นเหนี่ยวนำให้ลูกสุกรเกิดความเครียด ส่งผลโดยตรงต่อระบบภูมิคุ้มกันของสุกร ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารแบบโฉบฉวย โดยเฉพาะเชื้อ อี.โคไล (*Escherichia coli* หรือ *E. coli*) สายพันธุ์ Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) ที่สามารถสร้างสารพิษประเภทเอนเทโรทอกซิน (enterotoxin) ทำให้เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ถูกทำลาย ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของลำไส้ลดลง การใช้ประโยชน์ได้จากสารอาหารลดลง และแสดงอาการท้องเสีย (Campbell และคณะ 2013) จึงเป็นอีกทางออกหนึ่งที่อุตสาหกรรมจะเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) เช่น โคลิสติน (colistin) ในการป้องกันการติดเชื้อในทางเดินอาหารจาก *E. coli* ในช่วงอาการท้องเสียหลังหย่านม (post-weaning diarrhea: PWD) (Rhouma และคณะ 2017) ซึ่งการใช้ยาอย่างต่อเนื่อง ส่งผลถึงเรื่องการตรวจพบยีนดื้อยา colistin (mobile colistin resistance genes, mcr) ในสุกรและสามารถถ่ายทอดไปยังมนุษย์ได้ (Liu และคณะ 2016) ทำให้เกิดการควบคุมการใช้ในสัตว์ อย่างไรก็ตาม การหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะสามารถทำได้โดยการใช้สารอาหารเสริมทางเลือก (alternative treatment) ซึ่งปัจจุบันมีมากมายหลายประเภทที่สามารถทดแทนยาปฏิชีวนะได้อย่างดี ซึ่งสามารถติดตามผลได้จากการเจริญเติบโตของสุกรช่วงหย่านม อัตราการรอดชีวิต ปริมาณอาหารที่กินได้ และการสำรวจและวิเคราะห์อาการท้องเสีย

ในการศึกษานี้จึงได้เลือกสารเสริมทดแทนชนิดอื่นที่มีการอ้างอิงว่าสามารถควบคุม และรักษาอาการท้องเสียเนื่องจากการติดเชื้อ *E. coli* ในลูกสุกรได้ มาใช้ผสมอาหารสำหรับลูกสุกรเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในเชิงของการลดอัตราท้องเสีย จำนวนเชื้อ *E. coli* ในมูล สมรรถนะการเจริญเติบโต เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต (ADG) และลดอัตราแลกเนื้อ (FCR) โดยสารเสริมทดแทนในการศึกษามี ดังนี้ 1. apramycin sulfate ร่วมกับ flavomycin (antimicrobial drug) 2. bromelain (plant extracts) 3. $CuSO_4$ complex (mineral supplement) 4. butyric acid (acidifier) ร่วมกับ yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) และ 5. Direct Fed Microbial-*Bacillus subtilis* (probiotics)

การศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับแนวนโยบายของกรมปศุสัตว์ที่ให้มีการควบคุมการใช้ยาโคลิสตินในฟาร์ม โดยมีหนังสือลงวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2560 ขอให้สัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มทั่วประเทศ ตระหนักและให้ใช้ยาดังกล่าวอย่างสมเหตุสมผลตามหลักวิชาการสัตวแพทย์ ไม่ให้ใช้ในการป้องกันและจะให้ใช้ยาโคลิสตินได้ก็ต่อเมื่อไม่มียาปฏิชีวนะใดใช้ได้แล้วผล ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้มีเชื้อดื้อยาเกิดขึ้น เพื่อยังคงให้ยาโคลิสตินเป็นยาที่ใช้ในการรักษามนุษย์อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป นอกจากนี้ยังเป็นไปตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564 ในยุทธศาสตร์ที่ 4 การป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยาและควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมในภาคการเกษตรและสัตว์เลี้ยง ตามยุทธศาสตร์ที่ 4.1 ลดการใช้ยาต้านจุลชีพในการ

ทำปศุสัตว์และประมงด้วย ดังนั้นการที่มีทางเลือกอื่นที่ทดแทนยาปฏิชีวนะโคลิสตินผสมในอาหารสัตว์จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร ผู้ประกอบการฟาร์มและประชาชนผู้บริโภคทั่วไปที่จะปลอดภัยต่อเชื้อดื้อยาและมียาที่ใช้รักษาเมื่อเจ็บป่วย

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

สถานที่ปฏิบัติงานเจริญผลฟาร์ม ตำบลพิกุลทอง เทศบาลเมืองราชบุรี จังหวัดราชบุรี ลูกสุกรหย่านมพันธุ์ผสม 3 สายพันธุ์ ((ลาร์จไวท์ x แลนเรซ) x ดูรอค) จำนวนรวมทั้งหมด 222 ตัว อายุ 24 วัน และมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 6.19 ± 0.63 kg สัตว์จะถูกจำแนกออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง (n=37) ตามสูตรอาหารทดลอง แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ในคอกที่มีขนาด 8 x 6 เมตร^2 ตามเกณฑ์กำหนดมาตรฐานฟาร์ม (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย, 2019) และเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิด (evaporative cooling system) มีน้ำและอาหารเติมให้กินเต็มที่ โดยมีระยะเวลาทำการทดลองทั้งสิ้น 14 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองแล้วทางฟาร์มจะนำสุกรไปเลี้ยงเป็นสุกรขุนต่อไป อาหารงานวิจัย (experimental diet) เป็นอาหารพื้นฐาน (basal diet) ประกอบไปด้วยโภชนะตามความต้องการของสุกรตามมาตรฐาน NRC (2012) ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยอาหารงานวิจัยแต่ละกลุ่มมีรายละเอียดดังนี้

อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 1. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย colistin 160 ppm

อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 2. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย bromelain 12.5 mg/tonne

อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 3. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย apramycin 1 kg/tonne และ flavomycin 125 mg/tonne

อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 4. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย $CuSO_4$ 3kg/tonne

อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 5. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย butyric acid 1 kg/tonne และ yeast (Saccharomyces cerevisiae) 1 kg/tonne

อาหารงานวิจัยกลุ่มที่ 6. อาหารพื้นฐาน เสริมด้วย probiotic (*Bacillus subtilis*) 1.2 kg/tonne (มีปริมาณ *Bacillus subtilis* 25 x 10^6 cfu/g)

ตารางที่ 1. รายการวัตถุดิบ และค่าโภชนะอาหารพื้นฐานในงานวิจัย (% วัตถุแห้ง)

รายการวัตถุดิบ	จำนวน (%)
ปลายข้าว	57.5
รำน้ำมันสกัด	1.6
ถั่วอบ (Biopro480)	10
กากถั่วเหลือง	7
ถั่วอบไขมันเต็ม	10
Peptide pro	4
L-lysine	0.3
DL-methionine	0.1

รายการวัตถุดิบ	จำนวน (%)
L-Threonine	0.2
Prelac (milk replacer)	5
Monodicalcium phosphate	2.5
Calcium carbonate	1.4
เกลือ	0.1
หัวอาหาร**	0.3
ปริมาตรรวม	100
โภชนะอาหารพื้นฐาน	
วัตถุแห้ง, %	86.2
โปรตีน, %	24
Soluble Protein (% โปรตีน)	16
แป้ง, %	50.3
ไขมัน, %	5.8
NDF, %	8.1
ADF, %	4.4
Digestible energy, DE (Mcal/kg)	4.01
Metabolizable energy, ME (mcal/kg)	3.6

**Supplied 2.40 IU of vitamin A,00.48 IU of vitamin D, 4000 IU of vitamin E, 0.72 g of vitamin K, 0.069 g of vitamin B1, 1.04 g of vitamin B2, 0.12 g of vitamin B6, 0.006 g of vitamin B12, 7.20 g of nicotinic acid, 2.72 g of pantothenic acid, 34.875 g of Cu as copper sulfate, 19.995 g of Fe as ferrous sulfate, 0.228 g of I as calcium iodate, 13.64 g of Mn as manganese sulfate, 24 g of Zn as zinc sulfate and 0.02 g of Se as sodium selenite.

การบันทึกข้อมูล การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์ผล

ลูกสุกร และ อาหาร จะถูกชั่งน้ำหนัก ในวันที่ 0 และ 14 ของงานทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณ อัตราการกินได้ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการแลกเนื้อ และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

อาหารพื้นฐานจะถูกสุ่มเก็บ เพื่อวิเคราะห์หาพลังงานและองค์ประกอบทางโภชนะ ด้วยวิธี proximate analysis (AOAC, 2016) และ Near infrared spectroscopy (NIR)

มูลลูกสุกรจะถูกเก็บในวันที่ 0 และ 14 ของงานทดลอง โดยจะสุ่มลูกสุกรอย่างน้อย 5 ตัวเพื่อสุ่มเก็บมูล เพื่อนำไปวิเคราะห์ จำนวนเชื้อ *E. coli* โดย BSC (Betagro Science Center, Bangkok, Thailand) ด้วยวิธี 991.14 และ ISO 6579:2002/Amendment 1:2007 (AOAC, 2016) ข้อมูลที่ได้จะถูกแปลง ด้วย Log argarlithm ฐาน 10

การประเมินร้อยละของอาการท้องเสียในลูกสุกร โดยทำการบันทึกผลในวันที่ 0 7 และ 14 ของงานทดลอง โดยมีสัตวแพทย์ 1 คน เป็นผู้ประเมินตลอดการทดลอง และคำนวณจากสูตร
Diarrhoea percentage = (No. of pigs in each treatment group has a clinical sign of diarrhoea in the same day* 100) / Total number of pigs in treatment group (Kyriakis และคณะ 2003)

คำนวณหา sample size สำหรับการวิเคราะห์แบบ one-way ANOVA ตามแผนการทดลอง CRD โดยใช้โปรแกรม Minitap 16® (Minitap, 2013)

ข้อมูลจะถูกนำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย+- ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี One-way analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองตามวิธีของ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ด้วย paired samples T test ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงระหว่างวันที่ 0 และ 14 ด้วยโปรแกรม SAS® 9.0 (SAS, 2004)

ผลการทดลอง

จากงานทดลองใช้เวลาในการเลี้ยงลูกสุกรหย่านมทั้งหมด 14 วัน พบว่าไม่มีลูกสุกรเสียชีวิตระหว่างงานทดลอง

ผลการทดลองด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต ดังแสดงในตารางที่ 2 อาหารกลุ่ม T4 และ T6 มีค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในด้านน้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 14) สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ($p<0.01$) ค่า ADG ในกลุ่ม T6 ที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ($p<0.01$) และค่า ADG ในกลุ่ม T4 และ T5 มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม T1 เช่นกัน แต่ไม่พบค่าความแตกต่างทางสถิติในด้าน FCR ของลูกสุกรในงานทดลอง ($p>0.05$)

ตารางที่ 2 ผลการทดลองด้านสมรรถนะการเจริญเติบโตของลูกสุกรหย่านม

จำนวนสุกร (ตัว)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	P-value
วันที่ 1	37	37	37	37	37	37	
วันที่ 14	37	37	37	37	37	37	
น้ำหนักสุกร (kg) วันที่ 1	5.53 ± 0.99	5.86 ± 0.94	6.45 ± 0.99	6.91 ± 1.23	6.30 ± 1.27	6.62 ± 1.43	
น้ำหนักสุกร (kg) วันที่ 14	7.38 ± 1.31 D	7.99 ± 1.08 C	8.84 ± 1.16 B	9.59 ± 1.17 A	8.91 ± 1.23 B	9.61 ± 1.46 A	<0.0001
น้ำหนักเพิ่ม (kg)	1.85 ± 1.23 C	2.13 ± 0.36 BC	2.39 ± 1.03 ABC	2.67 ± 1.66 AB	2.62 ± 1.95 AB	2.99 ± 1.67 A	0.01
ปริมาณการกินได้รวม (kg/pig)	4.12	3.71	3.79	4.07	4.20	4.15	
%การสูญเสีย	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
ADG (grams/pig/day)	130 ± 9 C	150 ± 3 BC	170 ± 7 ABC	190 ± 12 AB	190 ± 14 AB	210 ± 12 A	0.01
FCR	2.24 ± 1.31	1.78 ± 0.21	1.72 ± 0.39	1.70 ± 1.81	1.68 ± 4.62	1.72 ± 0.59	0.89

A, B, C อักษรที่แตกต่างกันของแต่ละคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$)

ผลการทดลองด้านจำนวนเชื้อ *E. coli* ในมูล ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าที่เริ่มต้นงานทดลอง (วันที่ 0) จำนวนเชื้อ *E. coli* ในมูลของแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดงานทดลอง (วันที่ 14) พบว่ากลุ่ม T1 T2 และ T6 มีค่าความแตกต่างทางสถิติด้านเชื้อ *E. coli* ในมูลที่ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกลุ่มอื่นๆ ($p<0.01$) ทำนองเดียวกันกับกลุ่ม T4 และ T5 ที่มีแนวโน้มของค่าเชื้อ *E. coli* ในมูลที่น้อยลงใกล้เคียงกับ 3 กลุ่มข้างต้น ทั้งนี้ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ช่วงเวลาที่เปลี่ยนแปลงไปจากจุดเริ่มต้น และสิ้นสุดงานทดลองนั้นส่งผลต่อเชื้อ *E. coli* ในมูลที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

ตารางที่ 3. แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในมูลของลูกสุกรหย่านม (หน่วยเป็น Log ฐาน 10)

E.coli (cfu/grams), Log10unit	T1	T2	T3	T4	T5	T6	P-value
วันที่ 1	8.03 ± 0.55	8.34 ± 0.61	8.18 ± 0.48	8.18 ± 0.44	7.52 ± 0.78	8.17 ± 0.80	0.51
วันที่ 14	4.76 ± 0.60 C	5.01 ± 0.51 C	6.39 ± 1.06 A	6.04 ± 0.21 AB	5.26 ± 0.74 BC	5.03 ± 0.42 C	0.002
Paired T-test	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	

A, B, C อักษรที่แตกต่างกันของแต่ละคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$)

ผลการทดลองด้านการประเมินร้อยละของสุกรที่แสดงอาการท้องเสียในช่วงหลังหย่านม ดังแสดงในตารางที่ 4 ที่เริ่มต้นงานทดลอง (วันที่ 0) ลูกสุกรกว่า 80 เปอร์เซ็นต์จากทุกกลุ่มทดลองแสดงอาการท้องเสีย หลังจากนั้นเมื่อพิจารณาที่วันที่ 7 จะพบว่าร้อยละของอัตราท้องเสียในลูกสุกรนั้นลดลงทุกกลุ่มทดลอง ทั้งนี้พบว่ากลุ่ม T2 และ T6 มีค่าร้อยละของอัตราท้องเสียที่ลดลงมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ในทางกลับกัน กลุ่มทดลอง T1 มีค่าร้อยละของอัตราท้องเสียที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ เมื่อสิ้นสุดงานทดลอง (วันที่ 14) พบว่าร้อยละของอัตราท้องเสียในลูกสุกรลดลงในทุกกลุ่ม แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพบว่าไม่มีค่าความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4. ร้อยละของการเกิดอาการท้องเสียในลูกสุกรหย่านม

ร้อยละอาการท้องเสีย	T1	T2	T3	T4	T5	T6	P-value
วันที่ 1	83.80 ± 9.63	92.00 ± 6.96	85.20 ± 5.54	88.00 ± 7.65	79.60 ± 4.16	83.20 ± 5.67	0.12
วันที่ 7	50.80 ± 7.40 A	38.80 ± 7.19 B	46.20 ± 5.67 AB	41.60 ± 6.88 AB	44.60 ± 6.84 AB	37.00 ± 5.43 B	0.03
วันที่ 14	4.00 ± 2.24	2.80 ± 1.10	1.80 ± 0.84	2.20 ± 1.30	2.00 ± 1.22	2.00 ± 1.41	0.17

A, B อักษรที่แตกต่างกันของแต่ละคอลัมน์แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$)

วิจารณ์ผลงานทดลอง

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเลือกประชากรสุกรในพื้นที่ที่มีการทำปศุสัตว์อย่างหนาแน่น เพื่อให้สภาพแวดล้อม และปัจจัยควบคุมต่างๆ เป็นไปตามธรรมชาติ โดยไม่มีการกำหนดปัจจัยอื่นใดทั้งสิ้น ซึ่งพื้นที่ที่ทำงานวิจัยคือจังหวัดราชบุรี ที่ซึ่งมีการเลี้ยงสุกรมากที่สุดในประเทศไทย (กรมปศุสัตว์, 2560) ซึ่งการเลี้ยงในพื้นที่ปศุสัตว์อย่างหนาแน่นอาจทำให้มีการติดต่อ และระบาดของโรคอย่างชุกชุม อย่างไรก็ตามระบบการเข้าถึงฟาร์ม (access to farm) ของพื้นที่ทำงานวิจัยได้มีระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) เข้ามาป้องกันปัจจัยแทรกซ้อนจากเชื้อโรคภายนอกได้

สารเสริมทดแทนในงานวิจัยสามารถจำแนกได้ดังนี้

1.กลุ่ม colistin จัดอยู่ใน polymyxin antibiotics ที่ใช้รักษาการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารในสุกร ซึ่งยาปฏิชีวนะชนิดนี้ออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น อี.โคไล ซัลโมเนลลา และวิบริโอ เป็นต้น ออกฤทธิ์โดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (lipid A) ของเชื้อแบคทีเรียให้เสียสภาพ เกิดการรั่วไหลของสารในเซลล์ และทำให้เซลล์ตาย ในท้องตลาดมีการผลิตโคลิสตินสำหรับผสมอาหารทั้งที่มีลักษณะเป็นของแข็ง และของเหลว เรียกว่า solid and liquid medicated premixed นอกจากนี้ยังมีโคลิสตินรูปแบบอาหารสัตว์สำเร็จรูปผสมโคลิสติน หรือ medicated feed ซึ่งการใช้ยาผสมอาหารเป็นรูปแบบที่เกษตรกรนิยมใช้เพื่อควบคุมการติดเชื้อ และรักษาโรคเนื่องจากการติดเชื้อ อี.โคไลในสุกรระยะตั้งแต่แรกเกิดถึงสุกรที่มีน้ำหนักตัว 25 กิโลกรัม

2.กลุ่มสารสกัดจากพืช โดยสกัด bromelain ได้จากแกนสับปะรด เป็นเอนไซม์กลุ่ม proteases ส่วนประกอบหลักได้แก่ stem bromelain 80% fruit bromelain 10% และ ananain 5% นอกจากนั้น 5% คือ non-protease ได้แก่ phosphatases, glucosidases, peroxidases, cellulases และ glycoproteins (Mondal และคณะ 2011) และพบว่ามีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเช่นกัน (Maurer, 2001) ซึ่งจากการรายงานของ Van Beckhoven และคณะ 1995 ระบุว่า bromelain ทำหน้าที่เช่นเดียวกับเอนไซม์ subtilisins ที่พบได้จาก *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus amyloliquifaceins* ทำหน้าที่หลักคือเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในทางเดินอาหาร

3.กลุ่ม antimicrobial drug ยกตัวอย่างเช่น ampicillin gentamicin neomycin fosfomycin tetracycline และ apramycin ซึ่งจากการรายงานของ Quesada และคณะ 2014 พบว่า apramycin มีค่า colistin-susceptible isolates อยู่ที่ 4.5% และค่า colistin-resistant isolates อยู่ที่ 12.40% ซึ่งค่า resistance ที่เกิดขึ้นน้อยกว่าสารกลุ่ม antimicrobial drug อื่นๆได้แก่ tetracycline (93.8%), ampicillin (79.5%), florfenicol (64.3%), cefotaxime (13.2%), neomycin (56.6%), gentamicin (29.1%), ciprofloxacin (28.3%), fosfomycin (7.8%) และ amikacin (0.4%) (Huang และคณะ 2017)

นอกจากนี้ได้มีการเสริมด้วยยาปฏิชีวนะกลุ่ม flavomycin ที่เป็นสารเชิงซ้อนของยาปฏิชีวนะ เกิดจากการจำแนก *Streptomyces bambergiensis* และ *Streptomyces ghanaensis* ทำหน้าที่ลดการติดเชื้อของเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารได้ และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร (feed utilization) ของสุกรได้ (Huvepharma, 2019)

4.กลุ่มสารแร่ธาตุ copper (Cu) เป็นสารมีประโยชน์ และเป็นเอนไซม์สำคัญกลุ่ม metalloenzymes ในกระบวนการ cytochrome oxidase และ lysyl oxidase ซึ่งจะช่วยลดและป้องกันผลเสียที่เกิดจาก

ความเครียดได้ (Hill, 2013) และปริมาณในการเสริมให้กับลูกสุกรมีระดับที่แนะนำตาม NRC (2012) อยู่ที่ 5-6 mg/kg ของ Cu ที่ใช้ในกระบวนการสันดาป

5.กลุ่มสาร acidifier คือ butyric acid หรือ butanoic acid เป็นกรดไขมันระเหยง่ายสายสั้น (short chain fatty acid, SCFA) เกิดจากกระบวนการหมักในทางเดินอาหารของสุกร โดยพบว่านอกจาก butyric acid แล้วยังมี propionic acid มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการต้านจุลชีพก่อโรคในทางเดินอาหาร (Stecher และ Hardt, 2011) แต่ด้วยความที่มีคุณสมบัติเป็นกรด มีฤทธิ์ในการกัดกร่อน และเป็นสารระเหยง่าย ดังนั้นในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์จึงมีการนำ butyric acid จับกับแร่ธาตุ เช่น Ca และ Na (Machinsky และคณะ 2015)

กลุ่ม yeast คือ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งสามารถสร้างสารปฏิชีวนะธรรมชาติช่วยส่งเสริมสุขภาพและการเจริญเติบโตของสัตว์ การเติมยีสต์ในอาหารลูกสุกรสามารถช่วยปรับปรุงการย่อยได้ของโปรตีน และเยื่อใยประเภทเฮมิเซลลูโลส (Mathew และคณะ 1998) และมีหน้าที่หลักในการเพิ่มภูมิคุ้มกันประเภท sIgA (secretory immunoglobulin A) ที่อยู่ในทางเดินอาหาร (Ren และคณะ 2016) ซึ่งส่งผลโดยตรงในการลดปัญหาท้องเสียในช่วงหย่านม (Shen และคณะ 2009; Trckova และคณะ 2014).

6. กลุ่ม probiotics คือ *Bacillus subtilis* คือจุลินทรีย์เป็นประโยชน์ จุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ในระบบทางเดินอาหาร ทำหน้าที่ปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้จะทำหน้าที่ช่วยให้การย่อยอาหารของสัตว์มีประสิทธิภาพดีขึ้น และพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ให้ดีขึ้น และคุณสมบัติอื่นๆที่ส่งผลดีต่อสมรรถภาพสัตว์ การสร้างความแข็งแรงให้กับเซลล์ดูดซึมในลำไส้ ลดอาการท้องเสีย ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโภชนะ และเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต (Hu และคณะ 2014; Lee และคณะ 2014; Owusu-Asiedu และคณะ 2014; Prieto และคณะ 2014)

จากการทบทวนวรรณกรรมข้างต้น กลุ่มสารเสริมทดแทนยาปฏิชีวนะโคลิสติน ต่างมีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินอาหาร และลดอัตราการเกิดท้องเสีย ทำให้ส่งผลดีต่อการเพิ่มสมรรถนะการผลิตทั้งในด้านการเจริญเติบโต ที่อ้างถึง ปริมาณอาหารที่กินได้ ประสิทธิภาพการย่อยได้ของสารอาหาร การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ซึ่งจากงานวิจัยได้แสดงให้เห็นว่ากลุ่ม T1 นั้นมีค่าการเจริญที่ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มสารเสริมทดแทน ทีมผู้วิจัยสามารถสรุป 3 หลักการที่จะอธิบายผลข้างต้นได้ดังนี้

1.คุณสมบัติของสารเสริมทดแทนแต่ละกลุ่มมีกลไกการออกฤทธิ์ (mode of action) ที่ซับซ้อนกว่าโคลิสติน เช่น bromelain ที่จัดเป็นเอนไซม์ protease ในทางเดินอาหาร ที่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ subtilisins ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ ทั้งยังมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ในช่วงค่า pH ได้ตั้งแต่ 5.0 ถึง 10.0 (Engwerda และคณะ 2001) ซึ่งอธิบายตามหลักกายวิภาคได้คือสามารถทำหน้าที่ได้ตลอดช่วงทางเดินอาหารในส่วนลำไส้เล็ก นอกจากนี้มีผลต่อ secretory signaling pathways ส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ glycoprotein receptors ที่ intestinal mucosa มีคุณสมบัติเป็น anti-adhesion ต่อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยเฉพาะ K88+ ETEC (Chandler และ Mynott, 1998)

2.การใช้สารเสริมทดแทนแบบปัจจัยเดี่ยว เช่น Cu ในรูป $CuSO_4$ อาจมีคุณสมบัติต่อการยับยั้ง อาการท้องเสียหลังหย่านม ที่แคบ โดย Cu ในกระบวนการสันดาปสามารถปรับสภาพทางเดินอาหารส่วนต้นและส่วนกลางให้มีความเป็นกรด ซึ่งเหมาะสมต่อจุลินทรีย์มีประโยชน์ ซึ่งข้อจำกัดคือการลดจำนวนของ lactic acid bacteria, lactobacilli และ streptococci ที่ส่วนท้ายของทางเดินอาหาร (ileal and colonic

microbiota) โดยพบว่าการเสริม Cu จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง cecal VFA (volatile fatty acid) โดยทำให้ A:P ratio (acetic:propionic ratio) เปลี่ยนแปลงไป อีกทั้งยังเหนี่ยวนำการแสดงออกของ MDA (malondialdehyde) ที่เป็น lipid peroxidation ของทางเดินอาหารในกรณีที่มีการเสริมที่สุกรหย่านมอายุ 0-14 วัน (Hojberg และคณะ 2005)

3.คุณสมบัติของสารเสริมทดแทนบางกลุ่มต้องการปัจจัยร่วม โดยพบการรายงานของ Rekiel และคณะ 2007 กล่าวว่าการเสริม flavomycin ที่ระดับ 100 mg ในอาหาร 1 kg เทียบกับ probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*, yeasts) ในสุกรขุนตั้งแต่ 26 kg ขึ้นไปจนถึง 100 kg พบว่าการเสริม flavomycin ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันกับ probiotic ในด้าน การเจริญเติบโต คุณภาพซาก โลหิตวิทยา และสัณฐานวิทยาลำไส้ นั้นอาจแสดงให้เห็นว่าการเสริม flavomycin ที่มีการสกัดและจำแนกมาจาก *Streptomyces bambergiensis* และ *Streptomyces ghanaensis* สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตได้ และส่งผลเชิงบวกต่อคุณภาพซากรวมทั้งปรับปรุงการทำงานของระบบย่อยอาหาร ก่อนหน้านี้ไม่มีการรายงานการใช้ flavomycin ในลูกสุกรหย่านม อย่างไรก็ดีจากงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ apramycin ร่วมกับ flavomycin (ปัจจัยร่วม) ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างจากสารเสริมทดแทนกลุ่มอื่นๆ

Ma และคณะ 2015 รายงานคุณสมบัติเบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของ Cu นั้นสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของสุกรได้ สอดคล้องกับการรายงานของ Perez และคณะ 2011 ที่พบว่าการเสริม Cu ที่ระดับ 100-250 mg/kg ของอาหาร จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินได้ และลดอัตราสูญเสียของสุกรได้ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มพื้นที่สัณฐานวิทยาของลำไส้ และสุขภาพของลำไส้ให้ดีขึ้นได้ในสุกรหย่านม (Zhao และคณะ 2007) อย่างไรก็ตาม ฟอร์ม (form) ของการเสริม Cu มีหลากหลายรูปแบบ เช่น sulfate ($CuSO_4$) หรือ tribasis copper chloride (TBCC) ซึ่งประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ได้ของ Cu นั้นไม่แตกต่างกัน (Cromwell และคณะ 1998) แต่ CuSO4 จะสามารถละลายได้ดีทั้งในน้ำและในสภาพกรด

การเสริม butyric acid มีผลโดยตรงต่อการพัฒนาระบบทางเดินอาหาร เช่น cell proliferation เพิ่มพื้นที่การดูดซึมอาหาร และเป็นบาเรียป้องกันการเข้าทำลายผนังลำไส้จาก *E. coli* (Lu และคณะ 2008; Hanczakowska และคณะ 2014; Huang และคณะ 2015) รวมไปถึงการเพิ่ม gene expression ของ ยีนสร้างกล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมันที่เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน โดยการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยเครื่อง RT-PCR (real-time polymerase chain reaction) (Le Gall และคณะ 2009; Lu และคณะ 2012) และ yeast ที่มีคุณสมบัติชัดเจนในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของทางเดินอาหาร เช่นเดียวกับ probiotics และยังมีคุณสมบัติที่น่าสนใจคือ การใช้ออกซิเจนในการเมทาโบลิซึม เพราะทำให้จุลินทรีย์กลุ่ม anaerobic bacteria มีประสิทธิภาพการทำงานดีขึ้น โดยหน้าที่หลักของ anaerobic bacteria คือการลดการผลิต CH_4 และเพิ่มการผลิต lactic acid โดยเริ่มจากการที่ pH ในทางเดินอาหารมีความเหมาะสมต่อการเมทาโบลิซึม VFA ส่งผลทำให้จุลินทรีย์กลุ่ม proteolytic bacteria เพิ่มขึ้น (Ogbuewu และคณะ 2018) และการทำงานร่วมกันของ butyric acid และ yeast (ปัจจัยร่วม) ส่งผลโดยรวมครบทุกด้าน โดยกรดจะสนับสนุนด้านการดูดซึมอาหาร เพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร และ yeast จะเพิ่มจุลินทรีย์มีประโยชน์ต่อระบบ และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้จากเอนไซม์

กลุ่มสุดท้ายคือ probiotics (*Bacillus subtilis*) กลไกการทำงานของ probiotics ต่ออาการท้องเสียหลังหย่านม โดย *Bacillus subtilis* เมื่อเดินทางเข้าสู่ทางเดินอาหารส่วนลำไส้เล็ก จะมีการเข้าเกาะกับผนัง

ลำไส้ และมีการผลิต organic acid, hydrogen peroxide, lactoferrin และ bacteriocin ซึ่งจัดเป็น antimicrobial substances ต่อจุลินทรีย์ก่อโรค และด้วยเอนไซม์ที่สำคัญจาก probiotics เช่น b-galactosidase, superoxide dismutase (SOD) และกลุ่ม proteolytic enzyme ทำให้กิจกรรมของทางเดินอาหาร มีประสิทธิภาพเพิ่มสูงขึ้น (Stecchini และคณะ 2001) และพัฒนาระบบ gut associated lymphoid tissue (GALT) ส่งผลพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน ยิ่งไปกว่านั้น *Bacillus subtilis* แสดงผลโดดเด่นในด้านสมรรถนะการผลิตต่อท้องเสียหลังหย่านม

บทสรุป

การใช้สารเสริมทดแทนยาปฏิชีวนะโคลิสตินต่ออาการท้องเสียหลังหย่านม (post-weaning diarrhea: PWD) ที่มีคุณสมบัติการป้องกัน รักษาอาการท้องเสีย ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและพัฒนาระบบทางเดินอาหาร จากผลการทดลองพบว่าอาหารทดลองทั้ง 5 กลุ่ม (T2-T6) มีคุณสมบัติสามารถใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ (ABO replacer) โดยสารเสริมกลุ่ม (T2) bromelain และกลุ่ม (T3) apramycin ร่วมกับ flavomycin ให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับ (T1) โคลิสติน อาหารกลุ่ม metabolic intermediate คือ (T4) $CuSO_4$ และกลุ่ม (T5) butyric acid ร่วมกับ yeast ให้ผลการทดลองด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ดีกว่า 3 กลุ่มข้างต้น และกลุ่ม (T6) probiotics นอกจากให้ผลใกล้เคียงกับกลุ่ม (T1) โคลิสติน แล้วยังให้ผลการทดลองด้านสมรรถนะการผลิตที่โดดเด่นกว่าทุกกลุ่ม งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสารเสริมต้องให้ผลเป็นวงกว้างต่อระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้คุณสมบัติของสารเสริมต่ออาการท้องเสียหลังหย่านม ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมสำหรับการใช้ปัจจัยร่วม หรือปัจจัยกลุ่ม (2 กลุ่มขึ้นไป) เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมของสารเสริม (interaction effect)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์การเก็บตัวอย่างและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในการทำงานวิจัย และสัตวแพทย์หญิงวนิดา แจ้งประจักษ์, สัตวแพทย์หญิงวชิราพร แสนสม, สัตวแพทย์หญิงณัฐวีณา ชินรัตนลาภ ที่ช่วยประสานงาน เรียบเรียงข้อมูล ออกพื้นที่ร่วมงาน และเจ้าหน้าที่กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์, 2560. จาก http://ict.dld.go.th/th2/index.php/th/report/529-report-thailand-livestock/reportservey2560/1243-2560-prov.

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย. 2560. เกณฑ์กำหนดมาตรฐานฟาร์ม. จาก https://tsva.or.th/standard-of-pig-farm-criteria.

AOAC, Methods of Analysis of AOAC International. 2016. 20th Method 991.14.

Campbell JM, Crenshaw JD and Javier P 2013. The biological stress of early weaned piglets. J Anim Sci Biot. 4(1):19.

Chandler DS and Mynott TL 1998. Bromelain protects piglets from diarrhea caused By oral challenge with K88 positive Enterotoxigenic Escherichiacoli. Gut. 43:196–202.

Cromwell GL, Lindemann MD, Monegue HJ, Hall DD and Orr Jr DE 1998. Tribasic copper chloride and copper sulfate as copper sources for weanling pigs. J Anim Sci. 76:118-123.

Engwerda C, Randrew D, Ladhams A and Mynott TL 2001.Bromelain modulates T cell and B cell immune responses in vitro and in vivo. Cell Immunol. 210:66–75.

Hanczakowska E, Niwinska B, Grela ER, We˛glarzy K and Okon K 2014. Effect of dietary glutamine, glucose and/or sodium butyrate on piglet growth, intestinal environment, subsequent fattener performance, and meat quality. Czech J Anim Sci. 59:460-470.

Hojberg O, Canibe N, Poulsen HD, Hedemann MS and Jensen BB 2005. Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. Appl Environ Microbiol 71:2267-2277.

Hill GM 2013. Minerals and mineral utilization in swine. In: Chiba LI, editor. Sustainable swine nutrition. Oxford, U.K.: Blackwell Publishing Ltd. p.186-189.

Hu Y, Dun Y, Li S, Zhao S, Peng N and Liang Y 2014. Effects of Bacillus subtilis KN-42 on growth performance, diarrhea and faecal bacterial flora of weaned piglets. Asian Australas J Anim Sci. 27:1131–40.

Huang C, Song P, Fan P, Hou C, Thacker P and Ma X 2015. Dietary sodium butyrate decreases post weaning diarrhea by modulating intestinal permeability and changing the bacterial communities in weaned piglets. J Nutr. 145:2774-2780.

Huang X, Yu L, Chen X, Zhi C, Yao X, Liu Y, Wu S, Guo Z, Yi L and Zeng Z 2017. High prevalence of colistin resistance and mcr-1 gene in *Escherichia coli* isolated from food animals in China. Front Microbial. 8: 562.

Huvephamrma. 2019. จาก https://www.huvepharma.com/products/flavomycinr-40

Kyriakis SCI, Georgoulakis A, Spais C, Alexopoulos CC and Kritas SK 2003. Evaluation of toyocerin, a probiotic containing Bacillus toyoi spores, on health status and productivity of weaned, growing and finishing pigs. Asian-Australasian J Anim Sci. 16(9):1326-1331

Lee SH, Ingalev SL, Kim JS, Kim KH, Lokhande A and Kwon IK 2014. Effects of supplementation of Bacillus subtilis LS 1-2 grown on citrus-juice waste and corn-soybean meal substrate on performance and gut health of weaning pigs. Anim Nutr Feed Technol. 14:225.

Lu R, Wang X, Sun DF, Tian XQ, Zhao SL and Chen YX 2008. Folic acid and sodium butyrate prevent tumorigenesis in a mouse model of colorectal cancer. Epigenetics. 3:330-335..

Le Gall M, Gallois M, Seve B, Louveau I, Holst JJ and Oswald IP 2009. Comparative effect of orally administered sodium butyrate before or after weaning on growth and several indices of gastrointestinal biology of piglets. Br J Nutr. 102:1285-1296.

Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R and Spencer J. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet infect Dis. 16:161–168.

Lu H, Su S and Ajuwon KM 2012. Butyrate supplementation to gestating sows and piglets induces muscle and adipose tissue oxidative genes and improves growth performance. J Anim Sci. 90(4):430-432.

Ma YL, Zanton GI, Zhao J, Wedekind K, Escobar J and Vazquez-Anon M 2015. Multitrial analysis of the effects of copper level and source on performance in nursery pigs. J Anim Sci. 93:606-614.

Machinsky TG, Kessler M, Ribeiro AML, Moraes L, Mello da Silva IC and Mayorga-Cortes ME 2015. Nutrient digestibility and Ca and P balance in pigs receiving butyric acid, phytase and different calcium levels. Ciencia Rural. 40:2350-2355.

Mathew AG, Chattin SE, Robbins CM and Golden DA 1998. Effects of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, and performance of weanling pigs. J Anim Sci. 76:2138-2145.

Maurer HR 2001. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. Cell Mol Life Sci. 58:1234–1245.

Minitab (Version 16) [Software] 2013. [Last accessed on 2013 Aug 28]. Available from: http://www.minitab.com/en-US/products/minitab/default.aspx

Mondal S, Bhattacharya S, Pandey JN and Biswas M 2011. Evaluation of acute anti-inflammatory effect of Ananas comosus leaf extract in Rats. Pharmacology Online 3: 1312–1315.

NRC. In: Nutrient requirements of swine. 11th rev. Washington, DC: Natl. Acad. Press; 2012.

Ogbuewu IP, Okoro VM, Mbajiorgu EF and Mbajiorgu CA 2018. Yeast (Saccharomyces cerevisiae) and its effect on production indices of livestock and poultry — a review. Comp Clin Pathol. 28:669–677

Owusu-Asiedu A, Jaworski NW, Awati AA and Stein HH 2014. Effect of Bacillus spp. direct-fed microbial supplementation on the nutrient digestibility by weanling pigs. J Anim Sci. 92(2):143.

Perez VG, Waguespack AM, Bidner TD, Southern LL, Fakler TM and Ward TL 2011. Additivity of effects from dietary copper and zinc on growth performance and fecal microbiota of pigs after weaning. J Anim Sci. 89:414-425.

Pigprogress, A balanced approach in sow and piglet diets. 2018. [Online] Available: https://www.pigprogress.net/Nutrition/Articles/2018/9/A-balanced-approach-in-sow-and-piglet-diets-327524E. Accessed June 1, 2018.

Prieto ML, Laurie OS, Shiau PT, McLoughlin P, O'Donovan RMC, Kent RM, Cassidy JP, Hughes H, Gardiner GE and Lawlor PG 2014. Evaluation of the efficacy and safety of a marine-derived bacillus strain for use as an in-feed probiotic for newly weaned pigs. PLoS One 9(2):88599.

Quesada A, Porrero MC, Tellez S, Palomo G, Garcia M and Dominguez L 2014. Polymorphism of genes encoding PmrAB in colistin-resistant strains of *Escherichia coli* and Salmonella enterica isolated from poultry and swine. J Antimicrob Chemother. 70:71–74.

Rekiel A, Wiecek J, Bielecki W, Gajewska J, Cichowicz M, Kulisiewicz J, Batorska M, Roszkowski T and Beyga K 2007. Effect of addition of feed antibiotic flavomycin or prebiotic BIO-MOS on production results of fatteners, blood biochemical parameters, morphometric indices of intestine and composition of microflora. Arch Tierz Dummerstorf. 50:172–180.

Ren W, Wang K, Yin J, Chen S, Liu G, Tan B, Wu G, Bazer FW, Peng Y and Yin Y 2016. Glutamine-induced secretion of intestinal secretory immunoglobulin A: A mechanistic perspective. Front Immunol. 7:503.

Rhouma M, Fairbrother JM, Beaudry FF and Letellier A 2017. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non colistin based control strategies. Acta Vet Scand. 59:31.

Shen Y B, Piao X S, Kim S W, Wang L, Liu P, Yoon I and Zhen YG 2009. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. J Anim Sci. 87:2614–2624.

Statistical Analysis System (SAS). 2004. SAS Online. Doc, Version 9.0. SAS Institute Inc., Cary, NC: USA

Stecchini ML Torre MD and Munari M 2001. Determination of peroxy radical scavenging of lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol.64:183.

Stecher B and Hardt WD 2011. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut. Curr Opin Microbiol. 14:82-91.

Trckova M, Faldyna M, Alexa P, Sramkova Zajacova Z, Gopfert E, Kumprechtova D, Auclair E and D'Inca R 2014. The effects of live yeast Saccharomyces cerevisiae on postweaning diarrhea, immune response, and growth performance in weaned piglets. J Anim Sci. 92:767–774.

Van Beckhoven RF, Zenting HM, Maurer KH, Van Solingen P and Weiss A 1995. Bacillus cellulases and its application for detergents and textile treatment. EPOff. 739:982–988.

Zhao J, Harper AF, Estienne MJ, Webb Jr KE, McElroy AP and Denbow DM 2007. Growth performance and intestinal morphology responses in early weaned pigs to supplementation of antibiotic-free diets with an organic copper complex and spray-dried plasma protein in sanitary and non-sanitary environments. J Anim Sci. 85:1302-1310.