

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ MRG 5080094

ชื่อโครงการ การคัดเลือกและประยุกต์ใช้โปรไบโอติกแบคทีเรียเพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรคและกระตุ้น
การเจริญเติบโตในไก่กระທ

ชื่อนักวิจัย ดร.มงคล ธิบุญยานนท์

ระยะเวลาโครงการ 2 ปี 6 เดือน ตั้งแต่ 1 ธันวาคม 2549 – 31 พฤษภาคม 2552

การวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียจำนวน 240 ไอโซเลท จากระบบทางเดินอาหารของไก่
พื้นเมืองเพื่อนำไปทดสอบหาแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ทั้งนี้เพื่อนำโปรไบโอติก
แบคทีเรียที่คัดเลือกได้ไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันและรักษาโรค รวมทั้งเพื่อเป็นการป้องกันการ
ปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในเนื้อ และผลิตภัณฑ์เนื้อสู่ผู้บริโภค จากการทดสอบแบคทีเรียรูปท่อน
จำนวน 117 ไอโซเลท พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งเชื้อ
ก่อโรค 7 สายพันธุ์ คือ *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*,
Bacillus cereus, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* และ *Vibrio cholerae*
ผลจากการศึกษาการมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียรูปท่อนพบว่ามี 1 ไอโซเลท คือ
NC11 มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ดีที่สุด ผลจากการเปรียบเทียบลำดับยีน 16S
rRNA พบว่าไอโซเลท NC11 คือ *Bacillus subtilis* และเรียกชื่อใหม่ว่า *B. subtilis* NC11
นอกจากนี้ยังพบว่าโปรไบโอติกแบคทีเรียดังกล่าวไม่มีฤทธิ์ต้านยาปฏิชีวนะจำนวน 21 ชนิด ไม่มี
พิษต่อเซลล์เยื่อผิวของลำไส้ สามารถลดปริมาณการยึดเกาะของเชื้อก่อโรค *S. enteritidis* ที่ผิว
เซลล์เยื่อผิวของลำไส้จากการประเมินผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และสามารถป้องกันการ
การบุกรุกหรือการติดเชื้อก่อโรค *S. enteritidis* ต่อเซลล์เยื่อผิวของลำไส้

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถบ่งชี้ได้ว่า *B. subtilis* NC11 เป็นโปรไบโอติกแบคทีเรียที่มี
ประสิทธิภาพและมีฤทธิ์ในการป้องกันการติดเชื้อก่อโรค *S. enteritidis* ทั้งนี้สามารถนำโปรไบโอ
ติกแบคทีเรียดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในสัตว์ รวมทั้งสามารถป้องกันการติด
เชื้อก่อโรคจากเนื้อ และผลิตภัณฑ์เนื้อสู่ผู้บริโภค

คำหลัก : *Bacillus subtilis*, โรค, การติดเชื้อก่อโรค, โปรไบโอติก, *Salmonella enteritidis*

Abstract

Project Code : MRG 5080094

Project Title : Probiotic bacteria screening, application to against pathogens and increase productivity in chickens

Investigator : Dr. Mongkol Thirabunyanon, Maejo University

E-mail Address : mthirabun@yahoo.co.th

Project Period : 2 years and 6 months from 1 December 2006 – 31 May 2009

The activity of 240 bacterial isolates screened from the gastrointestinal tracts of native chickens were evaluated for use as a potential probiotic in food animal production in order to protect against animal diseases and reduce pathogenic contamination of human food products. In observing the antagonistic activity of 117 bacilli isolates, 10 of these isolates exhibited higher growth inhibition of seven foodborne pathogens, including *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio cholerae*. Beneficial probiotic criteria from these isolates – which included non-pathogenicity, acid and bile salt tolerance, hydrophobicity, and adhesion to intestinal epithelial cells – exhibited that one isolate of NC11 had the most potential as a probiotic. 16S rRNA gene sequencing showed that this NC11 isolate was *Bacillus subtilis*. This *B. subtilis* NC11 was sensitive to all antibiotics and was not cytotoxic to intestinal epithelial cells. Reduction of *S. enteritidis* attachment to the surfaces of intestinal epithelial cells via action of a cultured medium from *B. subtilis* NC11 was observed by scanning electron microscopy. *B. subtilis* NC11 cells, as well as the bacterial cultured medium or the cultured medium adjusted to pH 7, significantly inhibited *S. enteritidis* invasion ($P<0.01$) of intestinal epithelial cells.

This study indicates that *B. subtilis* NC11 has characteristics of a potential probiotic, and exhibits strong inhibition activity against *S. enteritidis* infection to intestinal epithelial cells.

Keywords : *Bacillus subtilis*, disease, infection, probiotic, *Salmonella enteritidis*