

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

##### การเตรียมโอโอซิสต์

ในการเตรียมโอโอซิสต์เพื่อใช้ทดสอบสารสกัดสมุนไพร (กระชาย ไพล และใบฝรั่ง) และยาต้านบิตชนิดแอมโพเรียม เตรียมได้จากโอโอซิสต์ระยะติดต่อของเชื้อบิตชนิด *E. tenella* ซึ่งเก็บไว้ใน potassium dichromate (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) เมื่อนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าโอโอซิสต์มีการปะปนของผนังลำไส้และ cecal content ที่ถูกขูดออกมาพร้อมกับเชื้อบิต ทำให้มองเห็นโอโอซิสต์ได้เพียงเล็กน้อย เป็นอุปสรรคต่อการนำไปใช้ทดสอบ ด้วยเหตุนี้จึงได้ศึกษาวิธีการลดสิ่งปนเปื้อนต่างๆ ที่ตกค้างขณะเก็บโอโอซิสต์ให้เหลือน้อยที่สุด โดยการทำ floatation technique ด้วยน้ำเกลืออิ่มตัว ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Jackson (1964) วิธีการดังกล่าวมีผลทำให้สิ่งปนเปื้อนต่างๆ ลดลง สามารถมองเห็นโอโอซิสต์ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น (ภาพที่ 9)

เมื่อนำโอโอซิสต์ดังกล่าวมาบดด้วย glass beads เพื่อให้ผนังโอโอซิสต์แตกออก ปรากฏว่ามีผลให้สปอโรซิสต์ ซึ่งอยู่ภายในหลอดออกมา มีโอโอซิสต์เพียงบางส่วนที่ยังคงสภาพเดิม (ภาพที่ 10) ในขั้นตอนนี้สังเกตพบว่าสปอโรซอยท์ มีการเคลื่อนตัวขณะอยู่ในสปอโรซิสต์ โดยสปอโรซอยท์ทั้ง 2 เคลื่อนตัวซ้อนทับไขว้กันเป็นรูปตัว X โดยใช้ส่วนหัวซึ่งมีขนาดเล็กกว่าส่วนท้ายเคลื่อนนำไปก่อน (ภาพที่ 11)

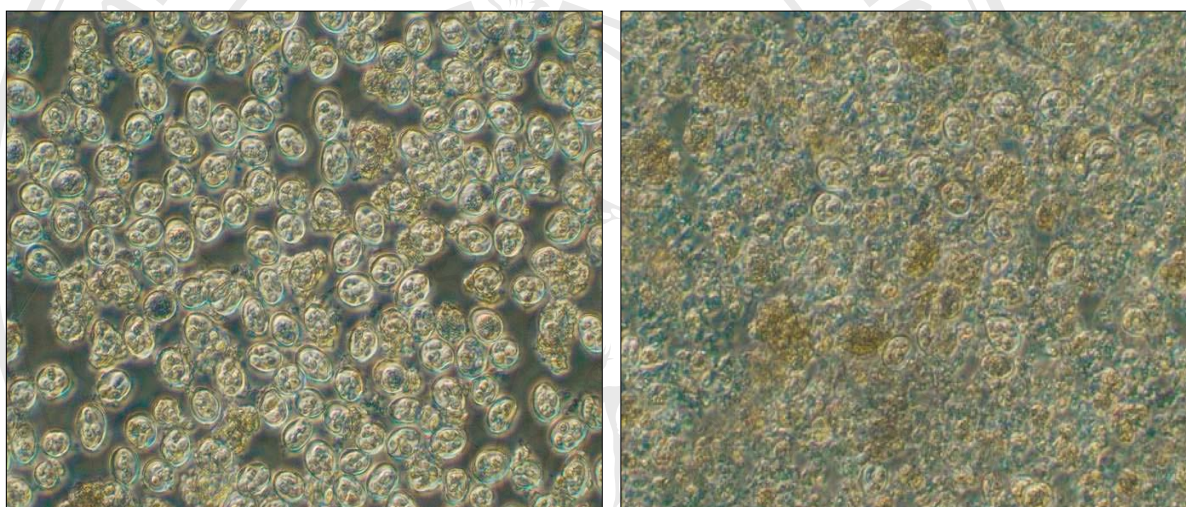
##### การเตรียมสปอโรซอยท์

ในการกระตุ้นสปอโรซอยท์ให้ออกจากสปอโรซิสต์ด้วยสารละลาย excystation<sup>1/</sup> ต้องใช้อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และน้ำดีที่เหมาะสม ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้อุณหภูมิ 41 และ 47 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของเอนไซม์ Trypsin-EDTA 0.25% และน้ำดีที่ระดับ 2.5, 5, 15 และ 30% ใส่สปอโรซิสต์ในสารละลายนาน 2 ชั่วโมง ผลปรากฏดังแสดงในภาพที่ 12 ซึ่งจะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส มีร้อยละการ excystation<sup>2/</sup> เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของน้ำดี กล่าวคือ มีค่าเท่ากับ 7.0, 18.8, 25.2 และ 10% ส่วนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียสพบสปอโรซอยท์

<sup>1/</sup> สารละลาย excystation ประกอบด้วย Trypsin - EDTA + น้ำดีไก่

<sup>2/</sup> Excystation หมายถึง การออกจากสปอโรซิสต์ของสปอโรซอยท์

ออกจากสปอโรซิสต์ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส คือ มีค่าเท่ากับ 84.9, 96.1, 97.8 และ 97.4% ตามลำดับ แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ไม่ใช้สารละลาย excystation, 0.9-1.0%) อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) และที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อใช้น้ำดีที่ความเข้มข้น 2.5% ขึ้นไปมีผลกระตุ้นการ excystation ของสปอโรซอยท์ให้ออกจากสปอโรซิสต์ได้มากกว่า 80% ส่วนรูปร่างของสปอโรซอยท์ที่ได้มีลักษณะคล้ายกล้วยหอม บางส่วนมีการเคลื่อนตัวในรูปแบบเดียวกับตัวหนอน แต่บางส่วนเคลื่อนที่น้อยมากหรืออยู่นิ่งจนไม่สามารถแยกได้ว่ามีชีวิตหรือไม่มีชีวิต



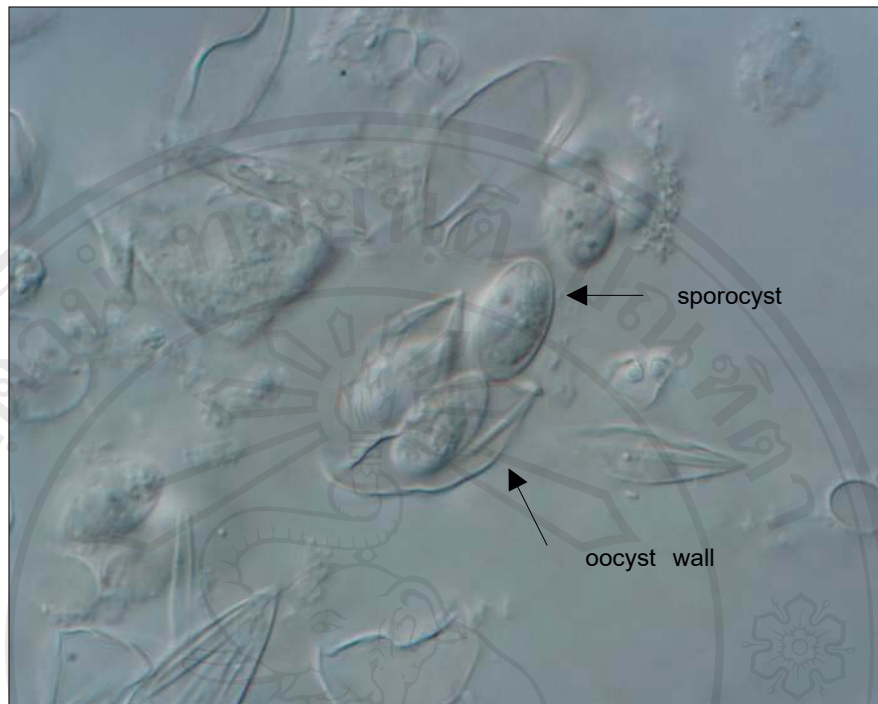
ก

ข

ภาพที่ 9 เปรียบเทียบโอโอซิสต์ที่ทำให้บริสุทธิ์ซึ่งมีการใช้ floatation technique (ก) และไม่ใช่ (ข) เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ขนาดโอโอซิสต์ประมาณ 24.6x18.8 ไมโครเมตร; อ้างโดยอาคม, 2541)

#### การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

เมื่อนำผงสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ กระชาย ฟ้าทะลายเถา และใบฝรั่ง ในปริมาณที่เท่ากัน (100 ก.) มาสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แล้วนำไปประเหยให้แห้งโดยวิธี distillation in vacuum พบว่า จะได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extract) ในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ 9.27, 4.37 และ 4.42 ก. ตามลำดับ จากนั้นละลายส่วนสกัดหยาบด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้ได้สารละลายความเข้มข้นต่างๆ กันและใช้ทดสอบต่อไป

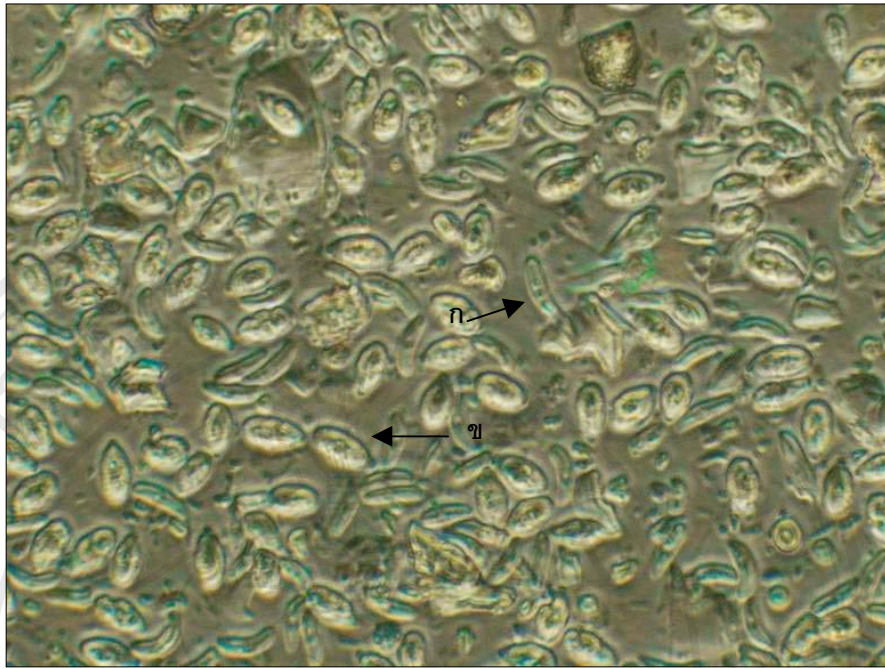


ก

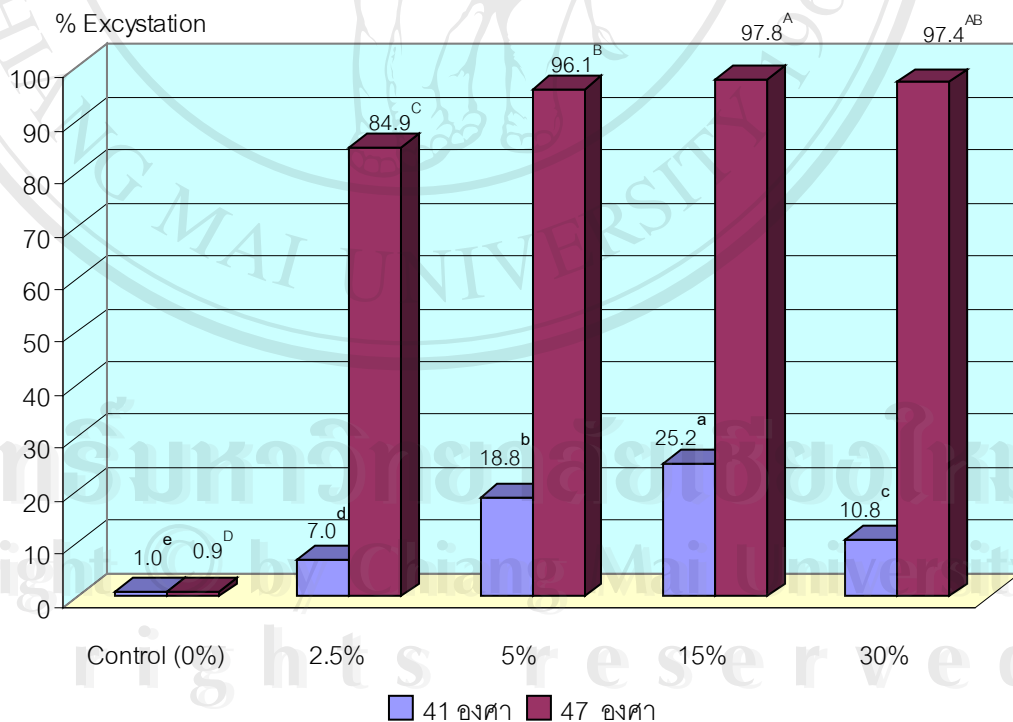


ข

ภาพที่ 10 ลักษณะโอโอซิสต์ที่แตกจากการบดด้วย glass beads (ก) สังกะตผนังโอโอซิสต์ที่แตกออก และลักษณะสปอโรซอइट์ที่อยู่ภายในสปอโรซิสต์ (ข)



ภาพที่ 11 ลักษณะสปอโรซอยท์ (รูปร่างคล้ายกล้วยหอม, ก) ที่ออกจากสปอโรซิสต์ (รูปร่างคล้ายแคปซูล, ข)



ภาพที่ 12 ผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นของน้ำดีไก่ในสารละลาย excystation (0-30%) ต่อการ excystation ของสปอโรซอยท์ (อักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ; abcde และ ABCD,  $P < 0.05$ )

### การทดสอบเซลล์ที่ได้จากการทำ *primary cell culture* ในตัวอ่อนไก่

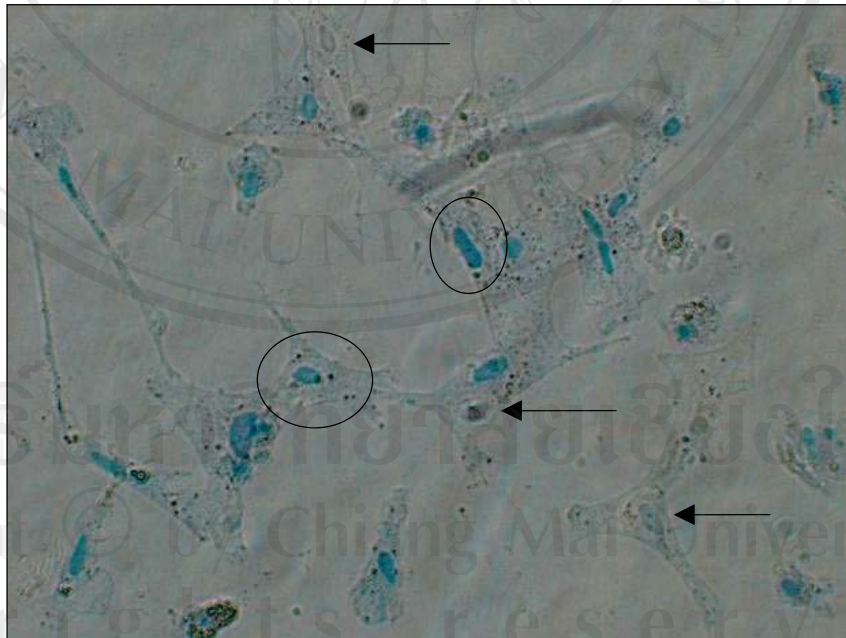
ผลการเลี้ยงเซลล์ตัวอ่อนไก่ที่ได้จากการทำ *primary cell culture* เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเซลล์ พบว่า เซลล์มีการแบ่งตัวแยกออกมาจากชิ้นเนื้อ และลงเกาะเจริญเต็มพื้นที่ในขวดเลี้ยงเซลล์ (ขนาด 25 ตร.ซม.) โดยเซลล์ที่พบส่วนใหญ่เป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายไฟโบรบลาส (fibroblast) ซึ่งลักษณะของเซลล์ดังกล่าวพบทั้งในกลุ่มควบคุมปกติ (เติมอาหารเลี้ยงเซลล์) กลุ่มควบคุมที่มีตัวทำลาย (เติมน้ำกลั่น 60 ไมโครลิตร/มล.) และกลุ่มที่ใช้ทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรหรือแอมโพรเลียม (ภาพที่ 13)

สำหรับลักษณะการติดสีของเซลล์ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหยาบจากสมุนไพร (ชนิดกระชาย ไพล และใบฝรั่ง) และแอมโพรเลียม เมื่อย้อมด้วย trypan blue นาน 3 ชั่วโมง เซลล์มีการติดสีในรูปแบบเดียวกัน คือ เซลล์ที่ตายแล้วนิวเคลียสติดสีน้ำเงินค่อนข้างเข้ม ส่วนไซโทพลาสซึมติดสีน้ำเงินจางๆ ทำให้สามารถแยกไซโทพลาสซึมจากนิวเคลียสได้ชัดเจน (ภาพที่ 14) ส่วนเซลล์มีชีวิตไม่ติดสีน้ำเงิน ส่วนใหญ่แยกไซโทพลาสซึมจากนิวเคลียสได้ยาก

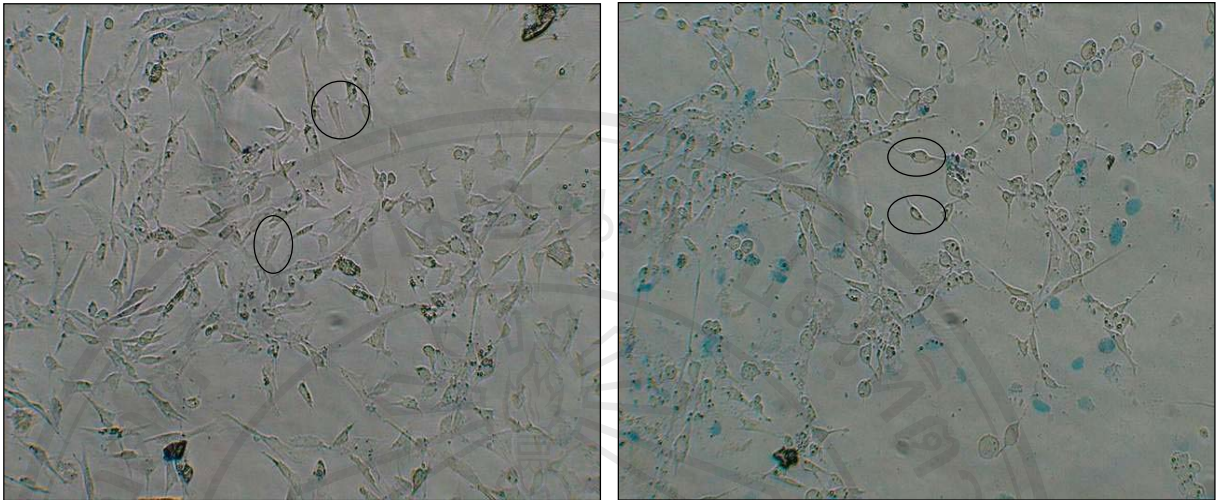
เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดสมุนไพร และยาต้านบิด พบว่า เซลล์ในบางกลุ่มมีลักษณะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมปกติ (เติมอาหารเลี้ยงเซลล์) อย่างชัดเจน โดยลักษณะของเซลล์ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกระชาย (ความเข้มข้น 0.015, 0.03, 0.06, 0.09 และ 0.12 ก./มล.) ที่ความเข้มข้น 0.06-0.12 ก./มล. มีผลให้เซลล์เปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างไปเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 0.015 ก./มล. กล่าวคือ เซลล์มีขนาดเล็กลง ไซโทพลาสซึมของเซลล์ส่วนใหญ่หดสั้นลง นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้น ติดสีน้ำเงินของ trypan blue มากขึ้น (ภาพที่ 15) ในขณะที่การทดสอบด้วยสารสกัดจากไพล (ความเข้มข้น 0.03, 0.06, 0.09, 0.12 และ 0.15 ก./มล.) ใบฝรั่ง (ความเข้มข้น 0.015, 0.045, 0.06, 0.09 และ 0.15 ก./มล.) หรือแอมโพรเลียม (ความเข้มข้น 0.015, 0.03, 0.045, 0.06 และ 0.09 ก./มล.) ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างของเซลล์ดังกล่าว แต่มีผลทำให้จำนวนเซลล์ติดสีมากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้น นอกจากนี้จำนวนเซลล์ที่ติดสีก็จะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารที่ใช้ทดสอบ (ภาพที่ 16 และ 17) ซึ่งได้มีการนับเพื่อหาค่าร้อยละของความมีชีวิตของเซลล์และนำมาวิเคราะห์ในหัวข้อต่อไป



ภาพที่ 13 ลักษณะเซลล์ตัวอ่อนไก่ที่ได้จากการทำ primary cell culture สังเกตเซลล์ส่วนใหญ่เป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายไฟโบรบลาสต์



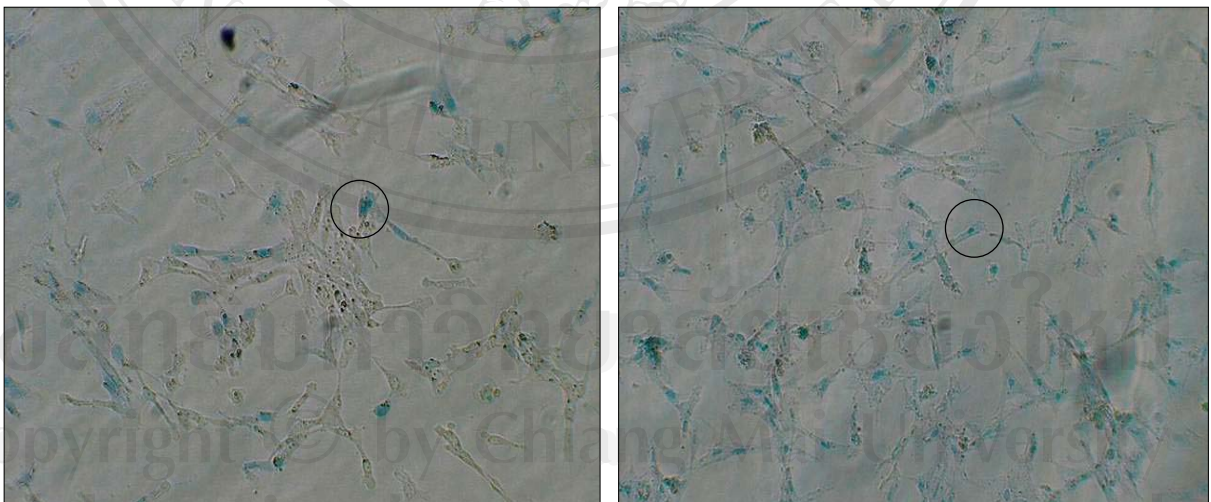
ภาพที่ 14 ลักษณะการติดสีของเซลล์ เมื่อย้อมด้วย trypan blue เซลล์ที่ติดสีน้ำเงิน (โดยเฉพาะอย่างยิ่งในนิวเคลียส) เป็นเซลล์ที่ตาย (วงกลมรอบ) ส่วนเซลล์ที่ไม่ติดสีเป็นเซลล์มีชีวิต (ลูกศรชี้)



ก

ข

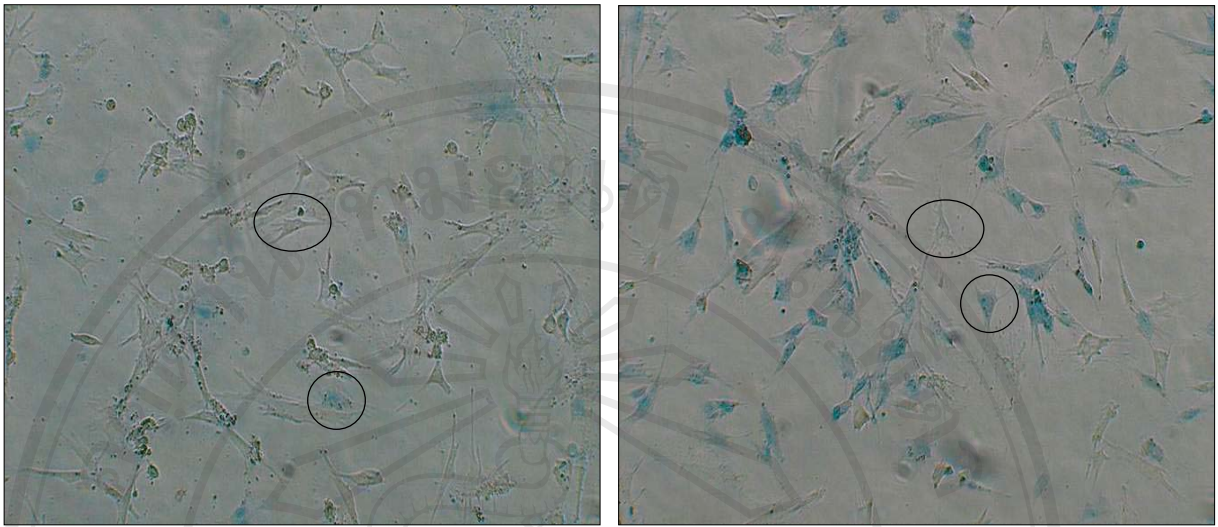
ภาพที่ 15 รูปร่างเซลล์ที่เปลี่ยนไปและพบเซลล์ตายมากขึ้น เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดกระชายเพิ่มขึ้นจากความเข้มข้น 0.015 ก./มล. (ก) เป็น 0.06 ก./มล. (ข) เมื่อย้อมด้วย trypan blue ในภาพ ข วงกลมล้อมรอบเซลล์ที่หดสั้นลงแต่มีชีวิตเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติในภาพ ก



ก

ข

ภาพที่ 16 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและ/หรือตาย เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.015 ก./มล. (ก) และ 0.15 ก./มล. (ข)



ก

ข

**ภาพที่ 17** เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและ/หรือตาย เมื่อใช้แอมไพโรเลียมที่ความเข้มข้น 0.015 ก./มล. (ก) และ 0.09 ก./มล. (ข)

#### **ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์เมื่อย้อมด้วย *trypan blue***

การทดสอบเซลล์ตัวอ่อนไก่ที่ได้จากการทำ primary cell culture เซลล์ที่ใช้ในการทดลองได้จาก passage ที่ 3 มีจำนวนเซลล์ประมาณ  $2-3 \times 10^5$  เซลล์/มล. โดยให้เซลล์ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ทดสอบนาน 3 ชั่วโมง ผลปรากฏว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรและแอมไพโรเลียมมีค่ามากขึ้น มีผลทำให้ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ (จำนวนเซลล์ที่ไม่ติดสี) มีค่าลดลงตามลำดับในสมุนไพรทุกชนิด ซึ่งความแตกต่างนี้มีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 18-21)

จากข้อมูลในภาพที่ 18 เป็นการทดสอบหาร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ตัวอ่อนไก่เมื่อใช้สารสกัดจากกระชาย ผลปรากฏว่า ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 0.015-0.03 ก./มล. ให้ผลไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์เท่ากับ 95.7-98.7% แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสมุนไพรมากขึ้น (0.06-0.12 ก./มล.) มีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยจะมีค่าเท่ากับ 70.0-85.9%

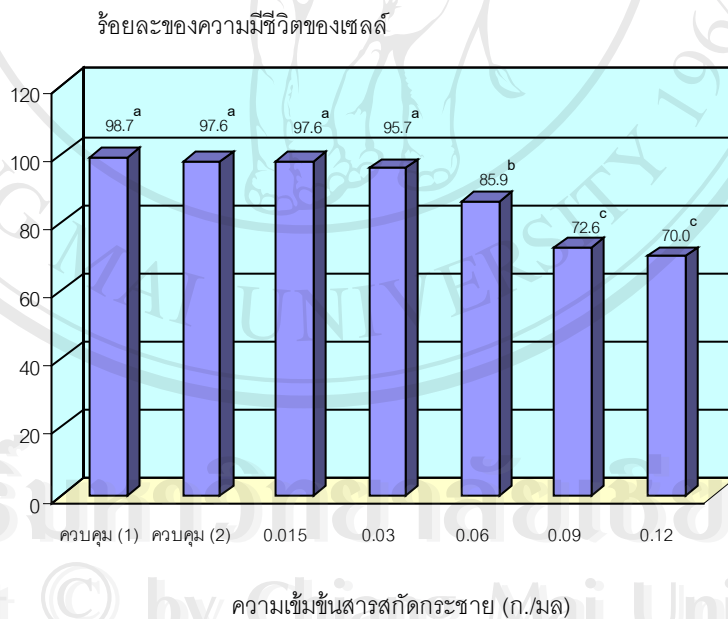
จากข้อมูลในภาพที่ 19 เป็นการทดสอบหาร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ตัวอ่อนไก่เมื่อใช้สารสกัดจากไพล ผลปรากฏว่า ที่ความเข้มข้นของไพลระดับ 0.03-0.09 ก./มล. ให้ผลไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์เท่ากับ 94.6-98.8% แต่เมื่อความเข้มข้นของไพลมาก



ขึ้นเป็น 0.12-0.15 ก./มล. มีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเท่ากับ 79.5-86.4%

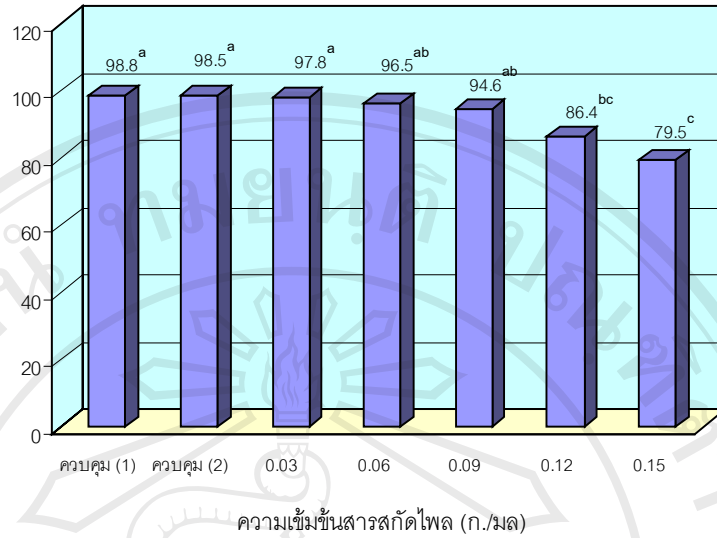
เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบฝรั่ง (ภาพที่ 20) ผลปรากฏว่า ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 0.015 ก./มล. มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (86.6 vs. 97.7-98.7%) แต่เมื่อความเข้มข้นของสมุนไพรมากขึ้น (0.045-0.15 ก./มล.) มีผลให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ลดลง แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) และเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดใบฝรั่งเท่ากับหรือมากกว่า 0.09 ก./มล. มีอัตราการรอดชีวิตน้อยกว่าร้อยละ 50 (40.1-42.2%)

การใช้แอมโพรเลียมมีผลต่อเซลล์เช่นเดียวกับการใช้สารสกัดจากสมุนไพร โดยที่ความเข้มข้นของแอมโพรเลียมระดับ 0.015-0.045 ก./มล. ให้ผลไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (90.4-96.6 vs. 97.7-99.1%) แต่เมื่อความเข้มข้นของแอมโพรเลียมมากขึ้นเป็น 0.06 และ 0.09 ก./มล. มีผลให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเท่ากับ 40.9 และ 79.1% ตามลำดับ (ภาพที่ 21)



**ภาพที่ 18** ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ตัวอ่อนไก่ เมื่อได้รับสารสกัดจากกระชายที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมงย้อมด้วยสี trypan blue  
ควบคุม (1) คือ กลุ่มควบคุมปกติเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ และควบคุม (2) คือ กลุ่มควบคุมตัวทำละลายเติมน้ำกลั่น

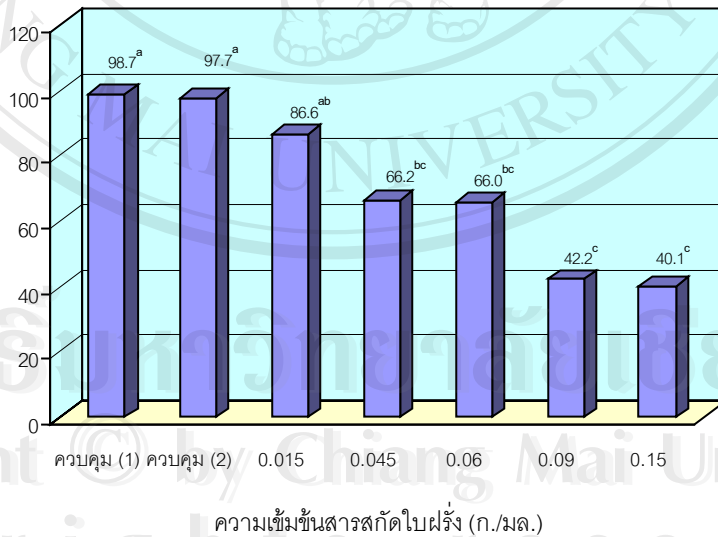
ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์



ภาพที่ 19 ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ตัวอ่อนไก่ เมื่อได้รับสารสกัดจากไพลที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ย้อมด้วยสี trypan blue

ควบคุม (1) คือ กลุ่มควบคุมปกติเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ และควบคุม (2) คือ กลุ่มควบคุมตัวทำละลายเติมน้ำกลั่น

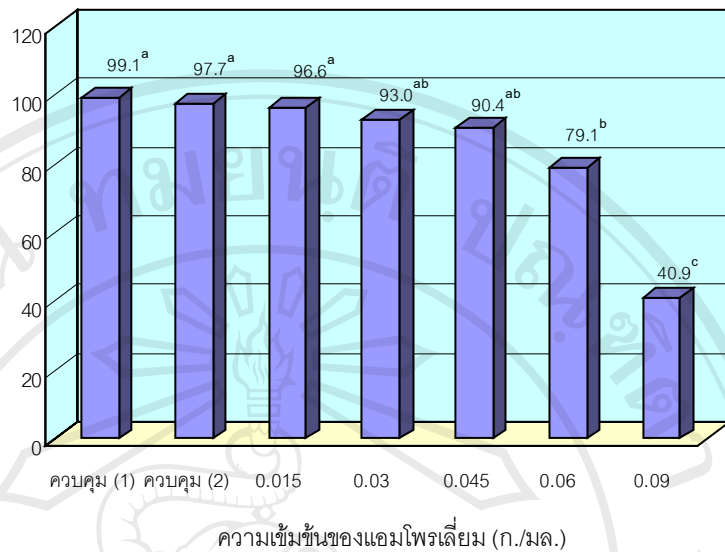
ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์



ภาพที่ 20 ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ตัวอ่อนไก่ เมื่อได้รับสารสกัดจากใบฝรั่งที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ย้อมด้วยสี trypan blue

ควบคุม (1) คือ กลุ่มควบคุมปกติเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ และควบคุม (2) คือ กลุ่มควบคุมตัวทำละลายเติมน้ำกลั่น

ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์



**ภาพที่ 21** ร้อยละของควมมีชีวิตของเซลล์ตัวอ่อนไก่ เมื่อได้รับแอมโฟเทอริซินที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ย้อมด้วย trypan blue

ควบคุม (1) คือ กลุ่มควบคุมปกติเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ และควบคุม (2) คือ กลุ่มควบคุมตัวทำละลายเติมน้ำกลั่น

เมื่อนำอัตราการรอดชีวิตและการตายของเซลล์ตัวอ่อนไก่มาคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพร (กระชาย ไพล และใบฝรั่ง) หรือแอมโฟเทอริซินที่มีผลต่อเซลล์ตัวอ่อนไกร้อยละ 50 (ค่า  $EC_{50}$ ) ขึ้นไป ผลแสดงไว้ในตารางที่ 6 ปรากฏว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีผลต่อเซลล์ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.219, 0.436, 0.091 ก./มล. ตามลำดับ ส่วนแอมโฟเทอริซินมีค่าใกล้เคียงกับใบฝรั่ง (0.093 ก./มล.) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่า ใบฝรั่งสามารถออกฤทธิ์ต่อเซลล์ได้เท่ากับแอมโฟเทอริซิน ส่วนกระชายและไพลออกฤทธิ์ต่อเซลล์ได้น้อยกว่า

**ตารางที่ 6** ค่า 50% effective concentration ( $EC_{50}$ ) ของเซลล์ตัวอ่อนไก่ เมื่อเติมสารสกัดสมุนไพร และแอมโฟเทอริซินที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ย้อมด้วย Trypan blue และวิเคราะห์ด้วย Probit analysis

ชนิดสารสกัด	$EC_{50}$ (ก./มล.)
กระชาย	0.219
ไพล	0.436
ใบฝรั่ง	0.091
แอมโฟเทอริซิน	0.093

ดูรายละเอียดได้ในตารางภาคผนวก ข. ที่ 5

### การทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อบิด

จากการทดสอบสารสกัดหยาบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด และแอมโพรเทียม ต่อเชื้อบิด ระยะสปอโรซอท์ที่เตรียมได้ โดยนำไปบ่มเพาะในตูบที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นย้อมด้วยสี Hoechst dye (HO) และ Propidium iodide (PI) นำมาตรวจนับภายใต้กล้อง fluorescence microscope ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 330-385 นาโนเมตร โดยนับจำนวนสปอโรซอท์ที่ติดสีน้ำเงินของ HO และสีแดงของ PI เพื่อนำมาคำนวณหาค่าร้อยละของจำนวนสปอโรซอท์ที่มีชีวิต ผลปรากฏว่า ไม่สามารถนับแยกจำนวนสปอโรซอท์ที่มีชีวิตและ/หรือตายได้

### การคำนวณหาค่าดัชนีการบำบัดโรค (TI)

คำนวณได้จากค่า  $EC_{50}$  ของเซลล์ หาค่าด้วยค่า  $EC_{50}$  ของเชื้อบิด แต่เนื่องจากการทดลอง ไม่สามารถหาค่า  $EC_{50}$  ของเชื้อบิดได้ จึงไม่สามารถคำนวณหาค่าดัชนีการบำบัดโรคได้

### องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ กระชาย (ส่วนเหง้า) ไพล (ส่วนเหง้า) และใบฝรั่ง (ใบปนก้าน) ผลแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่า สมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า กล่าวคือ มีปริมาณ โภชนะดังกล่าวเมื่อคิดเป็นร้อยละของวัตถุแห้งเท่ากับ 6-10, 4-10, 23-30 และ 5-8% DM ตามลำดับ จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า ระดับโปรตีนและไขมัน ที่มีในสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ก่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะไพลมีปริมาณ โภชนะดังกล่าวต่ำที่สุด (6.4 และ 4%) ในขณะที่ระดับเยื่อใยที่พบในสมุนไพรทั้งหมดมีค่าค่อนข้างสูง (23-30% DM) และพบมากที่สุด ในใบฝรั่ง คือ 30.9% DM

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมี (% DM) ของกระชาย ไพล และใบฝรั่ง ที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้

ชนิดสมุนไพร	กระชาย (ส่วนเหง้า)	ไพล (ส่วนเหง้า)	ใบฝรั่ง (ใบปนก้าน)
วัตถุแห้ง	90.37	87.64	87.05
โปรตีน	9.66	6.38	10.12
ไขมัน	10.12	4.80	5.34
เยื่อใย	23.66	23.15	30.86
เถ้า	5.40	8.00	7.62

## การศึกษาในฟาร์มทดลอง

### ผลของสมุนไพรต่อการเกิดโรคบิดไส้ตัน (การทดลองที่ 1)

ในการศึกษานี้ได้พิจารณาระดับการใช้สมุนไพร (กระชาย ไพล และใบฝรั่ง) ในอาหารไก่เนื้อ (ลักษณะผงบด) จากค่าความเข้มข้นของสมุนไพรแต่ละชนิดที่มีผลต่อเซลล์ตัวอ่อนไก่ร้อยละ 25 และ 50 โดยคำนวณเป็นปริมาณสมุนไพรที่ไก่จะได้รับต่อวัน ซึ่งมีรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 8

ส่วนสมุนไพรชนิดไพลซึ่งมีกลิ่นฉุนรุนแรง การใช้ที่ระดับสูง ( $EC_{50}$ ) ปริมาณที่ใช้ในอาหารมากถึง 199.8 ก./กก. อาจมีผลต่อการกินได้ของไก่ จึงได้ลดปริมาณการใช้ลงให้เป็นระดับต่ำ ( $EC_1$ ) ซึ่งใช้เท่ากับ 13.52 ก./กก. อาหาร (รายละเอียดเพิ่มดูในตารางภาคผนวก ข. ที่ 5)

ตารางที่ 8 ปริมาณสมุนไพรที่ใช้ในอาหารไก่

ชนิดสมุนไพร	$EC_{25}$			$EC_{50}$		
	ส่วนสกัดหยาบ (ก.)	ผงบด (ก.)	ปริมาณที่ใช้ ก./กก. อาหาร	ส่วนสกัดหยาบ (ก.)	ผงบด (ก.)	ปริมาณที่ใช้ ก./กก. อาหาร
กระชาย	0.094	1.014	20.2	0.219	2.362	47.2
ไพล	0.199	4.559	91.2	0.951	9.989	199.8
ใบฝรั่ง	0.031	0.702	14.0	0.091	2.059	41.2

### ค่าคะแนนรอยโรค (Lesion scores)

หลังจากป้อนเชื้อบิด (*E. tenella*;  $10^6$  sporulated oocysts/ไก่ 1 ตัว) ที่ไก่อายุ 21 วัน หลังจากนั้นอีก 6 และ 12 วัน (day post inoculation; DPI) ได้ทำการฆ่าไก่จำนวน 2 และ 1 ตัว/ซ้ำ ตามลำดับ เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของลำไส้ส่วนไส้ตันโดยการอ่านค่าคะแนนรอยโรคตามหลักการของ Johnson and Reid (1970) ผลแสดงไว้ในตารางที่ 9 ปรากฏว่า หลังจากให้ไก่ได้รับเชื้อไปแล้ว 6 วัน กลุ่มที่ให้สมุนไพรชนิดกระชาย ไพล หรือใบฝรั่งในอาหาร มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของลำไส้มากกว่ากลุ่มที่ให้ยาต้านบิดชนิดแอมโพรเลียม แต่น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสมุนไพรหรือยาต้านบิดในอาหาร ( $P < 0.05$ ) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว มีผลให้ค่าคะแนนรอยโรคแตกต่างกัน โดยกลุ่มที่ให้ใบฝรั่งให้ค่าคะแนนรอยโรคสูงที่สุด (คะแนน 2.3) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้สมุนไพรชนิดอื่น แสดงถึงการเป็นโรครุนแรงกว่า ในขณะที่กลุ่มที่ใช้ยาต้านบิดมีค่าคะแนนต่ำที่สุด (คะแนน 0.4) ส่วนการตรวจสอบวิธีการไส้ตันในวันที่ 12 หลังการป้อนเชื้อ พบว่า ไก่ทุกกลุ่มให้ค่าคะแนน

Effective concentration<sub>1, 25, 50</sub> ( $EC_1$ ,  $EC_{25}$ ,  $EC_{50}$ ) = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีผลต่อสัตว์ทดลองร้อยละ 1, 25 และ 50

รอยโรคลดลงจากวันที่ 6 ของการป้อนเชื้อ พบวิธีการในกลุ่มที่ไม่ได้รับสมุนไพรหรือยาต้านบิดในอาหารสูงที่สุด (คะแนน 1.1) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับไบฟริงระดับสูง ( $EC_{50}$ ) ให้ค่าคะแนนรอยโรคสูงกว่ากลุ่มสมุนไพรชนิดอื่น โดยไม่ปรากฏวิธีการในกลุ่มที่ให้กระชายระดับสูง ( $EC_{50}$ ) และกลุ่มที่ให้ไพลระดับต่ำ ( $EC_1$ ) เช่นเดียวกับการใช้ยาต้านบิด

เมื่อพิจารณาความยาว และน้ำหนักของไส้ตัน พบว่า หลังจากป้อนเชื้อไปแล้ว 6 วัน กลุ่มที่ให้สมุนไพรชนิดไพลระดับต่ำ ( $EC_1$ ) มีไส้ตันยาวกว่ากลุ่มที่ใช้สมุนไพรชนิดอื่น ( $P < 0.05$ ) โดยให้ค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ใช้แอมโพรเลียม ส่วนน้ำหนักไส้ตัน พบว่า เมื่อใช้ไพลระดับสูง ( $EC_{25}$ ) มีผลให้ไส้ตันมีน้ำหนักน้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในวันที่ 12 หลังการป้อนเชื้อ พบว่าความยาว และน้ำหนักไส้ตันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ โดยกลุ่มที่ได้รับไพล ( $EC_1$ ) และไบฟริงระดับต่ำ ( $EC_{25}$ ) มีแนวโน้มทำให้ไส้ตันสั้นกว่ากลุ่มอื่น

**ตารางที่ 9** ค่าคะแนนรอยโรค ความยาว และน้ำหนักไส้ตันของไก่เนื้อหลังการป้อนเชื้อบิดวันที่ 6 และ 12

กลุ่มทดลอง	6 DPI (n = 8)			12 DPI (n = 4)		
	คะแนน รอยโรค	ความยาว (ซม.)	น้ำหนัก (ก.)	คะแนน รอยโรค	ความยาว <sup>NS</sup> (ซม.)	น้ำหนัก <sup>NS</sup> (ก.)
ควบคุม (-)	2.44±0.13 <sup>a</sup>	9.83±0.49 <sup>ab</sup>	4.34±1.17 <sup>a</sup>	1.13±0.25 <sup>a</sup>	9.59±1.84	5.06±1.81
(+) <sup>1/</sup>	0.38±0.25 <sup>c</sup>	12.25±0.92 <sup>a</sup>	5.37±0.45 <sup>a</sup>	0.00 <sup>cd</sup>	11.88±0.81	5.55±1.07
กระชาย, $EC_{25}$	1.94±0.83 <sup>ab</sup>	9.73±1.63 <sup>ab</sup>	4.99±0.72 <sup>a</sup>	0.13±0.25 <sup>cd</sup>	11.31±1.69	5.79±0.79
กระชาย, $EC_{50}$	2.25±0.87 <sup>ab</sup>	9.85±1.65 <sup>ab</sup>	4.42±1.21 <sup>a</sup>	0.00 <sup>cd</sup>	13.14±0.48	6.83±2.44
ไพล, $EC_1$	1.19±0.24 <sup>bc</sup>	11.60±0.73 <sup>ab</sup>	5.01±0.99 <sup>a</sup>	0.00 <sup>cd</sup>	11.31±1.13	4.38±0.77
ไพล, $EC_{25}$	1.69±1.03 <sup>ab</sup>	9.28±0.68 <sup>b</sup>	2.87±0.95 <sup>b</sup>	0.67±0.58 <sup>abc</sup>	9.02±1.55	2.93±1.08
ไบฟริง, $EC_{25}$	2.31±0.43 <sup>a</sup>	9.32±2.24 <sup>b</sup>	4.16±0.40 <sup>a</sup>	0.75±0.55 <sup>ab</sup>	9.74±2.56	5.95±4.12
ไบฟริง, $EC_{50}$	1.81±0.94 <sup>ab</sup>	9.96±2.61 <sup>ab</sup>	4.97±0.65 <sup>a</sup>	0.50±0.58 <sup>bcd</sup>	11.13±3.33	6.01±3.61

<sup>1/</sup> เสริมด้วยยาต้านบิด (Amprolium) ระดับ 66 มก./กก.อาหาร

$EC_1$ ,  $EC_{25}$ ,  $EC_{50}$  = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีผลต่อสัตว์ทดลองร้อยละ 1, 25 และ 50

DPI = day post inoculation

#### การตรวจหาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ผลของสมุนไพร และแอมโพรเลียม ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในวันที่ 0, 6 และ 12 วันหลังการให้เชื้อ (DPI) ปรากฏว่า ในวันที่ให้เชื้อ (0 DPI) ไก่ทดลองทุกกลุ่มมีค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มอยู่ในช่วง 26-29%

แต่หลังจากให้เชื้อไปแล้ว 6 วัน (6 DPI) ค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่ให้สมุนไพรทุกชนิดผสมในอาหารตามระดับที่ได้กล่าวไว้แล้วนั้น มีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้สมุนไพรหรือยาต้านบิด และต่ำกว่ากลุ่มที่ใช้ยาต้านบิดชนิดแอมโพรเลียม ซึ่งกลุ่มที่ใช้ยาต้านบิดให้ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นดีที่สุด (33.31%) และกลุ่มที่ใช้ไบฟริง ( $EC_{50}$ ) ให้ค่าดังกล่าวด้วยที่สุด (26.38%) แต่ทั้งนี้ไก่ที่ได้รับเชื้อบิดและไม่ได้ใช้ยาหรือสมุนไพรในอาหารให้ค่าต่ำกว่าทุกกลุ่ม (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในวันที่ 0, 6 และ 12 หลังจากได้รับเชื้อบิด

กลุ่มทดลอง	0 DPI <sup>NS</sup>	6 DPI	12 DPI <sup>NS</sup>
ควบคุม (-)	28.38±1.05	24.50±1.04 <sup>c</sup>	29.38±1.11
(+) <sup>1/</sup>	27.25±0.89	33.31±2.12 <sup>a</sup>	33.25±0.96
กระชาย, $EC_{25}$	28.50±2.03	27.25±2.4 <sup>bc</sup>	31.50±2.16
กระชาย, $EC_{50}$	27.63±1.36	29.81±1.28 <sup>ab</sup>	32.13±2.02
ไพล, $EC_1$	27.94±2.28	29.06±1.64 <sup>b</sup>	30.63±3.15
ไพล, $EC_{25}$	26.58±1.42	30.00±5.61 <sup>ab</sup>	33.25±3.33
ไบฟริง, $EC_{25}$	29.00±0.35	28.19±1.38 <sup>bc</sup>	30.00±1.08
ไบฟริง, $EC_{50}$	28.50±1.14	26.38±1.88 <sup>bc</sup>	29.50±0.58

<sup>1/</sup> เสริมด้วยยาต้านบิด (Amprolium) ระดับ 66 มก./กก.อาหาร

$EC_1$ ,  $EC_{25}$ ,  $EC_{50}$  = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีผลต่อสัตว์ทดลองร้อยละ 1, 25 และ 50

DPI = day post inoculation

ผลของสมุนไพรต่อสมรรถภาพการผลิต และประสิทธิภาพการควบคุมโรคบิด (การทดลองที่ 2)

#### สมรรถภาพการผลิต

จากการใช้กระชาย ไพล หรือไบฟริง ในลักษณะผงบดแห้งที่ระดับ 1 และ 3% ของสูตรอาหารไก่เนื้อเทียบกับการใช้และไม่ใช้ยาต้านบิดชนิดแอมโพรเลียม (ที่ระดับ 66 มก./กก.อาหาร) ตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 สัปดาห์ (ช่วงไก่อายุ 8-49 วัน) ผลปรากฏว่า การใช้ไพลระดับสูง (3%) มีผลทำให้สมรรถภาพการผลิต (ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวเพิ่ม และอัตราแลกน้ำหนัก) ดียกกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ส่วนการใช้กระชายที่ระดับต่ำ (1%) และไบฟริงทั้ง 2 ระดับ ให้ผลไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ใช้ยาต้านบิดชนิดแอมโพรเลียมในอาหาร ใดๆ ก็ดี การใช้ไพลที่ระดับต่ำ (1%) และกระชายระดับสูง (3%) แม้ว่าจะไม่ทำให้ไก่กินอาหารลดลง แต่น้ำหนักตัวเพิ่มตลอดระยะเวลาการทดลองก็ยังดียกกว่ากลุ่มควบคุม สำหรับอัตราการตาย พบว่า มีความแตกต่างกัน

อย่างไม่มีนัยสำคัญ ไม่ว่าจะใช้หรือไม่ใช้สมุนไพร โดยมีอัตราการตายตลอดระยะเวลาทดลองอยู่ในช่วง 2-13% และมีแนวโน้มว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ใช้ยาต้านบิดหรือสมุนไพรมีอัตราการตายสูงที่สุด รองลงมา คือ กลุ่มที่ใช้แอมโพรอเลียม กลุ่มที่ได้รับสมุนไพรไบฝรั่ง ไพล และกระชาย ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

**ตารางที่ 11** สมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อที่อายุ 7 สัปดาห์ เมื่อได้รับอาหารที่มีสมุนไพรบางชนิด เทียบกับยาต้านบิด เป็นเวลา 42 วัน<sup>1/</sup>

ชนิดสมุนไพร	ระดับในอาหาร (%)	น้ำหนักตัวเพิ่ม (กก.)	อาหารที่กิน (กก.)	อัตราแลกน้ำหนัก	จำนวนตาย <sup>3/</sup> (ตัว)
ควบคุม <sup>2/</sup> (-)	-	2.03 <sup>a</sup>	4.30 <sup>a</sup>	2.12 <sup>c</sup>	12
(+)	-	2.00 <sup>a</sup>	4.22 <sup>a</sup>	2.11 <sup>c</sup>	7
กระชาย	1	1.98 <sup>a</sup>	4.28 <sup>a</sup>	2.16 <sup>bc</sup>	2
	3	1.83 <sup>b</sup>	4.13 <sup>ab</sup>	2.25 <sup>ab</sup>	4
ไพล	1	1.86 <sup>b</sup>	4.02 <sup>b</sup>	2.17 <sup>bc</sup>	6
	3	1.60 <sup>c</sup>	3.72 <sup>c</sup>	2.32 <sup>a</sup>	5
ไบฝรั่ง	1	2.00 <sup>a</sup>	4.28 <sup>a</sup>	2.14 <sup>c</sup>	7
	3	1.98 <sup>a</sup>	4.13 <sup>ab</sup>	2.09 <sup>c</sup>	7
S.E.M		0.029	0.041	0.018	1.21

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

<sup>1/</sup> ในช่วง 7 วันแรก ไก่ทุกตัวได้รับอาหารผสมเองเหมือนกันทั้งหมด ซึ่งมีน้ำหนักตัวและปริมาณอาหารที่กินเมื่อไก่อายุ 7 วันแรก เท่ากับ 0.103 และ 0.111 กก. ตามลำดับ

<sup>2/</sup> (+) เสริมด้วยยาต้านบิดชนิด Amprolium ระดับ 66 มก./กก.อาหาร ช่วงไก่อายุ 8-49 วัน

(-) ไม่ใช้ทั้งสมุนไพรและยาต้านบิดตลอดระยะเวลาเลี้ยง

<sup>3/</sup> ไก่กลุ่มละ 90 ตัว

เมื่อพิจารณาในแต่ละช่วงอายุการเจริญเติบโตของไก่ ซึ่งได้ลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารลงช่วงละ 2% ผลทั้ง 3 ระยะแสดงไว้ในตารางที่ 12 พบว่า เฉพาะการใช้ไพลระดับสูง (3%) ที่มีผลทำให้ไก่กินอาหารได้น้อยลง มีผลต่อเนื้อทำให้ไก่มีน้ำหนักตัวเพิ่มต่ำกว่ากลุ่มอื่น โดยเฉพาะในช่วงที่ไก่ยังมีอายุน้อย (ต่ำกว่า 3 สัปดาห์) ในขณะที่สมุนไพรชนิดอื่น พบความแตกต่างเฉพาะการใช้กระชายระดับสูง (3%) รวมทั้งการใช้ไพลระดับต่ำ (1%) ในสูตรอาหารช่วงไก่อายุ 4-6 สัปดาห์ ส่วนที่ช่วงอายุอื่นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



ตารางที่ 12 สมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อในแต่ละช่วงอายุ เมื่อได้รับอาหารที่เสริมด้วยสมุนไพร และแอม โพรเลียม เป็นเวลา 42 วัน

ชนิดสมุนไพร	ระดับ ในอาหาร (%)	น้ำหนักตัว เพิ่ม (กก.)	อาหารที่กิน (กก.)	อัตราแลกน้ำ หนัก	จำนวนตาย <sup>2/</sup> (ตัว)
<b>ช่วงสัปดาห์ที่ 2-3</b>					
ควบคุม <sup>1/</sup> (-)	-	0.46 <sup>ab</sup>	0.78 <sup>a</sup>	1.71 <sup>bc</sup>	1
	(+)	0.45 <sup>ab</sup>	0.72 <sup>a</sup>	1.60 <sup>c</sup>	0
กระชาย	1	0.47 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	1.64 <sup>bc</sup>	0
	3	0.44 <sup>ab</sup>	0.75 <sup>a</sup>	1.72 <sup>bc</sup>	0
ไพล	1	0.45 <sup>ab</sup>	0.73 <sup>a</sup>	1.62 <sup>bc</sup>	0
	3	0.30 <sup>c</sup>	0.59 <sup>b</sup>	1.92 <sup>a</sup>	0
ใบฝรั่ง	1	0.42 <sup>b</sup>	0.73 <sup>a</sup>	1.76 <sup>b</sup>	0
	3	0.45 <sup>ab</sup>	0.73 <sup>a</sup>	1.65 <sup>bc</sup>	0
<b>ช่วงสัปดาห์ที่ 4-6</b>					
ควบคุม <sup>1/</sup> (-)	-	1.18 <sup>a</sup>	2.48 <sup>a</sup>	2.11	9
	(+)	1.16 <sup>a</sup>	2.42 <sup>ab</sup>	2.08	6
กระชาย	1	1.17 <sup>a</sup>	2.49 <sup>a</sup>	2.13	2
	3	1.06 <sup>b</sup>	2.37 <sup>ab</sup>	2.22	1
ไพล	1	1.09 <sup>b</sup>	2.33 <sup>b</sup>	2.14	3
	3	1.02 <sup>b</sup>	2.18 <sup>c</sup>	2.14	4
ใบฝรั่ง	1	1.21 <sup>a</sup>	2.46 <sup>ab</sup>	2.04	3
	3	1.18 <sup>a</sup>	2.51 <sup>a</sup>	2.14	6
<b>ช่วงสัปดาห์ที่ 7</b>					
ควบคุม <sup>1/</sup> (-)	-	0.40 <sup>a</sup>	1.04 <sup>ab</sup>	2.64 <sup>bc</sup>	2
	(+)	0.39 <sup>ab</sup>	1.08 <sup>a</sup>	2.79 <sup>bc</sup>	1
กระชาย	1	0.35 <sup>abc</sup>	1.02 <sup>ab</sup>	2.95 <sup>abc</sup>	-
	3	0.33 <sup>abc</sup>	1.01 <sup>ab</sup>	3.04 <sup>ab</sup>	3
ไพล	1	0.32 <sup>bc</sup>	0.97 <sup>bc</sup>	3.01 <sup>ab</sup>	3
	3	0.28 <sup>c</sup>	0.96 <sup>bc</sup>	3.44 <sup>a</sup>	1
ใบฝรั่ง	1	0.40 <sup>a</sup>	1.09 <sup>a</sup>	2.72 <sup>bc</sup>	4
	3	0.36 <sup>ab</sup>	0.88 <sup>c</sup>	2.47 <sup>c</sup>	1

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

<sup>1/</sup> (+) เสริมด้วยยาต้านบิตชนิด Amprolium ระดับ 66 มก./กก.อาหาร ช่วงไก่อายุ 8-49 วัน

(-) ไม่ใช้ทั้งสมุนไพรและยาต้านบิตตลอดระยะเวลาเลี้ยง

<sup>2/</sup> ไก่กลุ่มละ 90 ตัว

### เปอร์เซ็นต์ซากและอวัยวะภายใน

เมื่อโตอายุครบ 49 วัน ได้ทำการสุ่มแบบแยกเพศจำนวนเพศละ 2 ตัว/ซ้ำ เพื่อบันทึกคุณภาพซาก (เปอร์เซ็นต์ซาก น้ำหนักตับ กิ่ง ไชมันในช่องท้อง ปริมาณเนื้ออก และเนื้อน่อง) เมื่อคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักตัวผลแสดงไว้ในตารางที่ 13 ปรากฏว่า ไก่กลุ่มที่ได้รับไฟลระดับสูง (3% ของสูตรอาหาร) ทำให้เปอร์เซ็นต์ซากมีแนวโน้มค้อยกว่ากลุ่มอื่น ส่วนผลคุณภาพซากด้านอื่นๆ ไม่แตกต่างกันไม่ว่าจะได้รับสมุนไพรหรือยาต้านบิด หรืออาหารสูตรปกติทั่วไปที่ไม่ใช่ยาต้านบิด และสมุนไพร

อย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างระหว่างเพศโดยเฉลี่ยข้อมูลจากทุกกลุ่มทดลอง ผลปรากฏว่า เพศเมียมีส่วนของเปอร์เซ็นต์ซาก น้ำหนักตับ และเนื้อน่องต่ำกว่าเพศผู้ แต่มีส่วนของเนื้ออกสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนกรรมของตับและไชมันให้ผลไม่แตกต่างกัน

**ตารางที่ 13** เปอร์เซ็นต์ซาก น้ำหนักอวัยวะภายใน เนื้อน่อง และน้ำหนักของไก่เนื้อ เมื่อได้รับอาหารที่มีสมุนไพรบางชนิดเทียบกับการใช้ยาต้านบิด

ชนิดสมุนไพร	ระดับในอาหาร (%)	% ซาก <sup>2/</sup>	ตับ	กิ้ง <sup>3/</sup>	ไชมัน <sup>4/</sup>	เนื้อน่อง	เนื้ออก
ควบคุม <sup>1/</sup>	(-)	78.95 <sup>ab</sup>	2.65	1.26	1.17	9.99	14.66
	(+)	79.80 <sup>a</sup>	2.73	1.21	0.84	10.31	13.48
กระชาย	1	79.90 <sup>a</sup>	2.67	1.35	1.11	9.97	13.49
	3	79.73 <sup>a</sup>	2.40	1.18	1.18	10.27	13.85
ไฟล	1	77.58 <sup>ab</sup>	2.87	1.53	1.48	10.51	12.87
	3	76.48 <sup>b</sup>	2.57	1.58	0.81	10.06	12.90
ใบฝรั่ง	1	78.04 <sup>ab</sup>	2.97	1.34	1.26	10.65	12.97
	3	76.62 <sup>b</sup>	3.01	1.23	0.85	10.22	12.97
เพศผู้	เฉลี่ย ± SD	79.50±1.8 <sup>X</sup>	2.71±0.4	1.41±0.3 <sup>X</sup>	1.06±0.3	10.92±0.8 <sup>X</sup>	12.51±1.1 <sup>Y</sup>
เพศเมีย	เฉลี่ย ± SD	77.28±2.9 <sup>Y</sup>	2.76±0.4	1.26±0.2 <sup>Y</sup>	1.11±0.5	9.58±0.6 <sup>Y</sup>	14.27±1.3 <sup>X</sup>

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

<sup>1/</sup>(+) เสริมด้วยยาต้านบิตชนิด Amprolium ระดับ 66 มก./กก.อาหาร ช่วงอายุ 8-49 วัน

(-) ไม่ใช้ทั้งสมุนไพรและยาต้านบิตตลอดระยะเวลาเลี้ยง

<sup>2/</sup>คำนวณจากน้ำหนักไก่ที่เอา เลือด เครื่องใน และขนออกเทียบกับน้ำหนักไก่เมื่อมีชีวิตก่อนฆ่า

<sup>3/</sup>น้ำหนักกิ้งไม่รวมกากอาหารที่อยู่ภายในและเชือบุผนังภายใน <sup>4/</sup>ไชมันช่องท้องรวมกับส่วนที่หุ้มอวัยวะภายใน

### การตรวจหาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าคะแนนรอยโรค

จากการเจาะเลือดดำบริเวณใต้ปีกไก่ที่อายุ 7 สัปดาห์ จำนวน 3 ตัว/ซ้ำ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น ผลปรากฏว่า ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีข้อสังเกตว่ากลุ่มที่ได้รับไบฟริงระดับ 3% ให้ค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่ใช้ยาต้านบิด ซึ่งมีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ (ตารางที่ 14) ทำนองเดียวกับผลเมื่ออ่านค่าคะแนนรอยโรคจะพบได้ว่า การใช้ไบฟริงระดับ 3% มีแนวโน้มให้ค่าคะแนนรอยโรคต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้ทั้งสมุนไพรและยาต้านบิด (ควบคุมลบ) โดยมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ใช้ยาต้านบิด (ควบคุมบวก) ในขณะที่เมื่อใช้กระชายและไพลทั้งที่ระดับ 1 และ 3% มีค่าคะแนนรอยโรคสูงกว่ากลุ่มที่ใช้แอมโพรเลียม และไบฟริง 3% ทั้งที่อายุ 6 และ 7 สัปดาห์ ทั้งนี้คะแนนรอยโรคที่อายุ 7 สัปดาห์ มีค่าเพิ่มขึ้นจากอายุ 6 สัปดาห์ ซึ่งอาจบ่งชี้ได้ว่า การใช้สมุนไพรดังกล่าวมีผลลดอัตราการใส่ได้เพียงช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น (ตารางที่ 15)

**ตารางที่ 14** ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของไก่เนื้อที่อายุ 7 สัปดาห์ เมื่อได้รับอาหารผสมสมุนไพรบางชนิดเทียบกับการใช้ยาต้านบิดเป็นเวลา 42 วัน

ชนิดสมุนไพร	ระดับในอาหาร (%)	Hematocrit (%)
ควบคุม <sup>1/</sup>	(-)	28.42 ± 3.8
	(+)	31.49 ± 4.9
กระชาย	1	25.83 ± 3.3
	3	28.32 ± 0.2
ไพล	1	29.47 ± 2.4
	3	26.44 ± 4.7
ไบฟริง	1	29.14 ± 3.5
	3	32.45 ± 2.9
S.E.M		0.743

<sup>1/</sup>(+) เสริมด้วยยาต้านบิดชนิด Amprolium ระดับ 66 มก./กก.อาหาร ช่วงไก่อายุ 8-49 วัน

(-) ไม่ใช้ทั้งสมุนไพรและยาต้านบิดตลอดระยะเวลาเลี้ยง

ตารางที่ 15 ค่าคะแนนรอยโรค (lesion scores) จากการพิจารณาที่ลำไส้เล็กและไส้ตันของไก่เนื้อที่อายุ 6 และ 7 สัปดาห์ เมื่อได้รับอาหารที่มีสมุนไพรบางชนิดเทียบกับการใช้ยาต้านบิตเป็นเวลา 42 วัน

ชนิดสมุนไพร	ระดับในอาหาร (%)	ระดับใน					Average (all zone)	
		<i>E.acervulina</i>	<i>E.maxima</i>	<i>E.necatrix</i>	<i>E. brunetti</i>	<i>E. tenella</i>		
<b>สัปดาห์ที่ 6</b>								
ควบคุม <sup>1/</sup>	(-)	-	2.17	0.83	0.33	1.00	0.00	0.75
	(+)	-	1.17	0.17	0.17	0.17	0.00	0.33
กระชาย	1	1	0.67	0.33	0.67	0.33	0.00	0.40
	3	3	1.17	0.50	0.17	0.50	0.00	0.47
ไพล	1	1	1.33	0.50	0.33	0.50	0.00	0.53
	3	3	0.67	0.83	0.50	0.17	0.00	0.43
ใบฝรั่ง	1	1	1.50	0.17	-	-	0.00	0.33
	3	3	1.00	0.50	-	0.50	0.00	0.40
S.E.M			0.119	0.084	0.071	0.093	0.00	0.043
<b>สัปดาห์ที่ 7</b>								
ควบคุม <sup>1/</sup>	(-)	-	1.33	1.00	0.33	0.17	0.00	0.57
	(+)	-	0.50	0.17	0.67	0.00	0.00	0.27
กระชาย	1	1	1.17	0.33	0.50	0.33	0.00	0.47
	3	3	1.17	0.67	0.17	0.50	0.00	0.50
ไพล	1	1	1.00	0.67	0.67	0.33	0.00	0.53
	3	3	0.83	0.83	0.67	0.17	0.17	0.53
ใบฝรั่ง	1	1	0.83	0.00	0.50	0.00	0.00	0.27
	3	3	0.83	0.50	0.33	0.17	0.00	0.37
S.E.M			0.072	0.084	0.084	0.059	0.021	0.032

<sup>1/</sup>(+) เสริมด้วยยาต้านบิตชนิด Amprolium ระดับ 66 มก./กก.อาหาร ช่วงไก่อายุ 8-49 วัน

(-) ไม่ใช่ทั้งสมุนไพรและยาต้านบิตตลอดระยะเวลาเลี้ยง

ค่าคะแนนรอยโรคมี่ 4 ระดับ จากน้อยไปมาก (0-4) ตามวิธีของ Johnson and Reid (1970) สุ่มวัดจากไก่จำนวน 6 ตัว/กลุ่ม