อานนท์ อยู่บู่ : ผลของโพรไบโอติก *Ligilactobacillus salivarius* I203 รูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายต่อสุขภาพลำไส้ของไก่เนื้อที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (EFFECT OF LIVE AND DEAD CELL PROBIOTIC *Ligilactobacillus salivarius* I203 ON GUT HEALTH OF BROILER CHICKENS STIMULATED WITH LIPOPOLYSACCHARIDE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. สุทิศา เข็มผะกา, 52 หน้า.

คำสำคัญ: ไก่เนื้อ/ไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์/*L. salivarius* I203/โพรไบโอติก/โพสไบโอติก/รูปแบบเซลล์มีชีวิต/รูปแบบเซลล์ตาย/ไลโซไซม์/อวัยวะภูมิคุ้มกัน/กรดไขมันสายสั้น/ลักษณะสัญฐานวิทยาของลำไส้/การอักเสบ/ไซโตไคน์/ไทด์จังก์ชัน

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อกำลังเผชิญกับความท้าทายหลายประการ ทั้งจากความเครียดจากความร้อน ความเครียดทางภูมิคุ้มกัน รวมถึงมาตรการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต ส่งผลกระทบต่อสุขภาพและสมรรถนะการผลิตของไก่เนื้อ ดังนั้นการใช้สารสุขภาพในอาหาร เช่น โพรไบโอติก จึงได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพลำไส้ เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหาร และปรับสมดุลการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตของไก่เนื้อดีขึ้น จุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus spp.* โดยเฉพาะ *Lactobacillus salivarius* ซึ่งต่อมาได้รับการจำแนกใหม่ เป็น *Ligilactobacillus salivarius* (*L. salivarius*) พบได้ตามธรรมชาติในระบบทางเดินอาหารของสัตว์หลายชนิดรวมทั้งสัตว์ปีก การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ *L. salivarius* I203 ต่อสุขภาพลำไส้ของไก่เนื้อภายใต้สภาวะที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ โดยใช้สารพิษไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide, LPS) จาก *Escherichai coli* เป็นตัวกระตุ้น ใช้ไก่อายุ 1 วัน จำนวน 90 ตัว ถูกสุ่มแบ่งออกเป็น 9 กลุ่มทดลอง ได้แก่ 1) กลุ่มควบคุม (ฉีด phosphate-buffered saline, PBS) 2) กลุ่มควบคุมลบ (ฉีด LPS) 3) กลุ่มควบคุมบวก เสริมยาปฏิชีวนะ zinc bacitracin (ฉีด LPS) กลุ่มที่ 4–6 กลุ่มที่ได้รับ *L. salivarius* I203 แบบเซลล์มีชีวิตที่ระดับ $1x10^7$–$1x10^9$ CFU/ตัว/วัน (ฉีด LPS) กลุ่มที่ 7–9 กลุ่มที่ได้รับ *L. salivarius* I203 แบบเซลล์ตายที่ระดับ $1x10^7$–$1x10^9$ CFU/ตัว/วัน (ฉีด LPS) เมื่อไก่มีอายุครบ 14 วัน กลุ่มที่ 2–9 ได้รับการกระตุ้นด้วยการฉีด LPS (1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ทางช่องท้อง ในขณะที่ไก่กลุ่มที่ 1 ได้รับการฉีด PBS เพื่อเปรียบเทียบ หลังผ่านไป 24 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างเลือด เนื้อเยื่อลำไส้ อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน และสิ่งย่อยในซีกัม เพื่อตรวจวิเคราะห์การแสดงออกของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะที่

เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ในซีรัม การผลิตกรดไขมันสายสั้น กรดแลคติก และแอมโมเนีย ผลการศึกษาพบว่า การได้รับ *L. salivarius* I203 ทั้งในรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย สามารถเพิ่มน้ำหนักตัวของไก่เนื้อช่วง อายุ 7 14 และ 15 วัน ลดน้ำหนักสัมพัทธ์ของเบอร์ซา และเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไลโซไซม์ในซีรัม นอกจากนี้ยังพบว่า *L. salivarius* I203 มีผลปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในไก่เนื้อที่กระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ *L. salivarius* I203 ยังช่วยเพิ่มการผลิตกรดไขมันสายสั้น ได้แก่ กรดบิวทิริก กรดไขมันสายสั้นสายโซ่กิ่ง กรดวาเลอริก และกรดแลคติก รวมถึงลดการผลิตแอมโมเนียในซีกัม การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนพบว่า *L. salivarius* I203 สามารถเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความแข็งแรงของผนังลำไส้ ได้แก่ *OCLN*, *CLDN1* และ *JAM2* และยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเยื่อเมือก (*MUC2*) โดยเซลล์มีชีวิตสามารถเพิ่มการแสดงออกของยีน *OCLN* และ *MUC2* ขณะที่ทั้งรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายสามารถเพิ่มการแสดงออกของ *JAM2* นอกจากนี้จุลินทรีย์ทั้งสองรูปแบบ ยังลดการแสดงออกของยีนไซโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (*TNF-*α และ *IL-1*β) ในเนื้อเยื่อตับ และรูปแบบเซลล์มีชีวิตยังสามารถเพิ่มการแสดงออกของยีนไซโตไคน์ที่ลดการอักเสบ (*IL-4*) การวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนโดยใช้เทคนิค Fourier-transform Infrared Spectroscopy (FTIR) พบว่า *L. salivarius* I203 รูปแบบเซลล์ตาย มีสัดส่วนของโครงสร้าง β-sheet ของ S-layer protein เพิ่มขึ้น (63.5%) เมื่อเทียบกับเซลล์มีชีวิต (37.4%) ขณะที่โครงสร้าง α-helix ลดลง การเปลี่ยนแปลงนี้อาจมีบทบาทในการกำหนดกลไกการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติกในรูปเซลล์ตาย

การศึกษาในครั้งนี้บ่งชี้ว่า โพรไบโอติก *L. salivarius* I203 มีศักยภาพในการส่งเสริมสุขภาพลำไส้ของไก่เนื้อในภาวะที่มีการกระตุ้นการอักเสบ ทั้งในด้านการปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน การลดการอักเสบ และการเพิ่มความสมบูรณ์ของเยื่อบุลำไส้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2567 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ARNON YUBU : EFFECT OF LIVE AND DEAD CELL PROBIOTIC *Lactobacillus salivarius* I203 ON GUT HEALTH OF BROILER CHICKENS STIMULATED WITH LIPOPOLYSACCHARIDE. ADVISOR. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUTISA KHEMPAKA, Ph.D., 52 PP.

Keyword: Broiler/Lipopolysaccharide/*L. salivarius* I203/Probiotic/Postbiotic/Live cell/Dead cell/Lysozyme/Immune organ/Short-Chain Fatty Acid/ Intestinal morphology/ Inflammation/Cytokine/Tight junction

The broiler industry is currently facing multiple challenges, including heat stress, immunological stress, and regulatory restrictions on the use of antibiotic growth promoters in animal feed. These factors adversely affect the health and productivity of broiler chickens. Consequently, the inclusion of functional feed additives such as probiotics has gained increasing interest due to their potential to enhance gut health, improve nutrient absorption efficiency, and modulate immune function, thereby promoting broiler productivity. Among *Lactobacillus spp.*, particularly *Lactobacillus salivarius* was later reclassified as *Ligilactobacillus salivarious* (*L. salivarious)*, and is naturally found in the gastrointestinal tract of various animals, including poultry. The present study aimed to investigate the effects of *L. salivarius* I203 on gut health in broiler chickens under inflammation-induced conditions using lipopolysaccharide (LPS) from *Escherichia coli* as the inflammatory stimulant. A total of 90 one-day-old broiler chicks were randomly assigned into 9 experimental groups: 1) control group (injected with phosphate-buffered saline, PBS); 2) negative control group (injected with LPS); 3) positive control group (supplemented zinc bacitracin and injected with LPS); groups 4–6) groups administered live *L. salivarius* I203 at doses of 1×10^7 to 1×10^9 CFU/bird/day (injected with LPS); and groups 7–9) groups administered heat-killed *L. salivarius* I203 at the dose levels of 1×10^7 to 1×10^9 CFU/bird/day (injected with LPS). On day 14, birds in groups 2–9 were intraperitoneally challenged with LPS (1 mg/kg body weight), while group 1 received PBS injection for comparison. After 24 hours, blood, intestinal tissue, immune-related organs, and cecal digesta were collected for

analysis of cytokine gene expression, relative immune organ weights, intestinal histomorphology, serum lysozyme activity, and levels of short-chain fatty acids (SCFAs), lactic acid, and ammonia. The results showed that both live and dead cell forms of *L. salivarius* I203 administration improved body weight at days 7, 14, and 15, decreased bursa of Fabricius relative, and increased in serum lysozyme activity. In addition, it was found that *L. salivarius* I203 improved morphology of small intestine in broiler chickens challenged with LPS. *L. salivarius* I203 also enhanced the production of SCFAs, including butyric acid, branched-chain short chain fatty acids, valeric acid, and lactic acid, while reducing ammonia concentration in the cecum. Gene expression analysis revealed that *L. salivarius* I203 stimulated the expression of gut barrier integrity-related genes, namely *OCLN*, *CLDN1*, and *JAM2*, and genes associated with mucin production (*MUC2*). Live cells upregulate the expression of *OCLN* and *MUC2* genes, while both live and dead cell forms increased the expression of *JAMs*. In addition, both cell forms decreased the expression of pro-inflammatory cytokine genes (*TNF-*α and *IL-1*β) in the liver, and the live cell form also enhanced the the expression of pro-inflammatory cytokine gene (*IL-4*). Secondary structure analysis of proteins using Fourier-transform Infrared Spectroscopy (FTIR) indicated that the dead cell form of *L. salivarius* I203 exhibited a higher proportion of β-sheet structure in the S-layer protein (63.5%) compared to the live-cell form (37.4%), whereas the α-helix structure was reduced. This structure alteration may play a role in determining the mechanism of action of probiotics in dead cell form.

This study indicates that the probiotic *L. salivarius* I203 has the potential to promote intestinal health in broiler chickens under inflammatory conditions. Its beneficial effects include modulation of the immune system, reduction of inflammation, and enhancement of intestinal epithelial integrity.

School of Animal Technology and Innovation Student's Signature _____
Academic Year 2024 Advisor's Signature Sutisa Khampaka