

ผลการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและจุลินทรีย์ก่อโรคลในไก่เนื้อ

เพ็ญศิริ มาริสา

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

สัมมนาฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและจุลินทรีย์ก่อโรคลในไก่เนื้อ โดยมีการทบทวนเอกสารทั้งหมดจำนวน 3 ฉบับ ทดลองโดยการเสริม *Bacillus subtilis* ในระดับ 0, 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 และ 5×10^9 cfu/kg จากการศึกษาพบว่า การเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 และ 5×10^9 cfu/kg มีผลทำให้ไก่มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันดีขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามการเสริม *Bacillus subtilis* ไม่มีผลต่อการกินได้ นอกจากนี้การเสริม *Bacillus subtilis* ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคลลดลงและเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ไก่ จึงสามารถสรุปได้ว่า การเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 1×10^8 และ 5×10^9 cfu/kg ทำให้สมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่ดีขึ้น และส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคลในลำไส้ลดลง

คำสำคัญ: *Bacillus subtilis* จุลินทรีย์ในลำไส้ไก่เนื้อ สมรรถภาพการเจริญเติบโต

บทนำ

ไก่เนื้อหรือไก่กระທงจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในแต่ละปีมีการผลิตไก่เนื้อเป็นจำนวนมากเพื่อการบริโภคภายในประเทศและการส่งออก การเลี้ยงไก่เนื้อในระดับอุตสาหกรรมนิยมเลี้ยงแบบหนาแน่น เนื่องจากให้ผลผลิตปริมาณมาก แต่อาจส่งผลให้มีปัญหาเรื่องสุขภาพและโรคในไก่ตามมา ซึ่งอาจมีสาเหตุจาก เชื้อไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา และ โปรโตซัว ทำให้ต้องมีการจัดการฟาร์มที่ดีและจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการป้องกันและรักษาโรค รวมถึงการจัดการด้านอาหารเช่น การเติมสารปฏิชีวนะลงในอาหาร เพื่อเร่งการเจริญเติบโต การป้องกันและรักษาโรค ซึ่งสารเหล่านี้ อาจมีการตกค้างในเนื้อไก่ ทำให้มีผลกระทบต่อผู้บริโภคและการส่งออก เนื่องจากปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่คำนึงถึงความปลอดภัยในอาหารเป็นหลัก ผู้ผลิตไก่เนื้อจึงมีการนำสารเสริมชีวนะมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมี หรือยาปฏิชีวนะ มีแบคทีเรียหลายกลุ่มที่นิยมนำมาใช้เสริมเป็น โปรไบโอติกในอาหารสัตว์ อาทิเช่น กลุ่ม *Bacillus cereus* เช่น *Bacillus subtilis* และกลุ่ม *Lactobacillus* เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* เป็นต้น (หทัยรัตน์, 2551)

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วไปในดินและน้ำ มีประโยชน์ต่อวงการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหารและยา และทางการเกษตรอย่างมาก เพราะได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้จาก *Bacillus subtilis* อย่างกว้างขวางหลายชนิด เช่น เอนไซม์ สารกำจัดแมลง amino acid nucleotide และ nucleosides เพราะมีความปลอดภัยสูง และไม่ปรากฏว่าก่อให้เกิดโรค (Sonenshein et al., 1993) ในด้านการปศุสัตว์ *Bacillus subtilis* ช่วยฟื้นฟูและรักษาสมดุลในลำไส้ของสัตว์, ปรับปรุงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน, เพิ่มความต้านทานต่อโรคของสัตว์และส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์ (Leser et al., 2008) นอกจากนี้ยังช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคชนิดต่างๆ เช่น *Salmonella* และ *Clostridium* (Ragione and Woodward, 2003) ส่งผลดีต่อสุขภาพของสัตว์

ดังนั้น สัมมนาฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในไก่เนื้อ สำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับผู้ที่สนใจ

ผลการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

จากตารางที่ 1 สุชาติ และคณะ (2560) ได้รายงานว่าการเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 1×10^8 cfu/kg ไม่มีผลต่อการกินได้ แต่มีผลต่อน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อโรคลดจำนวนลง ส่งผลให้เซลล์เยื่อบุลำไส้ถูกทำลายลดลง สัตว์ใช้พลังงานในการสร้างเซลล์เยื่อบุลำไส้ลดลง ทำให้มีพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Anderson et al., 1999)

ในขณะที่ Gao et al. (2017) ได้รายงานว่าการเสริม *Bacillus subtilis* ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ แต่การเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 4×10^9 และ 5×10^9 cfu/kg มีผลทำให้น้ำหนักตัวสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ให้ผลไม่ต่างจากการเสริมที่ระดับ 2×10^9 และ 3×10^9 นอกจากนี้อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้นในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 4×10^9 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริมระดับ 2×10^9 , 3×10^9 และ 5×10^9 ($P > 0.05$) (ตารางที่ 2) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่แตกต่างกันทำให้ประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* ที่นำมาใช้มีประสิทธิภาพลดลง ในขณะที่น้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานของ Sen et al. (2012) ที่พบว่าการเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับต่ำ (1×10^8) ทำให้น้ำหนักตัวของไก่เพิ่มขึ้นดีที่สุด เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเสริม (ตารางที่ 3)

จะเห็นได้ว่าจากทั้ง 3 งานทดลองให้ผลที่สอดคล้องกันคือสมรรถภาพการเจริญเติบโตดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่เสริม *Bacillus subtilis* เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารและส่งผลให้ไก่มีสมรรถภาพการเจริญเติบโตดีขึ้น Chiang et al. (2000) อ้างโดย สุชาติ และคณะ (2560)

ตารางที่ 1 ผลของการเสริมยาปฏิชีวนะ และ *Bacillus subtilis* (1×10^8 cfu/kg) ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

Parameter	Treatment			SEM
	Control	5ppm. Flavomycin	<i>Bacillus subtilis</i>	
ADFI (g.)	115.59±1.66	120.22±2.74	119.73±1.78	1.264
BW (g.)	2,700.63±40.8 ^b	2,952.56±80.2 ^a	2,937.8±75.6 ^a	45.38
ADG (g/d)	64.30±0.97 ^b	70.30±1.91 ^a	69.95±1.80 ^a	1.081
FCR	1.80±0.03 ^b	1.712±0.02 ^a	1.716±0.02 ^a	0.106

^{a-b} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา: สุชาติ และคณะ (2560)

ตารางที่ 2 ผลการเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

Parameter	ระดับของ <i>Bacillus subtilis</i> (cfu/kg)				
	Control	2x10 ⁹	3x10 ⁹	4x10 ⁹	5x10 ⁹
ADFI (g)	89.53±2.44	88.99±8.54	91.75±1.62	86.47±3.40	93.13±8.93
BW (kg)	1.89±0.15 ^a	1.93±0.28 ^{ab}	2.04±0.34 ^{ab}	2.07±0.16 ^b	2.05±0.23 ^b
ADG (g)	44.29±1.60 ^a	45.14±2.57 ^{ab}	47.81±3.71 ^{ab}	48.57±1.81 ^b	48.05±4.52 ^{ab}
FCR	1.91±0.09 ^b	1.86±0.22 ^{ab}	1.81±0.11 ^{ab}	1.78±0.13 ^a	1.82±0.20 ^{ab}

^{a, b} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gao et al. (2017)

ตารางที่ 3 ผลการเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับต่างๆ ในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

Parameter	<i>Bacillus subtilis</i> (cfu/kg)				SEM	P-Values	
	Control	1x10 ⁷	1x10 ⁸	1x10 ⁹		Linear	Quadratic
BW gain (g)	1,639 ^c	1,697 ^b	1,769 ^a	1,776 ^a	15.93	<0.001	0.112
FI (g)	2,950 ^b	2,976 ^b	3,028 ^a	3,039 ^a	11.13	<0.001	0.898
FCR	1.80 ^a	1.75 ^b	1.71 ^c	1.71 ^c	0.01	<0.001	0.089

^{a-c} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Sen et al. (2012)

ผลการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในลำไส้ของไก่เนื้อ

จากตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่างานของ สุชาติ และคณะ (2560) พบว่าการเสริมเชื้อ *Bacillus subtilis* ส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* มีแนวโน้มลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) โดยเฉพาะในช่วงอายุ 35 วัน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และ ไม่พบเชื้อ *Salmonella sp.* และ *Clostridium perfringens* ในของเหลวจากลำไส้ของไก่เนื้อ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *Bacillus subtilis* มีกลไกการทำงานคือ เมื่อเชื้อได้รับออกซิเจนในระบบทางเดินอาหารจะผลิตสารคล้ายเอนไซม์หลายชนิด เช่น subtilisin และ catalase ซึ่งจะช่วยปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในระบบทางเดิน ทำให้แบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวสามารถเจริญและเกาะกับผนังเยื่อลำไส้ได้มากขึ้น ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคเกาะกับเยื่อลำไส้ได้ลดลง จึงขาดอาหาร และตายในที่สุด (Hosoi et al., 2000 อ้างโดย สุชาติ และคณะ 2560) ในขณะที่งานทดลองของ Gao et al. (2017) พบว่าการเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 4×10^9 cfu/kg มีผลทำให้ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุมแต่ให้ผลไม่ต่างจากการเสริมที่ระดับ 2×10^9 , 3×10^9 และ 5×10^9 และการเสริม *Bacillus subtilis* ในระดับ 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 และ 5×10^9 มีผลทำให้ เชื้อ *E. coli* ลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้การเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 4×10^9 และ 5×10^9 ยังส่งผลต่อการเพิ่ม *Lactobacillus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมที่ระดับ 2×10^9 ($P < 0.05$) แต่มีผลไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริมระดับ 3×10^9 (ตารางที่ 5) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *Bacillus subtilis* สามารถลดปริมาณของเชื้อ *Salmonella* และ *E. coli* ในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นและผลด้านเชื้อแบคทีเรียเพราะ *Bacillus subtilis* เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนจำนวนมากในการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของโปรไบโอติกแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยการใช้ออกซิเจนจำนวนมากในระบบทางเดินอาหารของสัตว์และรักษาสมดุลของของจุลินทรีย์ในลำไส้เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเช่น *Escherichia coli* ในขณะทำงานทดลองของ Sen et al. (2012) พบว่าการเสริม *Bacillus subtilis* ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ *Bifidobacterium* และไม่มีผลต่อการลดลงของ *Coliforms* แต่มีผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์ *Clostridium* เมื่อเสริมที่ระดับ 1×10^7 , 1×10^8 และ 1×10^9 cfu/kg เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Koenen et al., 2004 อ้างโดย Sen et al., 2012) (ตารางที่ 6)

จะเห็นได้ว่าจากทั้ง 3 งานทดลองให้ผลที่ไปในทิศทางเดียวกันทั้งนี้อาจเป็นเพราะงานของสุชาติ และคณะ (2560) ใช้ระดับการเสริมที่ต่างจากงานของ Gao et al. (2017) และ Sen et al. (2012) อาจเนื่องมาจากสภาพอากาศที่ใช้เลี้ยงอุณหภูมิที่แตกต่างกันเพราะในงานทดลองของสุชาติ และคณะ (2560) และงานทดลองของ Sen et al. (2012) เลี้ยงไก่ในระบบปิด (Evaporative cooling system) ซึ่งอุณหภูมิอยู่ที่ 23 องศาเซลเซียส งานทดลองของ Gao et al. (2017) ได้ทำการทดลองโดยเลี้ยงไก่ในกรงอุณหภูมิอยู่ที่ 32-33 องศาเซลเซียส จึงส่งผลให้ไก่เกิดความเครียดจากสภาพอากาศร้อนและกรงที่เลี้ยงอาจไม่สะอาดจึงทำให้การเสริม *Bacillus subtilis* จำนวนมากถึงจะมีผลต่อการลดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

ตารางที่ 4 ผลการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารที่ระดับ 0 และ 1×10^8 cfu/kg ต่อปริมาณของ *Escherichia coli* ในลำไส้ไก่

Stage of growth	Population of <i>E.coli</i> ($\log_{10}$ cfu/g.digesta)	
	Control	<i>Bacillus subtilis</i>
Day10	7.81 $\pm$ 0.69	7.24 $\pm$ 1.10
Day24	7.38 $\pm$ 0.77	7.29 $\pm$ 0.58
Day35	7.15 $\pm$ 0.73 ^a	6.54 $\pm$ 0.06 ^b
Day42	6.72 $\pm$ 0.67	6.16 $\pm$ 0.52

^{a-b} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา: สุชาติ และคณะ (2560)

ตารางที่ 5 ผลของการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ของไก่เนื้อ

ชนิดเชื้อ	ระดับของ <i>Bacillus subtilis</i> (cfu/kg)				
	Control	2×10^9	3×10^9	4×10^9	5×10^9
<i>Lactobacillus</i>	8.35 $\pm$ 0.28 ^a	8.79 $\pm$ 0.35 ^{ab}	8.86 $\pm$ 0.42 ^{bc}	9.35 $\pm$ 0.45 ^c	9.37 $\pm$ 0.39 ^c
<i>Salmonella</i>	6.63 $\pm$ 0.14 ^b	6.35 $\pm$ 0.07 ^{ab}	6.37 $\pm$ 0.32 ^{ab}	5.75 $\pm$ 0.14 ^a	6.28 $\pm$ 0.26 ^{ab}
<i>Escherichia coli</i>	8.54 $\pm$ 0.61 ^b	7.48 $\pm$ 0.37 ^a	7.47 $\pm$ 0.29 ^a	7.31 $\pm$ 0.36 ^a	7.01 $\pm$ 0.28 ^a

^{a-c} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gao et al. (2017)

ตารางที่ 6 ผลของการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ไก่เนื้อ ($\log_{10}$ cfu/g)

Parameter	<i>Bacillus subtilis</i> (cfu/kg)				SEM	P-Values	
	Control	1×10^7	1×10^8	1×10^9		Linear	Quadratic
<i>Bifidobacterium</i>	9.31	9.47	9.39	9.54	0.06	0.270	0.940
<i>Clostridium</i>	8.12 ^a	7.84 ^b	7.77 ^b	7.67 ^b	0.07	0.018	0.463
<i>Coliforms</i>	7.92	7.59	7.54	7.58	0.06	0.057	0.135

^{a, b} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Sen et al. (2012)

สรุป

การเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารไม่มีผลต่อการกินได้ แต่มีผลทำให้ไก่มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันดีขึ้น และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคลดลง (*Escherichia coli* และ *Salmonella*) และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร (*Lactobacillus*) โดยสามารถเสริมได้ตั้งแต่ระดับ 1×10^8 ถึง 5×10^9 cfu/kg ทั้งนี้ควรคำนึงถึงต้นทุนที่เพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารอ้างอิง

- กนกภรณ์ ศรียิ้ม. 2554. การคัดเลือกสายพันธุ์และการผลิตโปรไบโอติกบาซิลลัสสำหรับไก่กระທ . วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยี อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- สุชาติ สงวนพันธุ์ และคณะ. 2560. “การศึกษาประสิทธิภาพของสารเสริม ชีวนะ (*Bacillus subtilis*) ในการ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและผลต่อ มรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ”. *แก่น เกษตร*. 45: 255-262.
- หทัยรัตน์ มุสิกสังข์. 2551. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่เป็นโปรไบโอติกในไก่และการเพิ่มการรอดชีวิต ของเชื้อโดยการห่อหุ้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะ อุตสาหกรรม เกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. ประเทศไทย.

- Cartman, S. T., R. M. La Ragione, and M. J. Woodward. 2008. "*Bacillus subtilis* sporegerminate in the chick gastrointestinal tract". **Applied and Environmental Microbiology**. 74: 5254-5258.
- Chiang, B.L. and et al. 2000. "Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacteria (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immuneresponse". **European Journal of Clinical Nutrition**. 54: 849-855.
- Gao, Z. and et al. 2017. "Study of *Bacillus subtilis* on growth performance, nutrition metabolism and intestinal microflora of 1 to 42 d broiler chickens". **Animal Nutrition**. 3: 109-113.
- Hosoi, T., A. Ametani, K. Kiuchi, and S. Kaminogawa. 2000. "Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase or subtilisin". **Canadian Journal of Microbiology**. 46: 892-897.
- Kampf, D. 2012. "Probiotics in poultry nutrition". **DGS-Magazin**. 64(14): 25-28.
- Koenen et al, 2004. "Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens". **British Poultry Science**. 45: 355-366.
- Leser et al., 2008. "Germination and outgrowth of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores in the gastrointestinal tract of pigs". **Journal of Applied Microbiology**. 104 (4): 1025-1033.
- Ragione, R., and M. Woodward. 2003. "Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella* enteric serotype enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens". **Veterinary Microbiology**. 94: 245-256.
- Sen, S. and et al. 2012. "Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology". **Research in Veterinary Science**. 93: 264-268.
- Zuber, P., M. M. Nakano and M. A. Marahiel. 1993. "*Bacillus subtilis* and other gram-positive bacteria biochemistry, physiology, and molecular genetics". **American Society for Microbiology**. 897-917.