วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.
KKU Veterinary Journal
ISSN 0858-2297



RESEARCH ARTICLE

# Meta-analysis for evaluating the effect of prebiotics supplementation on microbiota diversity indices in chicken intestine

Kanlaya Worawong[1*], Peerapol Sukon[1]

[1]*Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002 Thailand*
[*]***Corresponding author*** *E-mail: kanworawong@kku.ac.th*

**Received** 08 July 2021, **Revised** 31 August 2021 **Accepted** 21 September 2021, **Published** 30 December 2021

## Abstract

**Objective:** To evaluate the effect of prebiotics supplementation on microbiota diversity indices in chicken intestine.

**Materials and Methods:** Relevant citations were retrieved from PubMed, Scopus and Web of Science databases. The titles and abstracts of the retrieved citations were preliminary screened for their eligibility. Then, full-text articles were assessed using in-depth screening from the methodology and the result sections of the articles for inclusion. Data of the included studies were extracted for further analysis. Risk of bias of the included studies was also assessed using SYRCLE's risk of bias tool. A meta-analysis was performed with a random effects model. The study outcomes were standardized mean difference (SMD) of Shannon index, Simpson index and Chao1. The pooled estimates of the effect size of prebiotic supplementation on microbiota diversity of chicken intestine were determined. In addition, sensitivity analysis, and assessment for publication bias were conducted.

**Results:** Prebiotic supplementation significantly increased the Shannon index (SMD=1.01, [95% CI, 0.33 to 1.68], P=0.003), but not significantly altered Simpson index (SMD=0.78, [95% CI, -0.24 to 1.79], P=0.133) and Chao1 (SMD=-0.07, [95% CI, -0.35 to 0.21], P=0.633), with high heterogeneity. Sensitivity analysis indicated that the Simpson index was not robust for all three assessed characteristics, whereas publication bias assessment showed some bias in Chao1 outcome.

**Conclusion:** Prebiotic supplementation tends to increase Shannon index in chicken intestine; however, more relevant trials are required to confirm the results.

**Keywords:** Meta-analysis, prebiotic, diversity index, microbiota, chicken

บทความวิจัย

# การวิเคราะห์อภิมานเพื่อประเมินผลการเสริมพรีไบโอติกต่อดัชนีความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในลำไส้ของไก่

**กัลยา วรวงศ์**[1*], **พีระพล สุขอ้วน**[1]

[1]*คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002*

**ผู้ประพันธ์บรรณกิจ อีเมล์: kanworawong@kku.ac.th*

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์** เพื่อประเมินผลการเสริมพรีไบโอติกต่อดัชนีความหลากหลายของไมโครไบโอต้า (microbiota diversity index) ในลำไส้ของไก่

**วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ** สืบค้นการศึกษาที่เกี่ยวข้องจากฐาน PubMed, Scopus และ Web of Science คัดกรองเบื้องต้นจากชื่อเรื่องและบทคัดย่อ จากนั้นสืบค้นฉบับเต็มนำมาคัดกรองเชิงลึกจากวิธีการและผลการทดลอง สกัดข้อมูลที่สนใจศึกษา รวมทั้งประเมินความเสี่ยงจากความลำเอียง (risk of bias assessment) ของบทความวิจัย โดยใช้เครื่องมือ SYRCLE's risk of bias tool ทำการวิเคราะห์อภิมานโดยใช้โมเดลผลกระทบแบบสุ่ม (random effects model) แปลงค่าผลลัพธ์ Shannon index, Simpson index และ Chao1 เป็นค่าเฉลี่ยมาตรฐาน (standardized mean difference; SMD) สำหรับวัดขนาดผลกระทบ (effect size) ของพรีไบโอติกต่อผลลัพธ์ดังกล่าว วิเคราะห์ผลในภาพรวมที่เกิดจากการเสริมพรีไบโอติกต่อแต่ละผลลัพธ์จากค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบรวม (pooled estimate) นอกจากนั้นวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) และวิเคราะห์ความลำเอียงจากการตีพิมพ์ (assessment for publication bias)

**ผลการศึกษา** รายงานวิจัยที่นำเข้าสู่การวิเคราะห์ในครั้งนี้มีจำนวน 9 บทความ ส่วนใหญ่มีความเสี่ยงจากความลำเอียงในระดับต่ำ ผลวิเคราะห์อภิมานพบว่าการเสริมพรีไบโอติกทำให้ Shannon index สูงขึ้น (SMD=1.01, [95% CI, 0.33 ถึง 1.68], P=0.003) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วน Simpson index (SMD=0.78, [95% CI, -0.24 ถึง 1.79], P=0.133) และ Chao1 (SMD=-0.07, [95% CI, -0.35 ถึง 0.21], P=0.633) ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) แต่ละการศึกษาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและแตกต่างกันในระดับสูง ผลวิเคราะห์ความไวของผลลัพธ์ด้าน Simpson index ไม่มีความเสถียรทั้ง 3 ลักษณะที่ทำการประเมิน ในขณะที่ผลวิเคราะห์ความลำเอียงจากการตีพิมพ์ พบว่ามีความลำเอียงในการตีพิมพ์ผลลัพธ์ด้าน Chao1

**สรุป** การเสริมพรีไบโอติกมีแนวโน้มทำให้ Shannon index ในลำไส้ไก่สูงขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการวิเคราะห์ซ้ำเมื่อมีงานวิจัยเผยแพร่เพิ่มขึ้นเพื่อยืนยันผล

**คำสำคัญ**: การวิเคราะห์อภิมาน, พรีไบโอติก, ดัชนีความหลากหลาย, ไมโครไบโอต้า, ไก่

## บทนำ

ทางเดินอาหารจัดเป็นส่วนที่มีพื้นที่ผิวมากที่สุดของไก่ ซึ่งต้องสัมผัสกับสิ่งแปลกปลอมจากภายนอก (Yadav and Jha, 2019) สุขภาพทางเดินอาหารที่ดีย่อมส่งผลดีต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย ไม่เฉพาะต่อการย่อยหรือดูดซึมสารอาหารเท่านั้น แต่ยังช่วยป้องกันเชื้อก่อโรคได้ด้วย (Diaz Carrasco et al., 2019) เป็นที่ยอมรับแล้วว่าไมโครไบโอต้า (microbiota) ในทางเดินอาหารมีส่วนอย่างมากต่อบทบาทดังกล่าว (Rinttilä and Apajalahti, 2013) ทั้งผลจากเชื้อโดยตรงและผลจากกรดไขมันสายสั้นที่เชื้อผลิตขึ้นผ่านการหมักบ่ม (fermentation) ใยอาหาร (Dibner and Richards, 2005) เชื้อองค์ประกอบในไมโครไบโอต้ามีหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรีย (Wei et al., 2013) แกรมบวก (Choct, 2009) และไม่ใช้ออกซิเจน (Yadav and Jha, 2019) ซึ่งเชื้อหลักที่ทำหน้าที่หมักบ่มอยู่ใน 4 ไฟลัม (phylum) นี้ ได้แก่ Firmicutes, Bacteroidetes (Louis and Flint, 2017), Actinobacteria และ Proteobacteria (Vital et al., 2014) ขณะเดียวกันทั้ง 4 ไฟลัมนี้จัดเป็นเชื้อหลักที่พบในลำไส้ไก่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไฟลัม Firmicutes และ Bacteroidetes ซึ่งพบในสัดส่วนที่สูงกว่าเชื้ออื่นๆ (Lu et al., 2003; Kumar et al., 2018)

พรีไบโอติก (prebiotic) เป็นหนึ่งในสารเสริมอาหารที่นิยมนำมาศึกษาผลต่อไมโครไบโอต้าในทางเดินอาหารของไก่ ทั้งนี้ผลการทดลองส่วนใหญ่พบว่าพรีไบโอติกช่วยเพิ่มจำนวนเชื้อไมโครไบโอต้าได้ โดยเฉพาะ bifidobacteria และ lactobacilli (Baurhoo et al., 2009; Ricke, 2015) รวมทั้งช่วยเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นที่สำคัญต่อร่างกาย ได้แก่ อะซิเตท (acetate) โพรพิโอเนท (propionate) และบิวทีเรท (butyrate) (Pompei et al., 2008; Pourabedin et al., 2015) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีสมมติฐานว่าการเสริมพรีไบโอติกช่วยเพิ่มความหลากหลายของไมโครไบโอต้าได้ ซึ่งสามารถพิจารณาใน 2 ลักษณะคือ ความหลากหลายของชนิด (richness) และความสม่ำเสมอ (evenness) โดยคาดหวังว่า ความหลากหลายช่วยเพิ่มความสมบูรณ์แข็งแรงของผนังลำไส้ และช่วยเพิ่มการผลิตกรดไขมันสายสั้นได้ จุดประสงค์ของการวิเคราะห์อภิมาน (meta-analysis) ครั้งนี้ จึงเพื่อประเมินผลการเสริมพรีไบโอติกต่อดัชนีความหลากหลาย (diversity index) ของไมโครไบโอต้าในลำไส้ของไก่

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### ทบทวนลำดับการทำงาน

บันทึกแผนการทำงาน กำหนดขั้นตอน กรอบหรือรายละเอียดที่เกี่ยวข้องที่นำเข้าสู่การศึกษาโดยยึดตาม SYRCLE's protocol format (de Vries et al., 2015) เพื่อลดความลำเอียงที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการศึกษา

### แหล่งข้อมูลและวิธีการสืบค้น

สืบค้นการศึกษาที่เกี่ยวข้องซึ่งเผยแพร่ในฐาน PubMed, Scopus และ Web of Science โดยใช้คำค้นเหมือนกันทั้ง 3 ฐาน ซึ่งประกอบด้วยคำว่า prebiotic, dietary fiber, microbiota, microbial community, chicken และ broiler ทั้งนี้กำหนดเลือกเอาเฉพาะการศึกษาที่เป็นงานทดลอง และตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษเท่านั้น สืบค้นข้อมูลเมื่อวันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2563

### การคัดเลือกรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เมื่อได้รายชื่อผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากทั้ง 3 ฐาน ใช้โปรแกรมตัดรายชื่อที่ซ้ำออก คัดกรองเบื้องต้นจากชื่อเรื่องและบทคัดย่อ จากนั้นสืบค้นรายงานฉบับสมบูรณ์ คัดกรองขั้นตอนที่ 2 โดยพิจารณาจากวิธีการและผลการทดลอง ในที่สุดได้รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและนำข้อมูลในงานวิจัยเหล่านั้นมาวิเคราะห์อภิมาน ทั้งนี้เงื่อนไขที่ใช้ในการคัดเข้างานวิจัยมีดังนี้ 1) เป็นการทดลองในไก่ 2) พรีไบโอติกที่ใช้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ โอลิโกแซคคาไรด์ หรือ โพลีแซคคาไรด์ 3) ไก่ได้รับพรีไบโอติกโดยการกิน 4) รายงานดัชนีความหลากหลายของไมโครไบโอต้า อย่างน้อยต้องมี Shannon index, Simpson index, Abundance-based coverage estimator (ACE), Chao1 หรือ Operational taxonomic unit (OTU) อย่างใดอย่างหนึ่ง และ 5) ประเมินผลเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับพรีไบติกอย่างเดียวเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ลำดับขั้นตอนในการคัดเข้างานวิจัยได้สรุปโดยใช้ PRISMA flow chart (Moher et al., 2009)

### วิธีการศึกษาและการสกัดข้อมูล

ข้อมูลที่ทำการสกัดและเก็บรวบรวมจากแต่ละชิ้นงาน มีรายละเอียดดังนี้ 1) ข้อมูลผู้วิจัย (ชื่อผู้วิจัยและปีที่ตีพิมพ์) 2) คุณลักษณะของไก่ที่ใช้ทดลอง (ชนิดและพันธุ์ไก่) 3) คุณลักษณะของสิ่งที่สนใจศึกษา (ชนิดของพรีไบโอติก) 4) ดัชนีความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในลำไส้ ขั้นตอนการแจกแจงรายละเอียดเชิงลึกนี้ ได้ยึดตามการศึกษาของ Kerr et al. (2013) และ Blajman et al. (2014)

### การประเมินความเสี่ยงจากความลำเอียง

การประเมินความเสี่ยงจากความลำเอียง (risk of bias assessment) เป็นการประเมินคุณภาพบทความวิจัยทุกเรื่องที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าสำหรับวิเคราะห์อภิมาน โดยใช้ SYRCLE's tool for assessing risk of bias (Hooijmans et al., 2014) เครื่องมือ

ดังกล่าวมีรายการประเมินจำนวน 10 รายการ ได้แก่ 1) sequence generation 2) baseline characteristics 3) allocation concealment 4) random housing 5) blinding of participants 6) random outcome assessment 7) blinding of investigators 8) incomplete outcome data 9) selective outcome reporting และ 10) other sources of bias ทั้งนี้เกณฑ์การประเมินในแต่ละรายการมี 3 ระดับ คือ ระดับความเสี่ยงต่ำ ระดับความเสี่ยงสูง และความเสี่ยงไม่ชัดเจน โดยยึดวิธีตาม Hooijmans et al. (2014) ผลการประเมินทั้งหมดของแต่ละบทความวิจัยถูกนำมารวมกันเพื่อดูความเสี่ยงของแต่ละรายการ โดยนำเสนอผลในรูปของกราฟแสดงความเสี่ยง

### การวัดผลลัพท์และการวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่า Shannon index, Simpson index และ Chao1 ของแต่ละบทความวิจัยมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกัน ส่วนค่าดัชนีอื่นมีจำนวนรายงานน้อยกว่า 4 รายงานจึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์อภิมานได้

วิเคราะห์อภิมานข้อมูลสำคัญที่คัดลอกไว้ในไฟล์เอ็กเซล (excel) ด้วยโปรแกรม Comprehensive Meta-Analysis version 3 (Biostat, Englewood, NJ, USA) เนื่องจากผู้วิจัยเล็งเห็นว่าบทความวิจัยที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกมีการออกแบบการทดลองที่แตกต่างกัน ทำให้ผลลัพธ์อาจมีความไม่เป็นเอกพันธ์ (heterogeneity) ผู้วิจัยจึงเลือกโมเดลผลกระทบแบบสุ่ม (random effects model) สำหรับการวิเคราะห์อภิมานทั้งหมด ซึ่งโมเดลดังกล่าวปรับความแปรผันของผลลัพธ์ระหว่างการทดลองต่างๆ เข้าไปในโมเดล

### การวิเคราะห์อภิมานภาพรวม

การวิเคราะห์อภิมานภาพรวม (overall meta-analysis) ได้แยกวิเคราะห์ทีละผลลัพธ์ โดยใช้โมเดลผลกระทบแบบสุ่มคำนวณค่าขนาดผลกระทบ (effect size) ในรูปค่าเฉลี่ยมาตรฐาน (standardized mean difference) และช่วงความเชื่อมั่น (confidence interval) ที่ร้อยละ 95 ของแต่ละการศึกษาและของภาพรวม โดยใช้การศึกษาเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ (units of analysis) (การศึกษาใดรายงานผลลัพธ์เป็นกลุ่มย่อย ข้อมูลกลุ่มย่อยในการศึกษานั้น ถูกนำมาคำนวณรวมกันก่อนการวิเคราะห์อภิมานเพื่อให้เป็นตัวแทนของการศึกษานั้น) ประเมินความไม่เป็นเอกพันธ์โดยการทดสอบ Cochran's Q test และประเมินขนาดความไม่เป็นเอกพันธ์โดย $I^2$ statistics ซึ่งคำนวณเป็นค่าร้อยละ โดยค่าร้อยละ 25, ร้อยละ 50, และร้อยละ 75 บ่งบอกระดับความต่างแบบที่ ต่ำ ปานกลาง และสูง ตามลำดับ (Higgins et al., 2011) ระดับนัยสำคัญกำหนดที่ $P_{heterogeneity}$<0.10 นำเสนอผลการวิเคราะห์อภิมานในรูปของกราฟ Forest plot และตาราง

### การวิเคราะห์ความไว

การวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) เป็นการประเมินความเสถียร (robustness) ของผลลัพธ์ ที่เกิดจากการตัดสินใจในขั้นตอนการทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบ (systematic review) และการวิเคราะห์อภิมาน โดยเปรียบเทียบกับผลลัพธ์ใน 3 ลักษณะ ได้แก่ 1) การเปรียบเทียบผลลัพธ์จากโมเดลผลกระทบแบบสุ่มกับโมเดลผลกระทบแบบคงที่ (fixed effects model) 2) การดูผลกระทบของแต่ละการศึกษาที่มีต่อผลกระทบภาพรวม โดยวิธี leave-one-out analysis (ตัดบางการศึกษาออกก่อนทำการวิเคราะห์) และ 3) การเปรียบเทียบผลลัพธ์ที่ใช้การศึกษาเป็นหน่วยในการวิเคราะห์กับที่ใช้กลุ่มย่อยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ โดยรายงานผลการวิเคราะห์ความไวในรูปของตารางและรูปภาพ

### การวิเคราะห์ความลำเอียงจากการตีพิมพ์

การวิเคราะห์ความลำเอียงจากการตีพิมพ์ (publication bias) ทำโดยการตรวจสอบกราฟ Funnel plot ด้วยสายตา และทดสอบทางสถิติที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ Begg's test (Begg and Mazumdar, 1994) และ Egger's test (Egger et al., 1997) โดยระดับนัยสำคัญกำหนดที่ P<0.1 ทั้งสองการทดสอบ นอกจากนี้ในกรณีที่กราฟ Funnel plot ไม่สมมาตร ใช้วิธี Duval and Tweedie's trim-and-fill method (Duval and Tweedie, 2000) เพื่อเติมการศึกษาสมมติ (missing studies) ที่ทำให้กราฟสมมาตร และคำนวณขนาดผลกระทบเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่เติมการศึกษาสมมติ

## ผลการศึกษา

### ผลการสืบค้นข้อมูลและการคัดเลือกผลงานวิจัย

ผลการสืบค้นข้อมูลจากทั้ง 3 ฐานได้รายชื่องานวิจัยรวมทั้งหมด 747 รายการ เมื่อตัดรายชื่อที่ซ้ำออกทำให้เหลืองานวิจัยที่เข้าข่ายน่าสนใจจำนวน 485 รายการ ภายหลังการคัดกรองเบื้องต้นมีงานวิจัยเหลือ 171 รายการ ในจำนวนนี้ไม่สามารถเข้าถึงรายงานฉบับเต็ม 4 รายการ และมี 1 รายการที่ซ้ำกัน ดังนั้นจึงเหลืองานวิจัยเพื่อคัดกรองในขั้นตอนที่ 2 จำนวน 166 รายการ ในที่สุดได้ผลงานวิจัยที่ต้องสกัดข้อมูลเพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการวิเคราะห์เพียง 13 รายการ (Figure 1) ซึ่งงานวิจัยทั้ง 13 รายการมีการตีพิมพ์เผยแพร่ในช่วงปี ค.ศ. 2014-2020 (พ.ศ. 2557-2563)

### คุณลักษณะของงานวิจัยที่นำเข้าสู่การศึกษา

รายละเอียดของงานวิจัยทั้ง 13 รายการที่นำเข้าสู่การศึกษา (Table 1) พบว่าส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในไก่เนื้อ (10 ใน

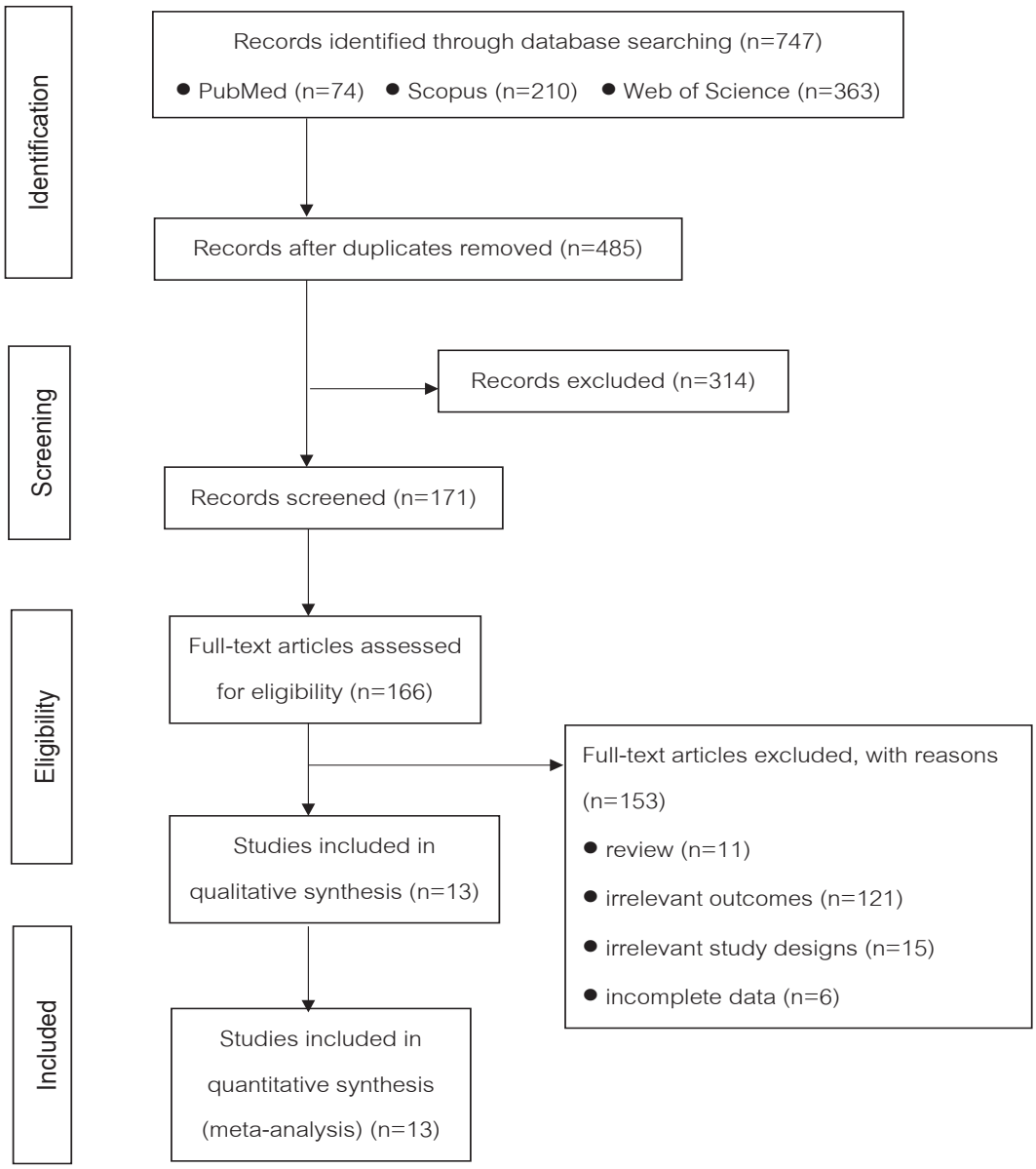



Figure 1. PRISMA flow diagram showing the selection process of the included studies

13) ที่เหลือเป็นการศึกษาในไก่ไข่และไก่พื้นเมือง จำนวน 1 และ 2 รายการ ตามลำดับ สำหรับพรีไบโอติกที่ศึกษาค่อนข้างกระจายหลายชนิด มีทั้งศึกษาผลการใช้ในรูปแบบเดี่ยวและในรูปแบบผสมกับพรีไบโอติกชนิดอื่น อย่างไรก็ตามพรีไบโอติกที่ได้รับความสนใจนำมาศึกษามากที่สุดคือ แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (พบใน 6 จาก 13 รายงาน)

ดัชนีความหลากหลายของไมโครไบโอต้า ที่รวบรวมจากทั้ง 13 รายงาน มีทั้งหมด 9 ค่า ดังนี้ Shannon index, Simpson index, Chao1, ACE, Richness, Evenness, OTU, Good's coverage และ Observed species อย่างไรก็ตาม ดัชนีที่มีจำนวนรายงานมากพอที่สามารถนำเข้าสู่ขั้นตอนการวิเคราะห์ต่อไป ได้แก่ Shannon index, Simpson index และ Chao1 ซึ่งมีจำนวน 9, 5 และ 8 รายงาน ตามลำดับ (Table 1)

### ผลการประเมินความเสี่ยงจากความลำเอียง

การประเมินความเสี่ยงจากความลำเอียง ใช้ประเมินรายงานวิจัยที่นำเสนอผลลัพธ์ด้าน Shannon index เท่านั้น เนื่องจากว่าผลลัพธ์นี้ครอบคลุมการศึกษาทั้งหมด 9 เรื่องที่นำมาวิเคราะห์ ทั้งนี้พบว่าโดเมนที่ 5, 6 และ 7 มีความเสี่ยงไม่ชัดเจนในระดับเท่ากัน คือร้อยละ 100 (9 ใน 9 บทความ) ส่วนโดเมนที่เหลือทั้งหมดมีความเสี่ยงระดับต่ำ โดยมีสัดส่วนตั้งแต่ร้อยละ 56 (5 ใน 9 บทความ) จนถึงร้อยละ 100 ในขณะที่มี 4 โดเมน ได้แก่โดเมน

Table 1. Characteristics of the included studies

| Study (year) | Chickens | | Type of prebiotics | Location | Microbiota diversity indices | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Type | Breed | | | Shannon index | Simpson index | Chao1 | ACE | Richness | Evenness | OTUs | Good's coverage | Observed species |
| Azcarate-Peril et al. (2018) | Layer | White leghorn | Galactooligo-saccharide | Cecum | √ | | | | | | | | |
| Chen et al. (2019) | Broiler | Cobb 500 | Palm kernel expeller (mannan) | Cecum | √ | √ | √ | √ | | | √ | | |
| Hou et al. (2020) | Local chicken | Bian | Lignocellulose | Cecum | √ | √ | √ | √ | | | | | |
| Kumar et al. (2019) | Broiler | Ross 308 | Fructooligo-saccharide | Ileum, Cecum | √ | √ | √ | | | | | √ | √ |
| Li et al. (2018) | Broiler | Ross 308 | Wheat bran, Inulin | Cecum | | | √ | | | | | | |
| Mesa et al. (2017) | Broiler | Hubbart | Mannanoligo-saccharide | Cecum | | | √ | | | | | | |
| Park et al. (2017) | Broiler | Hubbard x Cobb | Mannanoligo-saccharide + Glucan | Cecum | | | | | | | √ | | |
| Park et al. (2016) | Local chicken | Naked neck | Mannanoligo-saccharide + Glucan | Cecum | | | √ | | | | √ | | |
| Pourabedin et al. (2014) | Broiler | Cobb 500 | Mannanoligo-saccharide | Cecum | √ | | | | | √ | | | |
| Shang et al. (2018) | Broiler | Ross 308 | Fructooligo-saccharide | Ileum | √ | √ | √ | | | | | √ | √ |

Table 1. Characteristics of the included studies (continue)

| Study (year) | Chickens | | Type of prebiotics | Location | Microbiota diversity indices | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Type | Breed | | | Shannon index | Simpson index | Chao1 | ACE | Richness | Evenness | OTUs | Good's coverage | Observed species |
| Wang et al. (2016) | Broiler | Arbor Acre | Mannanoligo-saccharide, Yeast | Ileum | √ | √ | √ | √ | | | | | |
| Yacoubi et al. (2018) | Broiler | Ross PM3 | Arabinoxylan | Ileum, Cecum | √ | | | | | | | | |
| Yang et al. (2016) | Broiler | Archer Abor | Mannanoligo-saccharide, Inulin, Fructo-oligosaccharide, Soybean meal oligosaccharide | Cecum | √ | | | | √ | √ | | | |
| Number of the included studies | | | | | 9 | 5 | 8 | 3 | 1 | 2 | 3 | 2 | 2 |

ที่ 1, 2, 3 และ 4 ที่พบความเสี่ยงระดับสูง อย่างไรก็ตามพบในสัดส่วนที่ต่ำ เพียงร้อยละ 11 (1 ใน 9 บทความ) ในโดเมน 1-3 และร้อยละ 33 (3 ใน 9 บทความ) ในโดเมนที่ 4 (Figure 2)

## ผลการวิเคราะห์อภิมานภาพรวม

*ผลการเสริมพรีไบโอติกต่อ Shannon index*

จาก Forest plot (Figure 3) พบว่าในทั้งหมด 9 รายงานที่นำมาวิเคราะห์ มี 4 รายงานที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ส่วนอีก 5 รายงานพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยเป็นผลเชิงบวกทั้งสิ้น ผลการวิเคราะห์ในภาพรวมปรากฏว่า การเสริมพรีไบโอติกทำให้ Shannon index ที่ลำไส้ไก่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (SMD=1.01, [95% CI, 0.33 ถึง 1.68], P=0.003) ผลการประเมินความไม่เป็นเอกพันธ์อยู่ในระดับสูง ($I^2$=84.01, $P_{heterogeneity}$<0.001) (Table 2)

*ผลการเสริมพรีไบโอติกต่อ Simpson index*

จาก Forest plot (Figure 4) พบว่าในทั้งหมด 5 รายงานที่นำมาวิเคราะห์ มี 2 รายงานที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ส่วนอีก 3 รายงานพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยเป็นผลเชิงบวก กล่าวคือการเสริมพรีไบโอติกทำให้ Simpson index สูงขึ้นทั้ง 3 รายงาน แต่ผลการวิเคราะห์ในภาพรวมกลับปรากฏว่า การเสริมพรีไบโอติกไม่ได้ทำให้ Simpson index ที่ลำไส้ไก่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (SMD=0.78, [95% CI, -0.24 ถึง 1.79], P=0.133) ผลการประเมินความไม่เป็นเอกพันธ์อยู่ในระดับสูง ($I^2$=90.18, $P_{heterogeneity}$<0.001) (Table 2)

*ผลการเสริมพรีไบโอติกต่อ Chao1*

จาก Forest plot (Figure 5) พบว่าในทั้งหมด 8 รายงานที่นำมาวิเคราะห์ มี 1 รายงานที่การเสริมพรีไบโอติกทำให้ Chao1 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนอีก 7 รายงาน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ส่งผลให้การวิเคราะห์ในภาพรวมปรากฏว่า การเสริมพรีไบโอติกไม่ได้ทำให้ Chao1 ที่ลำไส้ไก่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (SMD=-0.07, [95% CI, -0.35 ถึง 0.21], P=0.633) ผลการประเมินความไม่เป็นเอกพันธ์อยู่ในระดับต่ำ ($I^2$=30.57, $P_{heterogeneity}$=0.184) (Table 2)

## ผลการวิเคราะห์ความไว

*ผลลัพธ์ด้าน Shonnon index*

ผลวิเคราะห์พบว่า การเลือกใช้โมเดลในการวิเคราะห์ที่ต่างกัน ไม่ได้ทำให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแตกต่างกัน โดยยังพบว่าการเสริมพรีไบโอติกทำให้ Shannon index สูงขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากกลุ่มควบคุม กล่าวคือ ถ้าเลือกใช้โมเดลแบบคงที่จะได้ P=0.000 (SMD=0.89, 95% CI=0.64 ถึง 1.15) ถ้าเลือกใช้โมเดลผลกระทบแบบสุ่มจะได้ P=0.003 (SMD=1.01, 95% CI=0.33 ถึง 1.68) (Table 3)

ส่วนการวิเคราะห์แบบตัดบางการศึกษาออก พบว่าไม่ทำให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปลี่ยน นั่นคือ ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบรวม (pooled estimate) ยังคงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (n=9, SMD=1.01, 95% CI= 0.33 ถึง 1.68, P=0.003) ไม่ว่าตัดการศึกษาของ Yang et al. (2016) ออก ซึ่งทำให้ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบ (estimate) เปลี่ยนเป็นมีค่าต่ำที่สุด (n=8, SMD=0.76, 95% CI=0.15 ถึง 1.37, P=0.014) หรือตัดการศึกษาของ Kumar et al. (2019) ออก ทำให้ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบเปลี่ยนเป็นมีค่าสูงที่สุด (n=8, SMD=1.16, 95% CI=0.46 ถึง 1.86, P=0.001) (Table 3)

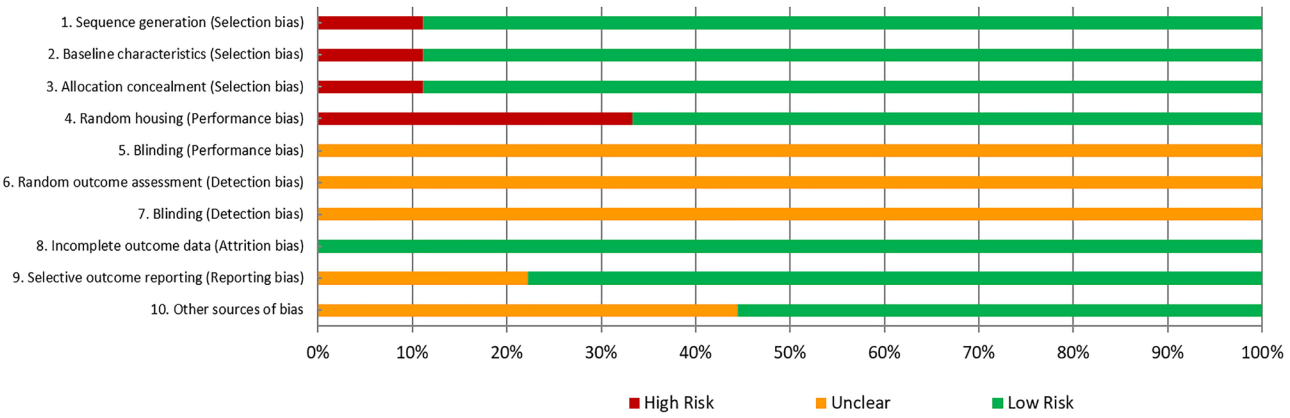



Figure 2. Risk of bias assessment for the 9 included studies

Table 2. Overall meta-analysis evaluation of the effect of prebiotic supplementation on the microbiota diversity in chicken intestine

| Outcomes | Effect size | | | | Heterogeneity | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n* | SMD | 95% CI | P | Q | P | I2 |
| Shannon index | 9 | 1.01 | 0.33, 1.68 | 0.003 | 50.04 | 0.000 | 84.01 |
| Simpson index | 5 | 0.78 | -0.24, 1.79 | 0.133 | 40.73 | 0.000 | 90.18 |
| Chao1 | 8 | -0.07 | -0.35, 0.21 | 0.633 | 10.08 | 0.184 | 30.57 |

*Number of studies

Abbreviations: SMD = standardized mean difference, CI = confidence interval, Q = Cochran's Q, P = p-Value, I2 = I2 statistics

สำหรับหน่วยในการวิเคราะห์พบว่า ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเป็นไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างกลุ่มที่เสริมพรีไบโอติกกับกลุ่มควบคุม ทั้งเมื่อใช้จำนวนงานวิจัยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ (n=9, SMD=1.01, 95% CI=0.33 ถึง 1.68, P=0.003) และเมื่อใช้จำนวนกลุ่มย่อยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ (n=24, SMD=1.53, 95% CI=0.82 ถึง 2.24, P=0.000) (Table 3)

*ผลลัพธ์ด้าน Simpson index*

ผลวิเคราะห์พบว่าเมื่อเลือกใช้โมเดลที่ต่างกันผลวิเคราะห์จะต่างกัน โดยหากเลือกใช้โมเดลผลกระทบแบบคงที่ ผลที่เกิดขึ้นเป็นบวก กล่าวคือการเสริมพรีไบโอติกทำให้ Simpson index สูงขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.000) จากกลุ่มควบคุม (SMD=0.78, 95% CI= 0.48 ถึง 1.09) แต่ถ้าเลือกใช้โมเดลผลกระทบแบบสุ่มกลับพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P=0.133) ระหว่างกลุ่มที่เสริมพรีไบโอติกกับกลุ่มควบคุม (SMD=0.78, 95% CI= -0.24 ถึง 1.79) (Table 3)

ส่วนการวิเคราะห์แบบตัดบางการศึกษาออกพบว่าทำให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปลี่ยนไป จากเดิมค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบรวมไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่มควบคุม (n=5, SMD=0.78, 95% CI= -0.24 ถึง 1.79, P=0.133) แต่เมื่อตัดการศึกษาของ Hou et al. (2020) ออก ทำให้ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบเปลี่ยนเป็นมีค่าสูงที่สุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (n=4, SMD=1.16, 95% CI= 0.38 ถึง 1.93, P=0.004) ระหว่างกลุ่มที่เสริมพรีไบโอติกกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ถ้าตัดการศึกษาของ Chen et al. (2019) ออก ทำให้ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบมีค่าต่ำที่สุด โดยผลการวิเคราะห์ทางสถิติยังคงเหมือนเดิมคือ ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มที่เสริมพรีไบโอติกกับกลุ่มควบคุม (n=4, SMD=0.53, 95% CI= -0.57 ถึง 1.63, P=0.348) (Table 3)

สำหรับหน่วยในการวิเคราะห์ เมื่อใช้จำนวนงานวิจัยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ พบว่าผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) (n=5, SMD=0.78, 95% CI= -0.24 ถึง 1.79, P=0.133) แต่ถ้าใช้จำนวนกลุ่มย่อยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปลี่ยนเป็นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (n=16, SMD=1.07, 95% CI= 0.33 ถึง 1.81, P=0.004) (Table 3)

*ผลลัพธ์ด้าน Chao1*

ผลวิเคราะห์พบว่า การเลือกใช้โมเดลในการวิเคราะห์ที่ต่างกัน ไม่ได้ทำให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแตกต่างกัน โดยยังพบว่าการเสริมพรีไบโอติกไม่ได้ทำให้ Chao1 แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) จากกลุ่มควบคุม กล่าวคือ ถ้าเลือกใช้โมเดลแบบคงที่จะได้ P=0.664 (SMD=-0.05, 95% CI=-0.28 ถึง 0.18) ถ้าเลือกใช้โมเดลผลกระทบแบบสุ่มจะได้ P=0.633 (SMD=-0.07, 95% CI=-0.35 ถึง 0.21) (Table 3)

ส่วนการวิเคราะห์แบบตัดบางการศึกษาออก พบว่าไม่ทำให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปลี่ยน นั่นคือ ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบรวมยังคงไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) (n=8, SMD=-0.07, 95% CI= -0.35 ถึง 0.21, P=0.633) ไม่ว่าจะตัดการศึกษาของ Hou et al. (2020) ออก ซึ่งทำให้ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบเปลี่ยนเป็นมีค่าต่ำที่สุด (n=7, SMD=-0.13, 95% CI=-0.44 ถึง 0.17, P=0.390) หรือ ตัดการศึกษาของ Li et al. (2018) ออก ซึ่งทำให้ค่าโดยประมาณของขนาดผลกระทบเปลี่ยนเป็นมีค่าสูงที่สุด (n=7, SMD=0.04, 95% CI=-0.20 ถึง 0.28, P=0.750) (Table 3)

Table 3. Sensitivity analysis to assess the robustness of the result estimates

| Outcomes | Categories[a] | No. of studies or subgroups | Eestimates | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | SMD | 95% CI | P |
| Shannon index | Model | | | | |
| | *-Fixed effets* | 9 | 0.89 | [0.64, 1.15] | 0.000 |
| | *-Random effects* | 9 | 1.01 | [0.33, 1.68] | 0.003 |
| | Leave-one-out analysis | | | | |
| | *- The lowest estimate*[b] | 8 | 0.76 | [0.15, 1.37] | 0.014 |
| | *- The highest estimate*[c] | 8 | 1.16 | [0.46, 1.86] | 0.001 |
| | Unit of analysis | | | | |
| | *-Studies* | 9 | 1.01 | [0.33, 1.68] | 0.003 |
| | *-Subgroups* | 24 | 1.53 | [0.82, 2.24] | 0.000 |
| Simpson index | Model | | | | |
| | *-Fixed effets* | 5 | 0.78 | [0.48, 1.09] | 0.000 |
| | *-Random effects* | 5 | 0.78 | [-0.24, 1.79] | 0.133 |
| | Leave-one-out analysis | | | | |
| | *- The lowest estimate*[d] | 4 | 0.53 | [-0.57, 1.63] | 0.348 |
| | *- The highest estimate*[e] | 4 | 1.16 | [0.38, 1.93] | 0.004 |
| | Unit of analysis | | | | |
| | *-Studies* | 5 | 0.78 | [-0.24, 1.79] | 0.133 |
| | *-Subgroups* | 16 | 1.07 | [0.33, 1.81] | 0.004 |
| Chao1 | Model | | | | |
| | *-Fixed effets* | 8 | -0.05 | [-0.28, 0.18] | 0.664 |
| | *-Random effects* | 8 | -0.07 | [-0.35, 0.21] | 0.633 |
| | Leave-one-out analysis | | | | |
| | *- The lowest estimate*[f] | 7 | -0.13 | [-0.44, 0.17] | 0.390 |
| | *- The highest estimate*[g] | 7 | 0.04 | [-0.20, 0.28] | 0.750 |
| | Unit of analysis | | | | |
| | *-Studies* | 8 | -0.07 | [-0.35, 0.21] | 0.633 |
| | *-Subgroups* | 23 | 0.12 | [-0.37, 0.62] | 0.627 |

[a] For leave-one-out analysis and unit of analysis, a random effects model was used to calculate the pooled estimate
[b] Eliminate study of Yang et al. (2016) from the meta-analysis
[c] Eliminate study of Kumar et al. (2019) from the meta-analysis
[d] Eliminate study of Chen et al. (2019) from the meta-analysis
[e] Eliminate study of Hou et al. (2020) from the meta-analysis
[f] Eliminate study of Hou et al. (2020) from the meta-analysis
[g] Eliminate study of Li et al. (2018) from the meta-analysis
Abbreviations: 95% CI = 95% confidence interval, SMD = standardized mean difference, P = p-Value

| Study name | Subgroup within study | Std diff in means | Standard error | Variance | Lower limit | Upper limit | Z-Value | p-Value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Azcarate-Peril et al., 2018 | galacto-oligosaccharide | 0.093 | 0.535 | 0.286 | -0.955 | 1.141 | 0.173 | 0.862 |
| Chen et al., 2019 | Combined | 1.402 | 0.263 | 0.069 | 0.886 | 1.917 | 5.329 | 0.000 |
| Hou et al., 2019 | Combined | 0.007 | 0.289 | 0.083 | -0.559 | 0.572 | 0.023 | 0.982 |
| Kumar et al., 2019 | Combined | -0.300 | 0.503 | 0.253 | -1.285 | 0.686 | -0.597 | 0.551 |
| Pourabedin et al., 2014 | Combined | 2.357 | 0.531 | 0.282 | 1.315 | 3.398 | 4.435 | 0.000 |
| Shang et al., 2018 | Combined | 1.540 | 0.465 | 0.216 | 0.629 | 2.451 | 3.314 | 0.001 |
| Wang et al., 2016 | Combined | 1.021 | 0.354 | 0.126 | 0.326 | 1.715 | 2.881 | 0.004 |
| Yacoubi et al., 2018 | arabinoxylans fraction | -0.013 | 0.447 | 0.200 | -0.890 | 0.864 | -0.029 | 0.977 |
| Yang et al., 2016 | Combined | 3.373 | 0.635 | 0.404 | 2.128 | 4.619 | 5.309 | 0.000 |
| | | 1.006 | 0.344 | 0.119 | 0.331 | 1.681 | 2.922 | 0.003 |

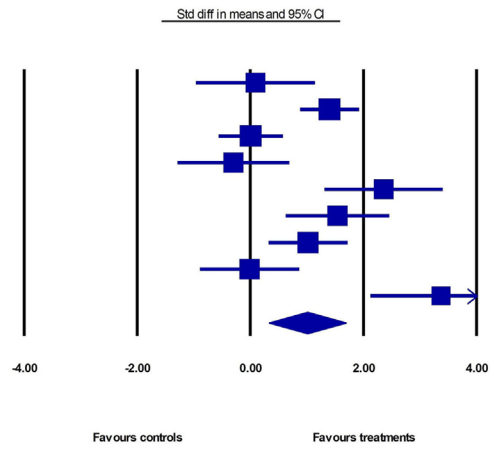



Figure 3. Forest plot for the effect of prebiotics on the Shannon index in chicken intestine

| Study name | Subgroup within study | Std diff in means | Standard error | Variance | Lower limit | Upper limit | Z-Value | p-Value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chen et al., 2019 | Combined | 1.707 | 0.275 | 0.076 | 1.168 | 2.247 | 6.201 | 0.000 |
| Hou et al., 2019 | Combined | -0.542 | 0.294 | 0.086 | -1.119 | 0.034 | -1.845 | 0.065 |
| Kumar et al., 2019 | Combined | -0.201 | 0.501 | 0.251 | -1.183 | 0.782 | -0.400 | 0.689 |
| Shang et al., 2018 | Combined | 1.785 | 0.483 | 0.233 | 0.839 | 2.731 | 3.698 | 0.000 |
| Wang et al., 2016 | Combined | 1.136 | 0.359 | 0.129 | 0.432 | 1.840 | 3.163 | 0.002 |
| | | 0.778 | 0.517 | 0.268 | -0.236 | 1.792 | 1.503 | 0.133 |

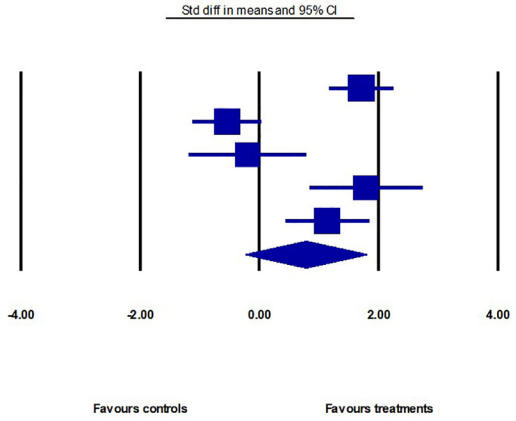



Figure 4. Forest plot for the effect of prebiotics on the Simpson index in chicken intestine

| Study name | Subgroup within study | Std diff in means | Standard error | Variance | Lower limit | Upper limit | Z-Value | p-Value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chen et al., 2019 | Combined | 0.151 | 0.236 | 0.056 | -0.311 | 0.614 | 0.642 | 0.521 |
| Hou et al., 2019 | Combined | 0.290 | 0.290 | 0.084 | -0.278 | 0.859 | 1.001 | 0.317 |
| Kumar et al., 2019 | Combined | -0.455 | 0.506 | 0.256 | -1.448 | 0.537 | -0.899 | 0.369 |
| Li et al., 2018 | Combined | -0.763 | 0.345 | 0.119 | -1.440 | -0.086 | -2.210 | 0.027 |
| Mesa et al., 2017 | Combined | -0.504 | 0.508 | 0.258 | -1.499 | 0.492 | -0.992 | 0.321 |
| Park et al., 2016 | Combined | -0.177 | 0.259 | 0.067 | -0.685 | 0.330 | -0.686 | 0.493 |
| Shang et al., 2018 | Combined | 0.542 | 0.416 | 0.173 | -0.273 | 1.357 | 1.304 | 0.192 |
| Wang et al., 2016 | Combined | -0.034 | 0.333 | 0.111 | -0.687 | 0.619 | -0.102 | 0.918 |
| | | -0.068 | 0.143 | 0.020 | -0.348 | 0.211 | -0.478 | 0.633 |

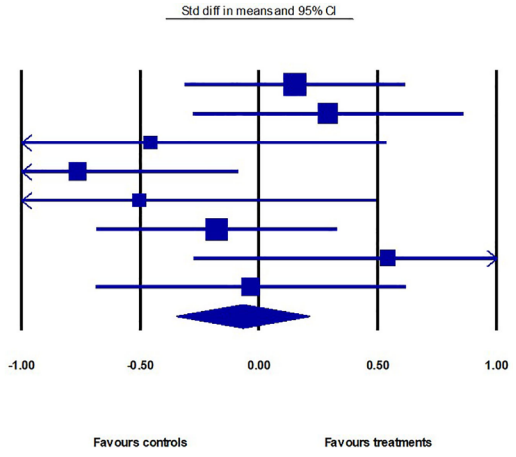



Figure 5. Forest plot for the effect of prebiotics on the Chao1 in chicken intestine

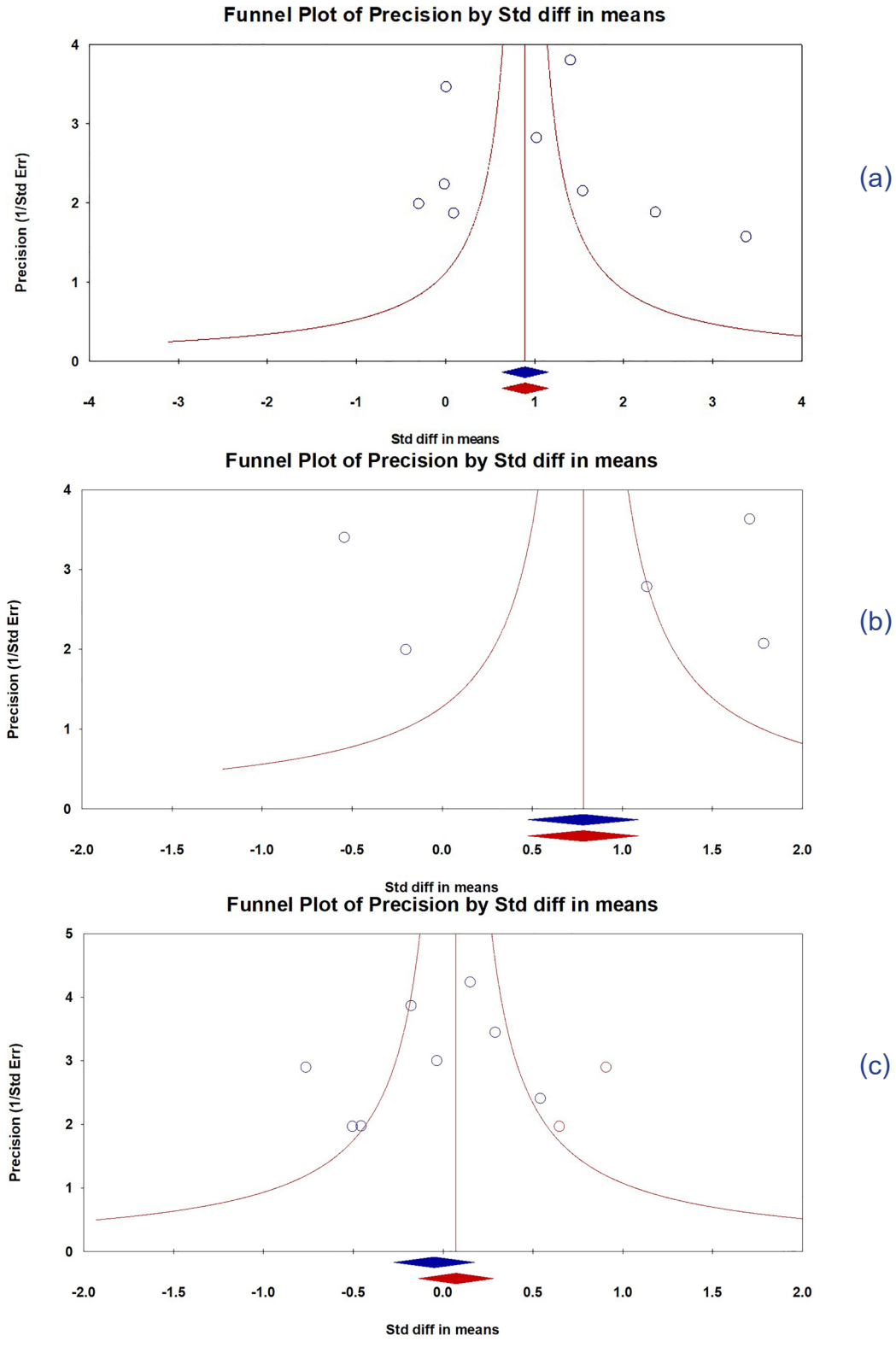



Figure 6. Funnel plots for visual assessment of the publication bias for each outcome. (a) Shannon index. (b) Simpson index. (c) Chao1. Y-axis shows standard error of the included study; X-axis shows the standardized mean difference (SMD) of the included study. A blue circle represents each included study. A red circle represents an imputed or hypothetically missing study to make the plot symmetry. A blue diamond on the bottom represents the pooled estimate of the included studies only. A red diamond on the bottom represents the pooled estimate of the included studies plus the imputed studies.

สำหรับหน่วยในการวิเคราะห์พบว่า ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเป็นไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มที่เสริมพรีไบโอติกกับกลุ่มควบคุม ทั้งเมื่อใช้จำนวนงานวิจัยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ (n=8, SMD=-0.07, 95% CI=-0.35 ถึง 0.21, P=0.633) และเมื่อใช้จำนวนกลุ่มย่อยเป็นหน่วยในการวิเคราะห์ (n=23, SMD=0.12, 95% CI=-0.37 ถึง 0.62, P=0.627) (Table 3)

**ผลการวิเคราะห์ความลำเอียงจากการตีพิมพ์**

*ผลการเสริมพรีไบโอติกต่อ Shannon index*

จากกราฟ Funnel plot (Figure 6a) พบว่ากราฟมีความสมมาตร ส่วนค่า Begg's test (p-Value [2-tailed]) = 0.348 และค่า Egger's regression intercept (p-Value [2-tailed]) = 0.560 แสดงว่าการวิเคราะห์ผลลัพธ์ Shannon index ไม่มีความลำเอียงจากการตีพิมพ์เข้ามาเกี่ยวข้อง ในขณะเดียวกันค่า point estimate ของ Duval and Tweedie's trim and fill ได้เท่ากับ 1.01 เท่ากันทั้ง observed values และ adjusted values เนื่องจากไม่ต้องมีการเติมจำนวนงานวิจัยสมมติเข้าไปเพื่อลดความลำเอียงที่อาจเกิดขึ้น

*ผลการเสริมพรีไบโอติกต่อ Simpson index*

จากกราฟ Funnel plot (Figure 6b) พบว่ากราฟมีความสมมาตร ส่วนค่า Begg's test (p-Value [2-tailed]) = 0.807 และค่า Egger's regression intercept (p-Value [2-tailed]) = 0.982 แสดงว่าการวิเคราะห์ผลลัพธ์ Simpson index ไม่มีความลำเอียงจากการตีพิมพ์เข้ามาเกี่ยวข้อง ในขณะเดียวกันค่า point estimate ของ Duval and Tweedie's trim and fill ได้เท่ากับ 0.78 เท่ากันทั้ง observed values และ adjusted values เนื่องจากไม่ต้องมีการเติมจำนวนงานวิจัยสมมติเข้าไปเพื่อลดความลำเอียงที่อาจเกิดขึ้น

*ผลการเสริมพรีไบโอติกต่อ Chao1 ในลำไส้ไก่*

เมื่อพิจารณาค่า Begg's test (p-Value = 0.386) และค่า Egger's regression intercept (p-Value = 0.427) จากค่า P พบว่าไม่มีความลำเอียงในการตีพิมพ์ แต่กราฟ Funnel plot ที่ไม่สมมาตร ต้องมีการเติมจำนวนงานวิจัยสมมติเข้าไปอีก 2 รายการเพื่อลดความลำเอียงที่อาจเกิดขึ้น รวมถึงค่า point estimate ของ Duval and Tweedie's trim and fill พบว่า observed values มีค่าเท่ากับ -0.07 ในขณะที่ adjusted values มีค่าเท่ากับ 0.07 แสดงว่าการวิเคราะห์ผลลัพธ์ Chao1 มีความลำเอียงจากการตีพิมพ์เข้ามาเกี่ยวข้อง (Figure 6c)

## วิจารณ์

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อประเมินผลการเสริมพรีไบโอติกต่อความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในลำไส้ของไก่ ทั้งนี้นำเอาเครื่องมือที่เรียกว่าการวิเคราะห์อภิมาน มาประเมินข้อมูลที่รวบรวมจากผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องหลายๆ บทความ เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นในการตีความหรือการอธิบายผลการศึกษาที่เกิดขึ้น

จำนวนรายงานที่นำเข้าสู่การวิเคราะห์อภิมานในครั้งนี้มีเพียง 9 บทความ เนื่องจากถูกจำกัดด้วยแหล่งข้อมูลในการสืบค้น และข้อกำหนดต่างๆ ในการคัดเลือกรายงานวิจัยเข้าสู่กระบวนการศึกษา ทั้งนี้ที่ผู้วิจัยเลือกกำหนด 3 ฐาน (PubMed, Scopus และ Web of Science) เนื่องจากเป็นฐานข้อมูลที่มีคุณภาพสูง ได้รับการยอมรับจากกลุ่มผู้วิจัยและสามารถเข้าถึงได้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยอาจพลาดรายงานการศึกษาที่อยู่ในฐานข้อมูลอื่นนอกเหนือจากนี้ หรือข้อกำหนด เช่น ต้องตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษเท่านั้น เป็นการทดลองในตัวไก่ เปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มที่ได้รับพรีไบโอติกเพียงอย่างเดียวกับกลุ่มควบคุม ทั้งหมดล้วนเป็นข้อจำกัดในการเข้าถึงผลการศึกษาที่นำมาวิเคราะห์ในครั้งนี้ หากเงื่อนไขเปลี่ยนการตีความอาจเปลี่ยนไปเช่นกัน

จากการประเมินคุณภาพบทความวิจัยที่นำเข้าสู่การศึกษา ในภาพรวมพบว่าบทความวิจัยส่วนใหญ่และโดเมนส่วนใหญ่ มีความเสี่ยงระดับต่ำ รองลงมาคือมีความเสี่ยงไม่ชัดเจน มีบางบทความและบางโดเมนเท่านั้นที่มีความเสี่ยงระดับสูง ซึ่งในประเด็นความเสี่ยงจากความลำเอียงนี้ ผู้วิจัยคิดว่าไม่กระทบต่อความน่าเชื่อถือต่อทุกบทความวิจัยที่นำเข้าสู่การศึกษา สาเหตุที่มีความเสี่ยงไม่ชัดเจนหรือมีความเสี่ยงระดับสูงในบางโดเมนนั้น ส่วนหนึ่งอาจเป็นไปได้ว่า มีข้อจำกัดในการตีพิมพ์เผยแพร่ที่มีการกำหนดจำนวนหน้าในการนำเสนอ ทำให้เจ้าของผลงานต้องตัดรายละเอียดบางอย่างออกไป เพื่อให้รายงานมีความกระชับและตรงประเด็นยิ่งขึ้น

ในการวิเคราะห์อภิมานความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในลำไส้ไก่ครั้งนี้ เลือกพิจารณา 3 ดัชนี ได้แก่ Shannon index, Simpson index และ Chao1 โดย Chao1 เป็นหนึ่งในดัชนีที่บ่งบอกความหลากหลายของชนิด ในทางตรงกันข้าม Simpson index เป็นหนึ่งในดัชนีที่บ่งบอกความสม่ำเสมอ ส่วน Shannon index เป็นดัชนีที่บ่งบอกได้ทั้ง 2 ลักษณะ แต่ให้น้ำหนักไปที่การบ่งบอกความหลากหลายของชนิดมากกว่าความสม่ำเสมอ (Hagerty et al., 2020) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์อภิมานภาพรวมแสดงให้เห็นว่าการเสริมพรีไบโอติกทำให้ Shannon in-

dex ในลำไส้ไก่สูงขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม แต่ Simpson index และ Chao1 ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า Shannon index มีความไวในการประเมินความหลากหลายของไมโครไบโอต้ามากกว่า Simpson index และ Chao1 สอดคล้องกับข้อสังเกตของ Chica Cardenas et al. (2021) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ผลกระทบของตำแหน่งบน 16S rRNA ที่ใช้ถอดรหัสพันธุกรรมต่อค่าดัชนีความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในไส้ตันไก่ ซึ่งนอกจากพบว่าตำแหน่งที่เลือกมาถอดรหัสพันธุกรรมมีผลต่อค่าดัชนีแล้ว ยังพบว่า Shannon index เป็นดัชนีที่สูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมในทุกตำแหน่งที่เลือกมาตรวจประเมินด้วย

อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์อภิมานครั้งนี้ ยังไม่สามารถสรุปได้ว่า Simpson index และ Chao1 ไม่ได้รับผลกระทบจากการเสริมพรีไบโอติกเลย หรือ Shannon index ที่สูงขึ้นเป็นผลจากการเสริมพรีไบโอติกเพียงอย่างเดียว เนื่องจากอาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลกระทบต่อค่าดัชนีดังกล่าวได้ เช่น เทคโนโลยีที่ใช้ในการถอดรหัสพันธุกรรม (Allali et al., 2017) ตำแหน่งบน 16S rRNA ที่นำมาถอดรหัสพันธุกรรม (Chica Cardenas et al., 2021) ดังนั้นผลการวิเคราะห์อภิมานในประเด็นผลของพรีไบโอติกต่อความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในลำไส้ไก่ครั้งนี้ อาจยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน เพราะการตีความถูกจำกัดด้วยจำนวนบทความวิจัยที่รวบรวมได้ตามเงื่อนไขที่กำหนดไว้ในข้างต้น นอกจากนั้นผลการวิเคราะห์ความไม่เป็นเอกพันธ์ที่ชี้ให้เห็นว่า แต่ละการศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและแตกต่างกันในระดับสูง รวมถึงผลการวิเคราะห์ความไวของผลลัพธ์ด้าน Simpson index ที่ไม่มีความเสถียรทั้ง 3 ลักษณะที่ทำการประเมิน หรือผลการวิเคราะห์ความลำเอียงจากการตีพิมพ์ที่พบว่ามีความลำเอียงในการตีพิมพ์ผลลัพธ์ด้าน Chao1 ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการรวบรวมผลการศึกษาในทำนองเดียวกันนี้เพิ่มเติมและทำการวิเคราะห์อภิมานใหม่ในอนาคต เพราะจำนวนการศึกษาที่มากขึ้นอาจช่วยลดความแปรปรวนของแต่ละการศึกษาลงได้ ผลการวิเคราะห์จะได้มีความเสถียรและสามารถนำผลการวิเคราะห์ไปปรับใช้ได้จริงในภาคสนาม อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์อภิมานในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับผู้ที่มีความสนใจศึกษาวิจัยความหลากหลายของไมโครไบโอต้าในลำไส้ไก่ ได้มองเห็นประเด็นที่ควรทำการศึกษาต่อไปในอนาคต หรือวางแผนการศึกษาให้สามารถตอบข้อสงสัยที่ยังไม่ได้คำตอบจากการศึกษาในครั้งนี้ได้

## สรุป

การเสริมพรีไบโอติกมีแนวโน้มทำให้ Shannon index ในลำไส้ไก่สูงขึ้น

## เอกสารอ้างอิง


Allali I, Arnold JW, Roach J, Cadenas MB, Butz N, Hassan HM, Koci M, Ballou A, Mendoza M, Ali R, Azcarate-Peril MA, 2017. A comparison of sequencing platforms and bioinformatics pipelines for compositional analysis of the gut microbiome. BMC Microbiol 17(1): 194.

Azcarate-Peril MA, Butz N, Cadenas MB, Koci M, Ballou A, Mendoza M, Ali R, Hassan H, 2018. An attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain and galacto-oligosaccharides accelerate clearance of Salmonella infections in poultry through modifications to the gut microbiome. Appl Environ Microbiol 84(5): e02526-17.

Baurhoo B, Ferket PR, Zhao X, 2009. Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial populations, and carcass parameters of broilers. Poult Sci 88(11): 2262-2272.

Begg CB, Mazumdar M, 1994. Operating characteristics of a rank correlation test for Publication bias. Biometrics 50(4): 1088-1101.

Blajman JE, Frizzo LS, Zbrun MV, Astesana DM, Fusari ML, Soto LP, Rosmini MR, Signorini ML, 2014. Probiotics and broiler growth performance: a meta-analysis of randomised controlled trials. Br Poult Sci 55(4): 483-494.

Chen WL, Tang SGH, Jahromi MF, Candyrine, SCL, Idrus Z, Abdullah N,Liang JB, 2019. Metagenomics analysis reveals significant modulation of cecal microbiota of broilers fed palm kernel expeller diets. Poult Sci 98(1): 56-68.

Chica Cardenas LA, Clavijo V, Vives M, Reyes A, 2021. Bacterial meta-analysis of chicken cecal microbiota. PeerJ 9: e10571.

Choct M, 2009. Managing gut health through nutrition. Br Poult Sci 50(1): 9-15.

de Vries RBM, Hooijmans CR, Langendam MW, van Luijk J, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Wever KE, 2015. A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. Evid Based Preclin Med 1(1): 1–9, e00007.

Diaz Carrasco JM, Casanova NA, Fernández Miyakawa ME, 2019. Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection?. Microorganisms. 7(10): 374.

Dibner JJ, Richards JD, 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. Poult Sci 84(4): 634-

643.

Duval S, Tweedie R, 2000. Trim and fill: a simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. Biometrics 56(2): 455-463.

Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C, 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. BMJ (Clinical research ed.) 315(7109): 629-634.

Hagerty SL, Hutchison KE, Lowry CA, Bryan AD, 2020. An empirically derived method for measuring human gut microbiome alpha diversity: demonstrated utility in predicting health-related outcomes among a human clinical sample. PLoS One 15(3): e0229204.

Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, Jüni P, Moher D, Oxman AD, Savovic J, Schulz KF, Weeks L, Sterne JAC, 2011. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. BMJ 343: d5928.

Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW, 2014. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol 14: 43.

Hou L, Sun B, Yang Y, 2020. Effects of added dietary fiber and rearing system on the gut microbial diversity and gut health of chickens. Animals (Basel) 10(1): 107.

Kerr AK, Farrar AM, Waddell LA, Wilkins W, ilhelm BJ, Bucher O, Wills RW, Bailey RH, Varga C, McEwen SA, Rajic A, 2013. A systematic review-meta-analysis and meta-regression on the effect of selected competitive exclusion products on *Salmonella* spp. prevalence and concentration in broiler chickens. Prev Vet Med 111 (1-2): 112-125.

Kumar S, Chen C, Indugu N, Werlang GO, Singh M, Kim WK, Thippareddi H, 2018. Effect of antibiotic withdrawal in feed on chicken gut microbial dynamics, immunity, growth performance and prevalence of foodborne pathogens. PLoS One 13(2); e0192450.

Kumar S, Shang Y, Kim WK, 2019. Insight into dynamics of gut microbial community of broilers fed with fructooligosaccharides supplemented low calcium and phosphorus diets. Front Vet Sci 6: 95.

Li B, Leblois J, Taminiau B, Schroyen M, Beckers Y, Bindelle J, Everaert N, 2018. The effect of inulin and wheat bran on intestinal health and microbiota in the early life of broiler chickens. Poult Sci 97(9): 3156-3165.

Louis P, Flint HJ, 2017. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. Environ Microbiol 19(1): 29-41.

Lu J, Idris U, Harmon B, Hofacre C, Maurer JJ, Lee MD, 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. Appl Environ Microbiol 69(11): 6816-6824.

Mesa D, Lammel DR, Balsanelli E, Sena C, Noseda MD, Caron LF, Cruz LM, Pedrosa FO, Souza EM, 2017. Cecal microbiota in broilers fed with prebiotics. Front Genet 8: 153.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, 2009. Preferred reporting items for 572 systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. PLoS Med 6(7): e1000097.

Park SH, Lee SI, Kim SA, Christensen K, Ricke SC, 2017. Comparison of antibiotic supplementation versus a yeast-based prebiotic on the cecal microbiome of commercial broilers. PLoS ONE 12(8): e0182805.

Park SH, Lee SI, Ricke SC, 2016. Microbial populations in naked neck chicken ceca raised on pasture flock fed with commercial yeast cell wall prebiotics via an Illumina MiSeq Platform. PLoS ONE 11(3): e0151944.

Pompei A, Cordisco L, Raimondi S, Amaretti A, Pagnoni UM, Matteuzzi D, Rossi M, 2008. In vitro comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. Anaerobe 14(5): 280-286.

Pourabedin M, Guan L, Zhao X, 2015. Xylo-oligosaccharides and virginiamycin differentially modulate gut microbial composition in chickens. Microbiome 3: 15.

Pourabedin M, Xu Z, Baurhoo B, Chevaux E, Zhao X, 2014. Effects of mannan oligosaccharide and virginiamycin on the cecal microbial community and intestinal morphology of chickens raised under suboptimal conditions. Can J Microbiol 60(5): 255-266.

Ricke SC, 2015. Potential of fructooligosaccharide prebiotics in alternative and Nonconventional poultry production systems. Poult Sci 94(6): 1411-1418.

Rinttilä T, Apajalahti J, 2013. Intestinal microbiota and metabolites—implications for broiler chicken health and performance. J Appl Poult Res 22(3): 647–658.

Shang Y, Kumar S, Thippareddi H, Kim WK, 2018. Effect of dietary fructooligosaccharide (FOS) supplementation on ileal microbiota in broiler chickens. Poult Sci 97(10): 3622-3634.

Vital M, Howe AC, Tiedje JM, 2014. Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. mBio 5(2): e00889-14.

Wang W, Li Z, Han Q, Guo Y, Zhang B, D'inca R, 2016. Dietary live yeast and mannan-oligosaccharide supplementation attenuate intestinal inflammation and barrier dysfunction induced by *Escherichia coli* in broilers. Br J Nutr 116(11): 1878-1888.

Wei S, Morrison M, Yu Z, 2013. Bacterial census of poultry intestinal microbiome. Poult Sci 92(3): 671-683.

Yacoubi N, Saulnier L, Bonnin E, Devillard E, Eeckhaut V, Rhayat L, Ducatelle R, Van Immerseel F, 2018. Short-chain arabinoxylans prepared from enzymatically treated wheat

grain exert prebiotic effects during the broiler starter period. Poult Sci 97(2): 412-424.

Yadav S, Jha R, 2019. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. J Anim Sci Biotechnol 10(2): 1-11.

Yang GQ, Yin Y, Liu HY, Liu GH, 2016. Effects of dietary oligosaccharide supplementation on growth performance, concentrations of the major odor-causing compounds in excreta, and the cecal microflora of broilers. Poult Sci 95(10): 2342-2351.