

ประมวลเรื่อง

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม.

ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”

โดย

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

วันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ประมวลเรื่อง การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

Proceeding of the 2nd MUT Veterinary Annual Conference 2008

ISBN : 978-974-8242-43-9

จำนวน 252 หน้า

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม.

ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 วันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551

เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

จัดโดย คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

พิมพ์ครั้งที่ 1 (พ.ศ. 2551)

จำนวน 300 เล่ม

Proceeding of
The 2nd MUT Veterinary
Annual Conference 2008

Faculty of Veterinary Medicine
Mahanakorn University of Technology
Bangkok, Thailand

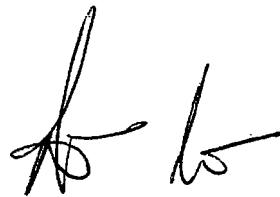
28-29 November 2008

สารจากอธิการบดี

ในปีพุทธศักราช 2551 นี้ เป็นอีกปีหนึ่งที่ปวงชนชาวไทยจะต้องร่วมมือร่วมใจกันทำประโยชน์ให้กับประเทศชาติ จะด้วยการจัดกิจกรรม หรือสิ่งใดก็ตามที่สามารถจะช่วยพัฒนาประเทศของเราให้เกิดความสามัคคีปรองดองและให้เกิดความเจริญขึ้นได้ ไม่ว่าโดยทางตรงหรือทางอ้อม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ได้จัดการประชุมวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 ขึ้นในวันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551 นี้ นับว่าเป็นเรื่องน่ายินดี อีกครั้งหนึ่ง ในการจัดกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ ต่อสังคมส่วนรวม เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ ผู้สังคม และเป็นการพัฒนาวิชาชีพทางด้านสัตวแพทย์ ในสาขาต่างๆ อย่างต่อเนื่อง ทั้งยังเป็นการเปิดโอกาสให้นักวิชาการ ผู้เชี่ยวชาญทั้งหลายได้แลกเปลี่ยนความรู้ ความคิดเห็น ประสบการณ์ ที่เป็นประโยชน์ต่อกัน และยังเป็นการพบปะสังสรรค์กันอีกด้วย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร มีนโยบายชัดเจนที่จะส่งเสริมให้บุคลากรทำงานวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่องเสมอมา ดังจะเห็นได้จากการได้รับรองมาตรฐานและประเมินคุณภาพการศึกษา (สมศ.) ในกลุ่มสถาบันเน้นการผลิตบัณฑิตและวิจัย ในระดับดีมาก การจัดประชุมวิชาการต่างๆ จึงถือเป็นเวทีสำคัญในการรวบรวมหม่่นักวิจัย ก่อให้เกิดการต่อยอดของงานวิจัย และเป็นจุดเริ่มต้นของการสร้างสรรคงานวิจัยใหม่ๆ ได้ในอนาคตต่อไป

ผลที่ได้รับจากการประชุมวิชาการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ ในครั้งที่ 1 ได้ช่วยกระตุ้นให้มีการพัฒนาทางด้านวิชาชีพสัตวแพทย์มากขึ้น และหวังอย่างยิ่งว่าผลจากการประชุมในครั้งนี้ และครั้งต่อไป จะนำมาซึ่งประโยชน์ทั้งต่อนักวิชาการ องค์กร สังคมและประเทศชาติในที่สุด



(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเจตน์ จันทรังษ์)

อธิการบดี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

สารจากคณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

ในปี พ.ศ. 2551 นี้ ประเทศไทยของเราได้เผชิญกับวิกฤตในหลาย ๆ เรื่อง เรื่องหนึ่งที่เห็นเด่นชัดคือ วิกฤตเศรษฐกิจ ซึ่งเริ่มเกิดขึ้นในต่างประเทศ และได้ส่งผลกระทบมายังประเทศไทยของเราแล้ว ดังนั้น เพื่อให้เกิดการปรับตัวรับสถานการณ์วิกฤตเศรษฐกิจดังกล่าวทางคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร จึงได้มีการจัดประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 2 ประจำปี พ.ศ. 2551 ในหัวข้อเรื่อง สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ ขึ้น เพราะเล็งเห็นว่าวิชาชีพสัตวแพทย์ก็อาจได้รับผลกระทบจากวิกฤตเศรษฐกิจด้วย โดยผู้เข้าร่วมวิชาชีพสัตวแพทย์ทั้งหลายจะมีแนวทางปรับตัวกันอย่างไร ก็ควรใช้โอกาสนี้เข้าร่วมประชุมวิชาการซึ่งทางคณะฯ ผู้จัดการประชุมวิชาการได้ทุ่มเทและเสียสละกันอย่างมากในการจัดงาน กระผมจึงหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการทุกท่านจะได้รับประโยชน์ทั้งความรู้ทางวิชาการด้านสัตวแพทย์ แนวทางการปรับตัวให้เข้ากับยุคเศรษฐกิจในปัจจุบัน อีกทั้งจะได้พบปะสังสรรค์กันระหว่าง พี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ด้วยกัน เพราะในวันที่ 29 พฤศจิกายน 2551 จะมีงานสังสรรค์ของศิษย์เก่าด้วย

ขอขอบคุณวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน, บริษัทเอกชนต่าง ๆ ที่ให้การสนับสนุนในการจัดงาน, ท่านอธิการบดี ผู้บริหารมหาวิทยาลัยทุกท่าน, คณะผู้จัดงาน และผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการทุกท่าน ที่ได้ช่วยกันให้การประชุมวิชาการในครั้งนี้อาจารย์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีขอให้ทุกท่านจงมีแต่ความสุข สวัสดิ์ ตลอดไป

สุดท้ายในนามคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ขอร่วมถวายความอาลัย และส่งเสด็จสมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอ เจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนากรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์ สู่สวรรคาลัย



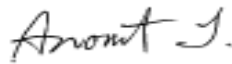
(รศ.น.สพ.ดร.จตุพร กระจ่ายศรี)

คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

คำนำ

ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 ฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวมข้อมูลทางวิชาการที่มีการนำเสนอในการประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 ที่จัดขึ้น ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ระหว่างวันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551 ในหัวข้อ “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ” ข้อมูลทางวิชาการในแต่ละหัวข้อทางวิทยากรผู้บรรยายหรือนำเสนอผลงานเป็นผู้จัดเตรียม และ อยู่ในการรับผิดชอบของผู้แต่งหัวข้อนั้นโดยตรง ทางผู้จัดทำและกองบรรณาธิการเป็นผู้เสนอแนะตรวจสอบรูปแบบ และ รวบรวมเพื่อจัดทำเป็นหนังสือขึ้น

เนื่องจากระยะเวลาที่สั้น จึงอาจมีข้อบกพร่องซึ่งตรวจพบภายหลังได้ ทางคณะผู้จัดทำขออภัย และขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย อย่างไรก็ตาม ผู้จัดทำ หวังเป็นอย่างยิ่งว่า หนังสือ “ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551” ฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจติดตามข้อมูลทางวิชาการด้านสัตวแพทยศาสตร์มากพอสมควร



อ.สพญ. อโนรรัต เจนวิถีสุข



อ.นสพ.ดร. ทนงศักดิ์ มะम्म

(ผู้จัดทำ)

พฤศจิกายน 2551



คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
รายชื่อคณะกรรมการดำเนินการจัดงานประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม.
ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

ฝ่ายประชาสัมพันธ์และจัดหาทุน

1. รศ.น.สพ.ดร.จตุพร กระจายศรี
2. อ.น.สพ.ดร.เจษฎา รุ่งภูประดิษฐ์
3. อ.น.สพ.สมชาย จันทร์เกษ
4. น.สพ.รัฐชัย เบญจาร์ตนมณี
5. อ.น.สพ.ธีรพล ชินกันสสาร

ฝ่ายวิชาการ

1. อ.น.สพ.ดร.ทองศักดิ์ มะมม
2. อ.สพ.ญ.ดร.อารยา สืบจำเพชร
3. อ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิริกุล
4. อ.สพ.ญ.ดร.วลัยพร ตนพิทักษ์
5. อ.น.สพ.ชัยณรงค์ ภูมิรัตนประพิณ
6. อ.น.สพ.หัสตินทร์ บุญศรีโรจน์
7. อ.สพ.ญ. อโนวัตร เจนวิถีสุข
8. อ.สพ.ญ.กันย์สินี เอกธนากุลพัชร
9. อ.สุชีรา โชติภรธรรม
10. อ.สพ.ญ.นันทิดา ทรัพย์แก้ว

ฝ่ายประชาสัมพันธ์โรงพยาบาลสัตว์เล็ก

1. อ.สพ.ญ.จันทนา เลาหรัชธานินทร์
2. อ.สพ.ญ.สุภรัตน์ วรรณศิลป์
3. สพ.ญ.ธนิกานต์ สุวรรณโชติ
4. น.สพ.ธนศ อนุศักดิ์เสถียร
5. อ.น.สพ.วีระพันธ์ นกแก้ว
6. คุณเนาวรัตน์ งามเมือง
7. คุณณรงค์ชัย สังประพน
8. น.สพ.นัฐชัย สุรรุจิ
9. นายปกฤษณ์ กิริติจินดา
10. นางสาวรุ่งทิวา อุปมา

ฝ่ายประชาสัมพันธ์โรงพยาบาลสัตว์ใหญ่

1. อ.สพ.ญ.รัชฎาพร ไชยคุณ
2. อ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย
3. อ.น.สพ.ดร.มงคล ชวนิช
4. อ.น.สพ.ณวัชรพล ญาณประภาศิริ
5. อ.น.สพ.มรกต วงศ์หน่อ
6. อ.สพ.ญ.วราดี พุทธโกสัย
7. อ.สพ.ญ.สุทธินีย์ บุญให้
8. อ.สพ.ญ.วิรสสา แสงแก้ว
9. อ.น.สพ.รัตนพล สนิทวงศ์ ณ อยุธยา
10. คุณสุพจน์ ทองคำ
11. คุณชวลิต พ่วงรอด
12. น.สพ.ทักษ์คนัย จิระพินทุ
13. อ.ดร. สรรเพชญ์ โสภณ

ฝ่ายลงทะเบียน

1. อ.สพ.ญ.อภิรดี อินทรพัศตร์
2. อ.สพ.ญ.จิตรรา สนิสุรวงศ์
3. อ.สพ.ญ.ศุภลักษณ์ แก้วขวัญ
4. อ.สพ.ญ.โชติกา ทิวาลัย
5. อ.สพ.ญ.สุกัญญา พลิตกุล
6. คุณศิริวรรณ เทพเทียน
7. คุณศิริรัตน์ พิมพ์วารี
8. คุณนาตยา จันทิก
9. คุณสุวารี เทียงทัศน
10. คุณจิตติมา ทวีมา
11. คุณสุพรรณิ สงชะสะโรช
12. คุณกวิยา ศรีอินทร์เขียว
13. คุณภัทริยา อดทน
14. คุณยุรนนท์ จันท



คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
รายชื่อคณะกรรมการดำเนินการจัดงานประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม.
ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

ฝ่ายลงทะเบียน (ต่อ)

15. คุณปาริชาติ มานมูเราะ
16. คุณลัดดาวัลย์ ทองคำ
17. อ.สพ.ญ.จิตรบรรจง เวียงเจริญ

ฝ่ายเหรียญก

1. อาจารย์จุฬาภา สอนกลิ่น
2. อาจารย์ทัศนีย์ ตรีรัตน์อภิวิน

ฝ่ายสวัสดิการ

1. คุณสามารถ สุวรรณเคน
2. คุณจำเนียร ประสาทนาค
3. คุณศิริจันทร์ ช่างจัน
4. คุณอนุศิษฐ์ สะนิละ
5. คุณณัฐพล ทองน้อย

ฝ่ายเลขานุการ

1. คุณสุวรรณวิไล สะนิละ
2. คุณสุนิสา สุชาติธรรม

ฝ่ายปลุกและสถานที่

1. อ.ธีรวัฒน์ พัฒนรัตน์
2. อ.สพ.ญ.พินิดดา ชุ่มผล
3. อ.สพ.ญ.ภควดี คำพลงาม
4. คุณนิภาพร เกตุเพชร
5. อ.น.สพ.ชาครีย์ ลือสรามาศ
6. คุณพัชรีย์ กองเป้ง

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”

วันที่ 28 – 29 พฤศจิกายน 2551

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ถนนเชื่อมสัมพันธ์ เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร

วันศุกร์ที่ 28 พฤศจิกายน 2551

เวลา	ห้อง A (R305)	ห้อง B (R306)
08.15 – 09.00 น.	ลงทะเบียน	
09.00 – 09.15 น.	พิธีเปิด	
09.15 – 10.15 น.	ปาฐกถา เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ” น.สพ. สุเมธ ทรัพย์ชูกุล	
10.15 – 10.45 น.	พักรับประทานอาหารว่าง / Poster Presentation ห้อง R136	
10.45 – 11.30 น.	Diagnostic Approach of Canine Cutaneous Neoplasia ผศ.น.สพ.ดร. ไชยยันต์ เกษรดอกบัว	Biotechnology and Natural Extract Products for Feed Additive รศ.ดร. เขาวมาลย์ คำเจริญ
11.30 – 12.15 น.		Update Biotechnology for Brahman Cattle Breeding in Thailand ดร. สรรเพชญ โสภณ
12.15 – 13.15 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน	
13.15 – 14.00 น.	Nutritional Management of Neoplastic Diseases in Dogs Professor Dr. Anton C. Beynen	Biotechnology of Goat in Thailand น.สพ. ณรงค์ เลี้ยงเจริญ
14.00 – 14.15 น.	พักรับประทานอาหารว่าง	
14.15 – 15.00 น.	How to get Success in Treatment of Canine Cancer รศ.น.สพ.ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์	From Buffalo to Human by Murrah Farm คุณ รัชจวน เสงตระกูลสิน
15.00 – 17.00 น.	สงวนใช้ในคลินิก สมาคมศิษย์เก่าคณะสัตวแพทยศาสตร์ มทม.	

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”

วันที่ 28 – 29 พฤศจิกายน 2551

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ถนนเชื่อมสัมพันธ์ เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร

วันเสาร์ที่ 29 พฤศจิกายน 2551

เวลา	ห้อง A (R305)	ห้อง B (R306)	ห้อง C (R301)
08.15 – 09.00 น.	ลงทะเบียน		
09.15 – 10.00 น.	Basic in-house Diagnosis of Skin Diseases รศ.น.สพ.ดร. ณรงค์ กิจพาณิชย์	Update on Private Sector’s Research and Development Activities for Livestock Production น.สพ. รุจเวทย์ ทหารแก้ว	Oral Presentation I
10.15 – 10.45 น.	พักรับประทานอาหารว่าง / Poster Presentation ห้อง R136		
10.45 – 11.30 น.	How to Manage Epileptic Patients in Small Animal Practice สพ.ญ. อุไรวรรณ แสงเขียว	Clinical Diagnosis for Ornamental Fish น.สพ.ดร. สำราญ บรรณจิรกุล	Oral Presentation II
11.30 – 12.15 น.	Pain Management น.สพ. วรรณสิทธิ์ จันทรวงศ์	Update Clinical Management in Exotic Pets: The Practice in Clinic น.สพ. วีรพันธ์ นกแก้ว และ สพ.ญ. วราดี พุทธโกสัย	
12.15 – 13.15 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน		
13.15 – 14.00 น.	Small Animal Ocular Emergency: Glaucoma สพ.ญ. ฉันทนีย์ มงคลศรีสวัสดิ์	Intervet-Schering Plough Special Presentation วิทยากรจาก Intervet-Schering Plough	
14.00 – 14.15 น.	พักรับประทานอาหารว่าง		
14.15 – 15.00 น.	Fluid, Electrolyte and Acid-Base Balance in Small Animal น.สพ.ดร. พรชัย ครองสวัสดิ์กุล		
15.00 – 15.15 น.	พิธีปิด		

สารบัญ

หน้า

ห้อง A (R305)

Diagnosis Approach of Canine Cutaneous Neoplasia	1
ผศ.น.สพ.ดร. ไชยยันต์ เกษร ดอกบัว	
Nutritional Management of Neoplastic Disease in Dogs	7
Professor Dr. Anton C. Beynen	
การประสบความสำเร็จในการบำบัดโรคมะเร็งทางสัตวแพทย์	19
(How to Get Success in Treatment of Canine Cancer)	
รศ.น.สพ.ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์	
การตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนัง	21
(Basic In-house Diagnosis of Skin Disease)	
รศ.น.สพ.ดร. ณรงค์ กิจพานิชย์	
How to Manage Epileptic Patients in Small Animal Practice	27
สพ.ญ. อุไรวรรณ แสงเขียว	
Pain Management	31
น.สพ. วรณสิทธิ์ จันทรวงศ์	
Fluid, Electrolyte and Acid-Base Balance in Small Animal	36
น.สพ.ดร. พรชัย กรองสวัสดิ์กุล	

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ห้อง B (R306)

Biotechnology and Natural Extract Product for Feed Additive	44
---	----

รศ.ดร. เขาวมาลย์ คำเจริญ

เทคโนโลยีชีวภาพสำหรับการขยายปรับปรุงพันธุ์โคบราห์มันในประเทศไทย-สถานการณ์ปัจจุบัน	51
---	----

(Update Biotechnology for Brahman Cattle Breeding in Thailand)

ดร. สรรเพชญ์ โสภณ

Biotechnology of Goat in Thailand	65
-----------------------------------	----

น.สพ. ณรงค์ เลียงเจริญ

Update on Private Sector's Research and Development Activities for Livestock Production	78
---	----

น.สพ. รุ่งเวทย์ ทหารแก้ว

การตรวจวินิจฉัยโรคทางคลินิกในปลาสวยงาม	83
--	----

(Clinical Diagnosis for Ornament Fish)

น.สพ.ดร. สำราญ บรรณจิรกุล

Clinical Management in Exotic Pets: The Practice in Clinic	87
--	----

น.สพ. วีรพันธ์ นกแก้ว และ สพ.ญ. วราดี พุทธโกสัย

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ห้อง C (R301) การนำเสนอในรูปแบบบรรยาย (Oral Presentation)

Large animal session

O-01	9.15 – 9.30 น.	
	การสำรวจความชุกของโรคปากเท้าและเปื่อยในโค-กระบือ ที่ผ่านด่านกักกันสัตว์	110
	ระหว่างประเทศ กาญจนบุรี ด้วยวิธี 3ABC, 3B ELISA	
	(Foot and Mouth Disease: Seroprevalence in Cattle and Buffaloes	
	at the Kanchanaburi Animal Quarantine Station by 3ABC, 3B ELISA)	
	<u>สรยุทธ สีขาว และ อภิรดี อินทรพักตร์</u>	
O-02	9.30 – 9.45 น.	
	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อเมือกปากมดลูกในระหว่างวงจรการเป็นสัด	112
	ในกระบือปลักไทยที่ได้รับการเหนี่ยวนำการตกไข่	
	(Study of Cytology Changes of Cervical Mucus on Estrous Cycle in Thai Swamps	
	Buffaloes Treated with Ovulation Synchronization Program)	
	<u>พัฒนา รัตนพรรณา และ คณะ</u>	
O-03	9.45 – 10.00 น.	
	การทำศัลยกรรมเพื่อทำช่องเปิดที่กระเพาะลำไส้เล็กของโค สำหรับการวิจัย	115
	ทางด้านโภชนศาสตร์สัตว์	
	(Ruminal Fistulation in Cattle for Animal Nutrition Researches)	
	<u>ชนาธิป ธรรมการ และ คณะ</u>	

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

O-04	10.30 – 10.45 น.	
	รายงานสัตว์ป่วย : การเกิดโรค Caseous lymphadenitis ในฟาร์มแพะ พ่อแม่พันธุ์	122
	เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย	
	(Case report: The Caseous Lymphadenitis on Individual Breeder Goat Farm	
	In Nong-Chok District, Bangkok, Thailand)	
	<u>จิตุพร กระจายศรี</u>	
O-05	10.45 – 11.00 น.	
	Effect of Fat Level and Yeast Supplementation on Feed intake, Nutrient digestibility,	130
	Rumen Fermentation and Blood Metabolites in Goats	
	<u>เฉลิมพล เยื้องกลาง และ คณะ</u>	
O-06	11.00 – 11.15 น.	
	การเปรียบเทียบ 3 วิธีการลดอุณหภูมิร่างกายในม้านักกีฬาด้วย	139
	น้ำเปล่า น้ำเย็นและพัดลม ภายหลังจากการออกกำลังกาย	
	(The Comparison between Ambient Temperature Tap Water, Cold Water and	
	Cold Water with Air cooling Methods on the Recovery Rate after Exercise	
	in Athletic Horses)	
	<u>ธีรพล ชินกังสดาล และ รัชชรัตน์ กิติโชคดำรงกุล</u>	

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

Animal Science Session

O-07 11.15 – 11.30 น.

ผลกระทบของความหนาไขมันสันหลังในช่วงการอุ้มท้องของแม่สุกรต่อจำนวนลูกสุกร 141

ทั้งหมดต่อครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต และน้ำหนักแรกคลอดเฉลี่ย

(The Effect of Backfat Thickness in Gestation Sows to Total Born, Born Alive
and Birth Weight)

ชัยณรงค์ ภูมิรัตนประพิณ และ คณะ

O-08 11.30 – 11.45 น.

ผลของระดับไขมันในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต 143

และการย่อยได้ของโภชนาในห่านเนื้อ

(Effect of Energy Levels in Meat Goose Ration on Growth Performance and
Nutrient Digestibility)

ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส และ คณะ

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

Infectious Disease Session

O-09 11.45 – 12.00 น.

การเฝ้าระวังและตรวจหาเชื้อ *Bacillus anthracis* จากหนังสัตว์นำเข้าราชอาณาจักรไทย
ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 150

(Surveillance and Detection of *Bacillus anthracis* in Imported Animal Hide
into the Kingdom of Thailand During 2003 – 2007)

อิงอร สมวงษ์อินทร์ และ อุบลรัตน์ แทนกลาง

O-10 12.00 – 12.15 น.

โรคติดเชื้ออิริโดไวรัสจิ้งหรีด ในฟาร์มเพาะเลี้ยง จ.ลำพูน 159

(Iridovirus Infection in Cricket farm in Lampoon Province)

นพพร โต๊ะมี และ กณะ

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ห้อง D (R136) การนำเสนอในรูปแบบโปสเตอร์ (Poster Presentation)

Obstetric and Gynecologic Session

PA-01	การศึกษาผลของการเสริม Catalase, Superoxide dismutase และ Glutathione peroxidase ในน้ำเชื้อสุนัขต่อคุณภาพของอสุจิภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 37°C (Effect of Catalase, Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Supplementation in Dog Semen on Sperm Quality after Incubation at 4 and 37 °C) สราวุธ ศรีงาม และ คณะ	171
PA-02	การแช่แข็งเอ็มบริโอโคโรยะบาสโตซิสต์แบบวิทริฟิเคชัน โดยใช้ micropipette แก้ว (Cryopreservation of Bovine Hatched Blastocysts Using Glass Micropipette Vitrification Technique) ศักดิ์ศิริ ศิริเสถียร และ คณะ	178
PA-03	The Study of Effect of Oxytocin Supplemented Semen on Fertility of Sows Performance Pongthorn Suwannathada and Nongyao Suwannathada	185

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

Veterinary Biological Science Session

PB-01	รายงานสัตว์ป่วย: โรคมกคล่อเทียมในแพะ (Case Report: Melioidosis in Does in Nongchok, Bangkok) จุฬารัตนา สอนกลิ่น และ คณะ	191
PB-02	อุบัติการณ์ของเชื้อ <i>Streptococcus suis</i> ในเลือดสุกรดิบที่วางจำหน่าย ในตลาดเขตกรุงเทพมหานคร (Incidence of <i>Streptococcus suis</i> Contamination in Raw Pig Blood Distributing in Bangkok's Fresh Markets) วสันต์ กฤตกรธนา และ คณะ	193
PB-03	การจำแนกระหว่างเชื้อโปรโตซัว <i>Entamoeba histolytica</i> และ <i>Entamoeba dispar</i> โดยใช้เทคนิค พี ซี อาร์ จำเพาะต่อยีน SSU-rDNA, Chitinase และ Serine rich protein (Identification of <i>Entamoeba histolytica</i> and <i>Entamoeba dispar</i> Using PCR Based on The SSU- rDNA, Chitinase and Serine Rich Protein Genes) อภิรดี อินทรพัทธน์ และ คณะ	195
PB-04	ปรากฏการณ์ เซลล์ลูปัส อิริธิม่าโตรซัส ในหนูตะเภา: รายงานสัตว์ป่วย (Lupus Erythematosus Cell Phenomenon in Guinea Pig: A Case Report) เกรียงศักดิ์ ไพหิรัญกิจ และ กิตตินาท ผลไพบูลย์	198

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
PB-05	การเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งเรื้อรังที่น้ำดีตับภายหลังได้รับพิษงูเขียวหางไหม้ ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron Microscopy of Human Cholangiocarcinoma Cellular Changes after Green Pit Viper Venom Exposure) อุไร พงษ์ชัยฤกษ์ และ คณะ	200
PB-06	ประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของเชื้อ <i>Bacillus stearothermophilus</i> ในชุดทดสอบด้วยหม้อนึ่งอัดความดันที่ใช้สำหรับปรุงอาหาร (The Sterilization Efficiency of Pressure Cooker on <i>Bacillus stearothermophilus</i> Test Kits) สมยศ อิ่มอารมณ์ และ คณะ	202
PB-07	การปรากฏของเอนไซม์อัลฟาเทสเอในระบบสืบพันธุ์เพศเมียในหนูเมาส์ (Expression of Arylsulfatase – A (AS - A) in Female Mouse Reproductive Tract) อารยา สืบจำเพชร และ คณะ	204
PB-08	การศึกษาย้อนหลังทางจุลพยาธิวิทยาในไตของแมวที่เกิดอะมัยลอยด์ (A Retrospective Review Histopathology of Renal Amyloidosis in Cat) นันทิดา ทรัพย์แก้ว และ คณะ	206
PB-09	ลักษณะทางกายวิภาคของกระเพาะอาหารในลิ้นจี่ (The Anatomical Structure of Pangolin's Stomach) ธนสิทธิ์ สอนฤทธิ์ และ คณะ	208

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
PB-10 มะเร็งต่อมน้ำเหลืองในสุนัขพันธุ์ไทยหลังอาน: รายงานทางคลินิกและพยาธิวิทยา (Multicentric Lymphoma in Male Thai Ridgeback Dog: Clinico – pathological Report) ทนงศักดิ์ มะมม และ คณะ	210
<i>Small & Large Animal Session</i>	
PC-01 รายงานสัตว์ป่วย: การรักษาแผลหลุมตื้นชนิดที่มีชอกลึกที่กระจกตาในแมว (Case Report: Treatment of Indolent Corneal Ulcer in Cat with Corneal Epithelium Debridement) ธนศ อนุศักดิ์เสถียร และ วิฑารีย์ เลาหรัชชานนทร์	212
PC-02 Effect of Fat Level and Yeast Supplementation on Feed Intake, Nutrient Digestibility, Rumen Fermentation and Blood Metabolites in Goats Pramote Paengkoum and Supreena Srisaikham	214
PC-03 ผลของแคลเซียมและเลซิทินในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกรป่า (Effect of Dietary Calcium and Lecithin on Growth Performance of Wild Pigs) จำลอง มิตรชาวไทย และ คณะ	219
PC-04 ระดับกรดเซียลิกรวมในพลาสมาของสุนัขที่เป็นมะเร็งเต้านม (Plasma Total Sialic Acid Levels in Mammary Cancer Dogs) เอกชัย ภัทรพันธุ์วิเชียร และ คณะ	225

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก

รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ

รายนามผู้ให้การสนับสนุนหลัก การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

กองบรรณาธิการ

Diagnosis Approach of Canine Cutaneous Neoplasia

ผศ.น.สพ.ดร. ไชยยันต์ เกษรคอกบัว*

1. ความนำ

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่ผิวมากที่สุดในสุนัข ทำให้การตรวจทางคลินิกเพื่อสืบค้นรอยโรคเป็นไปได้สะดวกกว่าโรคในระบบอื่นๆ มากนัก โรคเนื้องอกเป็นโรคที่พบได้บ่อยในสุนัขอายุมาก แต่เนื้องอกบางชนิดสามารถพบในสุนัขอายุตั้งแต่ 6 เดือนขึ้นไป เช่น histiocytoma เนื้องอกที่ผิวหนังส่วนใหญ่จะพบรอยโรคเป็นตุ่ม (Nodule) หรือก้อนเนื้อ (Mass) ที่ผิดปกติ อย่างไรก็ตามรอยโรคอื่นๆ ที่มีลักษณะตาเปล่าคล้ายเนื้องอก เช่น ฝี แผลหลุมจากการอักเสบ ทำให้บางครั้งก่อให้เกิดความสับสนและยากที่จะวินิจฉัยสรุปได้ด้วยการตรวจร่างกายและรอยโรคทางคลินิกเพียงประการเดียว นอกจากนั้นการตรวจวินิจฉัยเพื่อแยกกลุ่มของเนื้องอกว่าเป็นเนื้องอกธรรมดา (Benign tumor) หรือเนื้องอกร้ายแรง (Malignant tumor) หรือมะเร็ง (Cancer) มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวางแผนการรักษาและการพยากรณ์โรค เพื่อประกอบการตัดสินใจของเจ้าของสัตว์ร่วมกับสัตวแพทย์ผู้รับผิดชอบว่าจะเลือกวิธีการรักษาแบบใด ที่เหมาะสมต่อสัตว์ป่วย ซึ่งอาจจะไม่เหมือนกันในทุกกรณี แม้ว่าสุนัขแต่ละตัวจะป่วยด้วยโรคเนื้องอกชนิดเดียวกันก็ตาม เพราะมีปัจจัยอื่นๆ แวดล้อมกำหนดการตัดสินใจดังกล่าวด้วย เช่น ความพร้อมของคลินิกหรือโรงพยาบาลสัตว์ในด้านการรักษาโรคเนื้องอกแต่ละประเภท (อาทิ เคมีบำบัด การผ่าตัด) ค่าใช้จ่ายในการรักษา เศรษฐฐานะของเจ้าของสัตว์และสภาพของสัตว์ป่วยว่าเนื้องอกหรือมะเร็งลุกลามไปในระยะใดหรือรุนแรงมากน้อยเพียงใด

ดังนั้นการวินิจฉัยโรคเนื้องอกเพื่อให้ได้มาซึ่งการวินิจฉัยสรุป ล้วนก่อประโยชน์ต่อสัตว์ป่วย สัตวแพทย์และเจ้าของสัตว์ ในด้านของสัตว์ป่วยจะได้รับการบำบัดรักษาที่เหมาะสมต่อโรค พ้นจากความทุกข์ทรมาน สัตวแพทย์ในฐานะผู้รับผิดชอบในการให้คำวินิจฉัย วางแผนการรักษาและพยากรณ์โรคให้ปฏิบัติหน้าที่อย่างเหมาะสมต่อหน้าที่ของตน เพื่อให้การวินิจฉัยถูกต้องแม่นยำที่สุด หลีกเลี่ยงการวินิจฉัยผิดพลาดอันอาจจะก่อผลร้ายต่อสัตว์ป่วยและสูญเสียค่าใช้จ่ายโดยไม่จำเป็นต่อเจ้าของสัตว์ จะได้รับประโยชน์จากการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องแม่นยำด้วยความสุขที่สัตว์เลี้ยงของตนได้รับการวินิจฉัย บำบัดรักษาอย่างถูกต้องเหมาะสมแก่โรค แม้ว่าในบางกรณีอาจจะเหลือวิสัยที่จะรักษาให้หายขาดได้ หากการดำเนินการวินิจฉัยและรักษาโรคเป็นไปอย่างถูกต้องตามครรลองวิชาชีพแล้วล้วนเพิ่มพูนความเชื่อมั่นและศรัทธาต่อสัตวแพทย์ผู้รับผิดชอบอย่างแน่นอน

2. แนวทางการวินิจฉัยโรคเนื้องอกผิวหนัง

ส่วนใหญ่เนื้องอกผิวหนัง มักจะแสดงลักษณะรอยโรคเป็นตุ่มหรือก้อนเนื้อ อย่างไรก็ตาม เนื้องอกบางชนิด มีลักษณะรอยโรคตาเปล่าเป็นแผลหลุมที่กินบริเวณกว้างและแผ่ขยายออกไปเรื่อยๆ เช่น Squamous cell carcinoma ดังนั้นรอยโรคที่แม้จะไม่ใช่ตุ่มหรือก้อน แต่เป็นแผลหลุม หรือเป็นแผลเรื้อรังที่รักษาไม่หายขาด ควรคำนึงถึงเนื้องอกผิวหนังไว้ด้วย ขณะเดียวกันรอยโรคตุ่มหรือก้อนบนผิวหนังหรือในชั้นใต้ผิวหนัง อาจจะไม่ได้เกิดจากเนื้องอกเสมอไป อาจเกิดจากกระบวนการอักเสบอย่างเรื้อรัง เช่น ฝี หรือ ปฏิกริยาต่อวัตถุแปลกปลอมที่ถูกฉีดเข้าไปใน เช่น adjuvant ในส่วนผสมของวัคซีนชนิดต่างๆ จึงควรเก็บตัวอย่างตุ่มหรือก้อนเพื่อการวินิจฉัยสรุป เนื่องจากการวินิจฉัยเนื้องอกไม่สามารถ

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กำหนดคำวินิจฉัยระบุชนิดของเนื้องอกด้วยการตรวจทางคลินิกเพียงอย่างเดียว แต่ควรส่งตัวอย่างตรวจเพิ่มเติม มีวิธีการส่งตัวอย่าง 2 วิธี ดังนี้

1. การตรวจทางเซลล์วิทยา (Cytological examination) เก็บตัวอย่างเซลล์จากก้อนเนื้อที่สงสัยด้วยการเจาะดูดหรือกดป้ายส่วนของก้อนเนื้อลงบนสไลด์กระจกแล้วย้อมสีเพื่อตรวจทางเซลล์ การตรวจวิธีนี้ สัตวแพทย์สามารถเตรียมตัวอย่างด้วยตนเอง ภายในคลินิก และอาจจะตรวจตัวอย่างสไลด์ด้วยตนเองเพื่อระบุคำวินิจฉัย หากคุ้นเคยและมีประสบการณ์ในการตรวจหาเซลล์เนื้องอกจากสไลด์ ซึ่งเนื้องอกบางชนิดมีลักษณะของเซลล์ที่เป็นเอกลักษณ์ และไม่เหลือวิธีที่จะตรวจด้วยตนเอง สามารถเทียบเคียงกับตำราหรือคู่มือภาพสีแสดงลักษณะของเซลล์เนื้องอกได้ การวินิจฉัยเนื้องอกด้วยการตรวจเซลล์ สะดวก ประหยัดและไม่สิ้นเปลืองเวลา สัตวแพทย์ผู้เก็บตัวอย่างสามารถตรวจสไลด์ตัวอย่างได้ด้วยตนเอง และอาจจะวินิจฉัยสรุปชนิดของเนื้องอกบางชนิดได้ เช่น Round cell tumors โดยไม่จำเป็นต้องส่งตัวอย่างเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

สำหรับการตรวจเซลล์ สัตวแพทย์ผู้ตรวจสไลด์พึงระลึกไว้เสมอว่าหากไม่พบเซลล์เนื้องอกในสไลด์ตัวอย่างก็ไม่อาจสรุปว่าสัตว์ป่วยที่เก็บตัวอย่างนั้นมาจากรอยโรคที่ไม่ใช่โรคเนื้องอก เพราะการเก็บตัวอย่างจากก้อนเนื้องอกหลากหลายชนิดที่มีลักษณะภายในแตกต่างกัน เช่น เน้น ฟาม มีเศษเนื้อตาย หรือเซลล์อักเสบและ Exudate ปนอยู่ล้วนอาจเก็บไม่ได้เซลล์เป้าหมาย หรืออาจบดบัง มิให้ตรวจพบเซลล์เนื้องอกได้ เป็นเหตุให้ หากการตรวจเซลล์ไม่สามารถได้ข้อสรุป ควรส่งตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาด้วยเสมอ ซึ่งให้ข้อมูลสำคัญอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการรักษาและพยากรณ์โรค ดังจะกล่าวต่อไป

2. การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathological examination) เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อจากก้อนเนื้อที่สงสัย ด้วยการตัดเพียงบางส่วน (Incisional biopsy) หรือหากสามารถกระทำได้ ตัดก้อนเนื้อที่สงสัยออกทั้งก้อนแล้วส่งตัวอย่างตรวจ (Excisional biopsy) การตรวจวิธีนี้ ต้องส่งตัวอย่างชิ้นเนื้อในสารละลาย 10% formalin (เพื่อป้องกันการเน่า) ให้กับห้องปฏิบัติการเพื่อจัดเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อเป็นสไลด์กระจกย้อมด้วยสี hematoxylin & eosin ส่งให้พยาธิสัตวแพทย์เป็นผู้ตรวจและกำหนดคำวินิจฉัยของชนิดเนื้องอก แม้ว่าการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาใช้เวลานานกว่า และเสียค่าใช้จ่ายมากกว่าการตรวจทางเซลล์และเนื้องอกบางชนิดสามารถวินิจฉัยได้จากการตรวจเซลล์ แต่การตรวจชิ้นเนื้อทางจุลพยาธิวิทยายังคงเป็นการวินิจฉัยเนื้องอกมาตรฐานที่พึงกระทำเสมอเพราะให้คำวินิจฉัยที่ถูกต้องแม่นยำมากกว่าการตรวจเซลล์ ซึ่งบางครั้งอาจเก็บตัวอย่างไม่ได้เซลล์เนื้องอกที่แท้จริงและบดบังด้วยเศษเนื้อตายหรือเซลล์อักเสบที่อาจพบภายในก้อนเนื้องอกด้วย การตรวจทางจุลพยาธิวิทยานอกจากจะได้คำวินิจฉัยชนิดของเนื้องอกแล้ว ยังให้ข้อมูลในการจัดลำดับความรุนแรงของเซลล์เนื้องอก (Grading) เช่น Mast cell tumor เพื่อการพยากรณ์โรค การตรวจแพร่กระจายของเซลล์เนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียงภายในหลอดเลือดหรือท่อน้ำเหลือง หรือการประเมินขอบแผลผ่าตัด (Surgical margin) ว่าพบเซลล์เนื้องอกแพร่กระจายไปถึงหรือไม่ หากพบแสดงว่ามีโอกาสที่เนื้องอกจะกลับซ้ำอีกใหม่ขึ้นมา ณ ตำแหน่งผ่าตัดเอาเนื้องอกออกไป

3. ความชุกของโรคเนื้องอกผิวหนัง

ผลการสำรวจโรคเนื้องอกหรือรอยโรคงอกเกินที่คล้ายเนื้องอก (Tumor-like hyperplastic lesions) ผิวหนังในสุนัขที่ส่งตรวจด้วยการเก็บชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ณ หน่วยพยาธิกายวิภาควินิจฉัย หน่วยงานชันสูตรโรค สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน จำนวน 1,212 ตัว (โดยไม่คำนึงถึงเพศ พันธุ์หรืออายุของสุนัข) เนื่องจากมีการกระจุกตัวของปัจจัยดังกล่าว ทำให้มีผลต่อการวิเคราะห์ทางสถิติ เช่น จำนวนของสุนัขพันธุ์แท้แต่ละชนิด ยังมีน้อยเกิน

กว่าจะวิเคราะห์ได้จากจำนวนของสุนัขในการสำรวจครั้งนี้) ระหว่างพ.ศ. 2548 และ 2550 พบว่าเนื้องอกผิวหนังของสุนัข สามารถจัดแบ่งเป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 1.) ดังนี้

1. เนื้องอกที่มีต้นตอจากเซลล์เยื่อบุ (Epithelial neoplasm/tumors) เช่น Squamous cell carcinoma, Benign basal cell tumor (Trichoblastoma), Perianal (hepatoid) gland tumors, Sebaceous gland hyperplasia & tumors ซึ่งในบรรดาเนื้องอกจากเยื่อบุผิวหนังจากข้อมูลดังกล่าว สรุปไว้ในตารางที่ 1. ดังนี้

ตารางที่ 1. เนื้องอกผิวหนังกลุ่มเยื่อบุที่พบบ่อยในสุนัข พ.ศ. 2548 – 2550.

ลำดับที่	ชนิดของเนื้องอก	เปอร์เซ็นต์จากจำนวนทั้งหมด
1	Squamous cell carcinoma	21.11
2	Basal cell tumor, benign	15
3	Sebaceous epithelioma	14
4	Perianal gland adenoma	13
5	Perianal gland carcinoma	8
6	Sebaceous gland carcinoma	7
7	Sebaceous gland hyperplasia	7
8	Sebaceous adenocarcinoma	5
9	Apocrine adenoma	4
10	Basal cell carcinoma	3
11	Basesquamous carcinoma	3
12	Sebaceous adenoma	1

2. เนื้องอกที่มีต้นตอจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือเนื้อเยื่อ Mesoderm (Mesenchymal cell neoplasm) ในระยะคัพพะ พบว่า melanoma เป็นเนื้องอกที่พบบ่อยที่สุด

ตารางที่ 2. เนื้องอกผิวหนังกลุ่มเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่พบบ่อยในสุนัข พ.ศ. 2548 – 2550.

ลำดับที่	ชนิดของเนื้องอก	เปอร์เซ็นต์จากจำนวนทั้งหมด
1	Melanoma	23.33
2	Fibrosarcoma	14.29
3	Fibroma	12.86
4	Lipoma	10.95
5	Hemangioma	7.62
6	Hemangiosarcoma	7.62
7	Malignant fibrous histiocyteoma	4.76
8	Schwannoma	4.29
9	Liposarcoma	3.81
10	Myxosarcoma	3.33
11	Hemangiopericytoma	3.33
12	Malignant schwannoma	3.33
13	Myxoma	0.48

3. เนื้องอกที่มีรูปทรงกลม (Round cell tumors) เมื่อเรียงจากความชุกในการพบมากไปน้อยตามลำดับประกอบด้วย

- Mast cell tumor 61.93%
- Plasma cell tumor 14.21%
- Transmissible venereal tumor (TVT) 11.17%
- Lymphoma 7.61%
- Histiocyteoma 6.09%

เนื้องอกแต่ละชนิดในกลุ่มเนื้องอกที่มีรูปทรงกลมข้างต้น มีต้นตอของเซลล์ต่างกัน หากจัดไว้รวมกันเพื่อสะดวกในการวินิจฉัยด้วยการตรวจเซลล์ซึ่งสามารถวินิจฉัยได้ไม่ยากนัก ดังนั้นการตรวจเซลล์ก่อประโยชน์อย่างมากในการวินิจฉัยเนื้องอกกลุ่มนี้ และช่วยวินิจฉัยแยกโรคเพื่อตัดประเด็นก่อนเนื้องอกที่เกิดจากเนื้องอกกลุ่มอื่นๆ ที่ส่วนใหญ่มักจะต้องอาศัยการวินิจฉัยด้วยการตรวจจุลพยาธิวิทยาด้วยเสมอ เพื่อให้ได้มาซึ่งการวินิจฉัยสรุปหรือการวินิจฉัยขั้นสุดท้าย

4. เนื้องอกเต้านม (Mammary gland tumors) แม้ว่าเนื้อเยื่อเต้านมเป็นเนื้อเยื่อที่ไม่จัดอยู่ในระบบผิวหนังแต่ตำแหน่งที่พบบริเวณท้อง อาจสับสนกับเนื้องอกผิวหนังได้ จากฐานข้อมูลฯ พบว่าสุนัข จำนวน 191 ตัว ที่วินิจฉัยว่าเป็นเนื้องอกเต้านม เป็นมะเร็งเต้านม 58% โดยพบมะเร็งต่อไปนี้ 3 ชนิดเป็นส่วนใหญ่จากมากไปหาน้อย ได้แก่ Tubular carcinoma, Acinous adenocarcinoma, Malignant mixed mammary gland tumor ซึ่งความชุกของมะเร็งเต้านมข้างต้น

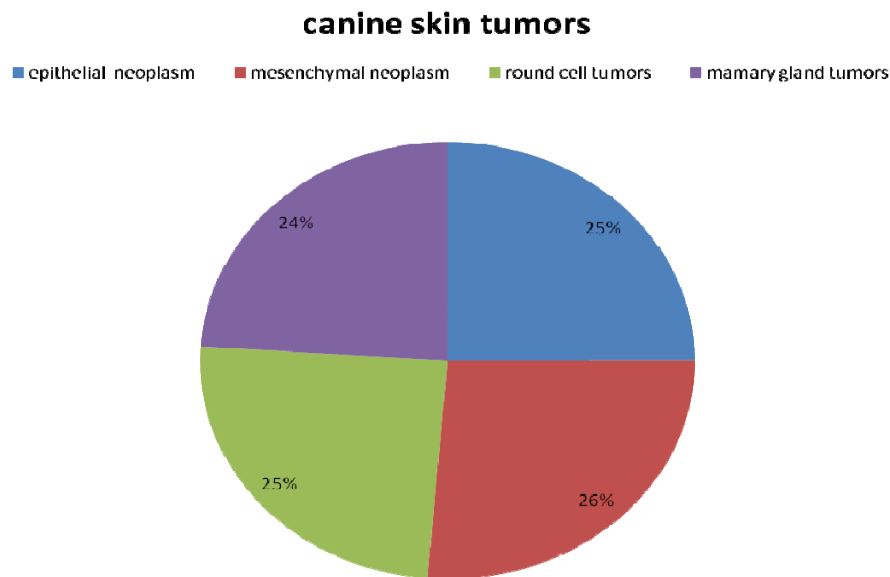
รวมกันพบบ่งบอกว่ากลุ่มเนื้องอกเต้านมธรรมดาที่ไม่ร้ายแรงทุกชนิดรวมกัน เช่น Benign mixed mammary gland tumor, Mammary gland cystadenoma, Tubular adenoma of mammary gland, Myoepithelioma

โดยสรุป ในบรรดาเนื้องอกผิวหนังทุกชนิดจากการสำรวจครั้งนี้ พบว่า Mast cell tumor เป็นเนื้องอกที่พบบ่อยที่สุดรองลงมาด้วย Melanoma และ Squamous cell carcinoma ตามลำดับ (ตารางที่ 3. และภาพที่ 2.)

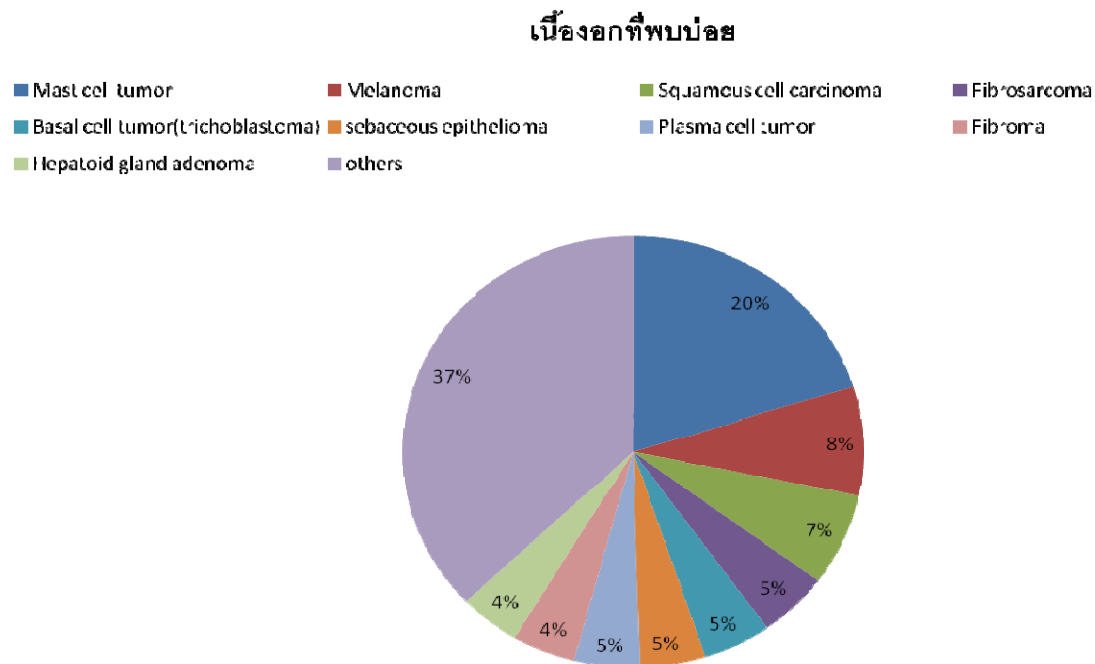
ตารางที่ 3. เนื้องอกผิวหนังที่พบบ่อยในสุนัข พ.ศ. 2548 – 2550.

ลำดับที่	ชนิดของเนื้องอก	เปอร์เซ็นต์จากจำนวนทั้งหมด
1	Mast cell tumor	20.13
2	Melanoma	8.09
3	Squamous cell carcinoma	6.93
4	Fibrosarcoma	4.95
5	Trichoblastoma	4.79
6	Sebaceous epithelioma	4.62
7	Plasma cell tumor	4.62
8	Fibroma	4.46
9	Perianal gland adenoma	4.29
10	เนื้องอกชนิดอื่นๆ	37.13

ข้อมูลความชุกของเนื้องอกชนิดต่างๆ เหล่านี้ใช้เป็นข้อมูลประกอบการวินิจฉัยเบื้องต้นทางคลินิก และประกอบการวางแผนการรักษาในสัตว์ป่วยแต่ละตัว ซึ่งบางครั้งอาจจะต้องได้รับการรักษาเบื้องต้นก่อนที่จะได้รับผลวินิจฉัยสรุปด้วยการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เพื่อป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากเนื้องอกที่เป็นมะเร็ง (Paraneoplastic syndromes) ไว้ก่อนในขณะที่รอผลการวินิจฉัยสรุปหรือป้องกันภาวะแทรกซ้อนหากสัตว์ป่วยต้องได้รับการผ่าตัดเพื่อเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อหรือเพื่อการรักษา จะได้ลดภาวะวิกฤตอันอาจทำให้สุนัขตายก่อนจะได้รับการรักษาที่เหมาะสมต่อชนิดของเนื้องอกหรือมะเร็ง เช่น ภาวะความดันโลหิตต่ำจากการหลั่งสารฮีสตามีนมากขึ้นของมะเร็ง mast cell tumor ซึ่งทำให้สุนัขเสี่ยงต่อการตายขณะรับยาสลบหรือระหว่างผ่าตัด หรือมะเร็ง lymphoma ที่อาจสร้างสารกระตุ้นการย่อยสลายกระดูก ทำให้เกิดภาวะแคลเซียมในเลือดสูง (Hypercalcemia) จนเหนียวน้ำให้เกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน



ภาพที่ 1. แผนภาพแสดงปริมาณของกลุ่มเนื้องอกผิวหนังในสุนัข พ.ศ. 2548 – 2550.



ภาพที่ 2. แผนภาพแสดงปริมาณของเนื้องอกผิวหนังแต่ละชนิดที่พบบ่อยในสุนัข พ.ศ. 2548 – 2550.

4. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสัตวแพทย์หญิงจิราภรณ์ ศรีทันรวบรวมและจัดเตรียมแผนภาพแสดงข้อมูลความชุกของเนื้องอก

Nutritional Management of Neoplastic Disease in Dogs

Anton C. Beynen *

1. Introduction

Cancer is a common cause of death in dogs. The role of nutrition may be considered in relation to prevention of cancer and in the management of cancer patients. There is a limited number of publications dealing with research on diet and cancer in dogs. However, it can be suggested that prevention of cancer may go hand in hand with restricted feeding and optimum body condition. In animals with cancer it is not a question of curing the patient, but a matter of improving the quality of life for the patient and increasing survival time. It is believed that specific nutrients can be used to treat the malignant disease directly or indirectly. The two major goals are inhibiting tumor growth and preventing or managing cachexia. It is also assumed that appropriate nutritional support can reduce or prevent toxicoses associated with cancer therapy. However, the experimental evidence for dogs and cats is lacking or at the best weak.

* Research and Development, Vobra Special Petfoods BV, Veghel, The Netherlands and Department of Nutrition, Rajamangala University of Technology-Isan, Sakon Nakhon, Thailand

2. Prevention

Obesity is considered to be the most common nutritional disorder in companion animals. The condition is associated with various diseases. In dogs, juvenile obesity is associated with the predisposition to mammary tumors in adulthood (Sonnenschein et al., 1991; Perez-Alenza et al., 1998). In a controlled study, diet restriction reduced body weight and retarded the development of the neoplasia, but it did not reduce the incidence of neoplasia (Kealy et al., 2002).

Perez-Alenza et al., 1998) found in dogs that overweight at young age was associated with the development of mammary tumors at older age (Table 1). Clearly, the data in Table 1 cannot be considered as proof for a cause-and-effect relationship between obesity and cancer in dogs.

In a case-control study with cats it was found that the intake of canned food instead of dry food was associated with a three-fold risk of oral squamous cell carcinoma (Bertone et al., 2003). In a case-control study with Scottish Terriers, the intake of vegetables was associated with a decreased risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder (Raghavan et al., 2005). At present, it is not possible to translate the results of the two case-control studies into dietary guidelines.

Table 1. Body condition at one year of age in dogs with mammary tumors and in matched controls

Body condition	Controls (n = 89)	Cases (n = 102)
	Percentage	
Underweight	14	19
Normal	74	41
Obese	12	40

Perez-Alenza et al. (1998)

3. Treatment

Views on the ideal composition of a diet for the management of canine or feline cancer are generally based on theoretical considerations and research in species other than dogs and cats, including animal models with chemically induced cancer. It is generally proposed that a diet high in fat and protein with low carbohydrate may be beneficial, but there is no experimental evidence. In contrast, Shofer et al. (1989) showed in dogs with naturally occurring breast cancer that the survival time was highest when a diet high in protein and low in fat was given.

It has been suggested that increased intakes of arginine, glutamine, selenium and vitamins C, E and A would slow down tumor progression, but there is no experimental evidence in dogs or cats with cancer. Perez-Alenza et al. (1998) observed that dogs with mammary tumors had a lower vitamin A status than did the matched controls.

Research in mice with induced tumours has convincingly and consistently proven that feed rich in fish oil slows down the growth of tumors and reduces the severity of cachexia. Fish oil is rich in long-chain omega-3

polyunsaturated fatty acids and its effects probably are mediated by the extra synthesis of specific eicosanoids and by a decrease in the plasma levels of the cytokines, tumor necrosis factor (TNF α) and interleukin-1 β (IL-1 β). The two cytokines are involved in the progression of cachexia. In dogs fed a diet rich in long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids, the blood plasma levels of TNF α and IL-1 β were lowered (Freeman et al., 1998). There are indications that fish oil also has a positive influence on dogs with cancer. Dogs with lymphoma had a higher survival time when given a diet rich in fish oil instead of soybean oil (Ogilvie et al., 2000). The fish-oil enriched diet, to which extra arginine had been added, contained about 20% fish oil and had a total fat level of about 30% on a dry matter basis. Table 2 illustrates the results of the study.

Table 2. Survival times of dogs with lymphoma after treatment with doxorubicin and a diet containing either fish oil or soybean oil

	Soybean oil (n=16)	Fish oil (n=16)
Median survival time	7.6 months	10.5 months

4. Conclusion

The limited data on nutrition and cancer in dogs does allow the formulation of solid nutritional guidelines. It would appear that prevention of obesity in dogs at young age may lower the risk of development of mammary tumors at older age. In the management of patients with cancer, a diet rich in fish oil may be beneficial.

5. Literature

1. Bertone ER, Snyder LA, Moore AS. Environmental and lifestyle risk factors for oral squamous cell carcinoma in domestic cats. J Vet Intern Med 2003; 17: 557-562.
2. Freeman LS, Rush JE, Kehayias JJ, Ross JN, Meydani SN, Brown DJ, Dolnikowski GG, Marmor BN, White ME, Dinarello CA, Roubenoff R. Nutritional alterations and the effect of fish oil supplementation in dogs with heart failure. J Vet Intern Med 1998; 12: 440-448.
3. Kealy RD, Lawler DF, Ballam JM, Mantz SL, Biery DN, Greeley EH, Segre M, Smith GK, Stowe HD. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. J Am Vet Med Assoc 2002; 220: 1315-1320.
4. Ogilvie GK, Fettman MJ, Mallinckrodt CH, Walton JA, Hansen RA, Davenport DJ, Gross KL, Richardson KL, Rogers Q, Hand MS. Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survival time for dogs with lymphoma. A double-blind, randomized placebo-controlled study. Cancer 2000; 88: 1916-1928.
5. Perez-Alenza D, Rutteman GR, Pena L, Beynen AC, Cuesta P. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. J Vet Intern Med 1998; 12: 132-139.
6. Raghavan M, Knapp DW, Bonney PL, Dawson MH, Glickman LT. Evaluation of the effect of dietary

vegetable consumption on reducing risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers. J Am Vet Med Assoc 2005; 227: 94-100.

7. Shofer FS, Sonnenschein EG, Goldschmidt MH, Laster LL, Glickman LT. Histopathologic and dietary prognostic factors for canine mammary carcinoma. Breast Cancer Res Treat 1989; 13: 49-60.
8. Sonnenschein EG, Glickman LT, Goldschmidt MH, McKee LJ. Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. Am J Epidemiol 1991; 133: 694-703.

NUTRITIONAL MANAGEMENT OF NEOPLASTIC DISEASE IN DOGS

Anton C. Beynen

Research and Development, Vobra Special
Petfoods BV, Veghel, The Netherlands

Professor of animal nutrition, Rajamangala
University, Sakon Nakhon, Thailand

NUTRITION AND CANCER

- Prevention
- Therapy

PREVENTION OF CANCER IN DOGS

- Epidemiological studies
- Controlled studies
- Studies in other species

JUVENILE BODY CONFORMATION IN SPAYED DOGS WITH MAMMARY TUMORS AND IN CONTROLS

Body conformation	Controls (n = 73)	Cases (n = 55)
	(%)	
Thin	27	2
Not thin	73	98

Sommenschein et al. (1991)

BODY CONFORMATION AT 1 YEAR OF AGE IN DOGS WITH MAMMARY TUMORS AND IN CONTROLS

Body conformation	Controls (n = 89)	Cases (n = 102)
	(%)	
Underweight	14	19
Normal	74	41
Obese	12	40

Perez Alenza et al. (1998)

EFFECT OF RESTRICTED FEEDING ON SKELETAL DISEASE AND LIFE SPAN IN DOGS

- Kealy et al. (1992, 1997, 2002)
- 48 Labrador Retrievers, males and females, 8 weeks old
- Paired feeding
- Ad libitum versus 75 %
- As from 3 years: 261 kJ/kg BW versus 75 %
- Hip dysplasia, osteoarthritis
- Euthanasia according to protocol

RESTRICTED FEEDING AND LONGEVITY IN DOGS

Survival	Ad lib	Restricted
Age, years		
50 %	11.2	13.0
10 %	12.9	14.0

Kealy et al. (2002)

EPIDEMIOLOGICAL DATA ON NUTRITION AND CANCER

- Intake of dry versus canned food reduced the risk of oral squamous cell carcinoma in cats (Bertone et al., 2003)
- Consumption of vegetables reduced the risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers (Raghavan et al., 2005)

FEEDING THE CANCER PATIENT

- Quality of life
- Survival time
- Inhibiting tumor growth
- Managing cachexia

NUTRITION AND CANCER PATIENTS

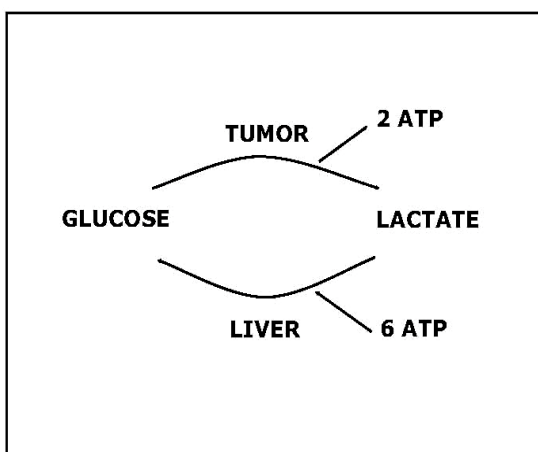
- Composition of food
- Palatability of food
- Amount of food
- Route of administration

NUTRITIONAL IMPLICATIONS OF CANCER THERAPY

- **Surgery:** chewing, swallowing, regurgitation, gastric emptying, diarrhea, malabsorption, intestinal obstruction, maldigestion
- **Chemotherapy:** anorexia, diarrhea, constipation, nausea, vomiting
- **Radiotherapy:** mucositis, dry mouth, nausea, vomiting, enteritis, diarrhea, malabsorption

APPROPRIATE NUTRITIONAL INTERVENTION IN CANCER

- Understanding altered metabolism
- Controlled studies



CORNER STONES OF THE CANCER DIET

- Low carbohydrate
-
-
-

ENERGY LOSS DUE TO ALTERED METABOLISM

- Cori cycle: resynthesis of glucose from lactate
- Gluconeogenesis: conversion of amino acids into glucose

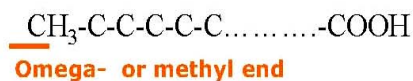
FUNCTIONS OF DIETARY FATS

- Provision of essential fatty acids
- Energy source
- Facilitation absorption of fat-soluble vitamins
- Palatability
- Nutraceutical activity

CORNER STONES OF THE CANCER DIET

- Low carbohydrate
- High fat
-
-

NOMENCLATURE OF FATTY ACIDS



- Number of C atoms
- Number of double bonds
- Position of first double bond from the methyl end (omega end)

n-6 fatty acids

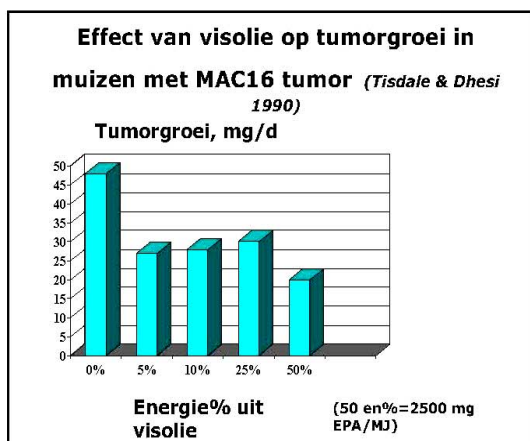
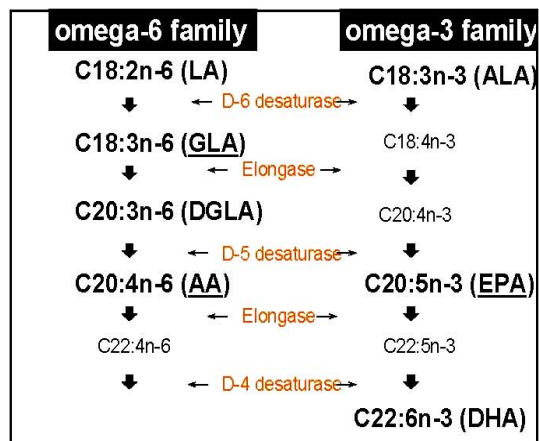
Common structure: $\text{CH}_3\text{-C-C-C-C-C=C}\dots\text{COOH}$

Linoleic acid (C18:2n-6):
 $\text{CH}_3\text{-C-C-C-C-C=C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-COOH}$

n-3 fatty acids

Common structure: $\text{CH}_3\text{-C-C=C}\dots\text{COOH}$

α -linolenic acid (C18:3n-3):
 $\text{CH}_3\text{-C-C=C-C-C-C=C-C-C-C-C-C-C-C-C-COOH}$



EFFECT OF FISH OIL SUPPLEMENTATION IN DOGS WITH HEART FAILURE (Freeman et al., 1998)

Change	Placebo	Fish oil
Body weight, kg	-0.4	-0.3
Cachexia score, 0-4	+0.5	-0.6
Plasma TNF, ng/ml	0.00	-0.10
Plasma IL-1, ng/ml	+0.18	-0.43

- ADDITIONAL EFFECTS OF DIETARY FISH OIL**
- High intake of omega-3 fatty acids ameliorates endotoxin-induced lactic acidosis in guinea pigs (Pomposelli et al., 1989)
 - EPA decreases protein degradation in tumor-bearing mice (Beck et al., 1991)
 - Omega-3 fatty acids reduce radiation-induced damage to pig skin (Hopewell et al., 1992)
 - Dietary DHA increases the radiosensitivity of mammary tumors in rats (Colas et al., 2004)

SURVIVAL OF DOGS WITH LYMPHOMA AFTER TREATMENT WITH DOXORUBICIN AND EITHER A DIET RICH IN FISH OIL OR SOYBEAN OIL

	Soybean oil n=16	Fish oil n=16
Survival time (median in months)	7.6	10.5

Randomised, double-blind, placebo-controlled trial
Ogilvie et al. (2000)

CORNER STONES OF THE CANCER DIET

- Low carbohydrate
- High fat
- High fish oil
-

AMINO ACIDS IN CANCER TREATMENT

- Arginine
- Glutamine
- Branched chain amino acids (isoleucine, leucine, valine)

CORNER STONES OF THE CANCER DIET

- Low carbohydrate
- High fat
- High fish oil
- High protein

TYPICAL GUARANTEED ANALYSIS PANEL OF A PET FOOD

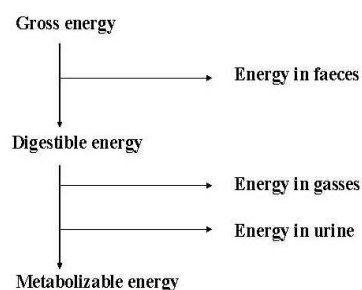
Crude protein	%
Crude fat	%
Crude fiber	%
Ash	%
Moisture	%

Non-structural carbohydrates to be calculated as residual fraction

CALCULATION OF ENERGY DENSITY OF DIETS (kJ OR MJ/g OR 100 g)

- Not on pet food label
- Feed requirement = energy requirement
- Intake nutrients determined by energy density (ad libitum feeding)
- Comparison of diets

PARTITIONING OF DIETARY ENERGY



METABOLIZABLE ENERGY PROVIDED BY MACRONUTRIENTS

- Protein: 17 kJ/g
- Fats: 37 kJ/g
- “Carbohydrates”: 16 kJ/g

TYPICAL DIET COMPOSITIONS

	Dry (Weight %, Product)	Canned
Protein	21	12
Fat	11	3
Fibre	3	1
Ash	6	3
Moisture	10	80
Carbohydrates	49	1

CALCULATION OF DENSITY OF METABOLIZABLE ENERGY

Protein	21 x 17
Fat	11 x 37
Carbohydrates	49 x 16
Food 1548 kJ/100 g product	

ENERGY REQUIREMENTS IN kJ/kg^{0.75}.DAY

- Growth
 - < ½ Adult weight
2 x 580
 - > ½ Adult weight
1½ x 580
- Adult
1 x 580

HOW MUCH TO FEED AN ADULT DOG?

- Body Weight = 30 kg
Metabolic Weight = 12.8 kg
- Energy density feed = 15 kJ/g
- Feed to be supplied
 $(12.8 \times 580) = 495 \text{ g/day}$
15

CALCULATED ENERGY DENSITIES

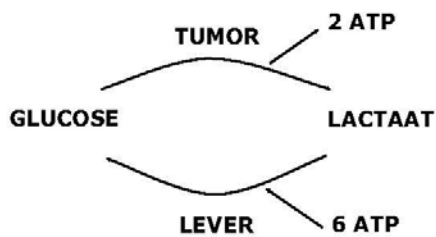
	Dry		Canned	
	kJ	%	kJ	%
Protein	357	23	204	62
Fat	407	26	111	34
Carbohydrates	784	51	16	5
Total, per 100 g product	1548	100	331	100
Total, per 100 g of dry matter	1720	100	1655	100

**COMPARISON OF THE MACRONUTRIENT
COMPOSITION (% of energy) OF THREE
COMPLETE DIETS FOR DOGS**

Macronutrient	Smolke	Pedigree Pal	Rodi
Protein	23	40	30
Fat	24	41	62
Carbohydrates	52	20	9

**Fatty acid composition of 11 dry dog foods,
mg/MJ**

Fatty acid	Mean	SD	Min.	Max.
LA	1491	331	1057	1914
GLA	1	3	0	8
ALA	105	24	68	150
AA	18	15	9	60
EPA	7	8	0	21
DHA	9	11	0	31
n-3	141	32	85	202
n-6	1528	355	1066	2055
n-6:n-3	11.1	2.8	6.7	15.5



COMPOSITION OF HILL'S n/d

	Weight %	Energy %
Protein	11.1	29
Fat	9.7	56
Fibre	0.8	0
Ash	?	0
Moisture	70.7	0
Carbohydrates	5.9	15

**COMPARISON OF THE MACRONUTRIENT
COMPOSITION (% of energy) OF THREE
COMPLETE DIETS FOR DOGS**

Macronutrient	Smolke	Pedigree Pal	Rodi
Protein	23	40	30
Fat	24	41	62
Carbohydrates	52	20	9

**COMPOSITION OF HILL'S PRESCRIPTION
DIET CANINE n/d**

Protein:	29 energy %
Carbohydrates:	15 energy %
Fat:	56 energy %
Omega-3 fatty acids:	12 energy %
(2.13 weight % = 3.3 g/MJ)	

COMPOSITION OF TROVET OHD

	Weight %	Energy %
Protein	22.0	23
Fat	16.0	36
Fibre	4.5	0
Ash	6.4	0
Moisture	8.0	0
Carbohydrates	43.1	41

COMPOSITION OF GREENHEART CANCER DIET

	Weight %	Energy %
Protein	31.0	27
Fat	31.0	58
Fibre	3.0	0
Ash	8.5	0
Moisture	8.5	0
Carbohydrates	18.0	15

COMPARISON OF THE MACRONUTRIENT COMPOSITION (% of energy) OF THREE CANCER DIETS FOR DOGS

Macronutrient	Hill's	Trovet	Green-heart
Protein	29	23	27
Fat	56	36	58
Carbohydrates	15	41	15
Fish oil	?	11	9

METHODS TO ENCOURAGE FOOD CONSUMPTION

- Uniformly warming the food (30-35 °C)
- Palatable aromatic foods
- Habitual diet (with added fish oil)
- Drugs: nandrolone decanoate, cyproheptadine, diazepam, oxaxepam

IF AND WHEN THE PATIENT DOES NOT OR CANNOT EAT

- Enteral feeding
- Parenteral feeding

การประสบความสำเร็จในการบำบัดโรคมะเร็งทางสัตวแพทย์

How to Get Success in Treatment of Canine Cancer

รศ.น.สพ.ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ *

บทคัดย่อ

การพัฒนาองค์ความรู้ทางด้านชีววิทยาของโรคมะเร็งในทางสัตวแพทย์ มีบทบาทที่สำคัญต่อการบำบัดรักษาโรคมะเร็งในสัตว์เลี้ยงและเป็นสิ่งที่ท้าทายสัตวแพทย์เฉพาะทางเป็นอย่างยิ่ง ปัจจัยที่สำคัญในการที่จะประสบผลสำเร็จในการรักษาโรคมะเร็งหรือเนื้องอกหรือมะเร็งในสัตว์เลี้ยงนั้น ประกอบด้วย 1) ทีมสัตวแพทย์ ประกอบด้วย งานอายุรกรรม ศัลยกรรม และพยาธิวิทยา 2) สัตว์ป่วย และ 3) เจ้าของสัตว์เลี้ยง สัตวแพทย์จะต้องเป็นผู้ที่ให้ความรู้ความเข้าใจในเรื่องเป้าหมายของการรักษา และตอบข้อซักถามแก่เจ้าของสัตว์ ได้เป็นอย่างดี คำถามที่สัตวแพทย์มักจะต้องเผชิญหน้ามีดังนี้

1. อะไรเป็นสาเหตุที่ทำให้สัตว์เลี้ยงเป็นมะเร็ง: สาเหตุของการเกิดเนื้องอกแบ่งเป็น ความผิดปกติของสายพันธุ์กรรม ซึ่งเป็นสาเหตุหลัก และสาเหตุโน้มนำ ได้แก่ สารเคมีก่อมะเร็ง การได้รับสารรังสี หรือ ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม ร่วมกับการติดเชื้อไวรัสกลุ่ม Retrovirus หรือไวรัสกลุ่มอื่นๆ

2. การวินิจฉัยโรคมะเร็งโดยการเจาะดูด (Fine needle aspiration) หรือการตัดชิ้นเนื้อ (Biopsy) จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของมะเร็งหรือไม่: วิธีการวินิจฉัยโรคทางพยาธิวิทยา เป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) ขึ้นต้น ในการให้การบำบัดรักษาทั้งทางอายุรกรรมและศัลยกรรมในขั้นต่อไป และไม่พบหลักฐานการแสดงถึงการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังตำแหน่งอื่น ยกเว้นก้อนเนื้อในตำแหน่งที่มีจุดเสี่ยงในการก่อผลแทรกซ้อน เช่น ก้อนเนื้อที่ตับหรือม้าม ที่เสี่ยงต่อการเกิดเลือดออกในช่องท้อง ก้อนเนื้อในลูกตา สมอ หรือโพรงจมูก

3. ในระหว่างที่ให้การรักษาโดยวิธีเคมีบำบัด สัตว์เลี้ยงจะมีอาการ คลื่นไส้ หรืออาเจียนหรือไม่: ปัญหาความผิดปกติของระบบทางเดินอาหารในระหว่างการรักษาที่ได้รับยาต้านมะเร็งทั้งทางเส้นเลือดหรือการกินนั้น นับเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงได้ยาก ซึ่งสัตวแพทย์ควรให้ความสำคัญต่อกลุ่มอาการดังกล่าว โดยเตรียมการให้ยาป้องกัน หรือดูแลอย่างใกล้ชิด

4. ในระหว่างที่ให้การรักษาโดยวิธีเคมีบำบัด สัตว์เลี้ยงจะมีพบการติดเชื้อแทรกซ้อนหรือไม่: พบว่าเซลล์ของไขกระดูกมีความไวสูงต่อความเป็นพิษของยาต้านมะเร็ง ภาวะกดไขกระดูก (Myelosuppression) ซึ่งนำไปสู่ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (Leucopenia) โดยเฉพาะเซลล์นิวโทรฟิล (Neutropenia) ภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (Thrombocytopenia) และภาวะเลือดจาง (Anemia) สัตวแพทย์ควรมีการวางแผนในการเฝ้าระวังและแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้อย่างทันที่

5. สัตว์เลี้ยงจะมีภาวะขนร่วงในระหว่างการรักษาหรือไม่: ปัญหาขนร่วงนับเป็นผลข้างเคียงของการได้รับยาต้านมะเร็ง และมีผลต่อความรู้สึกของเจ้าของสัตว์ แต่พบภาวะขนร่วงน้อย ยกเว้นในบางสายพันธุ์ ที่มีวงรอบการเจริญของขน เช่น พันธุ์พูเดิ้ล แต่ภาวะขนร่วงจะหายได้ ถ้าสุนัขหยุดให้การรักษา

6. ในระหว่างที่ให้การรักษาโดยวิธีเคมีบำบัด สัตว์เลี้ยงควรจะได้รับวัคซีนตามโปรแกรมหรือไม่: ภาวะกดภูมิคุ้มกัน (Immunosuppression) มีความแตกต่างจากภาวะกดไขกระดูก (Myelosuppression) ในระหว่างการรักษาพบว่าภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ (Humoral immunity) ยังมีระดับของแอนติบอดีไคเตอร์ ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุนัขปกติ ในการตอบสนองต่อการติดเชื้อตามธรรมชาติ แต่สัตวแพทย์บางท่าน อาจหลีกเลี่ยงการให้วัคซีนในระหว่างการรักษา เพื่อลดภาวะเครียดต่อระบบการสร้างภูมิคุ้มกัน

7. ในระหว่างที่ให้การรักษาโดยวิธีเคมีบำบัด สัตว์เลี้ยงจะใช้ความเป็นอยู่ร่วมกับสัตว์เลี้ยงหรือสมาชิกในครอบครัว ได้หรือไม่: สัตวแพทย์ ควรให้ความรู้ในเรื่องกลไกการขับออกของยาต้านมะเร็ง โดยผ่านทางน้ำปัสสาวะ หรืออุจจาระ ซึ่งโดยปกติยาจะถูกขับออกภายนอกร่างกาย ใช้ระยะเวลา ประมาณ 72 ชั่วโมง ดังนั้นสมาชิกในบ้านที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยง เช่น สตรีมีครรภ์ เด็กทารก หรือ ผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสสิ่งปนเปื้อนจากสัตว์เลี้ยง

8. เราสามารถเลือกแนวทางการแพทย์ทางเลือกร่วมกับการรักษาได้หรือไม่: ในปัจจุบันแนวทางการรักษา โภชนบำบัด การรักษาแพทย์แผนตะวันออก การรักษาแนวองค์รวม การฝังเข็ม เข้ามามีบทบาทมากขึ้นในการดูแลผู้ป่วยโรคมะเร็งในระยะสุดท้าย สัตวแพทย์ ควรมีการศึกษาข้อมูลอย่างถ่องแท้ในแนวทางดังกล่าว เพื่อที่จะนำมาใช้ร่วมกันได้เป็นอย่างดี

9. สัตว์เลี้ยงของเราจะได้รับการบำบัดรักษาจนหายขาดจากโรคมะเร็งหรือไม่: เป้าหมายของการรักษาโรคมะเร็งอาจจะหายขาด (Cure) ได้ในบางประเภทของมะเร็งเท่านั้น โดยส่วนใหญ่จะเน้นเป้าหมายการรักษา ที่สามารถยืดอายุการมีชีวิตของสัตว์ป่วย (Survival time, Relapsing time, Time to progression and disease-free time) และการปรับปรุงคุณภาพชีวิตของสัตว์ป่วย ร่วมกับการให้กำลังใจแก่เจ้าของสัตว์ป่วย

10. ถ้าสัตว์ป่วยไม่ได้รับการรักษา: สัตวแพทย์ควรมีความรู้ในการพยากรณ์โรคมะเร็ง พร้อมทั้งให้ข้อมูลในด้านวิชาการที่ถูกต้องร่วมกับการให้คำปรึกษาแก่เจ้าของสัตว์ป่วย ในการดูแลสัตว์ป่วยโรคมะเร็ง ซึ่งนับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญในการประสบความสำเร็จในการรักษาสัตว์ป่วยโรคมะเร็งได้เป็นอย่างดี

การตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนัง

Basic In-House Diagnosis of Skin Disease

รศ.น.สพ.ดร. ณรงค์ กิจพานิชย์ *

วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนังก็เหมือนขั้นตอนการตรวจโรคโดยทั่วไปคือประกอบด้วย การตรวจประวัติ การตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังนั้นสัตวแพทย์จึงจำเป็นต้องดำเนินการตามขั้นตอนต่างๆ อย่างละเอียด และระมัดระวังเพื่อจะได้สรุปข้อวินิจฉัยได้ถูกต้อง

วิธีการซักประวัติ ข้อมูลต่างๆ จากเจ้าของสัตว์ และการซักประวัติมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนัง เพราะอาการบางอย่างสัตว์ไม่แสดงให้เห็นปรากฏในขณะที่ทำการตรวจต้องอาศัยการบอกเล่าจากเจ้าของสัตว์ อย่างไรก็ตามสัตวแพทย์จะต้องระมัดระวังอย่างมากที่จะไม่ตั้งคำถาม ที่ทำให้เจ้าของสัตว์ไขว้เขว ในขณะที่ซักสัตวแพทย์จะต้องกลั่นกรองข้อมูลจากเจ้าของสัตว์เสียก่อนที่จะนำไปประกอบการวินิจฉัยโรค เจ้าของสัตว์แทบทุกรายจะเล่าอาการของสัตว์ป่วยแค่เพียงอย่างเดียว โดยละเลยข้อมูลที่จำเป็นบางประการเช่น สภาพแวดล้อมที่เลี้ยงสัตว์ อาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ความถี่ในการอาบน้ำทำความสะอาด และอื่นๆ ซึ่งสัตวแพทย์จะต้องไม่ละเลยที่จะซักถามเพิ่มเติมจากเจ้าของสัตว์

นอกจากนี้ระยะเวลาของการเกิดโรค ตำแหน่ง ลักษณะที่เริ่มเป็น ความรวดเร็วในการขยายตัวของโรค การดูแลรักษาและชนิดยาที่เคยใช้ เป็นข้อมูลจำเป็นที่ช่วยในการตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนังได้มาก

เจ้าของสัตว์บางคนได้พยายามรักษาและใช้ยาด้วยตนเองมาก่อน จะด้วยเหตุใดก็ตามปกปิดไม่บอกให้สัตวแพทย์ทราบ สิ่งนี้เป็นปัญหาอย่างยิ่งในการวินิจฉัยและรักษา เพราะลักษณะอาการของโรคอาจเปลี่ยนแปลงไปแล้วเมื่อมาถึงสัตวแพทย์

อาการคันหรือไม่ และคันมากหรือคันทน้อย เป็นข้อมูลที่จำเป็นมากในการวินิจฉัยโรคผิวหนัง สัตวแพทย์จำเป็นต้องสอบถามจากเจ้าของสัตว์และตรวจสอบด้วยตนเอง โดยตั้งคำถามหลายๆ แบบ เช่น สัตว์คันเป็นแห่งๆ หรือทั้งตัว เกามากไหม บ่อยไหม เช่น ขี้นี้เรื้อนชาคอปติกจะคันมากกว่าขี้นี้เรื้อนดีโมเด็กซ์

โรคผิวหนังอาจเกิดจากการแพ้ ดังนั้น สัตวแพทย์จำเป็นต้องพิจารณาสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย ฝุ่นละออง วัสดุที่ปูให้สัตว์นอน เช่น ฝ้ายขนสัตว์ ฟางอาจทำให้ผิวหนังสัตว์แพ้ โดยเฉพาะพิษจากเห็บ เหา ไร และแมลงรบกวน สัตว์ ทำให้ผิวหนังอักเสบและแพ้ อนึ่ง ลักษณะการติดต่อของโรคระหว่างสัตว์และมนุษย์ แสดงว่าเป็นโรคติดเชื้อ มนุษย์ที่คลุกคลีกับสัตว์อาจพบเป็นโรคผิวหนังบางชนิด เช่น ขี้นี้เรื้อนซาร์คอปติก และโรคผิวหนังเนื่องจากเชื้อรา

การตรวจร่างกายสัตว์ รอยโรคของโรคผิวหนังสามารถมองเห็นได้ชัดเจน หรืออาจใช้แว่นขยายช่วยสำหรับแสงสว่าง นับเป็นส่วนสำคัญในการตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนังและแสงธรรมชาตินับว่าเหมาะสมที่สุด ส่วนแสงสว่างจากไฟฟ้าก็ใช้ได้ แต่ต้องมีกำลังสว่างเพียงพอ

ก่อนลงมือตรวจรอยโรคเฉพาะแห่ง สัตวแพทย์ควรตรวจสภาพทั่วไปของสัตว์ก่อน เช่น สุขภาพทั่วไปของสัตว์ อ้วนหรือผอมเกินไปหรือไม่ สภาพผิวหนังและขนได้รับการดูแลเอาใจใส่เพียงพอหรือไม่ โดยสังเกตดูว่ามีผิวหนังเหี่ยวแห้งเป็นประจํามากน้อยเพียงใด จากนั้นจึงตรวจดูว่ารอยโรคมีลักษณะการกระจายอย่างไร เป็นแบบเฉพาะแห่งหรือกระจายทั่วตัว เป็นทั้งสองซีกของลำตัวคล้ายกันหรือกระจายเป็นแห่งไม่มีรูปแบบ โดยตรวจบริเวณด้านหลังตัว

* โรงพยาบาลสัตว์สวนหลวง

สัตว์ โดยมองจากด้านท้ายของลำตัวต่อมาด้านข้างและด้านท้องของสัตว์หลังจากผ่านการตรวจทั่วไปแล้ว สัตวแพทย์ต้องดำเนินการตรวจรอยโรคอย่างละเอียดต่อไป อาจจำเป็นต้องใช้มือช่วยคลำสัมผัส คุณลักษณะของขนสังเกตว่ามีความนุ่มหยาบเพียงใด ขนเป็นมันหรือแห้ง หลุดติดมือง่ายหรือไม่ คำว่า Alopecia หมายถึงอาการขนร่วงทั้งหมดบริเวณที่เกยมีขนปกคลุม ส่วน Hypotrichosis หมายถึงอาการขนร่วงเพียงบางส่วน ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก พัฒนาการของร่างกายตามปกติ หรือระบบฮอร์โมน หรือเนื้องอก การอักเสบหรืออาการแพ้ Hypertrichosis หมายถึงการมีขนขึ้นมากกว่าปกติ ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนหรือพัฒนาการของร่างกายตามธรรมชาติ

หลังจากนั้นให้ตรวจดูสภาพของผิวหนัง สังเกตความยืดหยุ่นของผิวหนัง ความหนาและแน่นของผิวหนัง สุนัขบางพันธุ์ที่มีลักษณะขนยาว หรือบางส่วนของร่างกายที่ขนยาวอาจตรวจดูรอยโรคที่ผิวหนังได้ยาก ก็อาจต้องตัดขนออก แล้วเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ ก่อนลงมือตรวจ ให้จดบันทึกลักษณะของรอยโรคที่พบโดยละเอียด

มีสิ่งจำเป็นสิ่งหนึ่งในการตรวจลักษณะรอยโรคก็คือ การเปลี่ยนรูปของรอยโรคเช่น กลุ่ม Papules มักมีการขยายไปเป็น Vesicles และ Pustules แล้วแตกหลุดออกไป หรือกลายเป็นแผล Ulcer หรือเป็น Crust รอยโรคที่เกิดแบบเฉียบพลัน มักเกิดเร็วและหายเร็ว ส่วนรอยโรคที่พัฒนาแบบเรื้อรัง มักเหลือร่องรอยบางอย่างที่เป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยโรค เช่น เม็ดสีหรือรอยแผล Hyperplasia หรือ Lichenification

ลักษณะของรอยโรคที่ผิวหนัง สัตวแพทย์จะต้องรู้จักลักษณะของรอยโรคที่เกิดกับผิวหนังแบบต่างๆ เพราะมีความจำเป็นในการช่วยวินิจฉัยโรคในกรณีที่มีข้อมูลจากห้องปฏิบัติการไม่สมบูรณ์พอ นอกจากนี้แยกให้ได้ว่า รอยโรคใดเป็นรอยโรคเริ่มแรก (Primary lesion) และรอยโรคใดเป็นรอยโรคที่มีการเปลี่ยนแปลงไปแล้ว (Secondary lesion)

รูปแบบการกระจายของรอยโรค มีความสำคัญในการช่วยวินิจฉัยโรคอย่างยิ่ง สมมุติเรากำหนดแนวจากปลายจมูกไปจนถึงโคนหาง เราจะแบ่งพื้นที่ร่างกายสัตว์ออกเป็น 2 ด้าน คือ ซ้ายและขวา มีโรคผิวหนังหลายชนิดที่ทำให้เกิดรอยโรคทั้ง 2 ด้าน คล้ายๆ กัน ซึ่งเรียกว่า "Bilaterally symmetric lesion" การเกิดรอยโรคลักษณะนี้มักเกิดจากโรคที่มีสาเหตุมาจากภายในร่างกายสัตว์ จำพวกภูมิแพ้ ขาดธาตุอาหาร Autoimmune diseases และโรคเกี่ยวกับสถานะฮอร์โมนผิดปกติเช่น Hypothyroidism Hyperadrenocorticism และ Sertoli cell tumor ส่วนโรคที่การกระจายตัวของรอยโรคบนผิวหนังไม่แน่นอน เรียกว่า "Asymmetric lesion" นั้นมักเกิดจากสาเหตุภายนอก เช่น ปรสิตภายนอก เชื้อรา ติดเชื้อแบคทีเรีย และผลจากการสัมผัสกับสารก่อการแพ้ เป็นต้น

ตำแหน่งของรอยโรค โรคผิวหนังหลายชนิดมักพบเฉพาะแห่งบนร่างกายสัตว์ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการช่วยวินิจฉัยโรค เช่น Demodicosis มักพบที่แก้มและริมฝีปาก Sarcoptes, Atopy มักพบรอยโรคบริเวณหน้าอกและด้านล่างของลำตัว โรคที่มักพบรอยโรคที่บริเวณรอบดวงตา เช่น Zn deficiency , Autoimmune , Demodicosis , Superficial necrotic dermatitis และโรคบางอย่างพบรอยโรคบริเวณด้านในและช่องหู ส่วนนอกเช่น Atopy และ Autoimmune เป็นต้น

การตรวจในห้องปฏิบัติการ

โรคผิวหนังหลายชนิดทำให้เกิดรอยโรคที่ผิวหนังคล้ายคลึงกัน การตรวจเฉพาะแห่งแต่เพียงอย่างเดียว อาจทำให้วินิจฉัยผิดพลาดได้ จำเป็นต้องใช้การตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผลวินิจฉัย นอกจากนี้โรคที่ตรวจพบอาจมีสาเหตุหลายอย่างร่วมกันก็ได้

การขูดตรวจผิวหนัง (Skin scraping) เครื่องมือที่ใช้ประกอบด้วย ใบมีด กล้องจุลทรรศน์ สไลด์แก้ว กระจกปิดสไลด์ ครีมนำเชื้อ และ Mineral oil ในการตรวจหาปรสิตแต่ละอย่าง ควรใช้เทคนิคเฉพาะจึงจะให้ผลดี

การตรวจหาไรดีโมเดกซ์ เนื่องจากเชื้อ *Demodex canis* อาศัยอยู่ในรูขุมขน ควรใช้นิ้วบีบให้เชื้อทะลักออกมาเสียก่อน หรือใช้ใบมีดขูดผิวหนังก่อนข้างแรงจนเห็นเลือดซึมเรียกว่า Deep skin scraping การหยด Mineral oil 1 หยด ลงบนบริเวณที่ต้องการขูด หรือใช้ใบมีดแตะน้ำมันก่อนลงมือขูดจะช่วยให้สิ่งที่ขูดได้รวมติดที่ใบมีด นำมาแผ่ลงบนสไลด์แก้ว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปส่องตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์ อย่าหยดน้ำมันมากเกินไป 2 หยด และต้องใช้กระจกปิดสไลด์คลุมปิดสิ่งที่ขูดได้ที่ต้องการส่องตรวจทุกครั้ง เพื่อช่วยให้การตรวจหาเชื้อดีขึ้น ผิวหนังบริเวณที่ขูดแล้วควรป้ายด้วยครีมนำเชื้อ เพื่อป้องกันการอักเสบ จีเร็นดีโมเดกซ์สุนัข เกิดจาก *Demodex canis*

การตรวจหาไรสาคอปติก (*Notoedres*, *Otodectes*, *Cheyletiella* และ *Demodex gatoi*) ในแมว ขูดผิวหนัง ตรวจหา ก่อนข้างยาก เพราะอาศัยในโพรงลึกต้องขูดหลาย ๆ ครั้ง และบริเวณที่ควรเลือกขูดคือบริเวณหูและข้อศอก โดยเลือกที่มีตุ่มสีแดงๆ และสะเก็ดสีเหลืองคลุม การตรวจหาไรกลุ่มนี้ไม่ต้องขูดลึก ขูดเพียงผิวๆ เรียกว่า Superficial skin scraping เอาสิ่งที่ขูดได้มาให้มากหน่อยแผ่ลงบนสไลด์แก้วแล้วปิดคลุมด้วยกระจกปิดสไลด์ หรืออาจใช้สไลด์แก้วอีกแผ่นหนึ่งปิด กดทับสะเก็ดแทนกระจกปิดสไลด์ก็ได้ นำไปตรวจหาปรสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ การตรวจพบสิ่งขับถ่ายของไร ซึ่งมีลักษณะกลุ่ม ๆ สีน้ำตาลเข้ม หรือไข่ของไรก็สามารถวินิจฉัยว่าสัตว์เป็นโรค ในรายที่ต้องการผลตรวจอย่างละเอียดให้นำสิ่งที่ขูดได้รวมทั้งหมดไปอุ่นใน 10% KOH 1-2 หยด นาน 20 นาทีเพื่อย่อยส่วนที่เป็น เกลอรติน หลังจากนั้นคนให้เข้ากันนำไปปั่น ตัวไรจะลอยขึ้นมารวมกันที่ผิวหน้านำไปส่องตรวจต่อไป

การตรวจหาไร Feline scabies mites (*Notoedres cati*) วิธีการตรวจหาปฏิบัติเช่นเดียวกับวิธีตรวจหาไรสาคอปติกในสุนัขคือ Superficial skin scraping แต่พบได้ง่ายกว่า ตำแหน่งที่ควรขูดตรวจคือบริเวณใบหูและหู

การตรวจหาไร *Cheyletiella mites* ตัวค่อนข้างโตสามารถเห็นได้ด้วยแว่นขยาย สีขาว เห็นเคลื่อนที่ได้ ไรนี้จะดำรงชีวิตบริเวณผิวๆ ไม่ลึก จึงไม่จำเป็นต้องขูดลึกมากนัก อาจตรวจได้โดยแปรงขนด้วยหวีละเอียดๆ หรือใช้วิธี Acetate tape method ตรวจพบง่ายในสุนัขแต่ในแมวค่อนข้างยาก

การตรวจหา Ear mites มีชื่อว่า *Otodectes cynotis* พบในช่องหูส่วนนอกของสุนัข แมวและผิวหนังส่วนอื่นของร่างกาย โดยเฉพาะที่สะโพกและหาง ตัวไรนี้อาศัยที่บริเวณผิวหนังไม่ลึก การตรวจหาทำเช่นเดียวกับการตรวจหา *Cheyletiella mites* ส่วนในช่องหูให้ทำ Ear swab แล้วนำไปตรวจหาโดยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจหา Malassezia ถ้ารอยโรคมีลักษณะขึ้น ให้ใช้ slide กดทาบบนผิวหนังที่เรียกว่า Impression smear ฟังลมให้แห้งแล้วย้อมด้วย Diff-quick นำไปส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่ถ้ารอยโรคมีลักษณะแห้งให้ใช้สำลีพันปลายไม้จุ่ม 0.9% NaCl ก่อนแล้วนำไปป้ายบริเวณรอยโรค นำมากลิบบน Slide ฟังลมให้แห้งแล้วย้อมสีเช่นเดียวกัน เรียกวิธีนี้ว่า Cotton swab

การตรวจหาปรสิตช่องหูด้านนอก การตรวจหาปรสิตในช่องหูด้านนอก ปฏิบัติโดยใช้ Cotton swab เช็ดในช่องหูเบาๆ แล้วนำมากลิบกกับ Mineral oil ประมาณ 2-3 หยด ที่อยู่บนสไลด์แก้ว แต่ถ้าช่องหูมีน้ำเหลืองหรือหนอง สงสัยว่าอาจมีการติดเชื้อแบคทีเรียหรือจุลชีพอื่น ก็ให้ใช้ Metal loop และสิ่งที่ต้องการตรวจแล้วป้ายลงบนสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง Fixed ด้วยแอลกอฮอล์ แล้วย้อมสีเบื้องต้นด้วย Methylene blue หรือย้อม Diff quick ถ้าตรวจพบแบคทีเรียหรือจุลชีพอื่นใดก็ให้ดำเนินการเพาะเชื้อ ย้อมสี เพื่อแยกชนิดต่อไป

Acetate tape impression เป็นวิธีง่ายๆ สะดวกโดยใช้เทปใส ซึ่งด้านหนึ่งมีกาวเหนียว และกดลงบนผิวหนังหรือบริเวณที่ต้องการจะตรวจ แล้วนำไปติดกับสไลด์แก้ว ส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์หรือแว่นขยาย วิธีนี้เหมาะที่จะใช้กับปรสิตที่เคลื่อนที่เร็ว หรือกระจายชุดรวมยาก เช่นเหา หมัด ไช้หมัด สิ่งจับถ้ำจากปรสิต

การตรวจเชื้อราที่ผิวหนัง เชื้อราหลายชนิดทำให้เกิดโรคที่ผิวหนังสัตว์ ทำให้เกิดขนร่วง คันและมีอาการทั่วไปคล้ายกับโรคผิวหนังจากสาเหตุอื่น ดังนั้นสัตวแพทย์ที่ทำการรักษาโรคผิวหนัง จึงต้องรู้จักขั้นตอนและวิธีการตรวจโรคเชื้อราโดยละเอียด

Wood's light มีประโยชน์ในการตรวจหาเชื้อราบางชนิด Wood's light คือแสงที่เกิดจากการกรองแสงอุลตราไวโอเลตผ่านโคบอลต์ หรือนิกเกิลฟิลเตอร์ (Cobalt or Nickel filter) การตรวจจะต้องทำในห้องมืด และต้อง warm up เครื่องมือก่อนประมาณ 5-10 นาทีเพื่อให้คลื่นและความเข้มของแสงพอเหมาะ ขนที่มีการติดเชื้อ *Microsporum canis* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคเพียงชนิดเดียวที่ให้ผลเรืองแสงสีเหลืองเขียว ทั้งนี้เนื่องจาก Tryptophan metabolites ที่เชื้อสร้างขึ้น สิ่งจับถ้ำนี้เกิดจากเชื้อราที่ทำลายขนที่กำลังเติบโตเท่านั้น แต่การเรืองแสงจะไม่เกิดกับสะเก็ดขี้รังแค หรือแม้แต่เชื้อที่เพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้ออื่นที่ให้ผลตรวจนี้ เช่น *M. distortum*, *M. audouinii* และ *Trichophyton schoenleinii* แต่เชื้อเหล่านี้ไม่มีความสำคัญต่อการเกิดโรค การใช้ยาฆ่าเชื้อพวก ไอโอดีน จะมีผลไม่ทำให้เกิดการเรืองแสงเพราะเชื้อถูกทำลาย ส่วนเชื้อแบคทีเรียพวก *Pseudomonas aeruginosa* และ *Corynebacterium minutissimum* ซึ่งเป็น False positive เรืองแสงแต่สีที่เกิดไม่เหมือนกัน อย่างไรก็ตาม เควราดิน สปอร์ ปิโตรเลียม และยาบางชนิด จะให้ผลเรืองแสง และมักทำให้มีปัญหา ให้ผลเป็นบวกทั้งๆ ที่มิได้เป็นโรคเชื้อรา

การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งเพาะจำแนกเชื้อรา เนื่องจากเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์มีหลายชนิด ทำให้เกิดอาการโรคคล้ายคลึงกัน การเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปเพาะและจำแนกชนิดของเชื้อรา จะช่วยให้การวินิจฉัยโรคผิวหนังได้ผลดี

วิธีเก็บตัวอย่างที่จะนำไปเพาะหาเชื้อรานั้น ปฏิบัติโดยใช้ forceps ที่สะอาดเลือกเก็บจับขนที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อหรือตรวจพบว่าเรืองแสงกับ Wood's light อาจใช้แปรงสีฟันที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ค่อยๆแปรงรวมขนและนำไปเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อรา นอกจากนี้การตรวจหาเชื้อราอาจทำได้โดยนำขนที่ติดแปรงที่ใช้กับสุนัขนั้นมาเพาะหาเชื้อก็ได้

สำหรับการตรวจหาเชื้อราจากผิวหนังนั้น ถ้าสังเกตว่าผิวหนังไม่ค่อยจะสะอาดเท่าใดนัก ควรทำความสะอาดบริเวณผิวหนังเสียก่อน โดยใช้ผ้ากอสชุบแอลกอฮอล์ 70 % จะทำความสะอาดผิวหนังเบาๆ แต่ถ้าผิวหนังดูสะอาดพอควร ก็ใช้ใบมีดขูดนำไปตรวจโดยตรงหรือส่งเพาะจำแนกเชื้อต่อไป

การสลายย่อยเคราติน เพื่อตรวจเชื้อรา เป็นวิธีที่ต้องระมัดระวังและปฏิบัติต้องมีความชำนาญ เพราะใช้สารที่กัดระคายเคืองผิวหนัง สัตวแพทย์บางคนไม่นิยมปฏิบัติ จุดประสงค์ก็เพื่อย่อยสลาย เคราติน ก่อนตรวจหา โดยกล้องจุลทรรศน์ ทำโดยนำสิ่งที่ต้องการตรวจหาไปรวมลงบนสไลด์แก้วแล้วหยด 20% KOH 4-5 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นำไปอุ่นนานประมาณ 15-20 นาที หรืออาจปล่อยทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 30 นาที บางคนอาจเติม Indian ink ลงใน 20% KOH ในอัตรา 1 : 2 เพื่อช่วยให้ Hyphae ติดสีชัดเจน

สัตวแพทย์บางคนใช้ Chloral hydrate 20 กรัม เติมลงใน Liquid phenol 25 มล. และ Acetic acid 25 มล. แทนการใช้ KOH สารผสมที่เตรียมขึ้นนี้ก่อนที่จะนำไปใช้ต้องปล่อยทิ้งไว้ให้ Chloral hydrate ละลายเป็นของเหลว

จนหมดเสียก่อน ซึ่งอาจกินเวลาหลายวัน จึงนำไปใช้ได้ แม้มีข้อดีตรงที่ว่าการย่อยสลายเกิดได้เร็ว กล่าวคือ หลังจากเติมสารผสมลงไป สิ่งที่ต้องการจะย่อย ก็นำไปตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์ได้แทบจะทันที

Dermatophyte test medium (DTM) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาปฏิชีวนะ และ Phenol red ซึ่งเป็นตัวชี้วัดความเป็นกรด-ด่าง เป็นส่วนประกอบสำคัญ โดยเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคจะย่อยสลายโปรตีนทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดงเนื่องจาก pH เปลี่ยนไปเป็นด่างซึ่งปรากฏการณ์นี้อาจพบได้ใน 3-7 วันหรืออาจนานถึง 14 วัน ส่วนเชื้อราที่ไม่ทำให้เกิดโรคจะย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตก่อนจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงช้ากว่า และมักนานเกิน 14 วันมีข้อต้องปฏิบัติคือ เนื่องจากเชื้อราต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นภาชนะที่บรรจุอาหารเพาะเชื้อราต้องไม่ปิดทึบมีช่องให้อากาศเข้าได้บ้าง

การตรวจโรคแบคทีเรียที่ผิวหนัง ในทางปฏิบัติ ถ้าสัตวแพทย์ต้องการตรวจวินิจฉัยโรคเกี่ยวกับแบคทีเรีย จะต้องเก็บตัวอย่างส่งเพาะจำแนกในห้องปฏิบัติการ ซึ่งดำเนินการโดยนักจุลชีววิทยาที่ชำนาญงาน อย่างไรก็ตาม สัตวแพทย์อาจจะทำ Direct smear และย้อมสี เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นว่าแบคทีเรียชนิดสีแกรมบวกหรือแกรมลบ ลักษณะรูปร่างเป็นแบบกลม รี เกียว หรือทดสอบคุณสมบัติของเชื้อเบื้องต้นที่พอจะทำได้ โดยใช้เวลาไม่มากนัก และวิธีการที่ไม่ซับซ้อน ก็จะเป็นประโยชน์ในการรักษาได้มาก

การเก็บตัวอย่างสำหรับเพาะจำแนกเชื้อแบคทีเรีย ต้องปฏิบัติด้วยความระมัดระวังเป็นอย่างมาก เพราะโอกาสเกิดปลอมปน จากเชื้ออื่น ในขณะที่เก็บตัวอย่างเกิดได้ง่าย วิธีการเก็บตัวอย่างให้ปฏิบัติโดยทำความสะอาดผิวหนังให้สะอาด แล้วใช้เข็มที่สะอาดปราศจากเชื้อเจาะให้ของเหลวที่อยู่ภายในทะลักออกมา แล้วจึงใช้ Cotton swab ที่ปราศจากเชื้อป้ายเช็ด เก็บในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว หรือในหลอดที่ปราศจากเชื้อ นำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็ว เพื่อเพาะจำแนกเชื้อต่อไป หรืออาจใช้วิธีการ Biopsy บริเวณที่มีรอยโรคเก็บในหลอดที่ปราศจากเชื้อนำส่งห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกันได้

สัตวแพทย์ผู้ทำการตรวจวินิจฉัยโรคผิวหนัง ควรมีอุปกรณ์เบื้องต้น ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย เช่น Diff Quick หรือ Methylene Blue ซึ่งใช้เวลาสั้นๆ ในการย้อมสี จะช่วยให้ทราบว่ารอยโรคนั้นเกิดจากการติดเชื้อหรือไม่ เพราะอาจไม่เกิดจากการติดเชื้อก็ได้ ถ้าติดเชื้อเป็นเชื้ออะไร แบคทีเรีย รา โปรโตซัว หรือถ้าเป็นแบคทีเรียจะมีรูปร่างแบบไหน ชนิดกลมแท่ง รี ติดสีอะไร ควรอยู่ในกลุ่มใด ซึ่งพอจะเป็นประโยชน์ในการรักษาโรค หรือถ้าสามารถทำทดสอบความไวของยาต่อเชื้อได้ก็ยิ่งเป็นการดี

การตัดชิ้นรอยโรคส่งตรวจ ปกติเราไม่ค่อยทำ Skin biopsy บ่อยนัก โดยทั่วไปจะกระทำเมื่อพบว่ารอยโรคที่พบสงสัยว่าจะเป็นมะเร็งหรือเนื้องอก หรือแผล Ulcer ที่มีปัญหาการรักษาหายยาก หรือรอยโรคที่ไม่ค่อยพบเห็นและรุนแรง หรือรอยโรคที่สงสัยว่าเป็นโรคที่จะต้องใช้เวลาแพงๆ และระยะเวลารักษานานมาก ถ้าพิจารณาแล้วว่าจะต้องทำ Skin biopsys ควรทำใน 3 สัปดาห์ หลังจากพบว่าการรักษาไม่เกิดผล

การตัดเก็บตัวอย่างอาจเก็บโดยใช้ Biopsy punch หรืออาจใช้มีดตัดเก็บเนื้อเยื่อก็ได้ ถ้าต้องการเก็บรอยโรคชิ้นใหญ่ อาจต้องให้คนช่วยจับหรือผูกบังคับสัตว์ให้ดี หรืออาจใช้ยาชาเฉพาะแห่ง หรือยาทำให้สัตว์ซึมเสริมก็จะช่วยให้การปฏิบัติงานสะดวกขึ้น หรืออาจต้องใช้ยาสลบถ้าจำเป็น บริเวณที่จะทำ Biopsy อาจต้องตัดขนออกให้สะอาด และใช้ 70% แอลกอฮอล์เช็ดทำความสะอาด ห้ามใช้ยาฆ่าเชื้อโรคชนิดอื่น เพราะอาจทำให้พยาธิสภาพบางอย่างหายไป หรือรอยโรคที่แท้จริงของโรคเปลี่ยนไป

Fine needle aspiration เพื่อตรวจวินิจฉัยเซลล์ของเนื้องอกแบบต่างๆ โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 21 หรือ 22 เจาะดูดเซลล์จากก้อนเนื้องอกแล้วนำมาแผ่นกระจกสไลด์สีให้แห้งแล้วย้อมสี Diff-quick นำไปส่องกล้องเพื่อวินิจฉัยต่อไป

การตรวจอื่นๆ นอกจากการตรวจวินิจฉัยที่สัตวแพทย์สามารถปฏิบัติเองในคลินิกดังกล่าวมาแล้ว สัตวแพทย์อาจต้องการข้อมูลอื่นอีกเพื่อสรุปข้อวินิจฉัย แต่เนื่องจากในขบวนการปฏิบัติต้องใช้เครื่องมือราคาแพง หรือต้องใช้ผู้ชำนาญการเฉพาะทาง จึงอาจต้องอาศัยห้องปฏิบัติการที่มีขีดความสามารถในการให้บริการ เช่น การตรวจระดับฮอร์โมน การทดสอบโรคภูมิแพ้ การตรวจทาง Serology ต่างๆ เช่น Antinuclear antibody testing และ L.E. cell test เป็นต้น

How to Manage Epileptic Patients in Small Animal Practice

สพ.ญ. อุไรวรรณ แสงเขียว *

1. Introduction

A **seizure** is a transient paroxysmal episode of excessive and/or synchronous neuronal activity within the cerebral cortex resulting in a varied clinical manifestation.

Causes of seizures

1. Primary (Idiopathic) epileptic seizure (PES)

A syndrome that is only epilepsy, without an identifiable underlying structural brain lesion or other neurologic signs. Presumed to be genetic / familial in origin and usually age – dependent. Idiopathic epilepsy is usually associated with generalized motor seizure.

2. Symptomatic (secondary) epileptic seizure (SES)

Results from a structural brain disorder such as neoplasia, malformation and inflammation.

3. Reactive epileptic seizure (RES)

Seizures caused by extracranial disorders that affect a normal brain (metabolic disorder) such as hypoglycemia, intoxications ; not considered to be epilepsy.

4. Probably symptomatic epilepsy

Refers to epilepsy that likely has a structural cause, but no etiology can be determined (e.g. cortical dysplasia).

Status epilepticus has been defined as a seizure lasting 20 minutes, or two or more discrete seizures without full recovery of consciousness between seizures.

Classification of seizures

1. Generalized seizure

2. Partial seizure

Simple partial seizures (consciousness preserved)

Complex partial seizure (consciousness impaired)

- Simple or complex partial seizures evolving into secondary generalized seizures (may be so rapid that simple partial onset is not observed).

Consequences of seizure activity

1. Central and obstructive apnea, cardiac arrhythmias, autonomic and hormonal changes. These may underlie sudden unexpected death in epilepsy.

* โรงพยาบาลสัตว์เจริญสุข

2. Neuronal damage through prolonged excitation, a cascade effect mediated by calcium entry into the cells and change in protein synthesis. This may contribute to the progression of certain epilepsy syndromes, and the occurrence of secondary foci. It may also contribute to progressive neurological deficits.

3. Synaptic reorganization. This may have similar consequences to neuronal damage.

2. Diagnosis Approach to Seizures

Minimum data base

- patient's signalment
- physical examination
- neurological examination
- CBC
- chemistry profile

Ancillary diagnostic test

- CSF analysis
- CT scan
- EEG
- MRI

3. General Recommendations for Initiating Therapy Include ;

1. a single seizure occurring more than once every 4-6 weeks,
2. cluster seizure activity (i.e. greater than one seizure within 24 h) or,
3. status epilepticus regardless of frequency.

4. Principles of Drug Treatment in Epilepsy

1. Develop a short and long-term plan before starting or changing an antiepileptic drug regimen.

Indications and risks should be weighed up.

2. Monotherapy should be used if possible.
3. Start with low dose.
4. Increase the dosage until seizures are controlled or side effects are experienced.
5. Monitor serum levels.
6. Beware of interactions with all prescribed and non-prescribed drugs.
7. Beware the risk of seizure relapse or deterioration due to stopping or changing drugs.

8. If seizures are controlled and the patient is free from side effects, dosages should remain unchanged regardless of the dose or serum drug level.

4.1 Antiepileptic Drugs (AEDs)

In general AEDs, act through enhancement of inhibitory processes via GABA, reduction of excitatory transmission and/or control of membrane cation conductance such as sodium and calcium.

4.2 Common antiepileptic drugs

- | | |
|-----------------|---------------------|
| - Phenobarbital | - Potassium bromide |
| - Gabapentin | - Diazepam |
| - Valproic acid | - Topiramate |
| - Felbamate | - Clorazepate |
| - Zonisamide | - Levetiracetam |

1. Phenobarbital (PB)

- Dog : 2-6 mg/kg PO bid
- Cat : 1-2 mg/kg PO bid (usually 3.25-7.5 mg/cat)
- Maximum concentrations are observed 4-8 hours after oral administration.
- Therapeutic levels of 20-40 μ g/ml have been suggested to maximize seizure control while minimizing side effects.
- Serum phenobarbital levels should be assessed at 2 weeks after beginning therapy to determine whether the actual serum concentration of phenobarbital has been obtained.
- Routine serum PB level, CBC and serum chemistries should be measured every 6 months.
- Side effects : PU/PD, ataxia, sedation, polyphagia, hepatotoxicity.

2. Potassium bromide (KBr)

- Dose : 20-40 mg/kg PO sid mixed with food.
- Polytherapy with PB.
- PB is failure to control seizure.
- Side effects : vomiting, anorexia, sedation, incoordination.

3. Gabapentin

- Dose : 100-300 mg/dog PO q8h or 8-20 mg/kg PO q8h
- Useful in the management of neuropathic pain and Chiari-like malformation of Cavalier spaniels.
- Side effects: sedation and GI upset.

4.3 At home treatment

- Diazepam : Enema
- small dog and cat : 5 mg
 - medium : 5-10 mg
 - large : 10-20 mg

Therapeutic monitoring is indicated in several situations:

- When steady-state blood levels are reached after starting treatment, changing dose, or immediately after a loading dose. This provides a baseline to guide further changes in dose according to clinical circumstances.
- When seizures are not controlled, despite an apparently adequate dose. This helps to determine the need for dose adjustment before the drug is changed or a second drug is added.
- When signs of dose-related toxicity occur.
- Every 6 to 12 months to verify that changes in pharmacokinetics have not caused blood concentrations to drift out of the intended range.

5. References

1. O. Charles Cockerell and Simon D. Shorvon (1996). Epilepsy Current Concepts. Current Medical Literature Ltd., London, pp 55.
2. Hans O Lüders (2001). Epilepsy Comprehensive Review & Case Discussions. Martin Dunitz Ltd., London, pp 19.
3. Rodney S. Bagley (2005). Fundamentals of Veterinary Clinical Neurology. Blackwell Publishing, USA, pp 439-440, 443-444.
4. William B. Thomas (2000). The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice, Common Neurologic Problems. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp 194.
5. Susan M. Cochrane. Update on Seizures in the Dog and Cat. Veterinary Emergency Clinic and Referral Centre, Canada.
6. Christopher L. Mariani. Pathophysiology of Seizures. Department of Neuroscience, College of Medicine. University of Florida.

Pain Management

น.สพ. วรรณสิทธิ์ จันทรวงศ์ *

1. คำนำ

Pain หรือ ความเจ็บปวด หมายถึง "an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage or described in terms of such damage" ซึ่งสามารถแปลได้ว่า ความรู้สึกหรือประสบการณ์ทางอารมณ์ซึ่งเป็นผลเกี่ยวเนื่องกับความเสียหายของเนื้อเยื่อหรือเนื้อเยื่อที่มีโอกาสเสียหาย หรือความรู้สึกหรือประสบการณ์ทางอารมณ์ที่อธิบายได้ว่าเป็นความเสียหาย นี่คือนิยามของ International Association for the Study of Pain (IASP) แต่ในทางสัตวแพทย์แล้วนั้น สัตวแพทย์ทำการวินิจฉัยและรักษาแค่เพียงความรู้สึกซึ่งเป็นผลเกี่ยวเนื่องกับความเสียหายของเนื้อเยื่อหรือเนื้อเยื่อที่มีโอกาสเสียหายเท่านั้น ในอดีต การลดความเจ็บปวดถูกมองข้ามไปโดยสัตวแพทย์ไทยเนื่องด้วยสัตวแพทย์ในอดีตเชื่อว่า การลดความเจ็บปวดในสัตว์ที่ได้รับการผ่าตัดนั้น ถึงแม้จะทำให้สัตว์สามารถลุกเดินได้อย่างสบายตัว แต่ก็เพิ่มโอกาสเสี่ยงที่จะทำให้แผลผ่าตัดแตกและทำการใส่ implant เพื่อยึดตรึงกระดูกนั้นหลุดออก แต่ในปัจจุบันนี้มีการศึกษาที่ยืนยันว่า การไม่ให้ยาระงับปวดให้ผลเสียมากกว่าให้ผลดี เช่น การไม่เคลื่อนไหวทำให้การหายของกระดูกหักช้าลงและลดการทำงานของปอด นอกจากนี้ยังมีผลกระตุ้น Sympathetic nervous system และ stress hormone ออกมาทำให้เป็นผลโดยรวมคือ สัตว์มีความเจ็บปวดและการหายของแผลช้าลง เป็นต้น

2. สรีระวิทยาของความเจ็บปวด

ก่อนที่จะเราสามารถเลือกวิธีในการระงับความเจ็บปวดได้นั้น เราต้องทำความเข้าใจกับการเกิดความรู้สึกเจ็บปวดเสียก่อน ซึ่งการเกิดความรู้สึกเจ็บปวดนั้นจะประกอบด้วยขั้นตอนทั้งหมด 3 ขั้นตอนได้แก่

1. Transduction คือขั้นตอนการกระตุ้นที่ peripheral nociceptor หรือ receptor สำหรับรับความเจ็บปวดส่วนปลายประสาท โดยมีการเปลี่ยนแปลงแรงที่กระทำต่อ nociceptor (noxious stimuli) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า การกระตุ้นที่ nociceptor สามารถเกิดได้จากแรงกด (mechanosensitive) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (thermosensitive) และการกระตุ้นด้วยสารเคมี (chemosensitive) เช่น inflammatory mediator (nitric oxide, prostaglandin E2, interleukin-1 และ tumor necrosis factor) เป็นต้น การกระตุ้นที่ peripheral nociceptor ในลักษณะนี้เรียกว่า peripheral sensitization

2. Transmission คือขั้นตอนการนำกระแสประสาทหรือ action potential ผ่านไปตามเส้นใยประสาทเพื่อที่จะเข้าสู่ไขสันหลัง nociceptor ต่ออยู่กับปลายประสาท (axon) ชนิด A-delta ซึ่งเป็นใยประสาทที่มี myelin sheath หุ้มอยู่ และ C ซึ่งไม่มี myelin sheath หุ้ม ปลายประสาทชนิด A-deltaจะนำกระแสประสาทได้อย่างรวดเร็วชนิด C ความรู้สึกที่ได้รับจะเป็นแบบเจ็บแปลบ หรือ first pain สำหรับ ปลายประสาทชนิด C จะนำความรู้สึกแบบ เจ็บแบบตื้อๆ หรือ second pain

3. Modulation คือขั้นตอนการนำกระแสประสาทผ่านเซลล์ประสาท ใน dorsal root ganglia ส่งต่อไปยัง gray matter ของ spinal cord เส้นประสาทในส่วนนี้เรียกว่า “first order neuron” และมี synapse เชื่อมต่อกับเส้นประสาทอีกเส้นหนึ่งเรียกว่า “second order neuron” ซึ่งจะส่งสัญญาณผ่าน ascending tract ต่างๆ ได้แก่ spinothalamic tract,

* โรงพยาบาลสัตว์ เอแคร์

spinomesencephalic tract และ spinocervical tract ไปยัง supraspinal center ต่างๆ ในส่วนที่มีการ synapse กันของ first order neuron และ second order neuron อาจจะมีการเชื่อมต่อของ neuron ตัวอื่นภายใน spinal cord ด้วย และ neuron เหล่านี้สื่อสารกันด้วยการหลั่ง neurotransmitter ที่สามารถจะขยายสัญญาณ เช่น glutamate, aspartate และ substance P เป็นต้น หรือลดสัญญาณก็ได้ ในกรณีที่มีการลดสัญญาณและส่งผลความเจ็บปวดลงจะเป็นการกระตุ้นผ่าน descending inhibitory pathway ต่างๆ ส่งผลให้มีการทำงานของ opioid, serotonergic และ noradrenergic system

ในกรณีที่มีการได้รับการกระตุ้นอย่างต่อเนื่องทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ neuron ใน dorsal horn โดยมีการเพิ่มขึ้นของ neural อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่มีการกระตุ้น และมีผลลด threshold ต่อการกระตุ้นครั้งต่อไปและเพิ่มพื้นที่รับความรู้สึกเจ็บของเส้นประสาทใกล้เคียงที่ไม่ได้รับการกระตุ้นนั้น ลักษณะนี้เรียกว่า central sensitization หรือ wind-up

การรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวดหรือ perception เกิดขึ้นในสมอง ส่วนนี้จะมีเซลล์ประสาทเรียกว่า “third order neuron” นำสัญญาณประสาทจาก tract ต่างๆ ส่วนต่างๆ ของสมอง เช่น medulla, pons, midbrain, thalamus, hypothalamus และ cerebral cortex ซึ่งเป็นจุดที่มีการแปลสัญญาณไฟฟ้าทำให้เกิดการรับรู้ความเจ็บปวดขึ้น

3. กลยุทธ์สำหรับการลดความเจ็บปวด

เนื่องจากกลไกรับรู้ความเจ็บปวดเป็นกลไกที่มีความซับซ้อนมากและเกี่ยวเนื่องกับการกระตุ้นหลาย pathway ในสัตว์ป่วยเพียงตัวเดียว ดังนั้น ไม่มียาตัวใดตัวหนึ่งที่ขนาดยานั้นจะสามารถระงับปวดได้ในสัตว์ทุกตัว ดังนั้นเมื่อให้ยาแก้ปวดสัตวแพทย์จำเป็นต้องยาให้เหมาะสม ซึ่งอาจจะใช้มากกว่า 2 ตัวร่วมกัน และบริหารยาในขนาดที่เหมาะสม กลยุทธ์ที่สากลที่ยอมรับมี 2 อย่างคือ

1. Preemptive analgesia หมายถึง การให้ยาระงับปวดหรือใช้เทคนิคต่างๆ เพื่อลดความเจ็บปวดก่อน ระหว่าง และหลังการทำให้เนื้อเยื่อเสียหายและเกิดอาการเจ็บปวด เทคนิคนี้จะลดความรุนแรงและระยะเวลาที่จะรู้สึกเจ็บปวด หลังการผ่าตัด และลดการเกิดปัญหาปวดเรื้อรัง (รูป 2) ดังนั้นในการวางยาสลบเพื่อการผ่าตัดครั้งหนึ่ง สัตวแพทย์ควรที่จะเลือกยานำสลบ (premedicate agent) และ/หรือยากลุ่มชักนำการสลบ (induction agent) ที่มีฤทธิ์ลดปวด เช่น alpha-2 agonist, opioid เป็นต้น ร่วมกับการใช้เทคนิคการให้ยาเฉพาะที่ หรือการให้ยาในกลุ่ม non-steroidal anti-inflammatory drug ให้ก่อนการผ่าตัด หรือระหว่างผ่าตัดอาจมีการให้ยากลุ่ม opioid เพื่อลดความเจ็บปวดก็ได้ หรือให้ยากลุ่ม opioid หลังผ่าตัดด้วยเทคนิค continuous rate infusion (CRI) เป็นต้น หลักการนี้ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายในปัจจุบันเนื่องจากสัตว์ป่วยฟื้นตัวได้เร็วกว่าโดยเฉพาะสัตว์ที่เข้ามาเพื่อ elective surgery และถ้าให้ยาแก้ปวดหลังจากที่มีความเจ็บปวดเกิดขึ้นแล้วจะต้องใช้ปริมาณยามากกว่าการให้ยาแก้ปวดก่อนเกิดความเจ็บปวดด้วย

2. Multimodal analgesia หรือ balanced analgesia หมายถึงการให้ยามากกว่าหรือเท่ากับ 2 กลุ่มหรือใช้เทคนิคระงับปวดพร้อมๆ กันโดยยาออกฤทธิ์บนตำแหน่งต่างๆ กันของ pain pathway (รูป 3) เหตุผลของกลยุทธ์นี้คือการให้ยาในกลุ่มต่างๆ กันเพื่อให้เกิดการเสริมฤทธิ์กันในลักษณะของ additive ($1+1=2$) หรือ synergistic ($1+1=3$) ดังนั้นสัตวแพทย์สามารถใช้ขนาดยาที่น้อยลงได้ ส่งผลให้สามารถลดผลข้างเคียงของยาแต่ละตัวได้ เช่น การตัดนิ้วตึง สัตวแพทย์ใช้ NSAID ในการยับยั้ง transduction ร่วมกับการให้ยาเฉพาะที่เพื่อยับยั้ง transmission ในขั้นตอน modulation ใช้ opioid ร่วมกับ alpha-2 agonist เป็นต้น หลักการของ multi-modal analgesia สามารถนำมาใช้ในการรักษาทั้งการเจ็บปวดเฉียบพลัน (acute pain) และเรื้อรัง (chronic pain) ได้

ผลที่ได้จากการใช้ทั้ง 2 กลยุทธ์นี้คือ

1. ป้องกันการเกิด peripheral และ central sensitization
2. ป้องกัน tachyphylaxis หมายถึง ป้องกันไม่ให้เกิดลดการตอบสนองของยาอย่างรวดเร็วหลังจากมีการเริ่มให้ยา
3. กด neuroendocrine stress response ซึ่งเป็นผลต่อเนื่องจากความเจ็บปวดและการเสียหายของเนื้อเยื่อ
4. ลดระยะเวลาการฟื้นตัวเนื่องจากการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ดีขึ้น (ลด catabolic process) และทำให้สัตว์สามารถเคลื่อนไหวได้คล่องหลังผ่าตัด

4. การใช้เทคนิค preemptive analgesia และ balanced analgesia อย่างมีประสิทธิภาพในประเทศไทย

ระดับความเจ็บปวดที่สัตว์จะได้รับจากหัตถการหรือการผ่าตัดชนิดต่างๆไม่เท่ากัน ดังนั้นสัตวแพทย์ต้องเลือกชนิดยาและเทคนิคให้เหมาะสม เช่น ความเจ็บปวดจากการเย็บแผลน้อยกว่าความเจ็บปวดจากการผ่าตัดแก้ไขกระดูกหัก เป็นต้น สัตวแพทย์ต้องเลือกให้ยานาตาลและ/หรือยาชักนำการสลบที่มีฤทธิ์แก้ปวดและ/หรือ NSAID และ/หรือเทคนิคการใช้ยาเฉพาะที่มา และ/หรือใช้ analgesic adjuvant (การให้ยาแก้ปวดร่วมระหว่างการผ่าตัด)ร่วมอยู่ในแผนการบริหารยาด้วย โดยขึ้นอยู่กับความรุนแรงของความเจ็บปวด โรคประจำตัวสัตว์ และระดับความเสี่ยง ASA

ยาที่นิยมใช้ในวิสัญญีทางสัตวแพทย์ในประเทศไทย ได้แก่

1. ยาระงับปวดที่มีใช้ตามคลินิกและโรงพยาบาลสัตว์อย่างแพร่หลายคือ NSAID ในรูปแบบฉีด เช่น caprofen, flunixin meglumine, tolafenamic acid เป็นต้น ดังนั้น สัตวแพทย์สามารถให้ยากลุ่ม NSAID ก่อนการผ่าตัดประมาณ 30 นาทีก่อนผ่าตัดได้เพื่อยับยั้ง transduction และยังมีหลักฐานเพิ่มเติมว่า NSAID ยังมีผลต่อขั้นตอน modulation อีกด้วย แต่การให้ยากลุ่ม NSAID นั้นจะต้องไม่มีข้อห้าม เช่น ไม่มีปัญหา renal insufficiency การสูงขึ้นของเอนไซม์ตับ แผลในทางเดินอาหาร และปัญหาการแข็งตัวของเลือด เป็นต้น
2. ยาในกลุ่ม alpha-2 agonist เช่น xylazine ที่มีฤทธิ์แก้ปวด สามารถใช้เดี่ยวๆสำหรับเป็นยานาตาลได้ หรือยากลุ่มนี้สามารถใช้ร่วมกับ opioid เช่น morphine ได้ในกรณีผ่าตัดที่มีความเจ็บปวดรุนแรงมาก เช่น xylazine 0.5-1 mg/kg + morphine 0.5 mg/kg IM การใช้ยาร่วมกันนี้ให้ระวังและเตรียมแก้ไข bradycardia ซึ่งอาจเกิดได้ จากประสบการณ์ผู้เขียน สัตวแพทย์สามารถให้ xylazine 0.25 mg/kg IV ระหว่างผ่าตัดทุก 30 นาทีเพื่อลดความต้องการของยาตามสลบเป็นลักษณะของ analgesic adjuvant
3. ยาในกลุ่ม benzodiazepine เช่น diazepam, zolazepam และ midazolam ยาที่นิยมใช้มากที่สุดอีกตัวหนึ่งในกลุ่มนี้ ได้แก่ Zoletil® (zolazepam + tiletamine) ยากลุ่มนี้ไม่มีผลในการระงับปวด มีผลในการลด perception เท่านั้น จึงสมควรใช้ร่วมกับยาตัวอื่นที่มีฤทธิ์แก้ปวด เช่น dissociative agent (ketamine) หรือ opioid (fentanyl) การใช้กลุ่ม benzodiazepine ร่วมกับ opioid สำหรับนำสลบเช่น midazolam 0.4-0.5 mg/kg morphine 0.2-0.5 mg/kg IM แล้วตามด้วยยาชักนำการสลบ การใช้ benzodiazepine ร่วมกับ opioid หรือ dissociative agent เพื่อชักนำการสลบจะไม่กล่าวถึงในเอกสารฉบับนี้
4. ยาในกลุ่ม phenothiazine ได้แก่ acepromazine ไม่มีผลในการระงับปวด มีผลในการลด perception เท่านั้น จึงสมควรใช้ร่วมกับยาตัวอื่นที่มีฤทธิ์แก้ปวด เช่น opioid (morphine) ตัวอย่างการใช้ยาร่วมกัน ได้แก่ acepromazine

0.03-0.05 mg/kg รวมกับ morphine 0.2-0.5 mg/kg IM สามารถรวมกันได้ ใน syringe เดียวกัน 20-30 นาที ก่อนชักนำการสลบ

5. ยากลุ่ม local anesthetic เช่น lidocaine และ bupivacaine เทคนิคที่สัตวแพทย์คุ้นเคยคือใช้ยากลุ่มนี้สำหรับการทำ local anesthesia และ regional anesthesia เช่น brachial plexus nerve block และ epidural anesthesia ก่อนลงมือผ่าตัด

- ในขณะที่ผ่าตัด สัตวแพทย์สามารถใช้เทคนิค intra-articular analgesia สำหรับการผ่าตัดข้อเข่า เช่น cruciate ligament rupture โดยฉีด lidocaine 2% และ bupivacaine 0.5% ผสมกับ NSS ให้เป็น 1 ml/ 4.5 kg เข้าข้อ หลังจากเย็บปิด joint capsule ก่อนเย็บผิวหนังปิด

- ในสุนัข lidocaine ยังสามารถให้ในลักษณะของ CRI ระหว่างผ่าตัดเพื่อปริมาณยาผสมสลบที่ต้องการได้อีกด้วย โดยเริ่มให้ด้วย lidocaine 1-4 mg/kg IV แล้วตามด้วย 1-3 mg/kg/hr IV 10-50 µg/kg/minute

6. ยากลุ่ม dissociative agent คือ ketamine เป็น non-competitive antagonist ซึ่งทำให้เกิดยับยั้งการเกิด sensitization ในส่วนของไขสันหลัง และยังมีฤทธิ์กระตุ้น opioid receptor และกระตุ้น inhibitory system ได้แก่ noradrenergic และ serotonic neuron อีกด้วย ดังนั้นยังสามารถใช้เป็น analgesic adjuvant ได้ด้วย ในสุนัขโดยให้ใช้ 0.5 mg/kg IV และตามด้วย 10 µg/kg/minute ระหว่างผ่าตัด หลังผ่าตัดใช้ 2 µg/kg/minute

7. ยากลุ่ม opioid ที่มีใช้ในประเทศคือ morphine และ fentanyl การใช้ประโยชน์จากยากลุ่มนี้ได้แก่

- ใช้ร่วมกับยากลุ่มอื่นหรือเดี่ยวๆเพื่อเป็นยานำสลบดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

- ในสุนัข Epidural analgesia โดย morphine (preservative free) 0.1-0.3 mg/kg ร่วมกับ 0.5% bupivacaine สามารถให้ฤทธิ์แก้ปวดระหว่างผ่าตัดได้นาน 4-6 ชม. และให้ฤทธิ์แก้ปวดหลังผ่าตัดได้นานถึง 12-24 ชม.

- Intra-articular analgesia ให้ morphine 0.1-0.3 mg/kg ใช้ได้ผลดีในกรณีข้อมีการอักเสบเรื้อรัง สามารถให้ฤทธิ์แก้ปวดระหว่างผ่าตัดได้นาน

- CRI

- Morphine 0.1-0.2 mg/kg/hr

- Fentanyl 3-5 µg/kg bolus IV 3-6 µg/kg/hr

8. Tramadol เป็นยาที่ไม่ได้จัดว่าอยู่ในกลุ่มของ opioid แต่ตัวยาและ metabolite ของยาออกฤทธิ์ที่ mu receptor โดยมีฤทธิ์แก้ปวดเพียง 1 ใน 10 ส่วนของ morphine เท่านั้น นอกจากนี้ตัวยายังยับยั้ง serotonin noradrenaline uptake ยามีเมตาบอลิซึมที่ตับและขับออกที่ไต ขนาดยาที่แนะนำในสุนัขคือ 1-4 mg/kg IV หรือทุก 6 ชม. สำหรับการปวดรุนแรงหรือ รับประทาน 1-4 mg/kg ทุก 12 ชม. สำหรับลดปวดในรายของ osteoarthritis จากประสบการณ์ผู้เขียน แนะนำให้ยาเข้าหลอดเลือดดำช้าๆเนื่องจากได้พบอาการที่สุนัขเหียวเกร็งกล้ามเนื้อหลายครั้ง

5. เอกสารอ้างอิง

1. Classification of Chronic Pain, 2nd Ed, IASP Task Force on Taxonomy. H. Merskey and N. Bogduk. Seattle: IASP Press, 1994; 209-214
2. McGuire L, Heffner K, Glaser R, et al. Pain and wound healing in surgical patients. Ann Behav Med 2006; 31:165-172

3. Tranquilli WJ, Grimm KA and Lamont LA. Pain Terminology, Physiology, Recognition, and Strategies for Management. Pain Management for the Small Animal Practitioner: Teton New Media, 2000; 2-11.
4. http://www.vasg.org/The_Pain_Process.htm
5. http://www.vasg.org/perioperative_pain_management_part_i.htm
6. Tranquilli WJ, Grimm KA and Lamont LA. Analgesic Drugs. Pain Management for the Small Animal Practitioner: Teton New Media, 2000; 13-30.
7. Tranquilli WJ, Grimm KA and Lamont LA. Analgesic Techniques. Pain Management for the Small Animal Practitioner: Teton New Media, 2000; 32-72.
8. Price J and Nolan A; The Physiology and Pathology of Pain in Seymour C and Duke-Novakovski T; BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia, 2nd ed 2007; 79-88
9. Kerr C; Pain Management I: Systemic analgesics in Seymour C and Duke-Novakovski T; BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia, 2nd ed 2007; 89-103
10. Lemke KA; Pain Management II: Local and Regional Anaesthetic Techniques in Seymour C and Duke-Novakovski T; BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia, 2nd ed 2007; 104-114
11. Beiche F, Scheuerer S, Brune K, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 mRNA in the rat spinal cord following peripheral inflammation. FEBS Lett 1996; 390:165-169.

Fluid, Electrolytes and Acid Base Balance in Small Animals

น.สพ.ดร.พรชัย กรองสวัสดิ์กุล *

1. บทนำ

สารน้ำ (Fluid) ในร่างกายมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการทำงานต่างๆของเซลล์ การควบคุมระดับสารน้ำให้อยู่ในภาวะธำรงดุล (Homeostasis) จึงจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้อวัยวะทั้งหลายสามารถทำงานได้อย่างปกติ สารน้ำทั้งหมดในร่างกาย (Total body fluid) มีอยู่ประมาณ 60% ของน้ำหนักตัว โดยแบ่งเป็นสารน้ำภายในเซลล์ (Intracellular fluid, ICF) ซึ่งเป็นสารน้ำส่วนใหญ่ในร่างกาย (ประมาณ 40%) และสารน้ำภายนอกเซลล์ (Extracellular fluid, ECF) ที่มีอยู่เพียง 20% โดย ECF ประกอบด้วย พลาสมา (Plasma) (5%), สารน้ำระหว่างเซลล์ (Interstitial fluid) (15%) และ สารน้ำตามช่องว่างของร่างกาย (Transcellular fluid) ซึ่งพบในปริมาณเพียงเล็กน้อย

น้ำและอิเล็กโทรไลต์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารน้ำในร่างกาย โดยเฉพาะอิเล็กโทรไลต์หลักๆ เช่น โซเดียมและคลอไรด์ ซึ่งมีปริมาณสูงใน ECF แต่มีปริมาณที่น้อยใน ICF : โดยต่างจากโปแตสเซียมและแมกนีเซียมที่มีความเข้มข้นสูงใน ICF เมื่อเทียบกับ ECF ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่มีความแตกต่างกันระหว่างภายใน ICF และ ECF นี้มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อการทำงานของเซลล์ เช่น การเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่เชื่อมหุ้มเซลล์ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์เหล่านี้ โดยเฉพาะที่อยู่ในส่วนของพลาสมา สามารถก่อให้เกิดความผิดปกติได้ เช่น การพบ Bradycardia ในรายที่เกิด Hyperkalemia เป็นต้น นอกจากนี้ความเป็นกรดด่างของร่างกายยังขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงอิเล็กโทรไลต์ในสารน้ำเช่นกัน

ความผิดปกติของสารน้ำและอิเล็กโทรไลต์ในสัตว์เป็นสิ่งที่สามารถพบได้เสมอ การเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะช่วยให้สามารถวางแผนการรักษาได้อย่างถูกต้อง ทั้งในส่วนของการเลือกชนิดสารน้ำที่เหมาะสม ปริมาณที่สัตว์ควรจะได้รับและข้อควรระวังจากการให้สารน้ำดังกล่าว โดยบทความนี้จะกล่าวสรุปถึงกลไกการควบคุมสารน้ำในร่างกาย ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กโทรไลต์หลักๆ ที่สำคัญ และการเลือกใช้สารน้ำสำหรับการแก้ไขความผิดปกติในบางภาวะของร่างกาย

2. กลไกการควบคุมน้ำและอิเล็กโทรไลต์

การเปลี่ยนแปลงของสารน้ำ มักจะเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของสารน้ำ (Osmolality) กับปริมาตรของสารน้ำในร่างกาย ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับแรงดันเลือด การรับรู้ของร่างกายโดยอาศัย Osmoreceptor ภายใน Hypothalamus และ Baroreceptor ที่พบได้ในส่วน Carotid sinus, Aortic arch หรือ Juxtaglomerular cell (JG cell) ที่ได้ร่วมกับการทำงานของต่อมหมวกไต (Adrenal gland) ต่อมใต้สมองส่วนท้าย(Posterior pituitary gland) และไต จึงมีส่วนช่วยในการรักษาสมดุลของสารน้ำในร่างกาย

Osmolality ของ ECF สูงขึ้น เช่นการสูญเสียน้ำออกจากร่างกายมากกว่าปริมาณที่ได้รับ จะกระตุ้น Osmoreceptor ในสมองส่วน Hypothalamus แล้วไปมีผลต่อ Thirst center ทำให้สัตว์เกิดการกระหายน้ำ นอกจากนี้การรับรู้ของ Osmoreceptor ยังไปกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของ Antidiuretic hormone (ADH) จากต่อมใต้สมองส่วนท้ายเพิ่มขึ้น ซึ่งฮอร์โมนนี้มีผลต่อท่อไตส่วน Collecting duct ทำให้เพิ่มการขนส่งน้ำกลับเข้าสู่ร่างกาย

* ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

กรณีปริมาตรของสารน้ำในร่างกายลดต่ำลง เช่น ภาวะ Hypovolemia จะส่งผลต่อ Arterial pressure ซึ่งลดลงตามเช่นกัน Baroreceptor ทำหน้าที่ส่งสัญญาณกระตุ้นทั้ง Thirst center ใน Hypothalamus และเพิ่มการหลั่ง ADH นอกจากนี้แรงดันเลือดที่ลดลงยังกระตุ้นให้ต่อมหมวกไตหลั่ง Aldosterone ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่เพิ่มการดูดกลับโซเดียมที่ท่อไต และมีผลต่อเนื้อไตทำให้เกิดการเคลื่อนที่ตามโซเดียม ทำให้ลดการสูญเสียสารน้ำออกจากร่างกาย ในส่วนของไตพบว่า JG Cell หลั่ง Renin ออกมา ซึ่ง Renin นี้จะเปลี่ยน Angiotensinogen กลายเป็น Angiotensin I จากนั้น Angiotensin converting enzyme ซึ่งพบมากในปอดและไต ทำหน้าที่เปลี่ยน Angiotensin I ได้เป็น Angiotensin II ทั้งนี้ฤทธิ์ของ Angiotensin II สามารถเกิดขึ้นได้หลายแห่ง เช่น กระตุ้นต่อมหมวกไตให้หลั่ง Aldosterone นอกจากนี้ Angiotensin II ยังมีผลให้หลอดเลือดต่างๆ เกิดการหดตัว ทำให้เพิ่มความต้านทานการไหลของเลือดและมีส่วนช่วยเพิ่มแรงดันเลือดให้สูงขึ้น การที่ Afferent arteriole ในไตหดตัว ส่งผลให้การกรองที่ไตลดลง

Atrial natriuretic peptide (ANP) จะยับยั้งการหลั่ง Renin และ Aldosterone ทำให้ลดการดูดกลับโซเดียม ANP นี้จะถูกหลั่งจากเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจส่วน Atrium เมื่อหัวใจส่วนดังกล่าวมีเลือดอยู่ภายในสูงกว่าปกติ

สำหรับการควบคุมปริมาณโปแตสเซียมในร่างกาย Aldosterone จากต่อมหมวกไตเป็นหลัก เมื่อปริมาณของโปแตสเซียมในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น เช่น ภาวะ Hyperkalemia นั้นทำให้มีการหลั่ง Aldosterone เพิ่มขึ้นและฮอร์โมนนี้ไปออกฤทธิ์ที่ Principal cell ที่ Late distal tubule และ Collecting duct ในไต ให้เพิ่มการขับโปแตสเซียมออกมาพร้อมกับ Urine

3. ความไม่สมดุลของอิเล็กโทรไลต์

โซเดียม (Sodium)

โซเดียมเป็นอิเล็กโทรไลต์ที่พบมากใน ECF และปริมาณของโซเดียมในพลาสมา ยังมีความสัมพันธ์กับปริมาตรของสารน้ำในร่างกาย พบว่าค่า Osmolality ของ ECF ประมาณ 95% เกิดจากความเข้มข้นของโซเดียมในพลาสมา สำหรับค่าปกติของโซเดียมในพลาสมาของสุนัข จะอยู่ในช่วง 140-150 mEq/L ส่วนในแมวจะมีค่าประมาณ 150-160 mEq/L

Hypernatremia คือภาวะที่มีปริมาณโซเดียมในพลาสมามากกว่าค่าปกติ สาเหตุที่ก่อให้เกิดความผิดปกติดังกล่าว เช่น Diabetes insipidus, Diuretic drug, Hypodipsia หรือ Hyperadrenocorticism เป็นต้น

Hyponatremia พบได้บ่อยในสัตว์ที่มีการสูญเสียสารน้ำในระบบทางเดินอาหาร, ในรายที่เกิด Ascites, Congestive heart failure, การได้รับสารน้ำกลุ่ม Hypotonic fluid หรือ Hypoadrenocorticism เป็นต้น

โปแตสเซียม (Potassium)

โปแตสเซียมมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ และเป็นอิเล็กโทรไลต์ที่พบมากใน ICF ถ้าระดับของโปแตสเซียมใน ECF มีการเปลี่ยนแปลงจะส่งต่อการกระตุ้นให้เกิดการทำงานของเซลล์ โดยเฉพาะเซลล์ประสาทหรือเซลล์กล้ามเนื้อ ค่าความเข้มข้นปกติของโปแตสเซียมในพลาสมาของสุนัขและแมวอยู่ในช่วง 3.5-5.5 mEq/L

Hyperkalemia สามารถพบได้ในรายที่เกิด Anuric หรือ Oliguric renal failure, Urethral obstruction, ACE inhibitors (เช่น Enalapril), Metabolic acidosis เป็นต้น

Hypokalemia เกิดขึ้นเมื่อมีการสูญเสียโปแตสเซียมออกจากร่างกายเป็นจำนวนมาก เช่น การอาเจียน (Vomiting), ถ่ายเหลว (Diarrhea), การได้รับยาขับปัสสาวะ (Loop diuretics, Thiazide diuretics) หรือการที่ร่างกายได้รับโปแตสเซียมน้อยกว่าปกติ เช่น การได้รับสารน้ำที่ปราศจากโปแตสเซียม (0.9% NaCl, D5W)

คลอไรด์ (Chloride)

คลอไรด์เป็นแอนไอออน (Anion) ที่พบมากใน ECF มีส่วนช่วยรักษา Osmotic pressure และสมดุลกรดด่างในร่างกาย โดยเกิด “Chloride shift” ซึ่ง Cl^- จะเกิดการแลกเปลี่ยนกับ HCO_3^- ระหว่างเม็ดเลือดแดงกับพลาสมา การวัดค่าคลอไรด์ในพลาสมาปกติจะวัดออกมาเป็นค่าที่เรียกว่า “Corrected Chloride” ซึ่งในสุนัขจะอยู่ในช่วง 107-113 mEq/L ส่วนในแมวเท่ากับ 117-123 mEq/L

สาเหตุของ Corrected Hyperchloremia ที่พบได้บ่อยเกิดจากการสูญเสียโซเดียมมากกว่าคลอไรด์ เช่น Diarrhea หรือการให้สารน้ำ (0.9% NaCl, สารน้ำที่มี KCl) เป็นต้น

Corrected Hypochloremia มักพบในสัตว์ที่เกิดการอาเจียนอย่างเรื้อรัง (Chronic vomiting) หรือการได้รับยาขับปัสสาวะ (Loop diuretics, Thiazide diuretics)

แคลเซียม (Calcium)

แคลเซียมในพลาสมา (Total calcium, tCa) นั้นประกอบด้วยแคลเซียมที่อยู่ในรูปไอออน (Ionized Calcium, iCa), แคลเซียมที่จับกับพลาสมาโปรตีน (Protein-bound calcium, pCa) และแคลเซียมที่อยู่ในรูปสารประกอบ (Complexed calcium, cCa) ซึ่ง iCa นั้นมีความสำคัญ อาทิเช่น การส่งกระแสประสาทของเซลล์ประสาท การหดตัวของกล้ามเนื้อ การหลั่งฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อ หรือ การแข็งตัวของเลือด สำหรับสุนัขมีค่า tCa 9.0-11.5 mg/dL (2.2-3.8 mmol/L) และ iCa เท่ากับ 5.0-6.0 mg/dL (1.2-1.5 mmol/L) ส่วนในแมว ค่า tCa 8.0-10.5 mg/dL (2.0-2.6 mmol/L) และ iCa เท่ากับ 4.5-5.5 mg/dL (1.1-1.4 mmol/L)

Hypercalcemia อาจเกิดจาก Adenoma ที่ Parathyroid gland, Hypoadrenocorticism, Hypervitaminosis D หรือ Renal failure

Hypocalcemia พบได้บ่อยในสุนัข เช่น Eclampsia หรืออาจเกิดขึ้นเป็นผลตามมาของ Hypoparathyroidism, Renal failure, Hypovitaminosis D เป็นต้น

แมกนีเซียม (Magnesium)

แมกนีเซียมใน ECF นั้นมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ การลดลงของแมกนีเซียมในพลาสมา ทำให้เซลล์ประสาทถูกกระตุ้นให้เกิด Action potential ได้ง่ายขึ้น จึงพบว่าสัตว์มักเกิดภาวะ Hyperexcitability และ Tetanus ตามมา

4. สมดุลกรดด่างในร่างกาย

ค่า pH ของพลาสมาในสุนัขและแมวปกติ มีค่าเท่ากับ 7.4 โดยมีระบบบัฟเฟอร์ (Buffer systems) ทั้งที่เป็น Intracellular buffer (Cellular protein), Plasma buffer (Bicarbonate buffer, Phosphate buffer) เป็นตัวคอยควบคุมตลอดจนการทำงานของระบบหายใจและไตต่างก็มีความสำคัญในการช่วยรักษาสสมดุลกรดด่างของร่างกาย

Respiratory acidosis และ Respiratory alkalosis เป็นภาวะกรดเกิน และด่างเกินตามลำดับ ซึ่งมีสาเหตุจากความผิดปกติของระบบหายใจ เช่น Hypoventilation ทำให้ PaCO_2 สูงขึ้น เกิดภาวะ Respiratory acidosis ตามมา ในทางตรงกันข้าม การเกิด Hyperventilation จะส่งผลให้ PaCO_2 มีค่าลดลง Respiratory alkalosis จึงเกิดขึ้น

Metabolic acidosis เป็นภาวะกรดเกิน เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของ Organic acid หรือ Hyperchloremia เป็นต้น และมีการลดลงของ HCO_3^- ส่วน Metabolic alkalosis นั้นมีการสะสมของ HCO_3^- ในพลาสมาสูงกว่าระดับปกติ โดยมีสาเหตุ อาทิเช่น Hypoalbuminemia, Hyperadrenocorticism, Hypochloremia

ปกติจำนวน cation กับ anion ในสารนํ้านอกเซลล์จะมีค่าเท่ากัน แต่ในการวัดค่าเหล่านี้จะมี cation และ anion บางส่วนที่ไม่ได้ตรวจวัด ค่า Anion Gap (AG) จึงเป็นค่าที่แสดงถึงความแตกต่างของผลรวมของ anion กับ cation ที่ไม่ได้ตรวจวัดในสารนํ้านอกเซลล์ สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{AG} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$$

ส่วนค่า Strong Anion Gap (SIG) ที่คำนวณเฉพาะความแตกต่างระหว่าง strong cation กับ strong anion จะให้ความแม่นยำมากกว่า AG

$$\text{ในสุนัข SIG} = [\text{albumin}] \times 4.9 - \text{AG}$$

$$\text{ในแมว SIG} = [\text{albumin}] \times 7.4 - \text{AG}$$

ทั้งค่า AG และ SIG นี้สามารถนำมาใช้บ่งบอกถึงสาเหตุความผิดปกติของ Metabolic acidosis ได้ในเบื้องต้น

5. การให้สารนํ้าและอิเล็กโทรไลต์ (Fluid and Electrolyte Therapy)

5.1 ประเภทของสารนํ้า

ชนิดของสารนํ้าที่มีการนำมาใช้ทางคลินิก สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

5.1.1 Crystalloids fluids เป็นชนิดของสารนํ้าที่ได้มีการนำมาใช้เป็นส่วนใหญ่ โดยมีอิเล็กโทรไลต์หรือสารชนิดต่างๆ ละลายอยู่ในนํ้า เช่น โซเดียมหรือนํ้าตาล สารนํ้ากลุ่มนี้สามารถแบ่งย่อย ได้อีก 4 ประเภท คือ

- สารนํ้าที่ใช้เพื่อการทดแทน (Replacement solution) สารนํ้าชนิดนี้มีความเข้มข้นของสารละลายใกล้เคียงกับพลาสมา มักนำมาใช้เพื่อทดแทนส่วนของสารนํ้าที่ร่างกายสูญเสียไป เช่น ในรายที่เกิดการถ่ายเหลว อาเจียน หรือเกิดภาวะ Hypovolemia เป็นต้น ตัวอย่างสารนํ้าในกลุ่มนี้ได้แก่ Normal saline (0.9% NaCl), Ringer's solution โดยอาจมีอิเล็กโทรไลต์ชนิดอื่น เช่น Lactate, Acetate ละลายรวมอยู่ด้วย

- สารนํ้าที่ใช้เพื่อการคงสภาพการทำงาน (Maintenance solution) เป็นสารนํ้าชนิด Hypotonic solution ซึ่งจุดประสงค์ของการใช้เพื่อชดเชยอิเล็กโทรไลต์ที่สูญเสียจากร่างกายตามปกติในแต่ละวัน โดยที่สัตว์ไม่สามารถรักษาระดับสารนํ้าในร่างกายได้ ชนิดของสารนํ้ากลุ่มนี้ เช่น สารละลาย 0.45% NaCl, สารละลาย 0.45% NaCl ร่วมกับ 2.5% Dextrose หรือ Lactate Ringer's solution ที่มีความเข้มข้นเพียงครึ่งเดียวร่วมกับ 2.5% Dextrose เป็นต้น

- Hypertonic solution เช่น Hypertonic saline (7.2%-23% NaCl) เป็นสารนํ้าที่นิยมใช้เมื่อต้องการเพิ่มปริมาตรของพลาสมาให้สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว การให้สารนํ้าชนิดนี้ไม่ควรให้เร็วเกินไป เพราะสามารถก่อให้เกิด Hypotension และ Bradycardia ได้

- สารละลาย Dextrose เช่น D5W (5% dextrose in water) เป็นสารนํ้าที่เหมาะสมต่อการให้ร่วมกับยาหรือสารบางอย่างผ่านเข้าสู่หลอดเลือด ข้อควรระวังของการให้สารนํ้าชนิดนี้ คือเมื่อให้เป็นระยะเวลานาน สามารถทำให้เกิดการ

บวมน้ำ (Edema) เนื่องจากเมื่อ Dextrose ถูกนำไป จะเหลือเพียงแต่น้ำเป็นจำนวนมากและเกิดการแพร่จากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อ

5.1.2 Colloids fluids ประกอบด้วยสาร Colloids ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ไม่สามารถเคลื่อนผ่านผนังของหลอดเลือด ทำให้เพิ่ม Colloid osmotic pressure (Oncotic pressure) ภายในหลอดเลือด ส่งผลให้น้ำเคลื่อนจาก ICF เข้ามาสู่พลาสมาเป็นจำนวนมาก มักใช้สารน้ำประเภทนี้เพื่อเพิ่ม Intravascular fluid หรือลดของเหลวที่คั่งอยู่ตามเนื้อเยื่อ เช่นในรายที่เกิด Cerebral trauma ชนิดของสารน้ำในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้ เช่น สารละลาย Mannitol (20%), Plasma human serum albumin (5% หรือ 25%) เป็นต้น ข้อควรระวังในการใช้คือ ห้ามให้สารน้ำนี้ในสัตว์ป่วยที่มีปัญหาเนื่องจากการมี Fluid สะสมเป็นจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น Congestive heart failure, Pulmonary edema หรือรายที่เกิด Oliguria เป็นต้น

5.1.3 Hemoglobin-based oxygen carrying solutions เช่น Oxyglobin จุดประสงค์หลักเพื่อลำเลียง O₂ ให้กับเนื้อเยื่อ แต่เนื่องจากสารกลุ่มนี้ยังมีคุณสมบัติเป็น Colloid เช่นกัน จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เหมือนกับพวก Colloids fluids

5.1.4 เลือดและส่วนประกอบของเลือด นิยมใช้เมื่อต้องการให้เลือดหรือส่วนประกอบของเลือดเพิ่มเติม อย่างในรายที่เกิดภาวะโลหิตจางหรือขาดเลือด อาจให้เป็น Whole blood หรือส่วนประกอบของเลือดบางชนิด เช่น Platelet, Coagulation factors หรือ Plasma protein

5.1.5 Parenteral nutrition จุดประสงค์ของการใช้สารน้ำประเภทนี้ คือต้องการเพิ่มสารอาหารให้กับสัตว์ ในกรณีที่สัตว์ได้รับไม่เพียงพอ ซึ่งสารละลายกลุ่มนี้จะมีสารอาหารชนิดต่างๆ ละลายอยู่เป็นจำนวนมาก

5.2 การให้สารน้ำ

5.2.1 ปริมาตรของสารน้ำ

ในการให้สารน้ำต้องคำนึงถึงปริมาตรที่สัตว์ต้องการเพื่อชดเชยส่วนที่ขาด (Deficit volume) รวมกับปริมาตรปกติที่ควรได้รับในแต่ละวัน (Maintenance volume)

ปริมาตรส่วนที่ 1 ทดแทนส่วนที่ขาดในรายที่เกิดภาวะขาดน้ำ

$$[\text{น้ำหนักตัว (กก)}] \times [\% \text{ Dehydration}] \times 100$$

ปริมาตรส่วนที่ 2 เป็นปริมาตรของสารน้ำที่สัตว์ควรได้รับในแต่ละวัน

ค่าเฉลี่ยในสุนัขและแมว ประมาณ 54 ถึง 66 mL/kg/day หรือใช้คำนวณจากสูตร $[30 \times \text{น้ำหนักตัว (กก)}] + 70$ โดยสูตรนี้ใช้ได้กับสุนัขและแมวที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 2 ถึง 70 กก.

5.2.2 การแก้ไขความไม่สมดุลของอิเล็กโตรไลต์

ในส่วนนี้จะขอกล่าวถึงการแก้ไขความไม่สมดุลของอิเล็กโตรไลต์หลักเพียง 2 ชนิดเท่านั้นคือ โซเดียมและโปแตสเซียม

Hypokalemia

ตาราง: แสดงปริมาณโปแตสเซียมคลอไรด์ที่ให้พร้อมกับสารน้ำ เพื่อแก้ไขภาวะ Hypokalemia

[K ⁺] in Serum (mEq/L)	KCl (mEq/L) to add to fluid (250 mL)	KCl (mEq/L) to add to fluid (1 L)	Maximal fluid infusion rate (mL/kg/h)
<2.0	20	80	6
2.1-2.5	15	60	8
2.6-3.0	10	40	12
3.1-3.5	7	28	18
3.6-5.0	5	20	25

Hyperkalemia

ตาราง: แสดงการแก้ไขภาวะ Hyperkalemia

Drug	ปริมาณ	ข้อแนะนำ
Calcium gluconate (10%)	0.5-1.0 mL/kg IV	ให้ด้วยอัตราที่ช้า ประมาณ 3-5 นาที
Sodium bicarbonate	1-2 mEq/kg IV	ระยะเวลาที่ให้นานประมาณ 10-20 นาที
Insulin-dextrose		
Insulin	0.5 U/kg IV	
Dextrose	1-2 g/U insulin IV	เมื่อให้ร่วมกับ Insulin
	0.25-0.5 g/kg IV	กรณีไม่ได้ให้ร่วมกับ Insulin

Hyponatremia

ในการแก้ไขภาวะ Hyponatremia นอกจากสภาพสารน้ำในร่างกาย โดยเฉพาะ ECF ว่ามีการเปลี่ยนแปลง เช่นใด (Normovolemia, Hypovolemia หรือ Hypervolemia) ยังต้องประเมินความรุนแรงของอาการที่สัตว์แสดงออก ร่วมด้วย

สารน้ำที่นิยมใช้ได้แก่ Isotonic saline solution และมักใช้ร่วมกับ Furosemide เพื่อป้องกันการเพิ่มขึ้นของ โซเดียมมากเกินไป ถ้าสัตว์นั้นอยู่ในภาวะ Hypervolemia และแสดงอาการรุนแรงจากการขาดโซเดียม สามารถใช้ Hypertonic saline solution (3% NaCl) ด้วยอัตรา 1-2 mL/kg/hour หรือถ้ามีอาการเพียงเล็กน้อย สามารถปรับลดให้ได้ ในอัตรา 0.5 mL/kg/hour และควรให้ร่วมกับ Furosemide ทั้งสองกรณี นอกจากนี้ต้องมีการวัดความเข้มข้นของโซเดียม เป็นระยะทุก 2-3 ชม. เพื่อทำการปรับปริมาณที่ให้ได้อย่างเหมาะสม ในการรักษานั้นไม่ควรเพิ่มระดับของโซเดียมใน พลาสมาเร็วเกินกว่า 0.5 mEq/L/hour หรือสูงสุด 10-12 mEq/L/day

Hypernatremia

อาจเลือกใช้ D5W หรือ 0.45% NaCl ใน 2.5% Dextrose โดยต้องคำนึงถึงปริมาณน้ำส่วนที่ขาดอยู่ร่วมกับ ส่วนที่ต้องได้รับในแต่ละวัน ซึ่งการคำนวณปริมาตรส่วนที่ขาดนั้น ต้องอาศัยความเข้มข้นของโซเดียมในพลาสมาเข้ามาเกี่ยวข้อง

$$\text{Water Deficit volume} = \text{Weight (kg)} \times \{(\text{current [Na]}/\text{previous [Na]}) - 1\}$$

การใช้ Diuretic drugs เช่น Furosemide นั้นสามารถลดปริมาณโซเดียมในร่างกายได้เช่นกัน

5.2.3 การแก้ไขความไม่สมดุลกรดต่าง**Metabolic acidosis**

การใช้ NaHCO_3 สามารถแก้ไขกรดเกิน ที่เกิดเนื่องจาก Hyperphosphatemia, Hyperchloremia หรือ Urinary acidosis แต่ไม่สามารถแก้ไขได้ในรายที่เกิด Diabetic ketoacidosis หรือ Lactic acidosis สำหรับการหาปริมาณของ HCO_3^- ที่ต้องการ มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{ในสุนัข มีค่าเท่ากับ } 0.3 \times \text{body weight (kg)} \times (21 - \text{patient } \text{HCO}_3^-)$$

$$\text{ในแมว มีค่าเท่ากับ } 0.3 \times \text{body weight (kg)} \times (19 - \text{patient } \text{HCO}_3^-)$$

Metabolic alkalosis

การป้อน KCl หรือ NH_4Cl ผ่านทางปาก สามารถช่วยได้ในเบื้องต้น ก่อนที่จะมีการวินิจฉัยถึงสาเหตุที่แท้จริง เพื่อดำเนินการรักษาต่อไป

6. การประเมินสภาพสัตว์ระหว่างการให้สารน้ำ

การประเมินสภาพสัตว์เป็นสิ่งจำเป็นในระหว่างการให้สารน้ำ เพื่อให้ทราบว่าขณะนั้นสัตว์ได้รับสารน้ำ เพียงพอหรือไม่ ยังช่วยให้สามารถปรับปริมาณที่ให้ได้อย่างเหมาะสม สำหรับวิธีการประเมินนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจสภาพร่างกายภายนอกทั่วไป (Physical examination) โดยบันทึกน้ำหนักตัว, สภาพความยืดหยุ่นของ ผิวหนัง, Capillary refilling time, อัตราการหายใจ, อัตราการเต้นของหัวใจ, การฟังเสียงปอด หรือ การวัดปริมาตรของ

Urine นอกจากนี้ยังสามารถประเมินได้จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เช่น การวัดความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมา, Blood urea nitrogen (BUN), Serum creatinine ร่วมกับการหาค่าความถ่วงจำเพาะของ Urine

สำหรับวิธีการประเมินที่ได้รับการยอมรับเป็นวิธีมาตรฐาน คือการวัด Central venous pressure (CVP) เพื่อใช้ประเมินความสามารถของหัวใจในการบีบตัว เพื่อดันให้สารน้ำในหลอดเลือดเกิดการไหลเวียนได้นั้นมีความเหมาะสมกับปริมาตรสารน้ำที่ได้รับหรือไม่

7. เอกสารอ้างอิง

1. de Morais, H. A. and S. P. DiBartola (2008). “Advance in fluid, electrolyte and acid-base disorders”. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 38(3): 423-754.
2. DiBartola, S. P. (2006). Fluid, electrolyte and acid-base disorders in small animal practice., St. Louis: Elsevier Saunders.
3. Reece, W.O. (2004). Dukes’ physiology of domestic animal, 12th ed., Ithaca: Comstock Publishing Association.

Biotechnology and Natural Extract Product for Feed Additive

รศ.ดร. เขาวมาลย์ คำเจริญ *

**Biotechnology and Natural Extract Products
for Feed Additives**

**การใช้ไบโอเทคโนโลยีและสารสกัดจากธรรมชาติ
มาใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์**

โดย
รศ.ดร. เขาวมาลย์ คำเจริญ
ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002



1

ภาวะความจำเป็นเร่งด่วนที่ต้องสนองความต้องการตลาดโลก

- ต้องการเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ (นม, ไข่) ที่ :
 - ปลอดภัยจากยาฆ่าแมลง
 - ปลอดภัยจากสารตกค้างจากยาปฏิชีวนะและเคมีภัณฑ์โดยเฉพาะเมลามินและอนุพันธ์
 - ปลอดภัยจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษเช่น อีโคไล ซาโมเนลล่า ฯลฯ
 - ปลอดภัยจากโรคไวรัส ปากเท้าเปื่อย แอนแทรกซ์ ไวรัสกโนสโตไวรัส มีพยาธิในสุกร พยาธิภายนอก-ภายใน
 - ปลอดภัยจากสารพิษตกค้างเช่น โคคาอีน ปิรอต ตัวด้ว แกดเมียม อาร์เซนิก (สารหนู)
 - ปลอดภัยจากสารพิษจากเชื้อรา โดยเฉพาะที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง
 - ปลอดภัยจากการปนเปื้อนสารเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม หรือ จีเอ็มโอ (GMO) 2

2

ภาวะความจำเป็นเร่งด่วนที่ต้องสนองความต้องการตลาดโลก

- แสงอาหารที่ช่วยเสริมสร้างสุขภาพให้สมบูรณ์และแข็งแรง
 - ต้องการอาหารที่เสริมสร้างสมองเด็กให้ฉลาด และให้สารอาหารที่เพียงพอต่อการสร้างกระดูกและกล้ามเนื้อ
 - ผู้สูงอายุต้องการอาหารที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคสมองเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ โรคเสื่อมของกระดูก และ ฯลฯ
 - ผู้ใหญ่ต้องการอาหารที่ไม่ทำให้หิว แต่บำรุงร่างกาย ความจำดี มีความสดชื่น ทำงานได้ไม่อ่อนเพลีย
 - ผู้หญิงตั้งครรภ์ต้องการอาหารที่มีคุณภาพดี ย่อยง่าย บำรุงเด็กในครรภ์และสุขภาพของแม่



3

Table 1-1 Ranking of French food safety fears (April 2000).

Consumer fear	Percentage of population (%)			
	First	Second	Third	Total
BSE (mad cow disease)	27	16	10	52
CMO (genetically modified organism)	14	10	9	32
Water pollution-nitrates	9	8	10	27
Listeria	9	11	7	26
Refrigeration problem	7	7	10	24
Hormones in meat	5	9	7	22
Dioxin	8	7	7	21
Antibiotics in animal production	4	6	6	17
Manure slurry spread on fields	4	6	6	16
Chemical treatments of crops	3	5	7	14
Salmonella	2	5	6	13
Bad conservation conditions	2	4	4	10
Beyond 'sell-by' date	2	2	4	9
Colorants and preservatives	2	2	2	6

Source: Brufan and Mecartney, Feed International March 2002 p 14-16

4

**อาหารและภูมิคุ้มกันโรค
(Nutrition and Immunity)**

อาหารและคุณภาพอาหารจะมีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรคจากการวิจัยของนักอาหารสัตว์หลายท่านพบว่าสัตว์ปีกสามารถสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่าง ๆ ดังนี้

- (1) แบคทีเรีย (Bacteria)
- (2) พาราสิต (Parasites)
- (3) สารพิษ (Toxin compound)
- (4) ไวรัส (Viruses)

5

**ปัจจัยที่มีผลต่อการกดภูมิคุ้มกันโรค
(Stressors) ในสัตว์ ดังนี้**

- (1) คุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงไม่ดี (Water of poor quality)
- (2) คุณภาพของอาหารไม่ดี (Inadequate feed quality)
- (3) ราและสารพิษจากเชื้อรา (Mold and mycotoxin) จากอาหารโรงเรือน อากาศและ ฯลฯ
- (4) ความชื้นของอากาศในโรงเรือน (Humidity)
- (5) อุณหภูมิที่แปรปรวน (Temperature variation)
- (6) สัตว์กินอาหารลดลง (Poor feed intake)
- (7) มีฝุ่นและมลภาวะในฟาร์มมาก (Dust and Air pollution)

6

* ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปัจจัยที่มีผลต่อการกดภูมิคุ้มกันโรค (Stressors) ในสัตว์ ดังนี้(ต่อ)

- (8) มีแก๊สแอมโมเนียและไฮโดรเจนซัลไฟด์สูง (NH_3 , H_2S)
- (9) พาราสิต (Parasites)
- (10) แบคทีเรียที่เป็นโทษ (Pathogenic bacteria)
- (11) ไวรัส (Viruses)
- (12) ระบบทางเดินอาหารเจริญเติบโตยังไม่เต็มที่ (Immature digestive system)
- (13) การสร้างจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ (Immature gut flora)
- (14) การเกิดกักตุนในฝูง (Social stress)

ความต้องการของอาหารเมื่อสัตว์มีภูมิคุ้มกันต่ำ (Nutrient requirement on immunestressed)

- (1) มีความต้องการคอเลสเตอรอลสูงขึ้น โดยเฉพาะคอเลสเตอรอลในไขมัน และคอเลสเตอรอลในการนำไปสร้างแอนติบอดีโปรตีน (antibody protein production)
- (2) มีความต้องการพลังงานสูงขึ้น เพราะพลังงานถูกใช้ในการทำให้จุลินทรีย์ในร่างกายสูงขึ้น ทำให้ระดับของค่าเมตาบอลิซึม (rate of metabolism) ในร่างกายสูงขึ้น
- (3) ความต้องการกรดไขมัน (fatty acid) โดยเฉพาะโอเมก้า 3 (omega 3 fatty acid) สูงขึ้น เพื่อใช้ในการทำงานของภูมิคุ้มกันโรค (immune function) และพอสตกลันดิน (prostaglandins) ดังนั้นควรเสริมไขมันปลา ซึ่งเป็นแหล่งของกรดไขมันโอเมก้า 3 ประมาณ 6-8 % ในอาหาร

ความต้องการของอาหารเมื่อสัตว์มีภูมิคุ้มกันต่ำ(ต่อ) (Nutrient requirement on immune stressed)

- (4) ในภาวะที่สัตว์มีภูมิคุ้มกันโรคต่ำ กล้ามเนื้อจะถูกทำลาย ดังนั้นการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) เช่น วิตามินอี ซี และซีโรเนียม จะช่วยทำให้กล้ามเนื้อของสัตว์ไม่ถูกทำลายและทำให้สัตว์หายป่วยจากโรคได้เร็วขึ้น
- (5) ความต้องการสารควบคุมจุลินทรีย์ (antimicrobial substance) สูงขึ้น เพื่อใช้ในการควบคุมโรคภาวะที่ภูมิคุ้มกันโรคลดลง เช่น ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) สังกะสี (zinc) ทองแดง (copper) และพืชสมุนไพร (herbs)

อาหารและภูมิคุ้มกันโรคจะมีผลต่อสุขภาพของสัตว์ทั้งทางตรงและทางอ้อมดังนี้

- (1) การดูดซึมอาหารบกพร่อง (Malabsorption syndrome)
- (2) โรคขาอ่อน (Leg weakness)
- (3) โรคซีด (Pale syndrome)
- (4) ขนขึ้นหยิกงอ คีวหนังงอ (feathering stunting, helicopter or angle wing disease)
- (5) โรคกระดูกเปราะ (Brittle bone disease)
- (6) โรคขาเจ็บและข้อบวม (Lameness and swelling hock joints)
- (7) การเจริญเติบโตของกระดูกผิดปกติ (Bone dyschondroplasia)
- (8) โรคกระดูกผิดปกติ
- (9) โรคกระดูกอ่อน (Rickets)
- (10) ภาวะเพ้อเจ้อ (Gizzard erosion or black vomiting disease)

ความสัมพันธ์ของอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงและการสร้างภูมิคุ้มกัน (Interaction of nutrition and induced changes in immunity)

- (1) การขาดสารอาหารในระยะเวลานาน (chronic nutrients deficiencies)
- (2) การเสริมสารอาหารเพิ่มขึ้นในภาวะของการเกิดโรคของอาหารบกพร่อง โดยการเสริมวิตามินอีและซีโรเนียมให้เพิ่มขึ้น ใช้น้ำมันผสมทั้งจากพืชและสัตว์เสริมวิตามินอี (100 พีพีเอ็ม) วิตามินซี (130 พีพีเอ็ม) วิตามินเอและสารแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ให้สูงขึ้น
- (3) การเสริมสารอาหารเพิ่มขึ้นในภาวะการเกิดโรคทางกระดูก โดยการเสริมวิตามินดี วิตามินซี โคเลสเตอรอล และแหล่งของแร่ธาตุที่สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ได้สูง

ความสัมพันธ์ของอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงและการสร้างภูมิคุ้มกัน (Interaction of nutrition and induced changes in immunity)(ต่อ)

- (4) การเสริมสารอาหารเพิ่มขึ้นในภาวะเกิดปัญหาโรคกระดูกอ่อนโดยเปลี่ยนปลาเป็นในสูตรอาหารหรือลดการใช้ปลาเป็นลง ซึ่งปัจจุบันนี้ไม่มีการใช้ปลาเป็นในอาหารสัตว์
- (5) ผลของการจัดการและสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงสัตว์ไม่ได้มาตรฐานจะมีผลต่อการผลิตและการสร้างภูมิคุ้มกันโรค

ผลของการจัดการและสภาพแวดล้อมต่อสมรรถนะในการผลิตและการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในไก่เนื้อ

Treatment	Gain g / chick / d	Feed Efficiency Gain / feed	IL - 1 units
Clean	12.65 ^a	0.66 ^a	0.21 ^a
Unsanitary	12.10 ^b	0.54 ^b	0.49 ^b
Clean + Ab	12.72 ^a	0.67 ^a	0.22 ^a
Unsanitary + Ab	12.57 ^a	0.63 ^a	0.29 ^a
Pooled SEM	0.14	0.02	0.03

Source : Klasing 1997, ASA Technical Bulletin P031-1997.

13

ภาพแสดงปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในสัตว์

รายละเอียดจากเนื้อหา:

- รวมและสารพิษจากเชื้อรา
- คุณภาพน้ำไม่ดี
- คุณภาพอาหารไม่ดี
- สัตว์กินอาหารลดลง
- ความชื้นของโรง
- แอมโมเนีย
- ไอโครเจน
- ฝุ่น
- อุณหภูมิที่แปรปรวน
- การฉีดยาที่ไม่ถูกต้อง
- พาหุสัตว์
- แบคทีเรียที่เป็นโทษ
- ไวรัส
- การรบกวนหรือ
- ในระบบทางเดิน
- อาหารยังไม่เต็ม
- ระบบทางเดินอาหาร
- เจริญเติบโตไม่เต็มที่

14

การใช้ยาปฏิชีวนะและเคมีภัณฑ์ของเกษตรกรในฟาร์มมักจะ
มีปัญหาจากความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดิน
อาหารบกพร่อง ซึ่งเกิดจากปัญหาต่าง ๆ ดังนี้คือ

- ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารสัตว์
- ขนาดและชนิดของอาหาร
- การเกิด ความเครียดของสัตว์
- สภาพแวดล้อมต่อสุขภาพของสัตว์
- จุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหาร

15

ภาพรวมและแนวโน้มในอนาคตในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากเทคโนโลยีชีวภาพ

- ได้รับการพิสูจน์และยอมรับก่อนในตลาด (Pre-market approval) พิจารณาถึงประโยชน์ที่จะได้รับและข้อจำกัดในการใช้และความปลอดภัยเป็นหลัก : เป็นสารหรือยา หรือเป็นพวกอาหารบำรุง
- พิจารณาคำจำกัดความให้มากยิ่งขึ้น (More definition) ปัจจุบันนี้มีผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติอย่างเช่น “herapeutic agents” และได้จัดเป็นพวกไม่ยา (non-drug) โดย AVMA และ AAFCO
- ไม่มีส่วนให้เกิดอันตราย (Do no harm) มีผลงานทางวิทยาศาสตร์รองรับ ควรศึกษาเอกสารธรรมชาติ (natural extract products)
- ใช้ความรู้สึกร่วมกัน (Use common sense) โดยพิจารณาจาก
 - > ค่าธรรมเนียมของสินค้าที่ต่ำเกินไป
 - > ควรระวังการให้สารพิษมากเกินไปจนเกิดความเครียดหรือเป็นพิษ
 - > ควรบอกส่วนประกอบหรือองค์ประกอบที่ใช่
 - > วัตถุดิบที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ควรจะต้องใช้
 - > ควรระวังการให้ข้อมูล ผิดพลาดกับการใช้ยาก่อนใช้

16

การประกอบสูตรอาหารเพื่อคำนวณการให้คุณค่าทางโภชนาการทั้งหมดใน
อาหารสัตว์ในสัปดาห์ที่ 21

- ได้รับความนิยมและสนใจอย่างกว้างขวาง
- ลดต้นทุนการผลิต
- ผลผลิตที่ได้จะต้องให้คุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น
- สัตว์ได้รับอาหารจะต้องมีสุขภาพดี ปราศโรค
- สดมสภาวะให้เหลือน้อยที่สุดคือสิ่งแวดล้อม
- สามารถช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค และป้องกันกาเกิดความเครียด

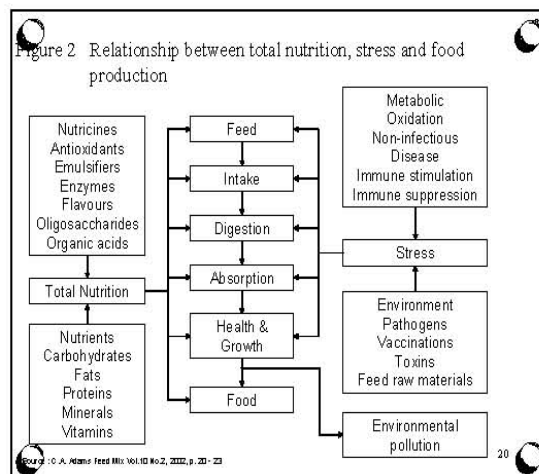
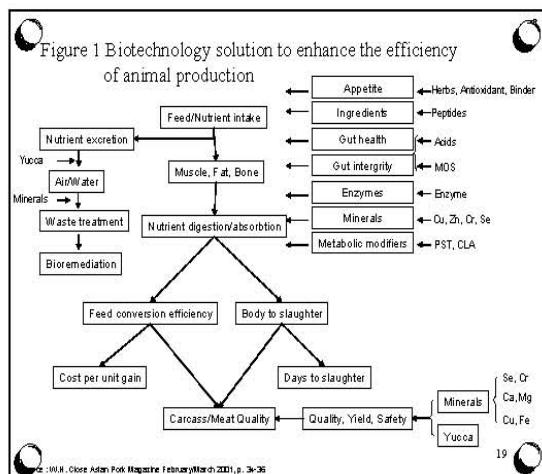
17

เพื่อความเข้าใจและเด่นชัดต่อความหลากหลายของ
โมเลกุลที่พบในอาหาร จึงจัดแบ่งโมเลกุลเหล่านี้ใน
อาหารออกเป็น :

- โภชนะหรือสารอาหาร (Nutrients)
- โภชนะบำรุงสุขภาพ (Nutricines)

(Figure 1 และ 2)

18



ภาพรวมและแนวโน้มในอนาคตในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากเทคโนโลยีชีวภาพ

- เลือกโภชนาการที่มีคุณภาพเหมาะสม โดยเฉพาะในช่วงวัยอ่อนและให้ผลผลิตสูง ได้รับทั้งโภชนาการและโภชนาการบำรุงสุขภาพให้เพียงพอ
- คอนจูเกตกรดไขมันโอเลอิก (CLA) พบในผักและเนื้อสัตว์ ซึ่งช่วยในการลดความเครียด (immune stress) และการเกิดพิษของเชื้อ ในอาหารสุกรจะทำให้คุณภาพไขมันลดลง และประสิทธิภาพการให้อาหารของสัตว์เพิ่มขึ้น
- โปรตีนที่สกัดจากเมล็ดพืช เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่า กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคแบบไม่เฉพาะเจาะจง การเกิดโรครุนแรงและความเครียดของสุกรลดลง
- โปรตีนสกัดจากข้าวสาลี (PDS) ช่วยในการให้อาหารและโปรตีนที่เพียงพอได้เร็ว
- สารเสริมไขมัน (lipidic ingredient) กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคที่นิยมมากที่สุด กรดไขมันโอเลอิก 3 เสริมให้อาหารแล้วจะช่วยให้การดูดซึมไขมันเพิ่มขึ้น สัตว์มีสุขภาพดี แต่ปัญหาโรคหัวใจ อดโรคของสุกรในเมล็ด กระตุ้นระบบสืบพันธุ์ น้ำย่อยของสุกร ทำให้สัตว์ให้ผลผลิตไข่และเนื้อ มีกรดไขมันโอเลอิก 3 สูง
- โปรตีนจากพืช มีสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคพลาสมาในสุกร กระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เพิ่มในระบบทางเดินอาหาร

21

ภาพรวมและแนวโน้มในอนาคตในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากเทคโนโลยีชีวภาพ

- การใช้กรดอินทรีย์หรือสารเสริมกรดในกระเพาะ (Organic acid or Acidifier / Acidulant)
 - ช่วยปรับความสมดุลของกรดในกระเพาะ
 - นำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น
 - ช่วยลดความเครียดในสัตว์ที่เป็นโรคในสัตว์เล็กเช่นขามอนเนอซ่า และอีโคโอ
 - การใช้สมุนไพร มีการนำสมุนไพรต่าง ๆ ที่ใช้ในรูปสารสกัดเดี่ยว ๆ และสารสกัดรวม เสริมเพื่อลดโรคต่าง ๆ 5 ทางคือ
 - ใช้เป็นสารเร่งการกินและกระตุ้นน้ำย่อย
 - ใช้เป็นสารต้านจุลชีพ ควบคุมโรคและควบคุมเชื้อรา
 - ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตและกระตุ้นระบบสืบพันธุ์
 - ใช้ในการควบคุมสารอนุมูลอิสระซึ่งเกิดจากความเครียด
 - ใช้เป็นสารควบคุมพยาธิ ซึ่งรวมทั้งเชื้อและเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารและระบบในโคโรน ดูรายละเอียด Table 4 และ 5

22

ภาพรวมและแนวโน้มในอนาคตในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากเทคโนโลยีชีวภาพ

- การเสริมเอนไซม์ (enzyme) มีการนำเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่สัตว์กระเพาะย่อยผลิตไม่ได้และผลิตได้ไม่เพียงพอ ในช่วงอายุต่าง ๆ มาเสริมในอาหาร
- เพื่อช่วยย่อยอาหารและย่อยสารขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการในอาหารโปรตีนที่มาจากพืช เช่น สารแอนติเจน จากถั่วเหลือง สารต้านสารพิษโพลีฟีนอลในสุกรวัยอ่อน ทำให้สุกรสามารถดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้สูงสุด ในขณะที่ตัวอื่นทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นโทษหมด โอกาสที่จะนำไปใช้เป็นสารอาหารเพื่อขยายประชากร ซึ่งช่วยแก้ปัญหาโรคอาหารของโรคท้องร่วงได้

23

ประโยชน์และข้อดีของการนำสารช่วยย่อยหลาย ๆ ชนิดมาเสริมในอาหารสัตว์

- เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนาการต่าง ๆ ในอาหารให้ดียิ่งขึ้นโดยเฉพาะสัตว์ในวัยอ่อน
- เพิ่มประสิทธิภาพในการนำวัตถุดิบบางชนิดที่สัตว์ย่อยได้น้อยหรือย่อยได้ไม่เต็มที่ ให้สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น

24

3. ช่วยเสริมหรือเพิ่มน้ำย่อยให้แก่สัตว์วัยอ่อนที่ระบบทางเดินอาหารยังเจริญเติบโตและพัฒนาในการย่อยอาหารและผลิตน้ำย่อยได้ไม่เต็มที่ที่ได้รับน้ำย่อยที่สมดุลในการย่อยโภชนาต่างๆในวัตถุดิบเพิ่มมากขึ้น

- เพิ่มผลผลิตมากขึ้น (อัตราการเจริญเติบโต ไข่ นมและ ฯลฯ)
- เพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหาร

25

6. ช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลผลิตและคุณภาพของซากในสัตว์

7. เพิ่มการดูดซึมการใช้วัตถุดิบที่เติมในอาหารต่างๆ โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะในทางเดินอาหารให้ดียิ่งขึ้น

8. ช่วยทำให้สัตว์มีสุขภาพแข็งแรงและเพิ่มความต้านทานโรค

26

สารช่วยย่อยสำรูปที่ผลิตขายในท้องตลาดมีดังนี้คือ

1. Protease	6. Hemicellulase
2. Amylase	7. Papain
3. Lipase	8. Glucanase
4. Pectinase	9. Phytase
5. Cellulase	

27

การเลือกสารช่วยย่อยเพื่อเสริมในอาหารสัตว์

ควรมีข้อคำนึงดังนี้

1. ควรเลือกชนิดของสารช่วยย่อยให้เหมาะกับวัตถุดิบที่ใช้ในอาหาร

ถ้าวัตถุดิบมีกากมาก เช่น ข้าวบาเลย์ ควรเลือกน้ำย่อยพวก cellulase และ β -glucanase

ถ้าวัตถุดิบที่ทั้งโปรตีน และแป้งเป็นส่วนประกอบอยู่สูง ควรเลือก protease และ amylase

28

2. สารช่วยย่อยที่เลือกใช้ควรทราบส่วนประกอบและปริมาณความเข้มข้นที่ผลิตเพื่อที่จะหาระดับและปริมาณที่ใช้เสริมในการผสมอาหารให้เพียงพอที่จะสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารชนิดต่างๆ ได้อย่างพอเหมาะ

3. สารช่วยย่อยที่เลือกใช้จะต้องเลือกชนิดที่ออกฤทธิ์ทำงานได้ดีที่ pH ต่ำ เพราะในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะกระเพาะอาหารมี pH ต่ำ ซึ่งจะช่วยให้สารช่วยย่อยในการย่อยโภชนาต่างๆ มีประสิทธิภาพดีขึ้น

29

4. สารช่วยย่อยที่ดีจะต้องเคลือบด้วยสารเคลือบ เพื่อให้มีความคงทนต่อสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะอุณหภูมิสูงในการอัดเม็ดอาหาร

5. สารช่วยย่อยที่ดีจะต้องเป็นผงละเอียดผสมอยู่ในสื่อที่ดี มีคุณสมบัติไม่ดูดความชื้นง่าย เพื่อสะดวกในการผสมอาหาร

6. ควรเลือกสารช่วยย่อยชนิดเกรดอาหาร (Food or Feed-grade enzyme) เพราะจะปลอดภัยกว่าการใช้สารช่วยย่อยเกรดโรงงานอุตสาหกรรม (Industrial-grade enzyme)

30

ภาพรวมและแนวโน้มในอนาคตในการใช้วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์

- การใช้สารเสริมเปลือกไข่และเสริมไขมันให้มูลกวางในสภาวะที่ไปจารหรือเปิดไข้หรือผลิตสูง เช่น
 - วิตามิน ที่อยู่ในรูปแบบที่ผสม เช่น D₃, 25 OH
 - สารเสริมธาตุแคลเซียมฟอสเฟตหรือฟอสเฟต
 - การเสริมโคเลสเตอรอล และเคซีนไฮโดรไลเสดขากโปรตีน
- การเสริมธาตุของแคลเซียมและสังกะสีในรูปแบบอื่นและปัจจัยออกฤทธิ์ในระดับสูงเพื่อใช้ในการควบคุมพฤติกรรมที่เป็นอันตราย
- การเสริมสารลดกลิ่นแอมโมเนียและกลิ่นเหม็นในปัสสาวะ เช่น นันดรพาทิโกลแคคไครด์ ฟรุคโต และไกลโคเจนเบนเซน เช่น จาซารูติน ฮาร์ดีโซล และ ยัคดา
- การเสริมสารจับจุลินทรีย์ในอาหารสัตว์ เช่น ลาวซิโอดีท เบนโทไนท์ ซึ่งก่อผลภายในรูป HSCAS สารไฮดรอกซีเบนโซอิก สามีแทนเบเนอิลไกลแคคคาไรต์ โคเคน-โคโคซาน และโคเคน-โคโคซาน โอลีโอแคคคาไรต์ซึ่งทั้งหมดล้วนไปปรับสมดุล
- การเสริมธาตุเคมีที่มีอยู่ในรูป MgSO₄ เพื่อปรับปรุงคุณภาพไข่ทั้งจากชนิด นม และเป็นน้ำนมและ (PSE)

36



เทคโนโลยีชีวภาพสำหรับการขยายปรับปรุงพันธุ์โคบราห์มันในประเทศไทย- สถานการณ์ปัจจุบัน

Update Biotechnology for Brahman Cattle Breeding in Thailand

ดร. สรรเพชญ์ โสภณ *

1. บทนำ

โคบราห์มันเป็นโคชีบูพันธุ์ผสมพันธุ์แรกที่เกิดขึ้นในอเมริกาและมีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง โดยเกิดจากโคอินเดียที่นำเข้ามาในสหรัฐอเมริกาสามสายพันธุ์หลัก คือ กูเซอราท (Guzerat) เนลลอร์ (Nellore) และ กิร (Gir) แต่ก็มีบ้างเป็นส่วนน้อยที่ใช้พันธุ์กุญชะ วิลเล่ย์ (Krishna Valley) ผสมด้วย แต่โดยทั่วไปจะมีลักษณะเหมือนกับพันธุ์กูเซอราท ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคนเลี้ยงโคในอเมริกาชอบลักษณะโคแบบนี้จึงคัดเลือกและพัฒนาออกมาแนวนี และจากการคัดเลือกอย่างเข้มงวด ด้วยการชี้แนะด้วยมาตรฐานของการพัฒนาที่ยอดเยี่ยมโดยนักปรับปรุงพันธุ์โคอเมริกันบราห์มัน นอกจากจะเป็นที่ยอมรับว่าเป็นพันธุ์ที่แข็งแรง ทนทาน แล้ว ยังสามารถสร้างผลประโยชน์บนพื้นที่ในส่วนที่เหลือได้ดี มีอายุยืนยาวเป็นสองเท่าของที่คาดหวัง และการเพิ่มน้ำหนักต่อวันได้ดีกว่า จากการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์โคบราห์มันมาอย่างต่อเนื่องด้วยระบบการบันทึกและการประเมินคุณค่าทางพันธุกรรม ทำให้โคบราห์มันเป็นที่รู้จักแพร่หลายทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน และจากการที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคเนื้อโคเนื้อไขมันน้อยและอาหารที่มีแคลอรีต่ำ ทำให้โคบราห์มันอยู่ตำแหน่งที่จะสนองต่อความต้องการของผู้ผลิตเนื้อได้ดีจากการที่สามารถเปลี่ยนอาหารให้เป็นเนื้อคุณภาพสูงได้ ด้วยการผลิตซากที่มีไขมันน้อย โคบราห์มันมีบทบาทสำคัญไม่เพียงแต่ในโปรแกรมการผลิตโคลูกผสมในอเมริกาและประเทศอื่นๆเท่านั้น แต่ยังเป็นโคลักษณะดีที่ใช้เป็นฐานในการพัฒนาพันธุ์โคต่างๆที่พัฒนาขึ้นในอเมริกาในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา

สมาคมผู้ปรับปรุงพันธุ์อเมริกันบราห์มัน (The American Brahman Breeders Association, ABBA) ได้ก่อตั้งขึ้นในปีค.ศ. 1924 โดยมี เจ. ดับเบิลยู. สตาร์ทเวล แห่งเมืองฮุสตัน เป็นเลขาธิการสมาคมเป็นคนแรก และเป็นคนแรกที่เสนอคำว่า “บราห์มัน” สำหรับเรียกชื่อโคเนื้อพันธุ์ใหม่นี้

ร่วมในกิจกรรมการเรียนการสอน ได้ลงมือปฏิบัติ ทำกิจกรรมต่าง ๆ ด้วยตนเองทุกขั้นตอน ทำให้บรรยากาศในการเรียนเป็นไปด้วยความสนุกสนาน

2. การเลี้ยงโคบราห์มันในประเทศไทย

หลังจากสงครามโลกครั้งที่ 2 (พ.ศ. 2488-2489) ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ให้ความช่วยเหลือประเทศไทย ในสาขาเกษตร ผ่านยูซอม (USOM- United States Organization Mission) โดยในกิจการปศุสัตว์ ได้ให้ความช่วยเหลือกรมปศุสัตว์และสัตว์พาหนะ ด้วยการนำเอาโคบราห์มันมาทดลองเลี้ยงในประเทศไทยเป็นครั้งแรก ในปี พ.ศ. 2497 จำนวน 71 ตัว เป็นเพศผู้ 24 ตัว เพศเมีย 47 ตัว และต่อมาทางกรมฯ ได้ซื้อเข้าเลี้ยงเพิ่มเติมอีกในปี พ.ศ. 2500 จำนวน 137 ตัว เป็นเพศผู้ 37 ตัว เพศเมีย 100 ตัว ในระหว่างปี 2509-2519 มีการนำเข้าโคบราห์มันโดยภาครัฐและเอกชน 7 ครั้ง รวม 798 ตัว (เพศผู้ 317 ตัว เพศเมีย 480 ตัว) และ ระหว่างปี 2520-2530 รัฐบาลได้มีการนำเข้าโคบราห์มัน อีก 4,968 ตัว

* คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

(เพศผู้ 369 ตัว เพศเมีย 4,599 ตัว) ในระหว่างปี 2531-2536 เกษตรกรให้ความสนใจในการเลี้ยงโคกันมาก อีกทั้งรัฐบาลมีโครงการส่งเสริมการเลี้ยงโคเนื้อภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือที่เรียกกันสั้นๆว่าโครงการโคเนื้ออีสานเขียว ในช่วงนี้จึงมีการนำเข้าโคบราห์มันจำนวนมากถึง 22,502 ตัว(เพศผู้ 205 ตัว เพศเมีย 22,297 ตัว)โดยแยกเป็นนำเข้าโดยรัฐบาล 19,504 ตัว(เพศผู้ 174 ตัว เพศเมีย 19,334 ตัว) นำเข้าโดยเอกชน 2,994 ตัว(เพศผู้ 31 ตัว เพศเมีย 2,963 ตัว) จนถึง ปี 2540 มีการนำเข้าโคบราห์มันทั้งสิ้น 28,850 ตัว

ตารางที่ 1 สรุปจำนวนนำเข้าโคบราห์มันมาในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2497-2540

จากประเทศ	เพศผู้	เพศเมีย	รวมทั้งหมด
อเมริกา	738	8,623	9,361
ออสเตรเลีย	214	19,275	19,489
รวมทั้งหมด	952	27,898	28,850

หมายเหตุ โคบราห์มัน จากประเทศออสเตรเลีย เพศผู้ 164 ตัว เพศเมีย 18,334 ตัว เป็น Commercial high grade Brahman นำเข้าระหว่างปี พ.ศ. 2531-2536 ภายใต้โครงการอีสานเขียว

เกษตรกรไทยให้ความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจากปรับตัวเข้ากับสภาพอากาศร้อนของเมืองไทยได้ดี ทนต่อโรคและแมลง โตเร็ว โคลูกผสมบราห์มันเหมาะสำหรับเป็นโคพื้นฐานเพื่อผลิตโคเนื้อและโคนมคุณภาพดีและสามารถใช้งานได้ การกระจายพันธุ์โดยทั่วไปจะใช้การผสมเทียมหรือใช้พ่อพันธุ์ทำการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติกับโคพื้นเมือง จึงจะได้ลูกโคโคที่มีสายพันธุ์บราห์มัน โอกาสที่เกษตรกรจะมีโคบราห์มันพันธุ์แท้ที่มีสายพันธุ์ดีมีน้อย เนื่องจากโคบราห์มันสายพันธุ์ดีราคาค่อนข้างแพง เพื่อให้มีผู้ดูแลการจดทะเบียนพันธุ์โคบราห์มันจึงได้มีการจัดตั้งสมาคมผู้บำรุงพันธุ์โคบราห์มันแห่งประเทศไทยขึ้นในปี 2534 โดยมีที่ตั้งสมาคมอยู่ที่กรมปศุสัตว์ มีวัตถุประสงค์หลักคือ ปรับปรุงคุณภาพและส่งเสริมการผลิตโคบราห์มัน และจดทะเบียนรับรองพันธุ์ประวัติโคบราห์มันพันธุ์แท้ ต่อมาได้มีกลุ่มเอกชนที่สนใจในการพัฒนาพันธุ์โคบราห์มันได้ก่อตั้งสมาคมผู้เลี้ยงโคบราห์มัน ขึ้นมาในปี 2536 หลังปี 2540 เกิดวิกฤตทางเศรษฐกิจ ทำให้ธุรกิจการเลี้ยงโคบราห์มันและกิจกรรมของสมาคมฯซบเซาไปด้วย การเลี้ยงโคบราห์มันเริ่มมาฟื้นตัวในปี 2545 มีผู้ที่สนใจในการเลี้ยงและพัฒนาพันธุ์โคบราห์มันกลุ่มหนึ่งได้ร่วมกันก่อตั้ง สมาคมส่งเสริมการเลี้ยงโคพันธุ์บราห์มัน ขึ้นมาในปี 2547 เป็นสมาคมการค้า จัดตั้งตามพระราชบัญญัติสมาคมการค้า พ.ศ. 2509 มีวัตถุประสงค์หลักคือ ส่งเสริมการประกอบวิชากิจประเภทที่เกี่ยวกับการเลี้ยงและปรับปรุงโคพันธุ์บราห์มัน

ในปัจจุบันนี้โคบราห์มันมีผู้สนใจเลี้ยงมากขึ้นและมีความต้องการสายพันธุ์โคที่ดีมากขึ้น การผสมยกระดืบสายเลือดจนเป็นพันธุ์แท้ หรือการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอในการผลิตและสร้างสายพันธุ์โคบราห์มันที่ดีในประเทศไทยและกระจายพันธุ์แท้ออกไป จะทำให้เกษตรกรที่สนใจได้มีโอกาสเลี้ยงโคบราห์มันพันธุ์แท้ได้มากขึ้นในอนาคตโคบราห์มันน่าจะเป็นโคเนื้อพันธุ์พื้นฐานของไทยและจะเป็นพันธุ์พื้นฐานสำหรับการพัฒนาพันธุ์โคเนื้อสำหรับผลิตเนื้อคุณภาพดีของไทย

3. การใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์โคברהมันในประเทศไทย

การผสมเทียม

การผสมเทียม คือ การผสมพันธุ์โดยใช้น้ำเชื้อที่รีดเก็บจากพ่อพันธุ์ หรือใช้น้ำที่แช่แข็งเก็บไว้นำไปฉีดเข้าไปในมดลูกแม่พันธุ์ในขณะที่เป็นสัดเพื่อให้แม่พันธุ์ตั้งท้อง การผสมเทียมช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์สัตว์รวดเร็วขึ้นกว่าการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติ ช่วยป้องกันโรคติดต่อจากการผสมพันธุ์ ช่วยให้ผสมข้ามพันธุ์และผสมพันธุ์สัตว์ต่างขนาดกันได้ ทำให้เกิดการกระจายพันธุ์ออกไปได้อย่างกว้างขวาง

การผสมเทียม มีขึ้นครั้งแรกใน ปี พ.ศ. 2323 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอิตาลี ชื่อลาซาร์โร สปาลลาซานี ได้เขียนผลงานวิจัยรายงานผลสำเร็จของการผสมเทียมสุนัข ได้ลูกสุนัขที่เกิดจากการผสมเทียม 3 ตัว การผสมเทียมในปศุสัตว์ เริ่มในปี พ.ศ. 2440 โดยศาสตราจารย์ไอเวนออฟ ชาวรัสเซีย ได้ทำการผสมเทียมม้าเป็นผลสำเร็จ ส่วนการผสมเทียมในแกะและโค เริ่มขึ้นในปี พ.ศ. 2471 แต่การพัฒนาการผสมเทียมโคนม โดยใช้วิธีล้างเข้าทางทวารหนัก จับคอมดลูกแล้วใช้ปืนฉีดน้ำเชื้อสอดผ่านช่องคลอด ผ่านคอมดลูกไปจนถึงตัวมดลูก และฉีดน้ำเชื้อในมดลูก ทำให้อัตราการผสมติดดีขึ้น เกิดขึ้นในปี พ.ศ. 2479 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเดนมาร์ก

การผสมเทียมในประเทศไทยเริ่มขึ้น ในปี พ.ศ. 2499 กรมปศุสัตว์ ได้เปิดสถานีผสมเทียมแห่งแรก ที่จังหวัดเชียงใหม่ และได้มอบหมายให้นายสัตวแพทย์ทศพร สุทธิคำ ปฏิบัติหน้าที่เป็นหัวหน้าสถานีผสมเทียม

การผสมเทียมโคด้วยน้ำเชื้อโคברהมันมีการให้บริการอย่างกว้างขวางแพร่หลายทั่วประเทศ ในช่วงปี 2518-2520 ทำให้มีโคลูกผสมบราห์มันกระจายอยู่ทั่วประเทศ โดยเฉพาะในภาคอีสานมีจำนวนมากที่สุด ในปัจจุบันมีการจดทะเบียนโคลูกผสมบราห์มัน โดยสมาคมส่งเสริมการเลี้ยงโคพันธุ์บราห์มัน เพื่อพัฒนาให้เป็นโคบราห์มันพันธุ์แท้ อีกทั้งมีการส่งเสริมให้มีการพัฒนาพันธุ์โคบราห์มัน การผสมเทียมจึงเป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการขยายปรับปรุงพันธุ์มากที่สุด ผู้พัฒนาพันธุ์ได้มีการคัดเลือกน้ำเชื้อแช่แข็งทั้งของพ่อพันธุ์ในประเทศและจากต่างประเทศ มาใช้ในการผสมเทียมเพื่อปรับปรุงลักษณะของโคบราห์มันให้มีลักษณะการเป็นโคเนื้อที่ดี และมีความกลมกลืนของลักษณะต่างๆในร่างกาย น้ำเชื้อจากต่างประเทศที่ใช้ จึงได้มีการพิจารณาถึงคุณค่าทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์ประกอบด้วย และมีการจัดการประกวดและแสดงพันธุ์โคบราห์มันอย่างสม่ำเสมอทั่วประเทศ ทำให้เกษตรกรได้รับรู้ถึงการพัฒนาพันธุ์และแนวทางในการผสมพันธุ์ คัดเลือกพันธุ์ด้วย ปัจจุบันมีศูนย์บริการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อโคบราห์มัน ของเอกชนจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วประเทศ

การย้ายฝากเอ็มบริโอ

การย้ายฝากเอ็มบริโอประสบความสำเร็จครั้งแรกในประเทศไทย เมื่อวันที่ 8 กันยายน 2529 ในโคนม โดยโครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจการผสมเทียมโคนและกระบือปลัก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยความร่วมมือกับ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย(อ.ส.ค.) เป็นลูกโคนม ฝาแฝดเพศเมีย ชื่อจุ่ม และ จิม ที่เกิดจากการ เอาเอ็มบริโอ 2 ใบ จากตัวให้ 2 ตัว ย้ายฝากเข้าไปในตัวรับตัวเดียวกัน และในวันที่ 17 สิงหาคม 2532 ประสบผลสำเร็จในการชะล้างและย้ายฝากเอ็มบริโอโคบราห์มันพันธุ์แท้ ได้ลูกโคเพศผู้เกิดจากตัวรับโคนมลูกผสมเรดซินดี้ เป็นความร่วมมือระหว่างโครงการกับศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทบวง กรมปศุสัตว์



ในปัจจุบันนี้ โคברהมีผู้สนใจเลี้ยงมากขึ้นและมีความต้องการสายพันธุ์โคที่มากขึ้นด้วย จึงเป็นไปได้ที่จะใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอในการผลิต และสร้างสายพันธุ์โคברהมีนที่ดีในประเทศไทย จึงได้ทำการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาระบบการจัดการในการทำย้ายฝากเอ็มบริโอในโคברהมีน ซึ่งเป็นเทคโนโลยีทางการขยายพันธุ์ ที่มีคุณค่าสำหรับประเทศไทย ที่จะสามารถผลิตโคברהมีนพันธุ์แท้ขึ้นมาได้จากโคพื้นฐานในประเทศ การใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอในการขยายพันธุ์โคברהมีนนี้ เป็นรูปแบบหนึ่งที่จะแสดงให้เห็นถึงการใช้นวัตกรรมเทคโนโลยีทางการขยายพันธุ์ให้เกิดประโยชน์ และมีคุณค่าต่อระบบการผลิตพันธุ์สัตว์

การศึกษาเกี่ยวกับการย้ายฝากเอ็มบริโอในโคברהมีน เพื่อ ศึกษาวิเคราะห์ถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้การย้ายฝากเอ็มบริโอสร้างฝูงต้นพันธุ์โคברהมีนไทย ที่ เอส. เค. พัทยา แรนซ์ (สรพชญ และคณะ 2549) การทดลองที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของระดับโปรตีนในอาหารชั้น ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนที่ได้จากการเร่งการตกไข่ และชะล้างตัวอ่อน การทดลองนี้ใช้แม่โคברהมีนหลังคลอด 14 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 จำนวน 5 ตัว ได้รับอาหารชั้นระดับโปรตีน 23% กลุ่มที่ 2 จำนวน 5 ตัว ได้รับอาหารชั้นระดับโปรตีน 19% และกลุ่มที่ 3 จำนวน 4 ตัว ได้รับอาหารชั้นระดับโปรตีน 16% ได้ดำเนินการเร่งการตกไข่และชะล้างเอ็มบริโอไปทั้งหมด 24 ครั้ง ปรากฏว่าแม่โคในกลุ่มที่ 2 ได้ผลเฉลี่ยของเอ็มบริโอที่มีคุณภาพย้ายฝากได้สูงสุด 4.3+5.8 ใบ/ครั้ง รองลงไปที่กลุ่มที่ 3 และ กลุ่มที่ 1 4.0+6.4 และ 3.3+4.5 ใบ/ครั้ง แม่โคจะสามารถกลับมาเร่งการตกไข่ครั้งที่ 2 ได้ภายในเวลา 32-91 วัน (65.5+20.5 วัน) ซึ่งในการเร่งการตกไข่ครั้งที่ 2 นี้ แม่โคในกลุ่มที่ 3 ให้ผลเฉลี่ยของเอ็มบริโอที่มีคุณภาพย้ายฝากได้สูงที่สุด 7.3+10.1 ใบ/ครั้ง อาหารชั้นที่มีโปรตีนระดับ 16-19 % มีส่วนช่วยให้แม่โคברהมีนผลิตเอ็มบริโอที่มีคุณภาพย้ายฝากได้มากขึ้น โดยที่อาหารโปรตีนระดับสูงจะมีส่วนช่วยให้แม่โคกลับเป็นสัดหลังจากคลอดได้เร็วขึ้น และสามารถช่วยให้ทำการเร่งการตกไข่ซ้ำได้เร็วขึ้นด้วย การทดลองที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการตั้งท้องและการคลอดของตัวรับที่รับฝากเอ็มบริโอโคברהมีน การศึกษานี้ใช้แม่โคברהมีน หลังคลอด 24 ตัว อายุระหว่าง 3-9 ปี เป็นโคตัวให้ โดยได้รับอาหารชั้นมีโปรตีน 19 % ในตอนเช้าตัวเลข 3 กก./วัน และในตอนเย็นจะได้รับหญ้าสดอย่างเต็มที่ การเร่งการตกไข่และการชะล้างเอ็มบริโอดำเนินการได้ทั้งหมด 42 ครั้ง โดยมีแม่โคตอบสนองต่อการเร่งการตกไข่ 40 ครั้ง (95.24%) แต่ได้เอ็มบริโอที่มีคุณภาพย้ายฝากได้ 28 ครั้ง (66.67%) โดยการชะล้างได้โอโอไซด์และเอ็มบริโอทั้งหมด 387 ใบ (เฉลี่ย 9.68+8.00 ใบ/ครั้ง) เป็นเอ็มบริโอที่มีคุณภาพย้ายฝากได้ 129 ใบ (เฉลี่ย 3.23+4.62 ใบ/ครั้ง) ได้ย้ายฝากเอ็มบริโอให้กับโคตัวรับ 36 ตัว รวม 52 ครั้ง มีอัตราการ ตั้งท้อง 55.77% มีการตายของตัวอ่อนภายใน 60 วัน หลังวันเป็นสัด 11.54% และตัวอ่อนตายหลัง 60 วัน หลังวันเป็นสัด 15.38% เหลือโคตัวรับตั้งท้องจนคลอด เพียง 25.00% จากผลการศึกษาในปีแรก ได้นำเสนอความเป็นไปได้ที่จะใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอ ในการสร้างฝูงต้นพันธุ์โคברהมีนไทยเพื่อการกระจายพันธุ์กรรมที่ดี

ในช่วงปี 2551(มกราคม-ตุลาคม)ได้มีการมีการศึกษาผลการเร่งการตกไข่ในฟาร์มโคברהมัน 3 ฟาร์ม (สรรเพชญ, ข้อมูลยังไม่ตีพิมพ์) เพื่อผลิตเอ็มบริโอแช่แข็ง โดยทำการเร่งการตกไข่ด้วย FSH(Folltropin®) 136 ครั้ง ภายใต้วงจรการเป็นสัดตามธรรมชาติและวงจรที่ควบคุมด้วยการสอดแท่งโปรเจสเตอโรน(CDIR®) มีการตอบสนองโดยชะล้างเอ็มบริโอได้เฉลี่ย 7.51 เอ็มบริโอ เป็นเอ็มบริโอที่ย้ายฝากได้เฉลี่ย 2.98 เอ็มบริโอ รายละเอียด ตามตารางที่ 2 และได้ทำการแช่แข็ง 336 เอ็มบริโอ

ตารางที่ 2 ผลการเร่งการตกไข่โคברהมันด้วยFolltropin® ภายใต้การควบคุมวงจรที่ต่างกัน

ฟาร์ม	ช่วงเวลา ที่ทดลอง	วงจร การเป็นสัด	จำนวน ครั้ง	จำนวน CL (mean±S.D.)	จำนวนไข่/เอ็มบริโอที่ ชะล้างได้ (mean±S.D.(range))	เอ็มบริโอที่ย้ายฝากได้ (mean±S.D.(range))
A	เม.ย.-ค.ค.	ธรรมชาติ	31	10.10±6.17	7.13±6.69 (0-35)	5.43±5.67 (0-27)
B	ม.ค.-มิ.ย.	CIDR®	18	14.17±5.57	9.05±7.08 (0-21)	2.83±3.73 (0-12)
C	ก.พ.-ส.ค.	CIDR®	87	10.43±6.34	7.33±8.82 (0-49)	2.74±4.36 (0-24)

เนื่องจากมีความต้องการเลี้ยงโคברהมันพันธุ์แท้ และนำเข้าพันธุ์กรรมใหม่ๆ จึงมีการนำเข้าเอ็มบริโอแช่แข็งโคברהมัน จากอเมริกาในช่วงปี พ.ศ. 2548-2550 ประมาณ 1303 เอ็มบริโอ(ข้อมูลโดยการสัมภาษณ์) และได้มีการย้ายฝากโดย ผู้ย้ายฝากจากต่างประเทศ และในประเทศบ้างบางส่วน ผลการย้ายฝาก ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 3 ผลการย้ายฝากเอ็มบริโอแช่แข็งของโคบราห์มันนำเข้าจากอเมริกาในฟาร์มต่างๆ (จากการสัมภาษณ์)

ฟาร์ม/ครั้งที่	สายพันธุ์ตัวรับ	จำนวนตัวรับ	ตรวจท้องที่ 30 วัน	ตรวจท้องที่ 60 วัน	ตรวจท้องที่ 6 เดือน	จำนวนคลอด	มีชีวิตรอดหลังคลอด
1	HFx	10	-	8(80.00)	5(50.00)	5(50.00)	4(40.00)
2	HFx	14	-	8(57.14)	4(28.57)	4(28.57)	4(28.57)
3	HFx & Bx	98	37(37.75)	36(36.73)	26(26.53)	26(26.53)	25(25.51)
4	HFx & KPS	129	49(37.98)	49(37.98)	41(31.78)	33(25.58)	29(22.48)
5	Bx & KPS	40	-	-	12(30.00)	12(30.00)	12(30.00)
6	HFx&KPS	12	-	6(50.00)	6(50.00)	2(16.67)	2(16.67)
7	Bx & KPS	18	-	-	6(33.33)	W	W

ตัวเลขในวงเล็บ คือ %, W คือ รอดคลอด, HFx คือ ลูกผสมโฮลส์ไตน์ฟรีเชียน, Bx คือ ลูกผสมบราห์มัน, KPS คือ กำแพงแสน

4. ความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์การย้ายฝากเอ็มบริโอในการสร้างฝูงต้นพันธุ์โคบราห์มันไทย

การศึกษาในปีแรก (2545-2546) ที่ เอส. เค. พัทธา แรนซ์ มี ลูกโคที่เกิดขึ้นมาทั้งหมด 13 ตัว เกิดจากพ่อพันธุ์ 5 ตัว แม่พันธุ์ 7 ตัว ในปีี่ 2 มีลูกโคเกิดมา 17 ตัว เกิดจากพ่อพันธุ์ 7 ตัว แม่พันธุ์ 8 ตัว แม้ว่าจะยังประสบผลสำเร็จในการย้ายฝากเอ็มบริโอจนมีการคลอดได้ ในอัตราที่ยังไม่สูงนัก เนื่องจากยังพร้อมไม่เต็มที่ในการเตรียมตัวให้และตัวรับ การจัดรูปแบบฟาร์มและห้องปฏิบัติการยังต้องปรับปรุงให้เหมาะสมยิ่งขึ้น แต่จากอัตราการตั้งท้องที่น่าพอใจและยังสามารถพัฒนาให้สูงขึ้นได้อีก ทำให้เกิดแรงจูงใจให้การใช้การย้ายฝากเอ็มบริโอในการผลิตพันธุ์โคบราห์มัน ที่มีพันธุกรรมที่ดีและสามารถคัดเลือกเป็นฝูงโคต้นพันธุ์ได้และเป็นการพัฒนาเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตได้อีกด้วย ปัจจุบันงานวิจัยเพื่อพัฒนาการใช้ประโยชน์ของเทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอเพื่อการขยายปรับปรุงพันธุ์โคบราห์มันในประเทศไทย ยังคงดำเนินอยู่อย่างต่อเนื่อง โดยความร่วมมือของฟาร์มเอกชน ที่เข้าใจและต้องการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอในการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์โคบราห์มัน อย่างจริงจัง และในปัจจุบันในประเทศไทยมีลูกโคบราห์มันเกิดจากการย้ายฝากเอ็มบริโอกว่า 300 ตัว

ในเบื้องต้นนี้ การผลิตโคบราห์มันที่มีพันธุกรรมดีด้วยการย้ายฝากเอ็มบริโอในประเทศไทย อาจจะมีการดำเนินการได้ 3 ลักษณะคือ

1. ใช้แม่พันธุ์ที่ทราบว่ายีนสามารถถ่ายทอดลักษณะไปยังรุ่นลูกได้ดี กับพ่อพันธุ์ที่ทราบค่าพันธุกรรมในการถ่ายทอดลักษณะที่ต้องการ ผสมกันเพื่อผลิตเอ็มบริโอ แล้วนำไปย้ายฝากยังตัวรับ แล้วเปลี่ยนพ่อพันธุ์หลายๆตัว จะทำให้เกิดลูกที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม เป็นการเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกลักษณะที่พึงประสงค์ และลดระยะเวลาที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ลงได้

2. ใช้แม่พันธุ์รุ่นใหม่ผสมกับพ่อพันธุ์ที่ทราบค่าพันธุกรรม ในการถ่ายทอดลักษณะที่ต้องการหลายๆ ตัว ผลิตลูกโคด้วยการย้ายฝากเอ็มบริโอ จะทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมให้คัดเลือกลักษณะที่พึงประสงค์ได้มาก

ขึ้น และทราบได้ถึงความเหมาะสมกันระหว่างพ่อพันธุ์และ แม่พันธุ์ที่จะใช้ในการผลิตลูก โคברהมันที่คุ้นลักษณะที่ดีต่อไป

3. ใช้เอ็มบริโอแช่แข็ง จากทั้งที่ผลิตในประเทศและต่างประเทศ เพื่อช่วยเพิ่มจำนวน โคברהมันพันธุ์กรรมดี

5. การโคลนนิ่ง(Cloning)

การโคลนนิ่ง เป็นการขยายพันธุ์โค โดยไม่ใช้เซลล์สืบพันธุ์ของทั้งสองเพศมาปฏิสนธิกัน เพื่อรวมเอา พันธุกรรมของทั้งสองเพศมากำหนดเป็นพันธุกรรมของลูกโคที่เกิดมาใหม่ แต่การโคลนนิ่งในปัจจุบันนี้ เป็นการใช้ พันธุกรรมจากเซลล์ร่างกายของโคต้นแบบ มากำหนดเป็นพันธุกรรมของลูกโคตัวใหม่ ซึ่งเทคนิคนี้เรียกว่าเป็นการย้าย ฝากนิวเคลียส (Nuclear transfer) โดยประสบความสำเร็จครั้งแรกในแกะเมื่อปี พ.ศ. 2529 แต่เป็นการใช้เซลล์จาก เอ็มบริโอเป็นเซลล์ต้นแบบ และ อีก 11 ปีต่อมาจึงประสบความสำเร็จในการผลิตลูกแกะจากการย้ายฝากนิวเคลียสด้วยการ ใช้เซลล์ร่างกายของสัตว์โตเต็มวัยเป็นเซลล์ต้นแบบ แต่การโคลนนิ่งที่ไม่ได้เกิดจากการย้ายฝากนิวเคลียสก็เกิดขึ้นได้ เหมือนกัน ในธรรมชาติก็คือการเกิดแฝดเหมือน(identical twin)ที่เกิดมาจากแบ่งตัวของเอ็มบริโอเองตามธรรมชาติใน ท้องแม่ และที่เกิดจากเทคนิคการผ่าแบ่งเอ็มบริโอก่อนนำไปย้ายฝากให้กับตัวรับ ก็ถือว่าการโคลนนิ่งเช่นกันแต่ไม่ สามารถเกิดได้จำนวนมากๆ

ห้องปฏิบัติการเอ็มบริโอ โครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจการผสมเทียมโคนมและกระบือ ปลัด คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ดำเนินการศึกษาและพัฒนา การย้ายฝากนิวเคลียส(โคลนนิ่ง) ในกระบือและโค มาตั้งแต่ พ.ศ. 2541 ในโค ประสบผลสำเร็จครั้งแรก เมื่อวันที่ 6 มีนาคม 2543 เป็นลูกโคเนื้อ พันธุ์ แบริงกัส เพศเมีย ชื่อ อิง ที่ เอ็มบริโอโคลนมาจากไฟโบรบลาสต์เซลล์ ของใบหู ของโคพันธุ์แบริงกัส เพศเมีย แล้วนำมา ฝากให้ แม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ชื่อ ออย ซึ่งได้รับการผสมเทียมก่อนที่จะเอาเอ็มบริโอโคลนนิ่งไปย้ายฝาก จึงทำให้ อิง มีน้องร่วมท้องเป็นโคนมลูกผสมเพศผู้ที่เกิดมาในเวลาใกล้เคียง กัน ในโคברהมัน มีลูกโคโคลนนิ่ง ตัวแรก เกิดเมื่อ วันที่ 3 เมษายน 2544 ชื่อ “นิโคล” ที่ เอส. เค. พัทยาเรนซ์ โดย โครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีฯ ผลิต โดยใช้เซลล์ใบหูของ โคสาว SK 300 เป็นเซลล์ต้นแบบในการผลิตเอ็มบริโอ และใช้แม่โคพันธุ์แบริงกัสเป็นโคตัวรับ อุ้มท้อง ปัจจุบัน นิโคล มีลูก 6 ตัว เกิดจากการผสมเทียมและอุ้มท้องเอง 1 ตัว และเกิดจากการย้ายฝากเอ็มบริโอให้แม่ ตัวรับ อีก 5 ตัว

ดังนั้น จึงมีการคาดหวังที่จะใช้ประโยชน์ของเทคโนโลยีการโคลนนิ่ง เพื่อการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้ออย่าง กว้างขวาง อาทิเช่น ผลิตพ่อโคพันธุ์กรรมดี(มีการผลิตโคด้วยการโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบของ พ่อพันธุ์ SK 999/1 แม่ โคที่พิสูจน์แล้วว่ามิพันธุ์กรรมที่ยอดเยี่ยมออกมามากๆจะสามารถทำให้มีการเพิ่มโคที่มีพันธุ์กรรมที่ดีได้รวดเร็ว ขึ้น และอาจจะเป็นเครื่องมือที่ผลิตโคที่ดีที่สุดได้ หรือเก็บรักษาพันธุ์กรรมโคที่มีลักษณะเยี่ยมยอดไว้ในรูปธนาคารสาย พันธุ์ได้ นอกจากนี้ยังคาดหวังว่าจะสามารถผลิตโคให้มีผลผลิตที่โปรตีนในนม หรือ ในเนื้อที่มีคุณสมบัติเป็นอาหารยา หรือเป็นวัคซีนสำหรับมนุษย์ได้ด้วยการทำให้โคเหล่านั้นมีอีนที่สามารถจะสร้างอาหารยาหรือวัคซีนที่ต้องการได้ ซึ่งจะ ทำให้ต้นทุนการผลิตยาหรือวัคซีนนั้นต่ำลงได้

วิธีการผลิตโคด้วยการโคลนนิ่งนี้ มีขบวนการสำคัญที่จะนำไปสู่การประสบความสำเร็จของการใช้เทคโนโลยี โคลนนิ่ง 3 ขบวนการ คือ

1. การคัดเลือกโคที่มีพันธุ์กรรมดีที่ต้องการมาใช้เป็นโคต้นแบบ เพื่อให้เซลล์ร่างกายไปใช้เป็นเซลล์ต้นแบบ ว่ามีคุณค่าเหมาะสม คู่คุณค่าต่อการลงทุนทำการโคลนนิ่งหรือไม่

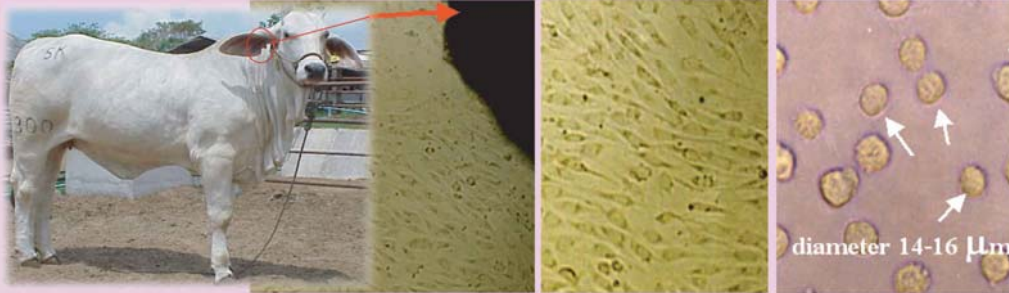
2. ขบวนการผลิตเอ็มบริโอโคลนนิ่ง มีประสิทธิภาพดี มีคุณภาพสูง หรือไม่
3. ขบวนการเตรียมตัวรับและการจัดการระบบย้ายฝากเอ็มบริโอมีประสิทธิภาพดี เหมาะสมกับการดำเนินการหรือไม่



สรุปขั้นตอนการโคลนนิ่ง ในโคบราห์มัน

โครงการการใช้นิวเคลียสเทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจการผสมเทียมโคนมและกระบือปลัก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. เตรียมเซลล์ต้นแบบโดยใช้ เซลล์เนื้อเยื่อผิวหนัง จากโคต้นแบบที่ต้องการขยายพันธุ์

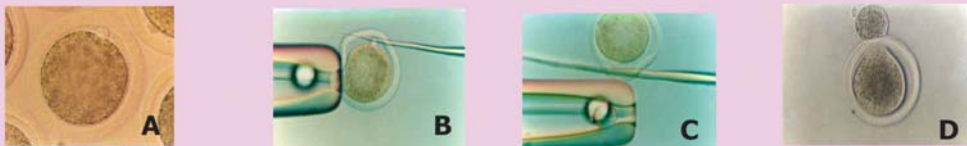


2. ผลิตเอ็มบริโอจากเซลล์ต้นแบบภายนอกร่างกาย โดยมีขั้นตอนดังนี้

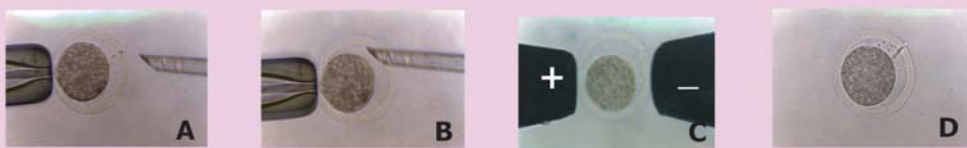
2.1 เลี้ยงโอโอไซต์ (จากรังไข่ที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์หรือเจาะเอาจากรังไข่สัตว์เป็น) ให้สุก



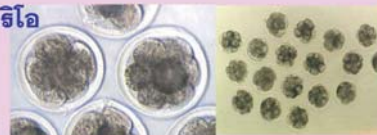
2.2 เอานิวเคลียสของโอโอไซต์สุก ออก



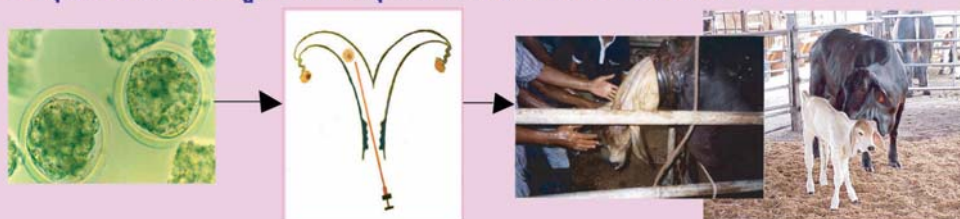
2.3 ฉีดเซลล์ต้นแบบเข้าไปแทนที่นิวเคลียสที่เอาออกไป แล้วทำให้รวมกับโอโอไซต์ ด้วยไฟฟ้า



2.4 เลี้ยงโอโอไซต์ ที่มีนิวเคลียสใหม่ให้เจริญเป็นเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย



3. เลือกเอาเอ็มบริโอระยะบลาสโตซิสต์ย้ายฝากให้โคตัวรับ เพื่ออุ้มท้องและคลอดลูกโคที่มีพันธุกรรมเดียวกับโคเจ้าของเซลล์ต้นแบบ



6. กิจการโคเนื้อในประเทศไทยจะใช้การโคลนนิ่งให้เกิดประโยชน์ได้จริงไหม?

คำถามนี้เป็นคำถามที่ท้าทาย สำหรับนักวิชาการด้านนี้และผู้ที่ต้องการลงทุนในธุรกิจโคเนื้อว่าจะเป็นไปได้ไหม จะต้องลงทุนมากสักแค่ไหน เมื่อไหร่จะคุ้มทุน... คำถามนี้จะมีคำตอบที่ชัดเจนถ้าปัญหานี้ได้รับความสนใจ ทั้งจากภาครัฐและเอกชน สนับสนุนให้มีการศึกษาวิจัยอย่างจริงจังและต่อเนื่อง

หากจะมองในสถานการณ์ในปัจจุบันนี้ โคברהมัน คงจะเป็นโคเนื้อพันธุ์พื้นฐานที่ได้รับความนิยมโดยทั่วไป เพราะสามารถเลี้ยงได้ง่ายในสภาพภูมิอากาศ สภาพแวดล้อม และแหล่งอาหารสัตว์ของไทย ในอดีตมีการนำเข้า โคברהมันพันธุ์แท้ที่มีพันธุ์ประวัติดี จำนวนมาก รวมทั้งน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ชั้นนำ คาดว่าหากมีการร่วมมือกันในการคัดเลือก โคברהมันที่ดีๆ เหล่านี้ออกมาเป็น โคต้นแบบก็จะทำให้มองเห็นความคุ้มค่าที่จะมีการลงทุนในการทำโคลนนิ่ง

ในขบวนการผลิตเอ็มบริโอโคลนนิ่ง ปัญหาสำคัญที่ทำให้ประสิทธิภาพของขบวนการผลิตตัวอ่อนโคลนนิ่งพัฒนาต่อเนื่องไปได้ช้า คือ

1. ไข่ที่จะนำมาใช้รับนิวเคลียสของเซลล์ต้นแบบนั้น มีปริมาณน้อยลงและคุณภาพของไข่ก็ค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ การขาดแคลนแหล่งของไข่จากโรงฆ่าสัตว์จะทำงานด้านนี้ชะงักไปได้ หนทางที่จะแก้ไขก็คือจะต้องใช้ไข่จากสัตว์มีชีวิตด้วยการใช้เทคนิคการเจาะดูดรังไข่ร่วมกับเครื่องอัลตราซาวด์ ซึ่งก็ต้องมีการลงทุนในเบื้องต้นเพิ่มขึ้น ทั้งในเรื่องของเครื่องมือและสัตว์ที่จะให้ไข่แต่คาดว่าจะช่วยให้ได้ไข่ที่คุณภาพดีและมีปริมาณที่ สม่าเสมอ หรือประมาณการได้ และ

2. การเกิดความผิดปกติของการเจริญของตัวอ่อนในท้องตลอดจนลูกโคที่คลอดออกมาแล้ว ความผิดปกติดังกล่าวอาจเกิดจากการแสดงออกของยีนในระหว่างการเริ่มต้นของการแบ่งตัวครั้งแรกของไซโกตโคลนนิ่ง อีกทั้งจำนวนเซลล์ของเอ็มบริโอโคลนนิ่งที่ผลิตขึ้นมามีจำนวนเซลล์น้อยกว่าการเกิดตามธรรมชาติ จึงนำไปสู่ความผิดปกติในระหว่างการตั้งท้อง เช่น มีขนาดรกใหญ่ มีปุ่มรก(caruncles) มากกว่าและขนาดใหญ่กว่า ท้องนานกว่า และไม่สามารถเกิดการคลอดเองได้ หรือเมื่อเกิดออกมาแล้วลูกโคยังมีความผิดปกติของระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท หรือระบบโครงสร้างของร่างกาย ทำให้เสียชีวิตในเวลาต่อมาได้

ดังนั้นในขบวนการผลิตเอ็มบริโอโคลนนิ่งก็ต้องวิจัยและพัฒนาในแง่ของประสิทธิภาพของระบบการผลิตเอ็มบริโอโคลนนิ่ง ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ส่วนในด้านขบวนการย้ายฝากเอ็มบริโอนั้นการพัฒนาสามารถกระทำได้อย่างต่อเนื่องและสม่าเสมอถ้าได้มีการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนควบคู่ไปกับการทำโคลนนิ่งด้วย อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้ในหลายประเทศ รวมถึงในประเทศไทยด้วย ได้ให้การยอมรับว่าผลผลิตที่ได้จากสัตว์ เช่น เนื้อนม ที่เกิดจากสัตว์โคลนนิ่ง มีคุณภาพและปลอดภัยเช่นเดียวกับผลผลิตที่มาจากสัตว์ที่เกิดตามปกติ ในบ้านเราปัจจุบันก็มีน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อโคברהมันโคลนนิ่งจำหน่ายแล้วเช่นกัน (SK 992 และ SK 998)



7. เทคโนโลยีชีวภาพที่พร้อมใช้ในการผลิตโคบราห์มัน

การผลิตเอ็มบริโอนอกร่างกาย (IVP - in vitro production) มีขั้นตอนเรียงลำดับดังนี้ คือ การเลี้ยงโอโอไซต์ให้สุก (IVM – in vitro maturation) แล้วนำไปปฏิสนธินอกร่างกาย (IVF – in vitro fertilization) กับอสุจิ ก่อนจะนำไปเลี้ยงต่อในตู้บ่ม (IVC – in vitro culture) จนพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ เรื่อยมา ซึ่งสามารถเลี้ยงได้จนเอ็มบริโอหลุดออกจาก ไขนาเพลูซิดา มาเกาะกับพื้นจานเลี้ยง การผลิตเอ็มบริโอ โดยผ่าน IVF นี้สามารถผลิตเป็นปริมาณมากได้ ด้วยการใช้รังไข่จากโรงฆ่าสัตว์ แต่ในบ้านเราจะได้เอ็มบริโอที่พันธุกรรมไม่ชัดเจนแน่นอนแท้ หากต้องการบราห์มันแท้ต้องใช้เทคนิคการเจาะเก็บโอโอไซต์จากสัตว์มีชีวิต (OPU – ovum pick up) ซึ่งเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจมาช่วย ในการให้ได้มาซึ่งโอโอไซต์จากโคสาวหรือแม่โคบราห์มันสำหรับการทำ IVP ด้วยการใช้อัลตราซาวด์ช่วย โดยสามารถเจาะเก็บได้สัปดาห์ละ 2 ครั้ง การกระตุ้นโคตัวให้ด้วย FSH ก่อนการเจาะเก็บ ทำให้สามารถเจาะเก็บโอโอไซต์ในแต่ละครั้งได้มากขึ้น การทำ OPU นี้สามารถที่จะสนับสนุนให้มีการผลิตเอ็มบริโอในปริมาณมากจากโคตัวให้ที่เราคัดเลือกได้ ในระยะเวลาไม่นานนัก

แต่เอ็มบริโอที่ได้จาก IVF จะมีความแตกต่างจากเอ็มบริโอที่ผลิตในร่างกายโค คือ เซลล์ในระยะมอรูลาจะเกาะกันไม่แน่น ช่องว่างระหว่างไขนาเพลูซิดาแคบกว่า เอ็มบริโอจะพัฒนาช้าในช่วงต้น แต่จะเร็วในช่วงปลายในเอ็มบริโอเพศผู้ และเมื่อนำ IVF เอ็มบริโอไปย้ายฝากจะตั้งท้องในอัตราที่ต่ำกว่าเอ็มบริโอที่ผลิตในร่างกายและปรากฏความผิดปกติในการตั้งท้องและลูกที่เกิดมา ดังนี้ ระยะการตั้งท้องยาว ลูกมีขนาดใหญ่ การแสดงอาการคลอดน้อยลง มีการแท้งมากขึ้น อวัยวะไม่ครบ มีการตายระหว่างคลอดมากขึ้น มีน้ำในรกมากขึ้น

การโคลนนิ่ง เป็นการผลิตเอ็มบริโอนอกร่างกายอีกวิธีหนึ่ง แตกต่างจาก IVF ตรงที่ไม่มีการปฏิสนธิกับอสุจิ แต่หลังจากได้โอโอไซต์ สุกจาก IVM แล้ว จะทำการดูดเอานิวเคลียสของโอโอไซต์ออก ซึ่งจะมีอยู่ 2 ส่วน ส่วนหนึ่งอยู่ในโพลารอดี อีกส่วนหนึ่งจะอยู่ใน ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) โดยจะอยู่บริเวณใกล้ ๆ กับโพลารอดี โดยใช้เข็มแก้ว

ขนาดเล็กมาก ที่ควบคุมด้วยแขนกล (micro manipulator) ทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (inverted microscope) ไอโอไฮด์สุกที่ดูดเอานิวเคลียสออกแล้ว นำมาฉีดเซลล์ต้นแบบ 1 เซลล์ เข้าไปให้แนบกับไซโตพลาสซึม แล้วกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าแรงดันต่ำ ๆ ในระยะเวลาสั้นมาก ๆ เพื่อให้เซลล์ต้นแบบเชื่อมและหลอมรวมกับไข่ตัวรับเซลล์ แล้วจึงนำไป IVC ต่อไป

การผลิตเอ็มบริโอในอกร่างกาย เป็นการเปิดโอกาสให้สามารถทำให้เกิดการดัดแปลงพันธุกรรมได้ด้วย ขบวนการที่เรียกว่า gene transfection ซึ่งเข้ามาแทนที่เทคนิคการถ่ายฝากยีนแบบ Pronuclear injection ถึงแม้ว่าในการผลิตเอ็มบริโอโคลนนิ่งเราจะใช้เซลล์ร่างกายได้จากหลากหลายส่วนของร่างกาย แต่ก็มีเซลล์ร่างกายจากบางส่วนเท่านั้น ที่ใช้ในการทำ Gene transfection ได้ และยีนที่จะทำการถ่ายฝากด้วยวิธีนี้จะต้องเป็นยีนที่มี DNA ที่เรียงลำดับกันไม่ยาว (5-30 kb) จึงจะประสบความสำเร็จในการถ่ายฝากยีนสูง ซึ่งปัจจุบันสามารถตรวจสอบความสำเร็จในการถ่ายฝากยีนได้รวดเร็วด้วยการใช้เทคนิค DNA microarrays ในปี 2003 Robl และคณะ รายงานว่าได้ผลิตลูกโคจากเอ็มบริโอถ่ายฝากยีน ที่มีโครโมโซมเทียมของมนุษย์ ได้ 21 ตัว ซึ่งมีบางตัวสามารถผลิต polyclonal antibodies ของมนุษย์ได้ เทคโนโลยีการถ่ายฝากยีนนี้ ส่วนใหญ่จะทำได้เพื่อผลิตเอ็มบริโอโคลนนิ่งที่ต่อเนื่องจากเอ็มบริโอโคลนนิ่งที่ผ่านการถ่ายยีนมาแล้ว เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตเนื้อ นม ดัดแปลงองค์ประกอบของน้ำนม หรือปรับปรุงการต้านทานโรค ดังนั้นการใช้ประโยชน์ของเอ็มบริโอที่ดัดแปลงพันธุกรรมแล้ว คงจะเกิดขึ้นในอุตสาหกรรมการผลิตยาก่อน จึงจะมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตโค ซึ่งคงจะใช้เวลาอีกหลายปี

การแยกเพศของเอ็มบริโอ (Embryo sexing) โดยอาศัยพื้นฐานทางการตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีจากภายนอกเมมเบรนของเซลล์เพศผู้ อีกวิธีหนึ่งที่เป็นไปได้คือ การดัดแปลงยีนของเอนไซม์ กลูโคส ซิงฟอสเฟลดีไฮโดรจีเนส ที่เกาะเกี่ยวกับโครโมโซมเอ็กซ์ ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาที่ให้สีแตกต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย วิธีการทั้งสามไม่เป็นที่แพร่หลายใช้ในกิจการขนาดใหญ่

ในปัจจุบันนี้ เราสามารถแยกเพศของเอ็มบริโอก่อนนำไปย้ายฝากได้แม่นยำกว่า 90% โดยใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) เข้ามาช่วยในการตรวจสอบ ด้วยการตัดชิ้นส่วนของเซลล์ ในเอ็มบริโอออกมาเพียงเล็กน้อย แล้วนำมาตรวจโดยเทคนิค PCR ก็จะทราบได้ว่าเอ็มบริโอนั้นมีรูปแบบของ DNA เป็นเพศผู้หรือเพศเมีย การแยกเพศโดยใช้ PCR ทั้งแบบที่ใช้และไม่ใช้ขั้นตอนของ electrophoresis มีการให้บริการในธุรกิจการย้ายฝากเอ็มบริโอมาตั้งแต่ช่วงปี 1998-1999 ซึ่งเทคนิคทั้งสองแบบมีประสิทธิภาพและความแม่นยำสูง แต่การที่ต้องดูดเอาเซลล์บางส่วน ของเอ็มบริโอออกมาตรวจ จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ และเป็นวิธีการที่มีอันตรายและมีผลต่อความแข็งแรงของเอ็มบริโอ การดำเนินงานทางเทคนิค PCR จำเป็นต้องมีความสะอาดสูงกว่าระบบปฏิบัติงานย้ายฝากเอ็มบริโอในทางอุตสาหกรรมทั่ว ๆ ไป แต่ก็มี บริษัทเคอร์ที่ทันสมัยบางส่วน ยอมรับและใช้เทคนิคนี้ในการขยายปรับปรุงพันธุ์โค แต่ก็ยังเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ยังไม่กว้างขวางนักในอุตสาหกรรมการย้ายฝากเอ็มบริโอ นอกจากนี้ เทคนิคทาง PCR สามารถใช้เซลล์บางส่วนที่ดูดออกมาจากเอ็มบริโอนี้ ไปตรวจสอบหา ยีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการ หรือตรวจหาความผิดปกติของยีนที่จะนำไปสู่การเกิดโรคหรือความผิดปกติทางกายได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการคัดเลือกพันธุ์โคและลักษณะที่ต้องการได้ล่วงหน้า

การแยกเพศอสุจิ (Semen sexing) จากความก้าวหน้าทางด้าน flow cytometric technology ที่พัฒนามาใช้สำหรับการแยกอสุจิที่มีโครโมโซมเพศเป็น X หรือ Y ออกจากกัน ที่มีการศึกษาวิจัยมากกว่า 10 ปีแล้ว ในปัจจุบันนี้สามารถผลิตอสุจิแยกเพศออกจำหน่ายในท้องตลาดแล้ว โดยสามารถแยกอสุจิที่มีชีวิตที่มีโครโมโซมเพศต่างกันออกจากกันได้บริสุทธิ์ ประมาณ 90% และสามารถแยกได้ด้วยความเร็ว 10 ล้านตัว ต่อชั่วโมง ได้มีการทดลองนำเอาอสุจิ

แยกเพศที่ไม่ได้แช่แข็ง 600,000 ตัว ผสมให้กับโคสาวที่เร่งการตกไข่ สามารถผลิตเอ็มบริโอได้ 4.3 ± 5.3 เอ็มบริโอ/ตัว แต่เมื่อเป็นอสุจิแยกเพศที่แช่แข็งแล้ว มาทดลองใช้ โดยมีความเข้มข้น 2 ล้าน และ 10 ล้าน ตัวต่อหลอด เทียบกับอสุจิที่ไม่ได้แยกเพศ เข้มข้น 40 ล้านตัวต่อหลอด พบว่าเกิดการปฏิสนธิได้ 40%, 49% และ 69% ตามลำดับ และผลิตเอ็มบริโอที่ย้ายฝากได้ 3.3 ± 0.9 , 4.1 ± 0.9 , และ 8.7 ± 0.9 เอ็มบริโอ/1 ตัวให้ ตามลำดับ และในการนำมาทดลองใช้ในการทำ IVF ก็ให้ผลคล้ายคลึงกันคือ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการแบ่งตัวและการเจริญถึงบลาสโตซิสต์ต่ำลง อัตราการตั้งท้องที่ต่ำกว่า สำหรับการใช้ในการผสมเทียม จะให้อัตราการตั้งท้องเพียง 70-90% ของอสุจิที่ไม่แยกเพศ แต่ไม่แตกต่างกัน ด้านระยะการตั้งท้อง การตายหลังคลอด การคลอดง่าย น้ำหนักแรกเกิด หรือการมีชีวิตรอดถึงหย่านม นอกจากนี้การแยกเพศอสุจิยังอาจทำได้ด้วยการใช้ระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อความแตกต่างของโปรตีนที่อยู่รอบ ๆ เซลล์ เทคนิคนี้ จะแยกอสุจิได้เร็วกว่า และเป็นอันตรายต่ออสุจิน้อยกว่า แต่ผลการวิจัยยังอยู่ในวงจำกัด แต่มีความพยายามที่จะผลักดันสู่ การผลิตเชิงการค้า

8. พันธุศาสตร์โมเลกุล

ในช่วงที่ผ่านมาไม่นาน ในวงการผลิตปศุสัตว์ได้ให้ความสนใจในการนำเอาเทคโนโลยีดีเอ็นเอมาใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวาง พร้อมกับมีความรู้ใหม่ๆเกิดขึ้นตามมาอีกมากมาย ทำให้เกิดการลงทุนอย่างมหาศาลในเทคโนโลยีดีเอ็นเอ เพื่อจะช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์กรรมในโคเนื้อประสบความสำเร็จได้อย่างรวดเร็ว ดีเอ็นเอเทคโนโลยีที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมโคเนื้อแล้วและยังคงมีอยู่ต่อไปในอนาคตอันใกล้ ได้แก่

การทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprinting)

เป็นการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอโดยตรงเป็นครั้งแรกในการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อ ที่มีความแม่นยำสูง โดยใช้ marker เป็นชุด ๆ ละ 10-15 markers ที่มีความแตกต่างกันมาก ทำให้ได้รูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ที่เฉพาะเจาะจงมากเท่าที่จะเกิดขึ้นได้ในโคแต่ละตัว เทคโนโลยีนี้ปัจจุบันใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจสอบความพ่อแม่ ลูก ในฝูงสัตว์ที่ใช้ พ่อพันธุ์มากกว่า 1 ตัว ในการคุมฝูง หรือใช้ตรวจสอบ ยืนยันความถูกต้อง ของการบันทึกพันธุ์ประวัติ นอกจากนี้ยังใช้ในการตรวจสอบกลับ ผลผลิตเนื้อว่า มาจากสัตว์ตัวใด ในกรณีที่จะต้องมีการควบคุมคุณภาพการผลิตขนาดใหญ่ และในโครงการอาหารปลอดภัย

การใช้ ดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ (DNA – Assisted Selection)

ในช่วง 2 ทศวรรษ ที่ผ่านมา ได้มีการใช้ขบวนการทางสถิติ ร่วมกับการบันทึกพันธุ์ประวัติ และรายละเอียดของการทดสอบสมรรถภาพของลูก เพื่อประมาณค่าของคุณค่าทางพันธุกรรมของลักษณะทางเศรษฐกิจต่าง ๆ ที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ การใช้ขบวนการทางสถิติเหล่านี้ไม่สามารถบอกได้ว่ายีนตัวไหนควบคุมลักษณะอะไร การคัดเลือกพันธุ์จึงมีความยุ่งยาก ใช้เวลานาน และมีต้นทุนที่สูง กว่าที่จะคัดเลือกลักษณะที่ต้องการจากโคเพศนั้นได้ บางครั้งลักษณะนั้นจะแสดงออกเมื่อมีอายุมากแล้ว หรือตรวจวัดได้ต่อเมื่อไม่มีชีวิตอยู่แล้ว หรือเป็นลักษณะที่ ถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้น้อย ดังนั้นถ้าเราสามารถตรวจวัดศักยภาพของโคในการถ่ายทอดลักษณะต่างๆ จากดีเอ็นเอที่มีในตัวโคนั้นโดยตรง ก็จะช่วยให้เราสามารถในการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์โคได้อย่างมีคุณค่า รวดเร็ว แม่นยำ และมีประสิทธิภาพสูง

พันธุกรรมที่สามารถตรวจสอบลักษณะได้ด้วยผลจากยีนเดี่ยว ก็ง่ายที่จะพัฒนามาใช้งาน ลักษณะเหล่านี้ที่สามารถใช้การคัดเลือกจากดีเอ็นเอ เช่น การแปรปรวนของสลิฟ โรคทางพันธุกรรม และการเกิดกล้ามเนื้อมากกว่าปกติ (double muscling) แต่เรารู้ว่า เราจะสามารถตรวจสอบลักษณะที่ควบคุมโดยยีนหลายๆ ชนิดได้ โดยสามารถแยกกลุ่มโค

ที่แสดงออกลักษณะนี้ที่มากน้อยต่างกันออกมาได้ จนสามารถให้บริการเชิงธุรกิจได้แล้ว เช่น ยีนที่ควบคุมการเกิดไขมันแทรก (marbling) ยีนที่ควบคุมความนุ่มของเนื้อ (tenderness) ยีนที่ควบคุมการให้ผลผลิตเนื้อ (retail beef yield) และยีนควบคุมประสิทธิภาพการใช้อาหาร (feed efficiency)

9. สรุป

เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการขยายปรับปรุงพันธุ์ที่นำมาใช้กับโคบราห์มันในประเทศไทย นับว่าก้าวหน้าอย่างมาก และในอนาคตหากสามารถนำเทคโนโลยีทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ร่วมด้วย ก็จะทำให้การพัฒนาพันธุ์โคบราห์มันของไทยให้เป็นโคเนื้อที่มีศักยภาพสูงในเชิงการผลิตเนื้อ และเป็นพันธุ์โคต้นแบบสำหรับการเลี้ยงโคในภูมิภาคนี้อีกด้วย

10. เอกสารอ้างอิง

1. สุพจน์ ศรีนิเวศน์. 2550. ความเป็นมาของวัวอเมริกันบราห์มันในประเทศไทย. วารสารไทยบราห์มันฉบับครบรอบ 50 ปี โคบราห์มันในประเทศไทย. หน้า 45-58.
2. สรรเพชญ โสภณ เกรียงศักดิ์ ทาศรีภู ราชรี จินตนา และ สุริยา กิจสำเร็จ. 2549. เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอเพื่อการขยายปรับปรุงพันธุ์โคบราห์มันในประเทศไทย. การประชุมสัมมนาวิชาการเรื่อง “เทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอในโค”.ระหว่างวันที่ 1-2 กันยายน 2549 ณ ห้องพลอยไพลิน โรงแรมเวลกัมจอมเทียน บีช เมืองพัทยา และ เอส. เค. พัทยาเรนซ์ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี
3. Betteridge, K.J. 2006. Farm animal embryo technologies: Achievements and perspectives. Theriogenology 65: 905–913
4. Robl, J.M., Kasinathan, P., Sullivan, E., Kuroiwa, Y., Tomizuka, K., Ishida, I., 2003. Artificial chromosome vectors and expression of complex proteins in transgenic animals. Theriogenology 59, 107–113.
5. Seidel, G.E. Jr. 2007. Overview of sexing sperm. Theriogenology 68 :443–446.

Biotechnology of Goat in Thailand

น.สพ. ณรงค์ เลี้ยงเจริญ*

Biotechnology of Goat in Thailand



น.สพ. ณรงค์ เลี้ยงเจริญ
สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
กรมปศุสัตว์

1

การผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะ

2

ประโยชน์

๑. ลดต้นทุนการผลิตในการจัดหาและเลี้ยงพ่อพันธุ์แพะ
๒. ป้องกันโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ เช่น โรคแท้งติดต่อ
๓. พ่อพันธุ์แพะพันธุ์ดี สามารถถ่ายทอดพันธุกรรมไปได้อย่างกว้างขวาง
๔. ช่วยในการปรับปรุงพันธุ์และลดปัญหาการผสมเลือดชิด

วิธีดำเนินการ

๑. ใช้เทคนิคและวิธีการคล้ายกับในโค
๒. ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg York Tris แต่ต้องปั่นล้าง Seminal plasma ออกก่อน

3

พ่อพันธุ์แพะพันธุ์ดี

 ชาเนน 3-49	 ท็อกเก็นเบอร์ก 13-50	 เบอร์ 11-50
 อัลไพน์ 10-50	 เอ็งไคเลเนียน 5-49	

4

การเตรียมอุปกรณ์การรีดเก็บน้ำเชื้อ



เติมน้ำอุ่น , อัดอากาศ , หล่อลื่น

5

AV ที่พร้อมสำหรับการรีดเก็บน้ำเชื้อแพะ



* ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

การรีดน้ำเชื้อแพะ



สวม AV ที่สิ่งค้ำของท่อแพะ

ตั้ง AV ให้ตรงเพื่อให้น้ำเชื้อไหลลงหลอด

7

การรีดน้ำเชื้อแพะในป้อนับ



นำท่อพันธุ์แพะเข้าช่องเพื่อทำวนสะอาด

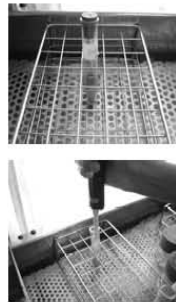
การรีดเก็บน้ำเชื้อจากท่อพันธุ์แพะ

8

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อสด



ตรวจปริมาตร, สี, ความหนืด,
Mass Movement, Progressive Motile



9

การปั่นเพื่อล้าง Seminal Plasma



เติมน้ำยาสำหรับปั่นล้าง



ปั่น 1,000 RPM 10 นาที

10

การวัดความเข้มข้นน้ำเชื้อ



เจือจาง 400 เท่า แล้วนับด้วย Haemocytometer

11

การเติมน้ำยาละลายน้ำเชื้อ



เติม Dilutor ที่มีไข่แดง 20 %



ใส่ในภาชนะที่มีน้ำหล่อภายนอก

12

การแช่เย็นเพื่อปรับสภาพน้ำเชื้อ



แช่น้ำเชื้อในตู้ควบคุมอุณหภูมิ
พร้อมกับอุปกรณ์ที่ใช้ในการบรรจุ



13

อุปกรณ์บรรจุหลอด



14

การบรรจุหลอด



15

การบรรจุหลอด (ต่อ)



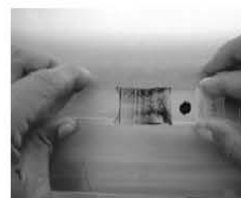
16

การแช่แข็งน้ำเชื้อ



17

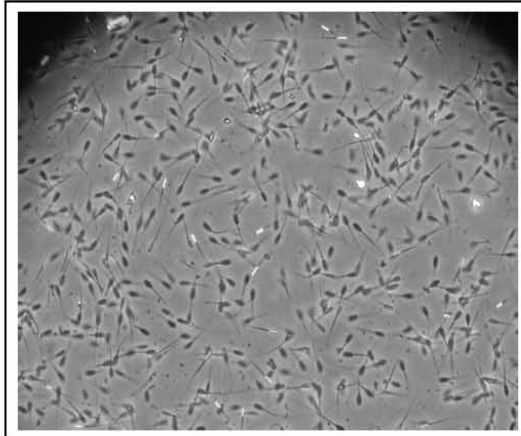
การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง



การย้อมสีดูตัวเป็นตัวตาย

การตรวจเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว

18



ผลการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะ

ปัจจุบันมีน้ำเชื้อแช่แข็งแพะที่ใช้บริการผสมเทียมให้กับแพะของเกษตรกร
ทั้งหมด ๕ พันธุ์ คือ

๑. พันธุ์ซานน(ผลิตได้เฉลี่ย ๔๐ โค้ส/ตัว/ครั้ง)
๒. พันธุ์แดงโกลนุเบียน(ผลิตได้เฉลี่ย ๒๐ โค้ส/ตัว/ครั้ง)
๓. พันธุ์อัลไพน์(ผลิตได้เฉลี่ย ๑๕ โค้ส/ตัว/ครั้ง)
๔. พันธุ์บอร์(ผลิตได้เฉลี่ย ๒๐ โค้ส/ตัว/ครั้ง)
๕. พันธุ์ที่ออกกัมบอร์ว(ผลิตได้เฉลี่ย ๑๕ โค้ส/ตัว/ครั้ง)

20

การผสมเทียมแพะ

21

การเป็นสัดในแพะ

การเป็นสัด คือ อาการที่สัตว์เพศเมียมีความ
ต้องการทางเพศ และยินยอมให้สัตว์เพศผู้ขึ้นทับ ใน
ประเทศไทยแพะเพศเมียจะมีวงจรของการเป็นสัดทุกๆ
19 – 21 วัน และเป็นสัดอยู่นาน 2 – 3 วัน และ
ไข่จะตกในเวลาใกล้เคียงหมดสัด คือ ช่วงกลาง หรือ
ปลายวันที่สอง หรือประมาณ 12 – 36 ชั่วโมง
หลังจากที่เริ่มเป็นสัด

22

อาการเป็นสัดในแพะตัวเมีย

มีดังนี้

- ยืนนิ่งให้ตัวอื่นขึ้นขี่
- กระวนกระวาย ส่งเสียงร้องหาตัวผู้ และจะวิ่งไปหาตัวผู้
- อวัยวะเพศบวมแดง
- มีน้ำเมือกไหลออกมาจากช่องคลอด
- เหว่งหรือกระดิกหางเป็นจังหวะ
- ไม่ค่อยกินอาหาร และแพะที่กำลังรีดนมจะมีอาการนมลด

23

เวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียมแพะ

หลังพบแพะเพศเมียยืนนิ่งจะดำเนินการผสมเทียม 2 ครั้ง คือ

1. ครั้งแรก ผสมเทียม 12 ชั่วโมงหลังพบยืนนิ่ง
2. ครั้งที่สอง ผสมเทียม 24 ชั่วโมงหลังพบยืนนิ่ง

และถ้าหลังการผสมเทียมครั้งที่สองแล้ว วันรุ่งขึ้นยังพบว่าแพะ
เพศเมียดังกล่าวยืนนิ่งอีก ก็ให้ผสมเทียมครั้งที่สามด้วย

24

การผสมเทียมแพะ โดยใช้ปืนฉีดน้ำเชื้อสอดผ่านทางช่องคลอด

- ใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการเป็นสัด แล้วผสมเทียม ๒ ครั้ง
ที่ ๔๘ และ ๗๒ ชั่วโมงหลังถอด CIDR-G
- ผสมเทียมโดยสอดปืนเข้าไปให้ลึกที่สุด
- อัตราการผสมติด ประมาณ ๔๐ %

25



การใช้แพะตัวผู้ที่ตอนแล้ว ตรวจสอบการเป็นสัด

26



ขั้นตอนการผสมเทียมแพะ

28

1. นำแพะตัวเมียที่เป็นสัดเข้าของบังลัม



2. ใช้อุปกรณ์ถ่างช่องคลอด สอดเข้าทางช่องคลอด



3. ใช้ไฟฉายส่องดูปากคอมดลูก



4. สอดป้อนฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในช่องคลอด



5. สอดป้อนฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในคอมดลูก



6. ฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในคอมดลูกหรือตัวมดลูก



การตรวจท้องแพะด้วยเครื่องอัลตราซาวด์



ฝูงลูกแพะที่เกิดจากการผสมเทียม



ลูกแพะอายุ 2 เดือน ที่เกิดจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง
พันธุ์ซาเนนในแม่แพะของเกษตรกร

37

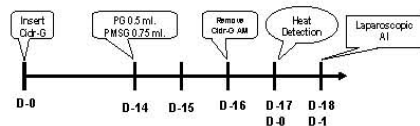
การผสมเทียมแพะโดยใช้ Laparoscope

- ผสมเมื่อแพะแสดงอาการเป็นสัดนิ่งมาแล้ว 24-36 ชั่วโมง
- ต้องอดอาหารแพะ 12 ชั่วโมงก่อนผสมเทียม
- ใช้วิธีผ่าตัด โดยการเจาะที่ผนังช่องท้องเหมือนกับ
การย้ายฝากตัวอ่อน
- ใช้ยาซึมเพื่อช่วยควบคุมแพะให้สงบ
- อัตราการผสมติด 50 - 60 %
- ผู้ปฏิบัติงานต้องมีความชำนาญและมีทีมงานที่พร้อม

38

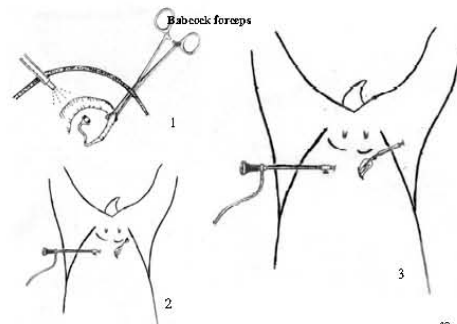
Synchronization for AI Goat

- Implant Progesterone 16 days (Cidr-G)
- PG 175 μ g. (0.5 ml. Estrumate)
- PMSG 150 IU (0.75 ml. Folligon)



39

Laparoscopic AI diagram



40

Laparoscopic AI



ใช้เข็มแทงเจาะทะลุปลายปีกมดลูก
เข้าโพรงมดลูก



ใช้ Tomcat Catheter
ปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปในปีกมดลูก

41



การย้ายฝากตัวอ่อนในแพะ

43

ประโยชน์

๑. ใช้ผลิตแพะพันธุ์แท้
๒. ใช้ขยายพันธุ์แพะที่มีพันธุกรรมดี

วิธีดำเนินการ

ใช้วิธีการแบบผ่าตัด โดยเทคนิคการเจาะฝากกลางหน้าท้อง ซึ่งต้องใช้กล้อง Laparoscope ตรวจสอบการตอบสนองของรังไข่ก่อน

44

การผลิตตัวอ่อนแพะ (Embryo Production)

- คัดเลือกแม่แพะและพ่อแพะที่จะใช้ในการผลิตตัวอ่อน
- จัดโปรแกรมการให้นม นํ้าการเป็นสัดและการกระตุ้นการตกไข่หลายใบ
- ผสมพันธุ์โดยใช้พ่อพันธุ์ผสมจริง/ผสมเทียม
- เก็บตัวอ่อนหลังจากผสมพันธุ์แล้ว 7 วัน โดยวิธีการผ่าตัด
- คัดเลือกและประเมินคุณภาพตัวอ่อน
- แช่แข็งตัวอ่อน/ย้ายฝากตัวอ่อนต่อ

45

การคัดเลือกพ่อและแม่พันธุ์แพะ

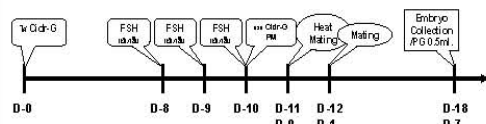
- เป็นแพะที่มีพันธุกรรมดีตามสายพันธุ์
- มีสุขภาพดี ไม่เป็นโรคที่ติดต่อทางการสืบพันธุ์
- มีความสมบูรณ์พันธุ์
- แม่แพะตัวให้ควรเป็นแม่แพะดีกว่าแพะตัว



46

Synchronization and Superovulation Program

- Cidr-G 10 days
- FSH 200 mg. AM-PM for 3 days



47

การเก็บตัวอ่อนจากแม่แพะตัวให้

- เก็บหลังจากเริ่มผสมพันธุ์ 7 วัน (Day 7)
- เจาะช่องท้องเพื่อตรวจดู CL ก่อนการผ่าตัด โดยใช้ Laparoscope
- เก็บตัวอ่อนโดยใช้วิธีการผ่าตัดเปิดผ่าช่องท้อง (Ventral Midline)
- นับจำนวน CL เพื่อดู Recovery Rate
- เก็บตัวอ่อนแต่ละข้างของปีกมดลูก โดยใช้ Foley Catheter
- ชะล้างตัวอ่อนโดยใช้ Flushing Media ข้างละ 40 ml.
- แช่ปิดบาลแผลผ่าตัด

48

การเก็บตัวอ่อนแพะ



การใช้ Laparoscope เพื่อ CL

นับจำนวน CL บนรังไข่แต่ละข้าง

49

การเก็บตัวอ่อนแพะ (ต่อ)



ใส่ Forley Catheter ในปีกมดลูก



ใส่ IV Catheter เจาะด้านปลาย
Tip Horn

50

การเก็บตัวอ่อนแพะ (ต่อ)



ใส่ Flushing Media ฉีดน้ำเข้าที่
ด้านปลาย Tip

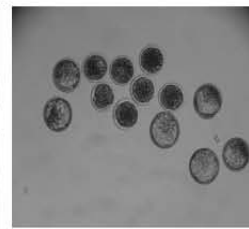


Flushing Media ไหลออกจาก
Foley Catheter มีหลอดรับน้ำ

51

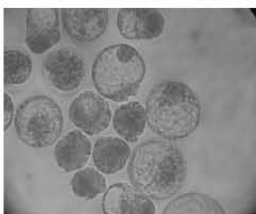
การตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน

- ใช้กล้อง Stereo Microscope



52

ตัวอ่อนแพะที่เก็บจากแม่แพะตัวให้



53

ผลการดำเนินงาน

- แม่แพะตัวให้สามารถเก็บตัวอ่อนได้ไม่เกิน ๓ ครั้ง
- เฉลี่ยได้ตัวอ่อนคุณภาพดี ๑๑ ตัวอ่อน/ตัว/ครั้ง
- ศูนย์ฯ ชีวฝากตัวอ่อน สามารถผลิตตัวอ่อนแพะพันธุ์แท้ได้มากกว่า ๓๕๐ ตัวอ่อน/ปี

54

การแช่แข็งตัวอ่อน

- ใช้ Ethylene Glycol
- Ministraw 0.25 ml.



55

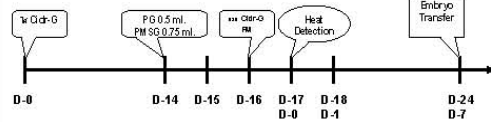
การย้ายฝากตัวอ่อนแพะ (Embryo Transfer)

- คัดเลือกแพะที่จะฝากตัวอ่อน เป็นแพะสาวหรือแม่แพะที่มีความสมบูรณ์พันธุ์
- จัดโปรแกรมการให้นมและการเป็นสัตว์
- ฝากตัวอ่อนหลังจากเป็นสัตว์นิ่งมาแล้ว 7 วัน โดยวิธีเจาะช่องท้องฝาก
- ตรวจท้องหลังจากฝากตัวอ่อนแล้ว 38 วัน (Day 45)

56

Synchronization for Recipient

- Cidr-G 16 days
- PG 0.5 ml. (Estrumate)
- PMSG 0.75 ml. (Folligon)



57

การฝากตัวอ่อนแพะ



แพะตัวรับพันธุ์ผสม



เจาะตรวจดู CL โดยใช้ Laparoscope

58

การฝากตัวอ่อนแพะ (ต่อ)



ใช้ Babcock Forceps คีบปีกมดลูกด้านที่มี CL



ดึงออกมาข้างนอกช่องท้อง

59

การฝากตัวอ่อนแพะ (ต่อ)



ใช้เข็มแทงทะลุรูปลายปีกมดลูก เข้าโพรงมดลูก



ใช้ Catheter ป้อนตัวอ่อนเข้าไปในปีกมดลูก

60

การตรวจท้อง



ตรวจท้องแพะ อายุ 32 วัน



61

ผลการดำเนินงาน

- การฝากตัวอ่อนสด
มีอัตราการผสมติดประมาณ ๗๐ %
- การฝากตัวอ่อนแช่แข็ง
มีอัตราการผสมติดประมาณ ๖๐ %

62

การย้ายฝากตัวอ่อนในฟาร์มเกษตรกร



ฟาร์มพระราดำริ
จังหวัดอ่างทอง



ศูนย์ศึกษาพัฒนาฯ
หัวข่อยไกร จังหวัดเชียงใหม่

63

การย้ายฝากตัวอ่อนในฟาร์มเกษตรกร



มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน



ฟาร์มเกษตรกร
จังหวัดกาญจนบุรี

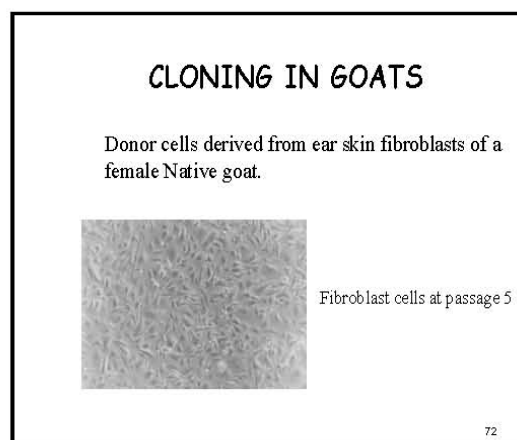
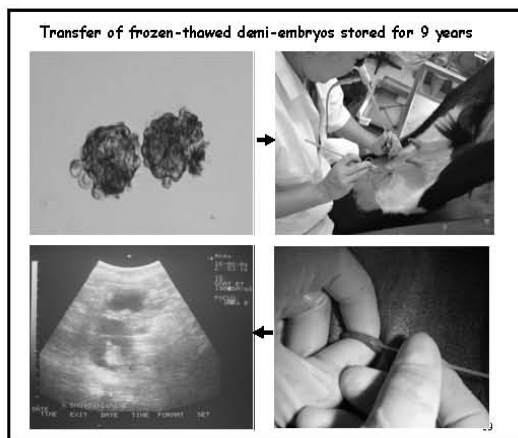
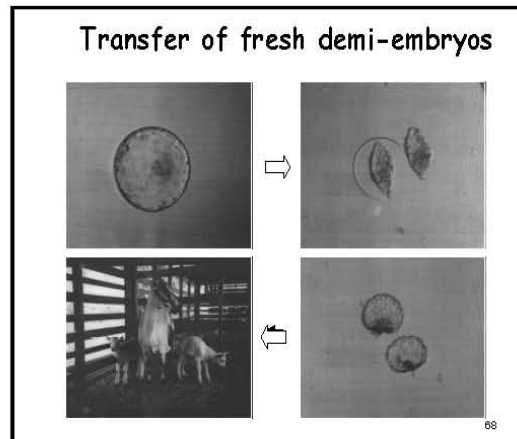
64

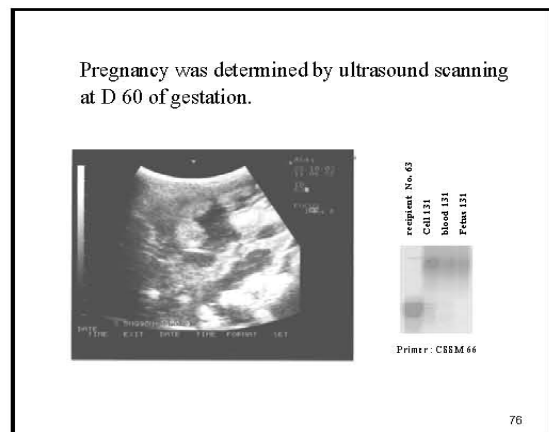
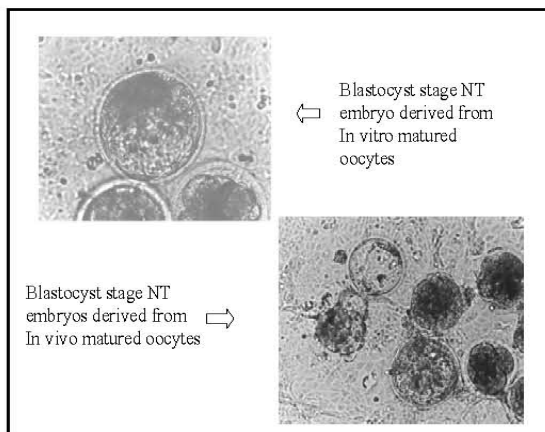
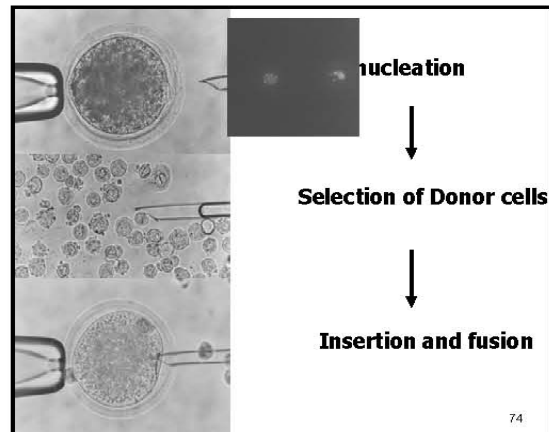
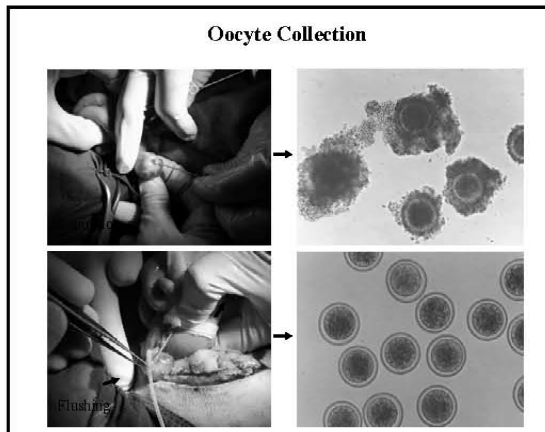
ลูกแพะที่เกิดจากการย้ายฝากตัวอ่อน



ลูกแพะที่เกิดจากการย้ายฝากตัวอ่อนในฟาร์มเกษตรกร

66





Update on Private Sector's Research and Development Activities for Livestock Production

น.สพ. รุจเวทย์ ทหารแกสัว (Rutjawate Taharnklaew) *

1. Introduction

Agricultural system in Thailand has been developed for several decades from the past to present. Formerly traditional agriculture was a system that the people produced agricultural products for their living and much depended on the nature. Exchange and trading of agricultural products was usual once supply was over demand. The system then changed from variety production for a living into more commercialization. This was due to the revolution in 1960 with a replacement of labor force by machineries, discoveries of chemical fertilizer and others. These changes have resulted in higher yield, easy harvesting, reduction of cost per unit and etc.

Livestock production is a part of agricultural system in Thailand that has the same revolution. Poultry and swine farming for examples have changed over the time from the backyard system into intensive farming. At present the livestock farming in Thailand is quite a modern compare to international standard. However, Thailand in general consumes technology more but invent less.

2. Why Private Sector Needs Research and Development (R&D)?

Thailand's needs for technological competences have become more pressing as the country loses its cheap labor advantage and confront new competitive pressures. The reinforcing factors mentioned is Thai industry has historically shown little interest in innovation and R&D. Also, Thai firms generally do not exhibit high levels of collective organization devoted to improving competitiveness. In part as a result, firms have traditionally not reached out to educational institutions (Brimble P., Doner R.F., 2006).

In short, to make it works the top management of the firms has to be realized the importance of R&D as one of their competitive strategies for the future growth of core businesses.

3. Strategies and key Success Factors

Once the firm has made decision on pursuing R&D activities, it has to proceed strategically through one of the following:

1. Technology Acquisition through Strategic Partnerships.
2. Building up a connection with R&D institutes and universities
3. Building up R&D capabilities within the firm

However, the firm might pursue one or all of the above strategies by using phase approach to achieve the goals.

* ศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโกร จำกัด

Key success factors of R&D are:

1. Top executives need to commit and support on any R&D activities
2. The firm has to address the R&D direction what to do/not to do
3. The objectives of R&D's activities must be aligned with the firm's business directions which will aim for outputs in 5 categories i.e. cost down, value added, new product, product differentiation and new knowledge.
4. The R&D projects must be evaluated financially and/or non-financially
5. Capability of the firm to build up linkage with institutions and/or universities
6. Resources allocation

4. Private Sector's Research and Development Activities for Livestock Production

1. **Biotechnology:** Professor Dr. Yongyuth Yuthawong has addressed in an article once that the most beneficial biotechnology in the future is to develop breeds of selected plant and animal in order to increase yield of food production for the world population. Molecular genetic, DNA marker are examples of the key areas for R&D projects.

2. **Food science & Food Technology:** The focus will go toward the safety of food produced as a top priority. Risk analysis and traceability of contaminants in food are key components. The new technology on food processing is then followed.

3. **Meat science:** Thailand produces food animals, processes and exports to many countries worldwide. However, the knowledge and R&D project under meat science area is quite limited.

4. **Material science:** This area is increasingly important for not only livestock products but also agricultural products as a whole. Active packaging and smart packaging are some of the examples.

5. Conclusion:

It is time for private sector, livestock, in particular to be interested in incorporating R&D into the firm's major activities. However, top management of the firm should have a vision, commitment and putting R&D into the firm's strategies. Industry-University linkage is one of the important key success factors that the firm can initiate and start R&D activity. The firms should change the mindset and open to the new things. By using the mechanisms through governmental supports, the firm will take a lower risk.

6. เอกสารอ้างอิง

1. Brimble, P., Doner, R.F., (2006) University – Industry Linkages and Economic Development: The Case of Thailand
2. อานัฐ ตันโช (2006) เกษตรกรรมชาติประยุกต์ หลักการ แนวคิด เทคนิคปฏิบัติในประเทศไทย
3. ศ.ดร.ยงยุทธ ยุทธวงศ์: เทคโนโลยีชีวภาพ – โอกาสทองของไทย, www.learn.in.th

BETAGRO

Faculty of Veterinary Medicine
Mahasarakham University of Technology

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 2
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

**Update on private sector's
research and development activities
for livestock production**

น.สพ. รุจเวทย์ ทหารเอกสิทธิ์ DVM, EMBA
บริษัท ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพปศุสัตว์ จำกัด

วันที่ 29 พฤศจิกายน 2551

BETAGRO

Presentation outline

- Introduction
- Why private sector needs R&D
- Strategies and Key success factors (KSF)
- R&D activities for Livestock production
- Conclusion
- Q & A

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 51

BETAGRO

Introduction

Traditional agriculture	Modern agriculture
• Produce for a living and barter trade • Labor force • Cost not concern • Backyard system • Technology not concern • R&D not concern • Depend on nature	• Produce for commercialization • Machineries, chemical etc • High yield, easy harvesting, low cost • Intensive farming • Technology needed • R&D needed • Sustainability

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 51

BETAGRO

Why private sector needs R&D

- Globalization / Free trade
- Manufacturing base / R&D base
- Technological competences
- Competitive pressure
 - Lost of cheap labor advantage
 - Cost sensitive
 - Productivity
 - Management
- Competitive advantages → country? Firms?
- Competitiveness
- Shown little interest in innovation and R&D
- Weak linkage between Industry and university

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 51

BETAGRO

**ขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศไทย
ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**

สถาบันนานาชาติเพื่อพัฒนาการจัดการ
International Institute for
Management Development (IMD)

จัดอันดับความสามารถในการแข่งขันของประเทศไทยทั่วโลก ต่อเนื่องทุกปี
โดยประเมินจาก 4 ปัจจัยหลัก ได้แก่

1. สมรรถนะด้านเศรษฐกิจ (Economic Performance)
2. ประสิทธิภาพของภาครัฐ (Government Efficiency)
3. ประสิทธิภาพของภาคธุรกิจ (Business Efficiency)
4. สานโครงสร้างพื้นฐาน (Infrastructure)

Update on Private Sector's Research and Development Activities for Livestock Production

BETAGRO

**ขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศไทย
ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**

Thailand Competitiveness 2006
Thailand Competitiveness 2007

IMD World Competitiveness Yearbook 2006, 2007

BETAGRO

Strategies and Key success factors

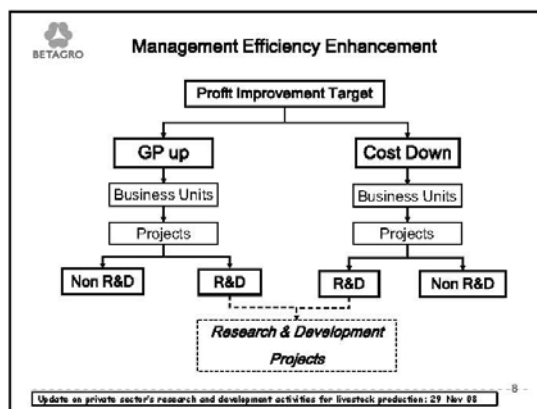
Strategies:

- Technology acquisition through strategic partnerships
- Building up a connection with R&D institute and universities
- Building up R&D capabilities within firm

Key success factors:

- Commitment and support from top executives
- R&D direction need to be addressed and align with corporate direction
- R&D objectives
- R&D evaluation
- University-Industry linkage
- Resources allocation

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08



BETAGRO

Focused Areas of R&D

By Objectives	By Types of Work
- Cost down - Value Added - Differentiation - New Product - New Knowledge Note: R&D Projects under objectives 1-4 ⇒ Financial return R&D Projects under objective 5 ⇒ Knowledge / Platform for future businesses	- Biotechnology Research - Fermentation, Feeding Enzyme, Probiotic, Prebiotic, Application of Molecular techniques in animals - Food & Livestock Research - Starch, Meat science, Functional food, Breeding & Selection using Marker Assisted Selection - Animal Pharmaceutical Research - Encapsulation techniques, Application of Nanotechnology - Others (that related to core businesses) - Chitin-Chitosan, Packaging materials

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08

BETAGRO

R & D Network

National Science and Technology Development Agency (NSTDA)

- National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC)
- National Metal and Materials Technology Center (MTEC)
- National Nanotechnology Center (NANOTEC)

University

- Asian Institute of Technology
- Chiangmai University
- Kasetsart University
- King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
- King Mongkut's University of Technology Thonburi
- Chulalongkorn University

R&D Institute and Funding Agency

- Commission on Higher Education
- National Research Council of Thailand (NRCT)
- Thailand Research Fund (TRF)

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08

BETAGRO

Update on R&D activities for Livestock production

- Biotechnology**
 - Breeding and selection of plant and animal
 - increase yield of food production
 - world population
 - Molecular genetic
 - DNA marker
 - Marker assist selection (MAS)
- Food science & Food technology**
 - Food safety
 - Risk analysis (Risk assessment, risk communication, risk management)
 - Traceability of food contaminants
 - New technology in food processing

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08

BETAGRO

Update on R&D activities for Livestock production

- Meat science**
 - Physical properties of meat
 - Chemical properties of meat
 - Functional meat
 - Healthy meat
- Material science**
 - Active packaging
 - Smart packaging
 - Modified atmosphere packaging

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08

BETAGRO

Conclusion

1. Private sector needs to incorporate R&D activities into their business strategies
2. Top management of the firm needs to have a clear vision & missions and convey to the employees
3. The firm needs to allocate resources i.e. people, money for their R&D activities
4. University-Industry linkage is one of the key success factors to start and initiate R&D activities
5. By using the mechanisms through government supports, the firm will take a lower risk

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08 13

BETAGRO

References

- Brimble, P., Doner, R.F., (2006) University – Industry Linkages and Economic Development: The Case of Thailand
- อานัฐ ตันโช (2006) เกษตรกรรมชาติประยุกต์ หลักการ แนวคิด เทคนิคปฏิบัติในประเทศไทย
- ศ.ดร.องอาจ อุทรวงศ์: เทคโนโลยีชีวภาพ — โอกาสของไทย, www.jeom.in.th

Update on private sector's research and development activities for livestock production: 29 Nov 08 14

BETAGRO

For more information

Please contact

Dr. Rutjawate Tahamklaew DVM, EMBA
E-mail: rutjawate@betagro.com

Betagro Science Center Co., Ltd.
Thailand Science Park
136 Moo 9, Klong Nueng,
Klong Luang, Pathumthani 12120
THAILAND
Tel. 662 5647932-40
Fax 662 5647941
Website: <http://www.bsc-lab.com>

15

BETAGRO

**Thank you
for your attention**



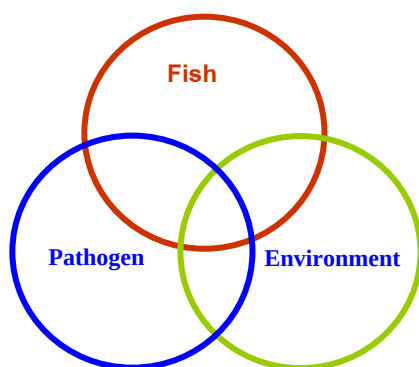
การตรวจวินิจฉัยโรคทางคลินิกในปลาสวยงาม

Clinical Diagnosis for Ornamental Fish

น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิริกุล *

ปลาสวยงามจัดเป็นสัตว์น้ำกลุ่มที่มีการเพาะเลี้ยงและนิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เนื่องมาจากความหลากหลายของสายพันธุ์ที่เป็นเสน่ห์จำเพาะของปลาชนิดนั้นๆ ประกอบกับการดูแลที่สามารถทำได้ไม่สลับซับซ้อน การดูแลสุขภาพปลาสวยงามจึงมีความน่าสนใจเพิ่มมากขึ้น

การดูแลสุขภาพสัตว์น้ำมีหลายสิ่งที่คล้ายคลึงสัตว์บก กล่าวคือ ควรทราบปัจจัยต่างๆ ที่ประกอบด้วย ข้อมูลเกี่ยวกับตัวปลา (Fish) ข้อมูลเกี่ยวกับสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen) และข้อมูลเกี่ยวกับสภาพแวดล้อม (Environment) ซึ่งข้อมูลทั้งสามอย่างมีความสำคัญอย่างยิ่งในการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติหรือโรค (Diseases) ที่เกิดในปลาสวยงาม กล่าวคือหากขาดความสมดุลทั้งในส่วนของตัวปลา สภาพแวดล้อม และสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค จะทำให้สภาวะความผิดปกติเกิดขึ้นดังภาพที่ 1 ดังนี้



ภาพที่ 1 : ความสัมพันธ์ระหว่างตัวปลา (Fish) สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen) และสภาพแวดล้อม (Environment)

สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคในปลาสวยงามสามารถทำได้ โดยอาศัยลักษณะอาการทางคลินิกที่ตรวจพบ หรืออาจร่วมการผ่าชันสูตรซาก ทั้งนี้สิ่งที่สำคัญประการหนึ่งสำหรับการผ่าชันสูตรจะต้องทำอย่างรวดเร็วเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดภาวะเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ (Post-mortem change) ดังนั้นการตรวจหาสาเหตุความผิดปกติจึงควรกระทำขณะที่ปลายังมีชีวิตอยู่จึงจะได้ข้อมูลในการสืบสวนโรคได้ใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุด

การซักประวัติ (History taking or Anemnesis) ปลาควรกระทำอย่างรอบคอบ และครอบคลุมทุกด้าน เช่น การเลี้ยงดูในสถานที่ต่างๆ อาจเป็นผู้เลี้ยงตั้งแต่ขนาดเล็ก หรือเพิ่มขนาดเป็นบ่อขนาดใหญ่ รวมทั้งตำแหน่งที่ตั้ง นอกจากนั้นควรรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับชนิดและจำนวนปลาที่เลี้ยงอยู่ร่วมกัน ลักษณะอาการความผิดปกติที่เจ้าของพบ ระยะเวลาที่อาการเหล่านั้นได้ปรากฏ นอกจากนั้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องระบบการบำบัดคุณภาพน้ำทั้งส่วนที่ผ่านระบบการกรอง (Filter system) และการเปลี่ยนถ่ายน้ำ (Water exchange) มีความจำเป็นในการรวบรวมใช้เป็นข้อมูล

* คลินิกสำหรับสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

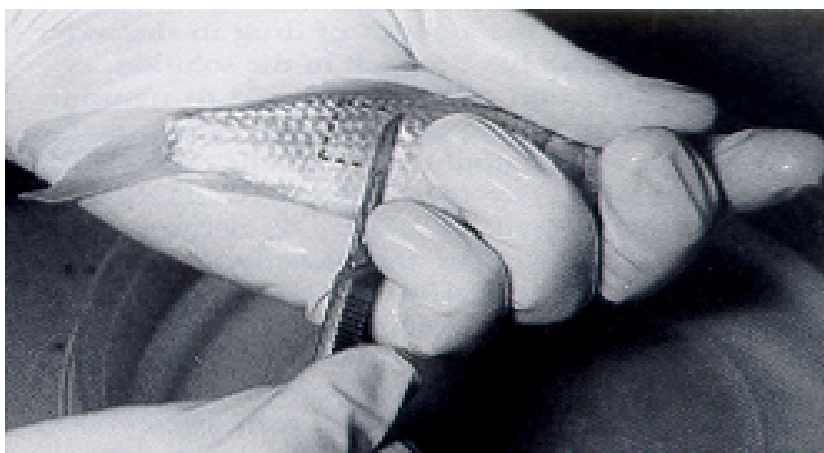
ประกอบการวินิจฉัยอย่างยั้ง ขณะทำการซักประวัติควรทำการสังเกตตัวปลาไปด้วย โดยพิจารณาพฤติกรรมการว่ายน้ำ ลักษณะลำตัวและสีผิว รวมทั้งการหายใจ

การควบคุมปลา (Fish restraint) ให้ปลอดภัยสำหรับการตรวจ มีความจำเป็นอย่างยิ่งใน การเข้าสู่การตรวจตัวปลา (Physical examination) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ขนาดของตัวปลา อาการและรอยโรคที่พบ โดยสามารถควบคุมประกอบการใช้อุปกรณ์ ที่ใช้ในการจับตัวปลาที่มีความสะอาดและชุ่มชื้น ในกรณีที่จำเป็นพิจารณาการทำสลบ (Fish anesthesia) ร่วมด้วย สำหรับการเลือกใช้สารทำสลบ (Anesthetic agent) ควรระมัดระวังการละลายได้ของสารทำสลบในน้ำที่ใช้ในการทำสลบ คุณภาพของน้ำที่อาจมีการเปลี่ยนแปลง รวมถึงการเข้าสู่ภาวะสลบ (Anesthetic stage) ของปลา ซึ่งแบ่งเป็นระดับต่าง ๆ ดังนี้

ตารางที่ 1. การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมปลาในการเข้าสู่ภาวะสลบ

ระดับการสลบ	พฤติกรรมปลาที่เปลี่ยนแปลง
ระดับที่ 1	สูญเสียการทรงตัวบางส่วน ลักษณะการว่ายน้ำผิดปกติ
ระดับที่ 2	สูญเสียการทรงตัวทั้งหมด ส่วนลักษณะการว่ายน้ำผิดปกติ
ระดับที่ 3	เริ่มมีลักษณะการว่ายน้ำผิดปกติ
ระดับที่ 4	สูญเสียการว่ายน้ำ นอนตะแคง แผ่นปิดเหงือกเคลื่อนช้าลง
ระดับที่ 5	ไม่มีการเคลื่อนไหวของแผ่นปิดเหงือก

การตรวจตัวปลา (Physical examination) สามารถทำการเก็บตัวอย่างสำหรับการตรวจหาปรสิตภายนอก โดยการขูดเมือกลำตัว (Mucous scraping) การเก็บตัวอย่างจากเหงือก (Gill biopsy) และการเก็บชิ้นส่วนของครีบ (Fin clipping) รวมทั้งการนำตัวอย่างจากอวัยวะมาตรวจหาปรสิตภายใน โดยการขูดเมือกลำตัวสามารถเก็บตัวอย่างได้จากบริเวณรอยโรค หรือบริเวณที่มีการเคลื่อนไหวน้อย เช่น บริเวณใต้ครีบโดยการใส่ใบมีด ดังภาพที่ 2 และโดยการใช้แผ่นปิดสไลด์ ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 2. การขูดเมือกลำตัว (Mucous scraping) โดยการใช้ใบมีด



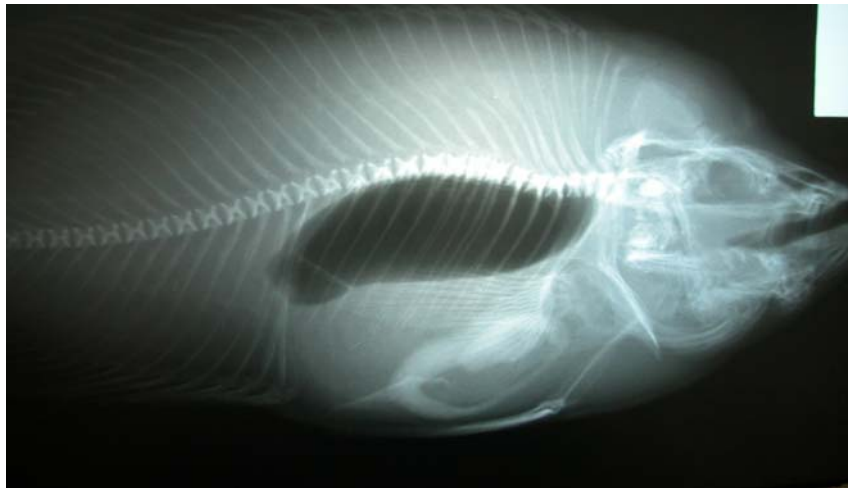
ภาพที่ 3. การขูดเมือกลำตัว (Mucous scraping) โดยการใช้แผ่นปิดสไลด์

ส่วนการเก็บตัวอย่างจากเหงือก (Gill biopsy) สามารถทำได้โดยใช้แผ่นปิดสไลด์หรือใช้กรรไกรขนาดเล็กเก็บชิ้นส่วนของซี่เหงือก (Gill lamellae) โดยระมัดระวังการทำลายซี่เหงือกเกินความจำเป็น ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4. การเก็บตัวอย่างจากเหงือก (Gill biopsy) โดยการใช้กรรไกรขนาดเล็ก

การตรวจร่างกายโดยการเก็บตัวอย่างจากแต่ละส่วนบางครั้งอาจได้ข้อมูลประกอบการการวินิจฉัยหาสาเหตุของความผิดปกติไม่เพียงพอ จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคส่วนอื่นประกอบ เช่น การตรวจสอบอวัยวะภายในด้วยการถ่ายภาพรังสี (X-Ray) ซึ่งช่วยให้ทราบรายละเอียดของอวัยวะภายในมากขึ้น ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5. การตรวจสอบอวัยวะภายในปลาด้วยการถ่ายภาพรังสี (X-Ray)

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (Water analysis) ควรทำการตรวจร่วมด้วยสำหรับประกอบการวินิจฉัยหาความผิดปกติในปลา โดยแบ่งเป็นการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ (Physical parameter water quality analysis) และการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี (Chemical parameter water quality analysis)

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพที่จำเป็น ควรทำการตรวจอุณหภูมิ (Temperature) ความขุ่น (Turbidity) ความโปร่งแสง (Transparency) ส่วนการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมีที่จำเป็น ควรตรวจระดับของเสียในรูปไนโตรเจน (Nitrogen wastes) คลอรีนที่ตกค้าง (Chlorine residue)

เอกสารอ้างอิง

1. Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier. Science Publisher, Amsterdam
Netherland. 318pp.
2. Noga E. T. 1995. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Mosby, St. Louis. 367pp.
3. Sniezko, S.F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. Journal of
Fish Biology. 6:197-208.
4. Stoskopf M. K. 1993 Fish Medicine. W.B.Sauders Company, Pennsylvania. 822pp
5. Thosen J. C. 1994 Blue book Suggested Procedure for the Detection and Identification of Certain Finfish and
Shellfish Pathogens American Fisheries Society Maryland. 259pp.

Clinical Management in Exotic Pets: The Practice in Clinic

น.สพ. วีรพันธ์ นกแก้ว *

สพ.ญ. วราดี พุทธิโกสัย *

1. Basic Requirements for the Avian Practice

Those items required to practice avian medicine at an acceptable basic standard include:

1. Towels. For the examination and handling of birds. A new, clean towel should be used for each bird to prevent the possibility of disease spread.

2. Digital scales. These scales are required in order to record accurate weights of all avian patients. This is not only essential for accurate dosing with medicaments or injectable anaesthetics, but also enables weight loss or gain to be monitored.

3. Insulin syringes or other low-dose syringes. These should allow small but accurate dose of drugs to be administered. The needle used should also be smallest available that allows administration, to reduce the trauma involved in the injection process.

4. Paediatric blood tubes and swabs. It is inappropriate to place small blood samples in standard mammalian blood tubes. Where it is necessary to take swabs from small areas the use of paediatric or nasopharyngeal swabs is advised, as the head of the swab is smaller than that of a standard bacteriological swab and allows more accurate sampling.

5. Cages. These are essential for the confinement of birds, especially during periods of hospitalization. Although not a basic requirement, it is advantageous to have a cage that can be used for nebulization of any bird with respiratory disease.

6. Nets. These should have a net suitable for the species likely to be encountered (several sizes). The availability of suitable net will greatly help in recapturing the escaped patient, and also substantially reduce the chances of injury associated with the capture process.

7. Heat. An appropriate supply of additional heat is frequently required for the sick bird. Suitable heating sources may range from dedicated hospital cages with built-in heating and thermostats to an infrared heat lamp pointed at a cage.

8. Crop tubes. For many avian species it is advantageous to use a mental crop tube to reduce the risk of cutting through plastic tubing and thus avoid the need to retrieve part of the tube from the oesophagus or crop – or worse still, surgical retrieval.

9. Spinal needles. These are essential for the provision of intraosseous fluid therapy. Although it is possible to use standard hypodermic needles, they will frequently be blocked with osseous material.

* คลินิกสำหรับสัตว์ป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

10. Microscope. Access to a microscope is essential to allow the investigation and diagnosis of many avian conditions. For example, whenever a bird passes a faecal sample this should be evaluated by performing a direct smear and a Gram's stain.

11. A library and access to further information. All practices should have a basic in-house library. It is not essential for every practice to have all the avian textbooks or publications, but it is vital to know how to obtain further information.

12. Isoflurane. This is an essential basic requirement for safe avian anaesthesia.

13. Trained staff. Although it is accepted that almost all veterinary practices have trained nurses/technicians, these staff may not be experienced in the handling, care and treatment of avian patients. Any practice that intends to hospitalize and treat avian patients should ensure that staff are trained in the basics of handling, administering medication and the nutrition requirements of the common species.

2. Taking the History and Performing a Physical Exam

History

- adequate history
- allow more time obtaining a history

Presenting Complaint

- How long has this been going on?
- When did it start?
- Is it progressive/getting worse?
- Are any other birds/animal/people sick?

The Bird

- How old is the bird?
- How was it obtained?
- Quarantined?
- Vaccinated?
- How long have you owned it?
- Have there been any previous problem?
- What is the diet?
- How much and what kind of food are offers?
- Are supplements offers?
- Is fresh water available at all times?
- Does the bird bathe?

- What is the personality of the bird?
- Has the bird's attitude change?
- Has the voice change?
- Has the weight change?
- When was the last molt?
- Has there been a change in droppings?
- Has the bird been given any medications?

The Cage and Environment

- Is this the bird's regular cage or is this a travel cage?
- Where was the cage obtained?
- Does it have silver-or gold-toned metal?
- If painted or powder coated, what is its color?
- Is it chipping?
- What type of substrate is used?
- How often is it changed?
- How often are bowls cleaned?
- What are they made of?
- Is the bird kept indoors or outdoors?
- What is the light cycle?
- Are there other animals in the household?
- Is this bird housed alone or with another bird?
- When was the last bird added to this collection?

Physical Exam

- Examine as much as possible from a far
- The cage, substrate, droppings, food dishes, perches, and toys
- The bird's behavior, attitude, posture, breathing, symmetry of face, body, and wings, skin and feather quality, and neurological status
- A physical exam can be performed with the bird restrained in a towel

Abnormalities That Can Be Identified in a Physical Exam

- Head/////lack of symmetry, bruising, swelling
- Eyes///// lack of symmetry, discharge, opaque lens, blood
- Beak///// lack of symmetry, elongated, severe flaking, fractures

Ears/////closed meatus, discharge, odor

Nares///// lack of symmetry, discharge, mass, debris, bloods

Skin/////Excess flaking, pitting of the surface, blood, redness, swelling, masses.

Feathers/////unzipped barbules, dull, greasy, stained, plucked feathers, lack of powder, down, stress bars

Crop/////no movement within one minute, fistula, distended, empty

Pectoral muscle mass (thin or obese)/////Normally, the edge of the keel can be palpated between the rounded pectoral muscles that slope slightly to either side.

Wings/////feathers missing, blood feather, masses, fractures, dislocations, feathers trimmed, ulcers in skin, lice

Abdomen/////firm, distended, egg palpable, enlarged liver palpated

Cloaca/////masses, dilated, irritated, prolapse of tissue, accumulation of feces, diarrhea on feathers

Feet/////plantar erosions, flaky skin, necrotic areas, scab, swelling

3. Clinical Examination of the Ill Parrot

The examination of the cage and cage floor is almost as important as examining the bird. Finally, the droppings and regurgitated food on the floor of the cage tell a story to the clinician.

Droppings

Dropping consist of three portions:

1. Water and water-soluble products of excretion
-these are initially excreted from the kidneys and refluxed into the terminal bowel.
2. Urates
- a white, pasty, colloidal solution from the kidneys. Uric acid is not water soluble and is therefore secreted by the renal tubule and not filtered through the glomerulus.
3. Faeces
-black, brown or green in color, usually having a solid worm-like appearance.

Abnormalities of droppings

1. Watery droppings. Watery droppings can be normal in birds that are eating a lot of fruit or nectar. Ill birds with polydipsia or polyuria – renal or hepatic disease, diabetes – pass very watery droppings.
2. Discolored urates. Discolored urates can be caused by obstructive hepatitis of bacterial, chlamydial or viral origin; in these cases very green urates are due to biliverdin. Prehepatic overload from haemorrhage or bruising after surgery, trauma or large volume injections will cause the urates to be discolored bronze or yellow.

3. Diarrhea. This is mixture of feces, water and urates, and can be caused by worry, bacterial infections, papillomavirus or intestinal parasites.
4. Presence of blood. When seen, lead poisoning, intussusception or possibly viral, bacterial or parasitic infestations should be expected. Blood that is not mixed with the droppings but appears as drops or spots in or on them is usually cloacal in origin, and can be caused by an infected granuloma, urolith, viral papillomata, a prolapse oviduct or large bowel.
5. Presence of whole seed. If seed is seen mixed in and coated with the feces, the commonest cause is proventricular dilatation syndrome in parrots, macaws and cockatoos; however, it can also be caused by megabacteriosis, trichomoniasis and other bowel irritants. If the seed is separate from the feces, it may be regurgitated.
6. Lack of feces but presence of urates. This indicates starvation or an obstruction within the alimentary tract.
7. Coloured feces/urates. Pigmented foods such as beetroot or medications – even topical medication – can change the color of the feces and/or urates.

It is important to look at the feces microscopically: smeared, fixed and stained for bacteria, yeasts and parasites; as a wet preparation in saline for protozoa; and as a flotation preparation using a saturated solution of salt (NaCl), sucrose for parasite eggs and cysts.

4. Regurgitation

As with vomiting in dogs and cats. It may be due to:

- fear
- travel sickness
- sexual or courtship behavior
- drug induced – handling and injections, or oral administration of various drugs
- proventricular dilatation syndrome
- poisoning or consumption of a gut irritant
- obstruction – intussusception, tumors (e.g. papillomatosis) or foreign bodies
- inflammation of the crop/proventriculus/gizzard – trichomoniasis, candida, megabacteriosis, fermented or hot food in hand-fed young birds.

5. Common Diseases and Treatments

5.1 Infectious Disease

5.1.1 Bacterial infection

Salmonellosis

- Common source include other birds, rodents, flies, and other vectors
- Oral ingestion is the common route
- Sudden death is a common presentation in aviary infections
- Acute disease >>> lethargy, anorexia, polydipsia, and diarrhea
- Chronic disease >>> dyspnea, granulomatous dermatitis, arthritis, and CNS signs
- Diagnosis is based on culture of the organism.
- Treatment >>> select antibiotic based on sensitivity testing, and use drugs with good tissue and cell penetration (e.g. enrofloxacin)
- Chronic infections and those with CNS signs are usually unresponsive to treatment
- Prevent egg transmission by identifying and removing subclinically infected breeders

Megabacteriosis

- Megabacteria are large rods found in the proventriculus of normal and abnormal birds
- The organism is difficult to culture
- Clinical signs include chronic emaciation over a 12- to 18-month period
- Digested blood may be present in the feces
- An hourglass-like retraction between the proventriculus and ventriculus with contrast radiography
- Gram's staining of feces may reveal the organism in severely affected birds
- The organism is resistant to all antibiotics
- Lactobacillus may lower the pH of the gastrointestinal tract and may help

Chlamydiosis

- The organism is *Chlamydia psittaci*
- The organism can survive for long periods in dried feces and secretions
- The organism is usually ingested, but vertical transmission also occurs
- Virulence and clinical signs depend on the strain and host species
- Macaws and Amazon parrots more susceptible than cockatoos and African gray parrots
- Cockatiels are common carriers
- Common clinical signs include diarrhea, dyspnea, anorexia, biliverdinuria, sneezing, mucopurulent nasal discharge, sinusitis and conjunctivitis
- Diagnosis is based on clinical signs, clinical pathology (severe leukocytosis, elevation of AST, LDH, CK and bile acids is common), radiology (hepatomegaly, airsacculitis, and splenomegaly), and cytology (basophilic intracytoplasmic inclusions) with the help of culture, serology, and electrophoresis
- Tetracyclines are used to treat chlamydial infections

- Doxycycline may be used orally, or specially formulated intramuscular preparation can be injected
- Feeds medicated with doxycycline and chlortetracycline have been used successfully
- Long-term treatment is necessary
- Supportive care may be required, including heat, tube feeding, fluid therapy, and antibiotic therapy for secondary bacterial infections

5.1.2 Infectious viral diseases

Herpesvirus

- This is the cause of Pacheco's parrot disease
- New World psittacines appear more susceptible than do Old World psittacines
- Many birds that are ill will die
- Some that recover and some that are subclinically infected will become lifelong symptom-free carriers
- Carriers can shed the virus in the feces when stressed
- Transmission usually occurs by the oral route
- The incubation period is approximately 3 to 14 days
- The most common clinical sign is sudden death
- Clinical signs can consist of respiratory disease signs, diarrhea, and polyuria
- Postmortem signs include a very enlarged and darkening of liver, spleen and kidneys
- Hemorrhage may be present in the skin, liver, spleen, pancreas, intestinal tract, and body cavity
- Histopathology reveals intranuclear inclusion bodies
- Treatment includes supportive care, limiting spread of the disease, and acyclovir
- Acyclovir is used to increase survival of infected birds and decrease virus dissemination in an outbreak

Psittacine beak and feather disease virus

- The disease is caused by a circovirus
- Only psittacines are susceptible to PBFD
- The virus is shed in feather dust, feces, and crop secretions
- Infection occurs by ingestion or inhalation or vertically (egg transmission)
- The minimum incubation period is 21 to 25 days
- Contact with the virus during the growth period is the common method of infection
- The virus affects rapidly-growing cells and causes feather loss by preventing further feather growth in the fledging birds
- The feathers lose their blood supply, pinch off at the base and fall out of the follicle
- The virus will reduce horn production in the beak and infects the bone marrow, causing a rapid loss of heterophils

- Deformities, fractures, necrosis, and sloughing of the nails occasionally occur
- A PCR test will confirm the presence of the virus in live feather pulp
- There is no effective therapy for PBF
- Provide supportive care and treat secondary bacterial and fungal infections
- The disease is progressive, and euthanasia must be considered when painful lesions develop

Papillomavirus

- Papillomavirus has been detected in skin tumors in canaries and African gray parrots
- Gastrointestinal papillomas are common in psittacine birds, but a viral etiology has not been proved
- Cloacal papillomas are common in Amazon parrots, macaws, and hawk-headed parrots
- Cloacal papillomas appear as singular or multiple pink to red raised proliferative growth in the cloaca or protruding from the cloaca
- Oral papillomas resemble cloacal papillomas
- Clinical signs of cloacal papillomas include straining to defecate, blood in droppings, malodorous stools, flatulence, and persistent enteric bacterial infections
- Oral papillomas may cause dyspnea, wheezing, dysphagia, and persistent oral bacterial infections
- Diagnosis is based on physical examination, biopsy, and histopathology
- Application of 5% acetic acid to suspected lesions cause papillomatous lesions to blanch from red or pink to white
- Papillomas are treated by cauterization or surgical removal

5.1.3 Suspect viral disease

Proventricular dilatation syndrome

- Larger parrots, such as grey parrot, macaws, and cockatoos, may be presented with signs
- All ages of birds are susceptible
- The disease has also been known as neuropathic gastric dilation, psittacine dilatation syndrome, and macaw wasting disease
- Clinical signs include depression, progressive weight loss, vomiting, passing undigested or partially digested food in the dropping, abdominal distention, and neurologic signs
- Some birds maintain an excellent appetite but continue to lose weight
- Contrast radiology is often required to positively identify proventricular dilatation and delayed gastric emptying
- A definitive diagnosis requires demonstration of typical lesions in biopsy samples
- Post-mortem examination can be used to confirm the diagnosis in most outbreaks of this disease

- The crop, proventriculus and gizzard can be variously thin-walled, dilated and impacted with seed; surrounding tissues often exhibit peritonitis
- Occasionally there is ulceration at the proventricular/ventricular junction, and this ulcer can perforate with fatal results
- Supportive care, feeding of a liquid or soft gruel diet and control of secondary infections may prolong life
- There is no treatment

5.1.4 Fungal infection

Candidiasis

- *Candida albicans* is a common cause of gastrointestinal disease in many species of pet birds
- This yeast infection is more commonly seen in birds kept in high humidity and warm temperatures
- Affected birds develop caseous lesions in the commissure of the beak and around the tongue, and their crop lining has a gross appearance likened to a Turkish towel
- Diagnosis is based on clinical signs and finding of large numbers of yeast cells on smears made from lesions or crop aspirates
- Because the yeast invades below the surface, ketoconazole and itraconazole are effective treatments

Aspergillosis

- Common cause of respiratory disease and weight loss in parrots
- It is more common in birds that are stressed, on a poor management techniques, antibiotic administration, corticosteroid administration, respiratory irritants and concomitant disease.
- The syrinx, caudal thoracic air sacs, and abdominal air sacs are the most commonly affected sites
- The periorbital sinus and lungs are also commonly infected
- Clinical signs include weight loss, depression, respiratory distress, and occasionally neuromuscular abnormalities
- Diagnosis is by radiography, which will show a loculated appearance of the air sacs as well as densities in lung tissue
- Confirmation using endoscopy and culture is best
- Treatment is time consuming, involving long-term dosage of itraconazole orally, and nebulization three or four times daily with clotrimazole

5.1.5 Parasitic infestation

Ascarids

- Infestations are most common in birds maintained in enclosures with access to the ground

- Eggs are hardy in the environment
- Clinical signs of infection include malabsorption, anorexia, weight loss, growth abnormalities, and diarrhea
- Heavy parasite infections may result in intussusception, bowel occlusion, or death
- Diagnosis is made by observation of typical ascarid eggs on fecal flotation
- Treatment include pyrantel pamonate, and fenbendazole

Scaly leg mite or scaly face mite

- Knemidokoptes pilae infestation are common in budgies, but they also occur in other psittacine birds
- Clinical signs include proliferative lesions around the beak, cere, eyes, and vent, and on the feet and legs
- Lesions have a characteristic honeycomb appearance
- Diagnosis is based on observation of the mite or eggs in a skin scraping collected from the affected area
- Treat with ivermectin

5.2 Noninfectious disease

5.2.1 Toxins

Lead

- Lead toxicosis is very common in psittacine birds as a result of their tendency to chew and destroy materials
- Clinical signs include depression, anorexia, regurgitation, polyuria, emaciation, CNS signs, and death
- CNS signs may include wing droop, leg paralysis, ataxia, blindness, head tilt, circling, head tremors, and seizures
- Lead toxicosis may cause an exaggerated response with more polychromasia and rubricytes than would be expected for the degree of anemia present
- Elevations of AST, CK, and LDH often occur in birds with lead toxicosis
- Radiology may show metallic densities in the ventriculus (may be normal radiographic signs)
- Definitive diagnosis is based on elevated blood lead levels
- Much of the lead is in the erythrocytes, so 0.5 ml whole unclotted blood should be sent in lithium heparin, not in EDTA
- Whole blood lead levels greater than 0.2 ppm are suggestive of lead toxicosis, greater than 0.5 ppm are diagnostic of lead toxicosis
- Chelation therapy (Calcium EDTA intramuscular injections most commonly used), supportive care, and sometimes foreign body removal are required in the treatment of lead toxicosis

5.2.2 Trauma

Dog/Cat Bites

- The cause is an unsupervised bird out of its cage encountering a mammal

- Clinical signs include a visible bite wound or scratch, but may include a nonvisible puncture wound
- A diagnosis is made based on the history and physical examination
- Treatment involves cleansing the wounds
- These patients should always be started on a broad-spectrum, bacteriocidal antibiotic even if no wounds are visible
- Birds can die of septicemia within 12 to 24 hours after a mammal bite/scratch

Ceiling Fans/Window Panes

- The cause is an unsupervised bird out of its cage flying into an object
- Clinical signs include bruising or edema about the face, loss of consciousness, or neurological signs
- A diagnosis is made based on the history and physical examination
- Treatment includes keeping the patient in a dark, quiet cage without excessive heat, Steroids are also used

5.2.3 Nutritional deficiencies

Vitamin A Deficiency

- This is caused by a vitamin A deficient diet, such as a seed diet
- Clinical signs include choanal papillae in the oral cavity that are blunted, plantar erosions on the feet, and poor quality skin and feathers (darkened areas on feathers of wings)
- Sometimes a Gram's stain of a choanal swab will show increased epithelial cells and basophilic straining
- Secondary bacterial or fungal infections involving the respiratory tract are common
- Treatment includes an increase in vitamin A in the diet by providing the bird with dark yellow vegetables
- One can also administer an injection of vitamin A

Hypocalcemia

- The cause is a calcium-deficient diet or a diet high in phosphorus, which competes with calcium
- Hypocalcemia is more common in African grey parrots or those birds with a greater need for calcium such as laying hens
- Clinical signs in the laying hen include the bird being egg bound, laying soft-shelled eggs, or metabolic bone disease
- A diagnosis is confirmed by evidence of a low serum calcium level (less than 8.0 g/dl)
- Treatment strategies include a change of diet, injectable calcium gluconate or oral calcium globionate

5.2.5 Other disease

Crop Burn

- The cause is a neonate being fed a high temperature gruel creating the burn or heating hand-feeding formula in a microwave, which creates uneven heating
- Clinical signs typically occur 10 days after the incident when a scab falls off and a fistulous tract is seen leaking gruel onto the bird's chest
- A diagnosis is made based on clinical signs
- Treatment involves surgery at 10-14 days after the burn to suture the hole in the crop and skin closed

Egg Bound

- There are many cause but usually this is due to hypocalcemia from a seed diet
- Clinical signs include straining at bottom of cage or a history of laying other eggs
- A diagnosis is made by palpating the egg or visualizing it on radiographs
- Treatment may include giving calcium gluconate IM, placing the bird in a warm, dark, quiet place, sometimes giving oxytocin, PGE2 alpha, oviductostomy (imploding the egg by removing its contents), or surgery if necessary

6. Methods of administration of drugs

1. In drinking water: least reliable.
2. In food: the medication must mix effectively with the food.
3. Via the crop (using a gavage tube): a metal tube or custom-made gag is needed for psittacines, stressful
4. Parenterally:
 - a) i/m the most reliable. The posterior part of pectoral muscles is used
 - b) s/c injection: poorly absorbed.
 - c) i/v via the right jugular or brachial (basilica) veins.
 - d) Via the infra-orbital sinus
 - e) Intratracheally via the oropharynx.
5. Topically
 - a) Creams and ointment are not usually suitable. They damage the plumage.
 - b) Tinctures or drugs combined with dimethyl sulphoxide are more suitable.
 - c) Eye drops are preferable to eye ointments but require frequent handling of the bird which increases stress
 - d) Antiparasitic dusting powders can be used.

7. Checklist of supportive care used in avian medicine

1. Minimizing handling and other stressors.
2. Hospitalization

- a. Patient should be placed in a warm, quiet, well-ventilated environment with minimal disturbance
- b. Heating should be supplementing because debilitated birds are often hypothermic.
3. Administration of fluid therapy
4. Use of corticosteroids in case of:
 - a. Shock and poor vascular perfusion
 - b. Extreme stress
 - c. CNS trauma
 - d. Toxicity and selected toxæmias.
5. Vitamin therapy
 - a. Multivitamins (including vitamin A) as needed
 - b. B complex (base on 10 mg/kg of thiamine) in selected cases of injury, anorexia, cachexia, CNS disorders or blood loss
 - c. Use of lipotropic agents (choline, methionine, cysteine, betaine, lecithin, hydroxycobalamin) to increase mobilization of hepatic lipids has proved valuable only in cases where deficiencies of these substances exist.
6. Use of antibiotics and/or antimycotics to control primary infections and for injured or debilitated birds where secondary infections may result (use stained faecal smears for evaluation).
7. Iron dextran
 - a. In cases of iron deficiency or following haemorrhage
 - b. Care must be taken with mynahs, toucans and toucanettes, because of iron storage disease.
8. Organizing normal photoperiods (or subdued lighting, if needed).
9. Administration of oxygen (for dyspnoea, hypoxia, or severe pneumonia and aeroculitis).
10. Maintenance of body weight
 - a. Bird should be weighed daily if possible
 - b. A variety of favourite foods should be offered; the bird's diet should not be changed when it is ill.
11. Gavage when necessary
 - a. In cases of malnourishment, anorexia, cachexia and dehydration
 - b. A high carbohydrate formula is initially recommended.
 - c. High protein/high caloric formulae may be used to increase body weight during recovery.

8. Fluid therapy recommended for use in birds

1. Ideally, when evaluating a patient for fluid therapy, the following factors should be considered:
 - a. Hydration status

- b. Electrolyte balance
- c. Acid-base status
- d. Haematological and biochemical values
- e. Caloric balance

2. Combinations of routes (p.o., s.c., i.o., i.v.) are recommended if high fluid volumes are to be administered.

3. Calculating the fluid volume using the BMR method usually gives a higher result than other methods of fluid calculation.

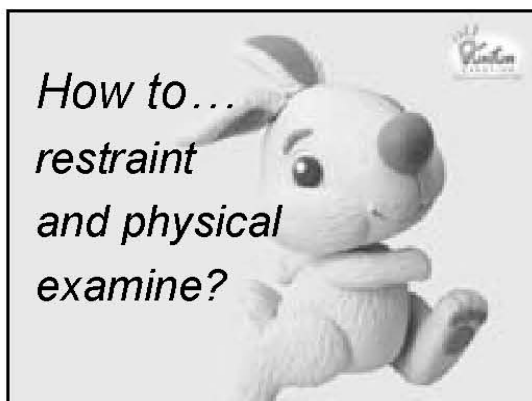
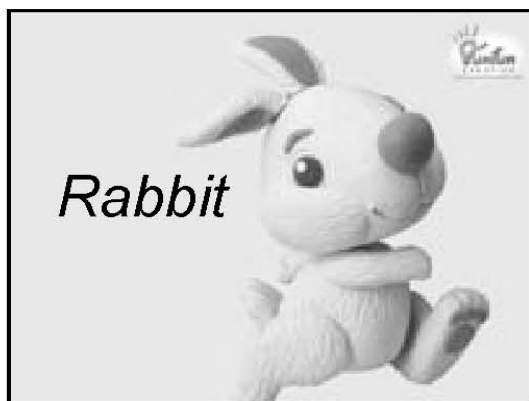
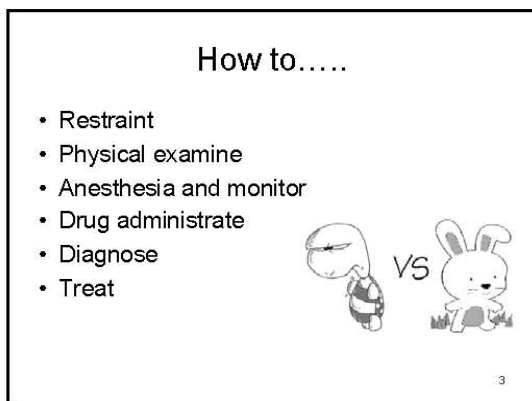
4. Fluids can be administered by slow i.v. or i.o. infusion, by a combination of i.v. bolus and s.c. administration, or by repeated s.c. administration. A volume of 10 ml/kg/h can be infused into healthy patients for the first 2 h, then this should be reduced to 5-8 ml/kg/h to avoid fluid overload.

5. Although fluid requirements can be met in part by administering 10-15 ml/kg (and up to 25 ml/kg if over a 5-7 min period) of warm lactated Ringer's solution (or 50:50 with 2.5-5 per cent dextrose if the patient is hypoglycaemic or caloric deficient) i.v. as a bolus q8-12; maintenance fluid is generally administered s.c., p.o. or, occasionally, through an intraosseous catheter. Oral administration of 5 per cent dextrose appears to be very effective in restoring fluid deficits rapidly.

6. Warming of fluids to 38-39°C prior to administration can help prevent or correct hypothermia.

9. Routes of administration and maximum suggested volumes of fluids to be administered to psittacines

Bird's weight (g)	Volume (ml) by route of administration		
	Gavage	i.v. bolus (initial)	Subcutaneous
10-25	0.4-0.75	0.5-0.75	1-2
25-50	0.75-3.0	0.75-1.0	2-5
50-75	3-6	1.0-1.5	5-7
75-100	6-8	1.5-2.0	7-12
100-250	8-15	2-5	12-18
250-500	15-20	5-8	18-24
500-750	20-30	8-12	24-28
750-1000	30-40	12-15	28-30

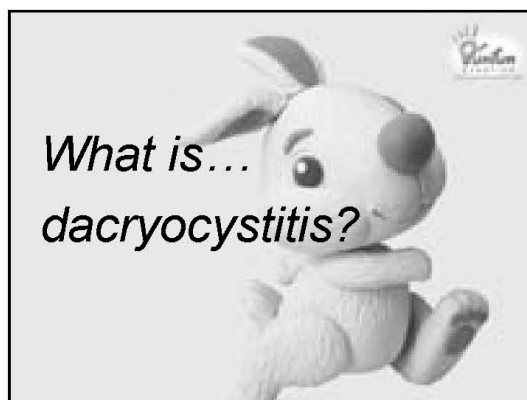
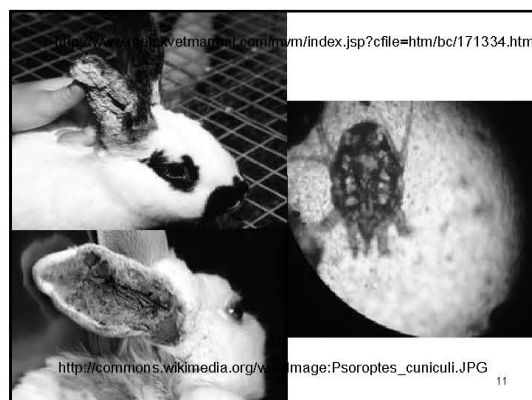
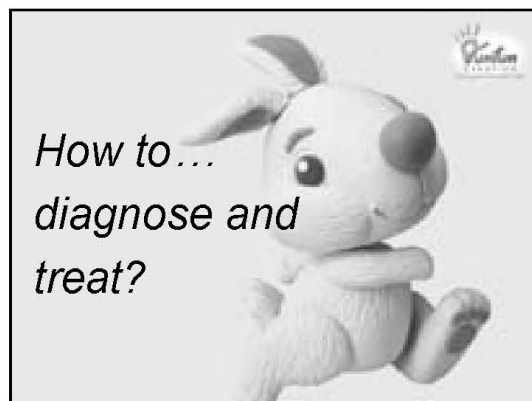


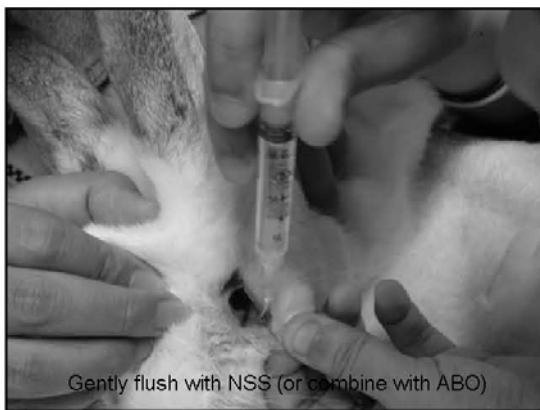
Anesthetic agent (injection)		
Drug	Dose and route	Comment
Ketamine + Diazepam	K 30 – 40 mg/kg + D 2 – 5 mg/kg IM	Surgical anesthesia
	K 15 mg/kg + D 0.3 mg/kg IM	Follow with Isoflurane
	K 10 mg/kg + D 0.5 mg/kg IV	Follow with Isoflurane
Ketamine + Xylazine	K 35 mg/kg + X 3 – 5 mg/kg IM	may result in bradycardia
Ketamine + Acepromazine	K 30 – 40 mg/kg + A 0.5 – 1 mg/kg IM	

7

Ketamine (alone)	20 – 50 mg/kg. IM/SC	(deep sedate but not surgical anesthesia)
Medetomidine + Ketamine	M 0.5 mg/kg + K 25 mg/kg IM M 0.35 mg/kg IM + K 5 mg/kg IV	
Zoletil	3 mg/kg IM 10 – 20 mg/kg IM	Sedation prior to gas anesthetic Not recommend
Propofol	2 – 3 mg/kg IV	Induction after premedication; maintain with 1 mg/kg IV q15 min.

8





How to treat rabbit abscess?

- Surgery
 - Remove capsule
 - Marsupial
- Drug (with surgery)
 - PMMA
 - Systemic ABO
 - Analgesic

What is... PMMA?



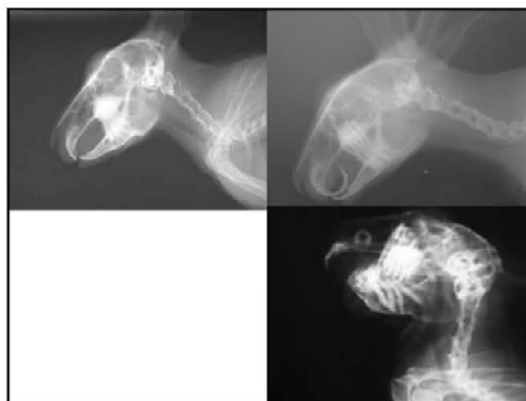
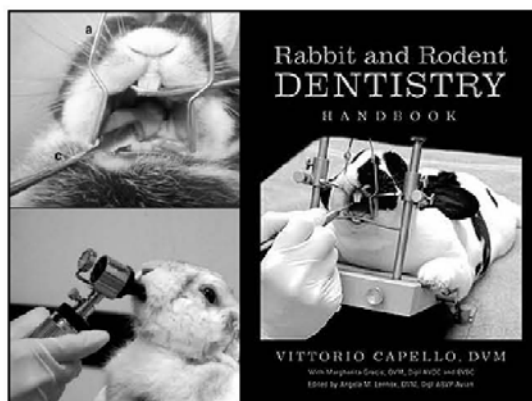
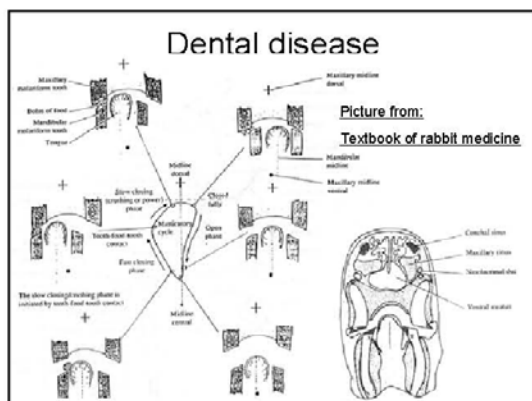
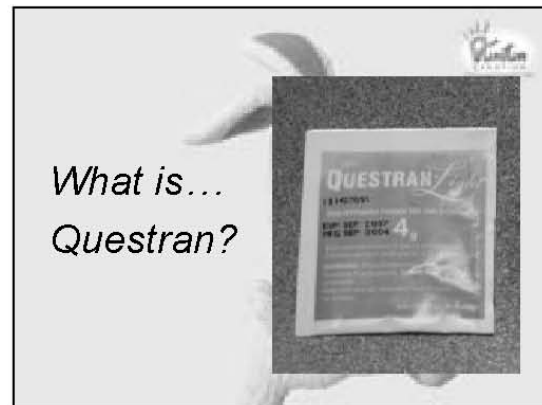
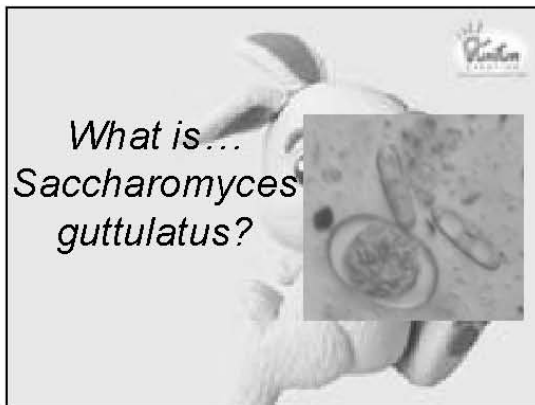


Table 1-1 RADIOGRAPHIC TECHNIQUE (40 inches FFD tabletop technique using a 50 speed film-screen system without a grid)				
species	kVp	mA	exposure time	mAs
mouse	48	200	1/60	3.3
rat	48	200	1/60	3.3
hamster	48	200	1/60	3.3
ferret	50	400	1/60	6.6
guinea pig	50	400	1/60	6.6
chinchilla	50	400	1/60	6.6
rabbit	56	400	1/60	6.6





Antibiotic therapy in rabbits					
Antibiotic	Effective against P. multocida	Risk of ABO-associated diarrhea	Suitable for		
			Parenteral use	Oral use	Topical use
Ampicillin		High	?	No	
Cephalexin	Yes	If given orally	Yes	No	
Clindamycin	No	High	No	No	
Enrofloxacin	Yes	Negligible	Yes	Yes	
Gentamicin	Yes	Low	Nephrotoxic		Yes
Lincomycin	No	High	No	No	
Metronidazole	No	No	If required	Yes	Yes
Penicillin	Yes	If given orally	Yes	No	
Sulphonamide	Yes	Low	Yes	Yes	
Streptomycin	Variable	Low	Yes		
Tetracycline	Variable	Low	Yes	Yes	
Tobramycin		Low	Yes		Yes



Antibiotic

Use	Don't use
- Enrofloxacin - Sulfatrimethoprim (IM, PO) - Chloramphenicol - Gentamicin (with PMMA) - Metronidazole (treatment of choice for enterotoxemia)	- Penicillin (PO) - Amoxicillin - Ampicillin - Streptomycin - Lincomycin - Clindamycin - Erythromycin - Cephalexin - Gentamicin (systemic)

31

Antibiotic therapy in rabbits

Antibiotic	Effective against P. multocida	Risk of ABO-associated diarrhea	Suitable for		
			Parenteral use	Oral use	Topical use
Ampicillin		High	?	No	
Cephalexin	Yes	If given orally	Yes	No	
Clindamycin	No	High	No	No	
Enrofloxacin	Yes	Negligible	Yes	Yes	
Gentamicin	Yes	Low	Nephrotoxic		Yes
Lincomycin	No	High	No	No	
Metronidazole	No	No	If required	Yes	Yes
Penicillin	Yes	If given orally	Yes	No	
Sulphonamide	Yes	Low	Yes	Yes	
Streptomycin	Variable	Low	Yes		
Tetracycline	Variable	Low	Yes	Yes	
Tobramycin		Low	Yes		Yes

32

Analgesic and antiinflammatory

Use	Don't use
- Carprofen - Flunixin meglumine - Ketoprofen - Acetaminophen - Aspirin - Butorphanol - Buprenorphine - Methoxyprednisolone - Meloxicam	- Flunixin for long period - Prednisolone for long period

33

Antiparasitic

Use	Don't use
- Albendazole - Fenbendazole - Ivermectin/Selamectin - Lufenuron	Fipronil

34

Turtle

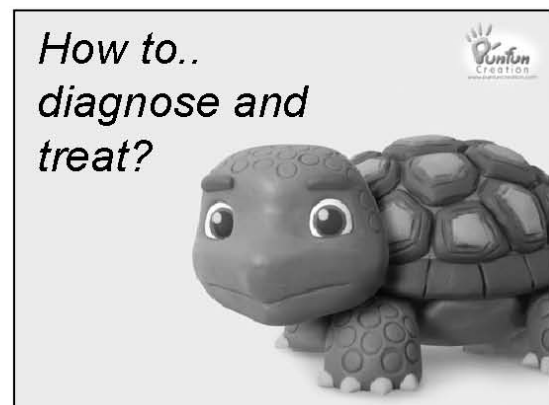
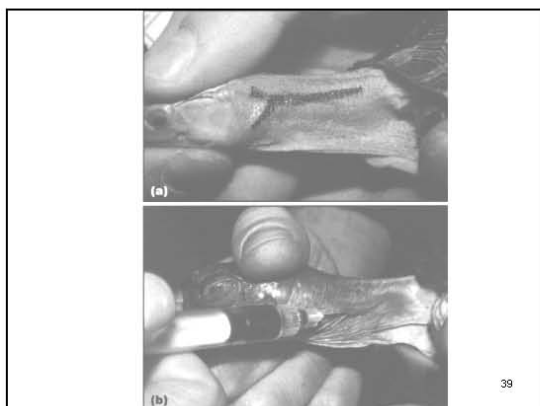
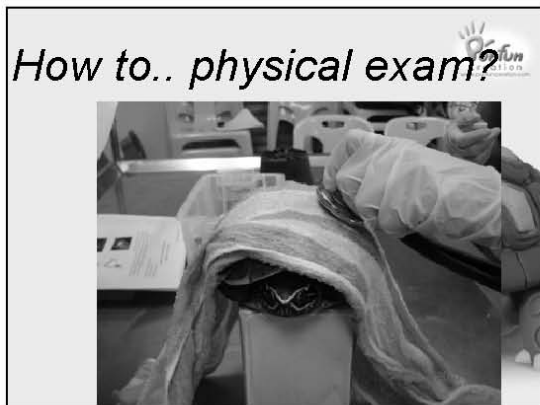


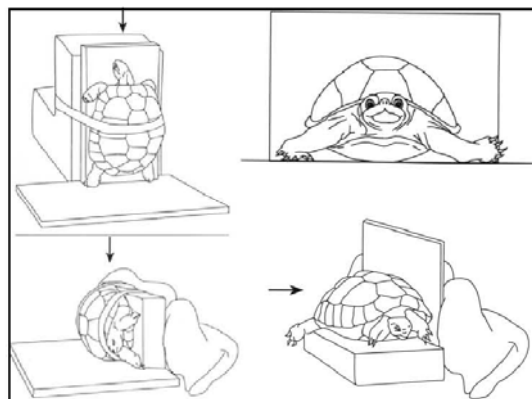
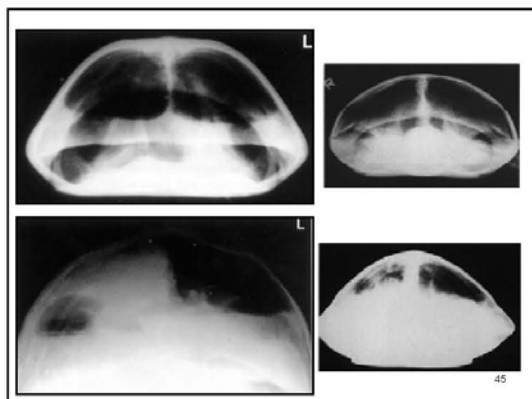
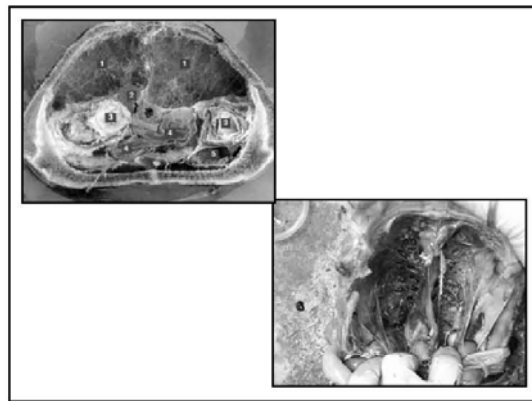
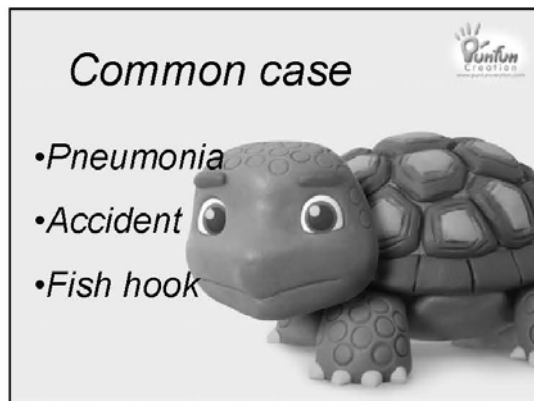
ปิ่นอิน
CREATIONS

How to..restraint?



ปิ่นอิน
CREATIONS



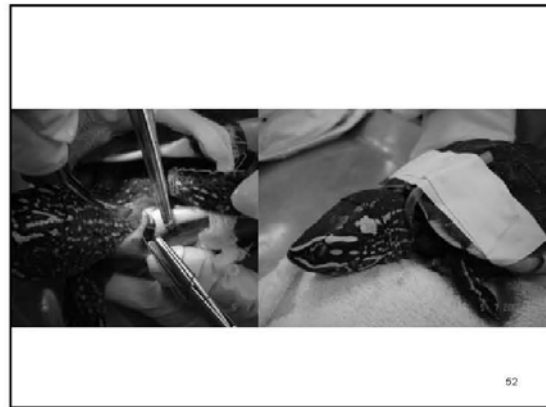
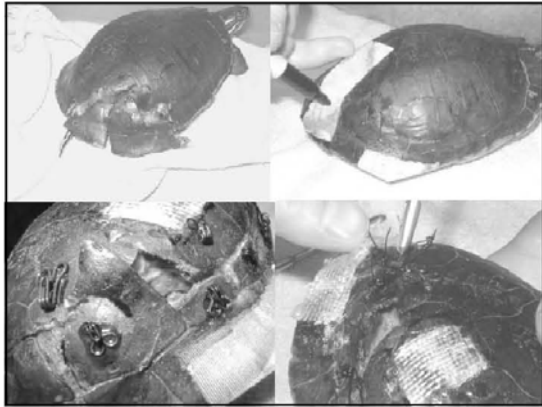


TECHNIQUE CHART FOR TURTLES
(40 inches FFD tabletop technique using a 50 speed film-screen system without a grid)

size	beam direction	kVp	mA	exposure time	mAs
5 cm thick	lateral view	58	400	1/60	6.6
	dorsoventral view	62	400	1/60	6.6
	craniocaudal view	60	400	1/60	6.6
10 cm thick	lateral view	58	400	1/40	10
	dorsoventral view	62	400	1/40	10
	craniocaudal view	60	400	1/40	10
15 cm thick	lateral view	64	400	1/20	20
	dorsoventral view	62	400	1/20	20
	craniocaudal view	66	400	1/20	20

(the techniques are the same for both vertically directed or horizontally directed beam)





drug	dose (mg/kg) and route	comment
propofol	5 – 15 (IV/ Intracardiac)	Large turtle 2 mg/kg
ketamine	22 – 44 (IM)	sedation
ketamine	55 – 88 (IM)	Anesthesia (induction 10 – 30 min, recovery 24 – 96 hr.) ; muscle relaxation improved with diazepam
Ketamine(K) / diazepam(D)	(K) 80 – 80 / (D) 0.2 – 1.0 (IM) (Exotic animal formula) (K) 20 – 80 / (D) 2 – 5 (IV, IM) (www.jvis.org)	
Tiletamine-Zolazepam	4 – 5 (IM, SC)	Induction 9 – 15 min, recovery 1 – 12 hr, adequate for most non-invasive procedures



การสำรวจความชุกของโรคปากเท้าเปื่อยในโค-กระบือ ที่ผ่านด่านกักกันสัตว์ ระหว่างประเทศ กาญจนบุรี ด้วยวิธี 3ABC, 3B ELISA

**Food and Mouth Disease: Seroprevalence in Cattle and Buffaloes at
the Kanchanaburi Animal Quarantine Station by 3ABC, 3B ELISA**

สรยุทธ สีขาว (Sorayut Seekhaow) *

อภิรดี อินทรพิทักษ์ (Apiradee Intarapuk) **

บทคัดย่อ

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคติดต่อร้ายแรงจากเชื้อไวรัสของสัตว์กีบคู่ ซึ่งเป็นโรคประจำถิ่นในประเทศไทย ตามเขตชายแดนของประเทศไทยเป็นพื้นที่เสี่ยงในการระบาดของโรคเนื่องจากมีความถี่ในการเคลื่อนย้ายสัตว์เข้ามาจากประเทศเพื่อนบ้าน ด่านกักกันสัตว์ระหว่างประเทศกาญจนบุรีเป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่มียุทธศาสตร์ติดกับประเทศสหภาพพม่า ซึ่งเป็นพื้นที่ในการเฝ้าระวังการแพร่กระจายโรคปากและเท้าเปื่อย โดยกรมปศุสัตว์ จึงได้มีการสำรวจหาการติดเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยในโคและกระบือที่ผ่านเข้ามาที่ด่านกักกันสัตว์ระหว่างประเทศ กาญจนบุรี ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2550 โดยเก็บตัวอย่างซีรัมโคและกระบือในพื้นที่เพื่อตรวจหาโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี ELISA เพื่อหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ Non-structure 3 ABC, 3B protein (NSP) พบว่าอัตราความชุกของการติดเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยในช่วง 2 ปี คิดเป็นร้อยละ 10.29 ในปีพ.ศ. 2549 พบอัตราความชุกของโรคร้อยละ 14.49 และในปีพ.ศ. 2550 พบอัตราความชุกของโรคร้อยละ 3.67 ซึ่งในช่วง 2 ปีมีการติดเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยในโคและกระบือลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) พบความชุกของโรคในโค (ร้อยละ 8.6) ต่างจากความชุกของโรคในกระบือ (ร้อยละ 12.4) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) และพบว่าปัจจัยเรื่องเพศมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) ต่อการติดเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยทั้งในโคและกระบือ

คำสำคัญ โรคปากเท้าเปื่อย, ความชุก, non-structural protein, ELISA, กาญจนบุรี

* ด่านกักกันสัตว์ระหว่างประเทศ กาญจนบุรี กรมปศุสัตว์

** คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

Foot and mouth disease (FMD) is a high contagious viral disease that endemic in Thailand. This work focused on the Kanchanaburi Animal Quarantine Station, located on Thai-Myanmar border, in which a large number of animals had immigrated from Myanmar. The sera of cattle and buffaloes were collected from apparently healthy each month from 2006 to 2007. Samples were detected FMD by the non-structural 3 ABC, 3B protein (NSP) ELISA assay that has greatly advanced sero-diagnosis/surveillance as the test detects exposure to live virus for any the seven serotypes of FMD, even in vaccinated populations. Thoughtfully the study, the FMD prevalence was 10.29%, as well as 14.49% were found in 2006 and 3.67% were found in 2007. The prevalence significantly decreased from 2006 to 2007 ($p\text{-value} < 0.01$). Cattle and buffaloes were found infections in 8.6% and 12.41%, respectively. The statistical analysis showed significantly difference of infectious rates between cattle and buffalo ($p\text{-value} < 0.01$), and significantly associated between sex and infection in both cattle and buffalo ($p\text{-value} < 0.01$).

Keyword : Food and mouth disease, Prevalence, Non-structural protein, ELISA, Kanchanaburi

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อเมือกปากมดลูกในระหว่างวงจรรอบการเป็นสัด ในกระบือปลักไทยที่ได้รับการเหนี่ยวนำการตกไข่

Study of Cytological Changes of Cervical Mucus during Estrous Cycle in Thai Swamp Buffaloes Treated with Ovulation Synchronization Program

พัฒนา รัตนพรรณา (Phattana Rattanapanna) *

พงศ์พันธ์ รัตนธรรมมากร (Phongphan Rattanathamakorn) *

ศุภรัตน์ สุวรรณนิเวศน์ (Dhulyarat Suwanniwet) *

นิยม ดาวศรี (Niyom Daosri) *

กณายศ กริอุณะ (Kanayuth Kari-u-na) *

ทะเนตร แสนพงษ์ (Thanet Sanphong) *

เพชรณู คำชู (Phachern Kamchoo) *

อารยา สืบจำเพชร (Araya Seubkampetch) **

อภิรดี อินทรพิทักษ์ (Apireudee Intrapak) ***

จตุพร กระจ่ายศรี (Jatuporn Krajaisri) ****

มงคล เตชะกำพุ (Mongkol Techakumphu) *****

ธัชฎาพร ไชยคุณ (Thuchadaporn Chaikhun) *****

บทคัดย่อ

กระบือปลักเป็นสัตว์ที่มีลักษณะเฉพาะทางระบบสืบพันธุ์ที่แตกต่างจากโค โดยเฉพาะการแสดงอาการเป็นสัดที่สังเกตได้ยาก ทำให้เป็นปัญหาในการกำหนดเวลาผสมเทียม วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อเมือกปากมดลูกในแต่ละระยะของวงจรรอบการเป็นสัดของกระบือปลักไทย โดยคัดเลือกกระบือนางที่มีสุขภาพดีและมีวงจรรอบการเป็นสัดจำนวน 7 ตัว เข้าสู่โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ และทำการตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์ทุกครั้งที่ฉีดฮอร์โมน และทุกๆ 4 ชั่วโมง จนกระทั่งครบ 72 ชั่วโมงหลังฉีด GnRH ครั้งที่ 2 เพื่อดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงของรังไข่และกำหนดระยะต่างๆในวงจรรอบการเป็นสัด โดยฉีด PGF_{2α} 500 ไมโครกรัม 2 ครั้งห่างกัน 12 วัน เพื่อเหนี่ยวนำวงจรรอบการเป็นสัดให้พร้อมกัน จากนั้น 2 วัน ฉีด GnRH (buserelin acetate 10 ไมโครกรัม) โดยกำหนดให้เป็นวันที่ 0 หลังจากนั้นฉีดฮอร์โมน PGF_{2α} (cloprostenol 500 ไมโครกรัม) ในวันที่ 7 และฉีด GnRH อีกครั้งในขนาดเดิมหลังจากฉีด ฮอร์โมน PGF_{2α} 48

* นักศึกษาชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2551 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*** คลินิกสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

**** คลินิกสำหรับสัตว์ศาสตร์ โภชนาวิทยา แอนโดรวิทยา และการผสมเทียมในสัตว์เลี้ยงคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี

มหานคร

***** ภาควิชาสัตวศาสตร์ เภสัชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชั่วโมง ซึ่งกำหนดให้เป็นระยะก่อนเป็นสัด ระยะเป็นสัดเป็นระยะก่อนมีการตกไข่ 12 ชั่วโมง ระยะท้ายของการเป็นสัด (ช่วงเวลาตกไข่ที่ 30.4 ± 1.5 ชั่วโมงหลังจากฉีด GnRH ครั้งที่ 2 จากการตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์) ระยะหลังเป็นสัดและระยะสิ้นสุดการเป็นสัดเป็นระยะ 72 ชั่วโมง และ 10 วันหลังจากฉีด GnRH ครั้งที่ 2 ตามลำดับ โดยเก็บเชื้อเมือกปากมดลูกด้วยเทคนิคการสอดปั่นผสมเทียม ป้ายเมือกบนแผ่นสไลด์และย้อมด้วยสียูบิลิก ผลการศึกษาพบว่า ระยะก่อนเป็นสัดจะพบเซลล์อินเทอร์มีเดียตมากที่สุด (28.0%) ระยะเป็นสัดจะพบเซลล์พาราเบซอลเป็นเซลล์หลัก (58.4%) ระยะท้ายของการเป็นสัดหรือช่วงวันตกไข่จะเริ่มพบ เซลล์ที่ไม่มีนิวเคลียส และเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลเป็นหลัก (40.4% และ 30.6% ตามลำดับ) ระยะหลังเป็นสัดจะพบ นิวโทรฟิลมาก (36.2%) และระยะสิ้นสุดการเป็นสัดพบ เซลล์เวซิเคิลจำนวนใกล้เคียงกับเซลล์อินเทอร์มีเดียต (29.9% และ 29.1%) จากการศึกษาสรุปได้ว่า สามารถเลือกใช้เทคนิคตรวจการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เชื้อเมือกปากมดลูกเพื่อกำหนดเวลาที่เหมาะสมสำหรับผสมเทียมได้

คำสำคัญ กระบือปลัก, เชื้อเมือกปากมดลูก, การเหนี่ยวนำการตกไข่, วงรอบการเป็นสัด

Abstract

Buffalo has several reproductive characteristics that differ from cows. They poorly show the estrus behavior, and it is therefore difficult to determine the exact time for artificial insemination (AI). The objective of this study were to determine the cytological change of cervical mucus on each stage of estrous cycle in swamp buffaloes treated with ovulation synchronization (Ovsynch) program. Seven healthy and cycling buffalo cows were treated by Ovsynch program and examined the ovarian change and ovulation time for determine stage of estrous cycle by ultrasounography every time when administrated Ovsynch hormones and every 4 h until 72 h after second GnRH treatment. The treatment buffaloes received double dose of $\text{PGF}_{2\alpha}$ (500 μg cloprostenol) 12 d apart. Two day after that, administrated GnRH (10 μg buserelin acetate) at day of treatment assigned as day 0, followed by $\text{PGF}_{2\alpha}$ 7 days later. A second-treatment of the same regimen of GnRH was given 48 h after $\text{PGF}_{2\alpha}$. The stages of estrous cycle were determine by second GnRH treatment (Proestrus), 12 h before ovulation (Estrus), day of ovulation (End of estrus or ovulation period; ovulation time was 30.4 ± 1.5 h after second GnRH treatment detected by ultrasonography) , 3 and 10 d after second GnRH treatment (Metestrus and Siestrus). They were collected the cervical mucus by AI like technique then smeared on glass slides and stained Dip quick. The results showed that the main cells in each stage of estrous cycle were intermediated cells at proestrus (28.0%), parabasal cells at estrus (58.4%), anucleared cells and neutrophils at ovulation period (40.4% and 36.6%), neutrophils at metestrus (36.2%) and vesicular cells and intermediated cells at diestrus (29.9% and 29.1%). It was concluded that the cytology of cervical mucus technique can identified the stage of estrous cycle and apply to determine properly time for AI.

Keyword : Swamp buffalo, Cervical mucus, Ovulation synchronization, Estrous cycle

การทำศัลยกรรมเพื่อทำช่องเปิดที่กระเพาะผ้ายืดของโคสำหรับการวิจัยทางด้านโภชนาศาสตร์สัตว์

Ruminal Fistulation in Cattle for Animal Nutrition Researches

ชนาธิป ธรรมการ (Chanathip Thammakarn) *

ศิริชัย เอียตมุสิก (Sirichai Eardmusic) **

ทักษ์ดนัย จิระพินทุ (Takdanai Jirapintoo) ***

จรรุญ ศรีอ่อนเลิศ (Jaroon Srionlerd) **

สิวพร แพงคำ (Siwaporn Paengkoum) **

บทคัดย่อ

โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนเพศผู้จำนวน 4 ตัว สุขภาพโดยทั่วไปสมบูรณ์แข็งแรง น้ำหนักอยู่ในช่วงระหว่าง 200-240 กิโลกรัม ได้รับการทำศัลยกรรมเพื่อทำช่องเปิดที่กระเพาะผ้ายืด และใช้ท่อซิลิโคนชนิดที่มีฝาปิดสอดไว้เพื่อให้สามารถเปิดปิดได้ตามต้องการ (Ruminal Fistulation) หลังทำการศัลยกรรมโคทุกตัวได้รับยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ชนิดออกฤทธิ์ยาวนานวันเว้นวันต่อเนื่องหลังจากทำศัลยกรรมเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ และทำการล้างแผลอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง ต่อเนื่องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากทำศัลยกรรม 2 สัปดาห์บาดแผลของโคทุกตัวหายดีและโคทุกตัวถูกนำไปใช้งานวิจัยทางด้านโภชนาศาสตร์สัตว์

คำสำคัญ ศัลยกรรม, ช่องเปิด, กระเพาะผ้ายืด, โค

* คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

** คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร

*** คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

Four healthy cross breed Holstein Friesian cows, weighed 200-240 kilograms. The cows were operated by ruminal fistulation method and silicone cannulas were used. After surgery, all of them received long acting Penicillin-Streptomycin antibiotics every other day for 1 week. Wound dressing was carried out 1-2 times a day continuously for 2 weeks. Two weeks after surgery, the wound were healed and all cows were used for animal nutrition researches.

Keyword : Surgery, Ruminal fistulation, Cows

1. บทนำ

การทำศัลยกรรมเพื่อทำช่องเปิดที่กระเพาะผ้ายืด (Ruminal fistulation, Rumenostomy) ของโค เป็นวิธีการศัลยกรรมที่นิยมใช้เพื่อเป็นทางระบายแก๊สออกจากร่างกาย (ทัศนีย์ และเทอดชัย, 2530) ช่องทางเปิดที่เกิดขึ้นจะทำงานคล้ายลิ้นปิดเปิดระบายแก๊สออกจากกระเพาะผ้ายืด ศัลยกรรมนี้จึงมีข้อบ่งใช้ในรายท้องอืดเรื้อรัง (อดิชาติ, 2544) นอกจากนี้ยังมีการนำวิธีการทำศัลยกรรมด้วยวิธีนี้มาประยุกต์ใช้ในการทดลองด้านอาหารสัตว์ สรีรวิทยา ระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง หรือทางด้านจุลชีววิทยาและนิเวศวิทยาของกระเพาะผ้ายืด (Thyfanlt et al., 1975; Hart, 1986) แต่ต้องทำช่องเปิดที่มีขนาดใหญ่พอที่จะสามารถใส่แขนล้วงเข้าไปในกระเพาะผ้ายืดได้จึงจำเป็นต้องใช้ท่อ (Cannula) ที่มีขนาดใหญ่ซึ่งทำด้วยยางหรือซิลิโคนซึ่งมีฝาปิด (Bung) (Mendel, 1961) การทำศัลยกรรมด้วยวิธีนี้เป็นวิธีการศัลยกรรมที่พบได้ไม่บ่อยครั้งซึ่งสัตวแพทย์ผู้ปฏิบัติงานแต่ละคนจะมีเทคนิคในการระงับความรู้สึกของสัตว์และรายละเอียดทำศัลยกรรมที่แตกต่างกันออกไป การทำศัลยกรรมในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการงานวิจัยทางด้านโภชนศาสตร์สัตว์ในโค ซึ่งได้นำเสนอเทคนิคและวิธีการทำศัลยกรรมที่มีความปลอดภัยและมีภาวะแทรกซ้อนจากการทำศัลยกรรมน้อย

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

สัตว์ทดลอง

ทำการคัดเลือกโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนเพศผู้จำนวน 4 ตัวน้ำหนัก 200-240 กิโลกรัม มีสุขภาพร่างกายโดยทั่วไปแข็งแรงดี ทำการงดน้ำ อาหารหยาบ และอาหารข้นก่อนทำการศัลยกรรม 12 ชั่วโมง

การระงับความรู้สึก

โคทุกตัวได้รับยา Xylazine HCL ในขนาด 0.05 - 0.33 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Allen et al., 1993) เข้าทางกล้ามเนื้อ ร่วมการระงับความรู้สึกเฉพาะที่บริเวณสวาป (Flank) ด้านซ้าย (Paravertebral nerve block) โดยระงับความรู้สึกที่เส้นประสาท Thoracic Nerve 13 (T13) Lumbar Nerve 1 และ 2 (L1, L2) ตามวิธีของ Tassanawat et al. (1990)

ขั้นตอนการระงับความรู้สึกและการทำศัลยกรรม

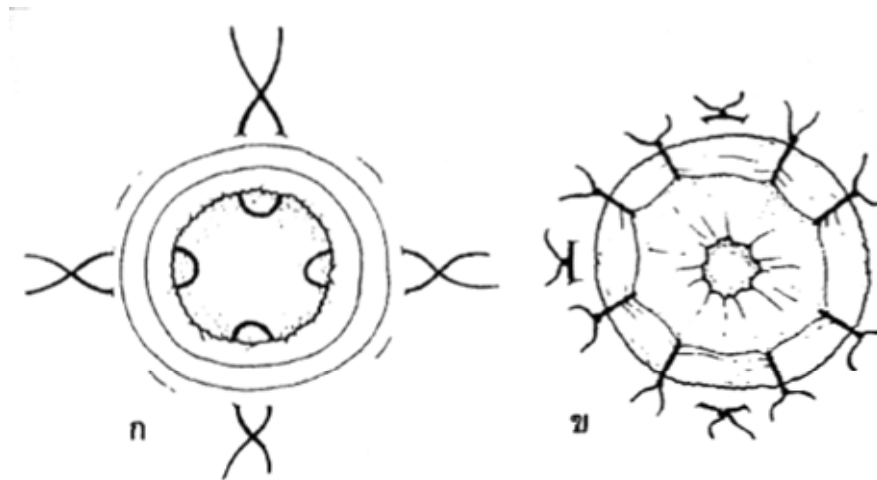
โคทุกตัวได้รับยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน (Long acting) ก่อนทำการผ่าตัดอย่างน้อย 30 นาที ทำการโกนขนบริเวณสวาปข้างซ้ายของโค ทำความสะอาดบริเวณที่จะทำการผ่าตัดด้วยน้ำยา Povidone Iodine Scrub ตามด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และเช็ดด้วย Povidone Iodine Solution ในขั้นตอนสุดท้ายและทำเครื่องหมายบริเวณที่จะเปิดผ่าโดยใช้ด้ายในท่อซิลิโคนที่เตรียมไว้เป็นแบบวัดและใช้ปากกาเมจิกขีดเป็นวงกลม ทำการเปิดผิวด้านหน้าโดยกรีดตัดผิวด้านหน้าเป็นวงกลมโดยให้รอยกรีดกว้างกว่ารอยที่ได้ทำเครื่องหมายโดยเมจิกไว้เล็กน้อย ใช้กรรไกรแหวก (blunt dissection) ชั้นกล้ามเนื้อ External Abdominal Oblique และ Internal Abdominal Oblique ตามแนวลายของกล้ามเนื้อ และใช้ไหมละลายชนิดสังเคราะห์ (Polyglycolic acid) เย็บตรึงไว้กับชั้นผิวด้านหน้าโดยวิธี Simple Interrupted Suture (ภาพที่ 1) เพื่อให้กล้ามเนื้อที่ทำการแหวกถูกยึดกับชั้นผิวด้านหน้าเป็น 4 มุม เพื่อให้เห็นผนังของเยื่อช่องท้อง (Peritoneum) ได้ชัดเจน



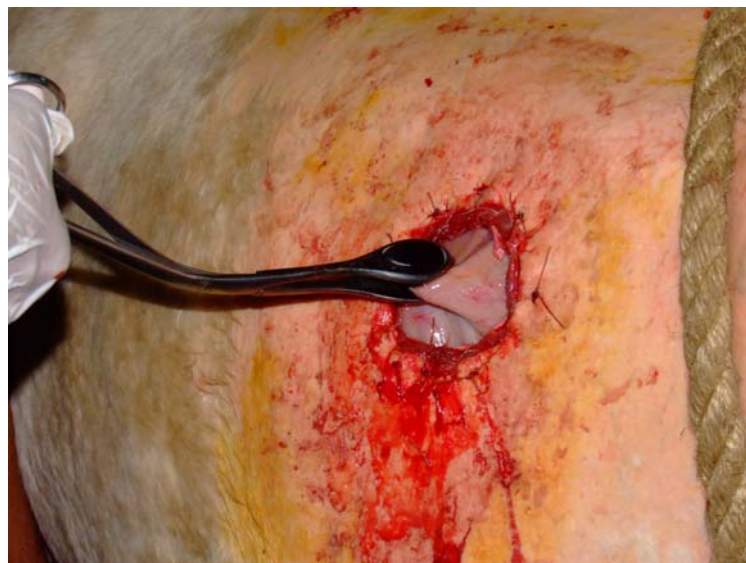
ภาพที่ 1 แสดงการตัดผิวหนังเป็นรูปร่างกลมบริเวณสวาปโด (ซ้าย) และการแหวกชั้นกล้ามเนื้อตามแนวลายกล้ามเนื้อเพื่อยึดติดกับชั้นผิวหนัง (ขวา)

ทำการเปิดผนังช่องท้องเพื่อแหวกออกและเชื่อมรวมกับชั้นกล้ามเนื้อและผิวหนัง โดยทำการเชื่อมรวมหลายตำแหน่งเป็นรูปร่างกลมตามแนวแผลของผิวหนังโดยวิธี Horizontal mattress suture ซึ่งหลังจากเปิดผ่าและเชื่อมผนังช่องท้องแล้วจะทำให้เห็นผนังของกระเพาะลำไส้ (Rumen) ชัดเจน (ภาพที่ 3) หลังจากนั้นใช้ Ruminant forcep จับยึดผนังของกระเพาะลำไส้ และให้ออกมานอกขอบแผลเล็กน้อย ทำการเย็บยึดผนังของกระเพาะลำไส้กับชั้นกล้ามเนื้อและผิวหนังที่เปิดผ่าโดยรอบ โดยใช้วิธี Horizontal mattress suture โดยการเย็บต้องไม่ให้ไหมละลายทะลุผิวหนังในของกระเพาะลำไส้เพื่อเป็นการยึดตรึงเป็นแนวก่อนทำการเปิดผ่ากระเพาะลำไส้ (ภาพที่ 2, ภาพที่ 3)

หลังจากทำการเย็บตรึงไว้แล้วจึงใช้กรรไกรตัดผนังกระเพาะลำไส้ออกเป็นวงกลม และทำการเย็บขอบของกระเพาะรูเมนที่เปิดออกให้ติดกับขอบของรอยแผลผ่าตัดที่ผิวหนังด้านนอกโดยวิธี Simple interrupted suture โดยพยายามเย็บให้ขอบของกระเพาะลำไส้ยึดแนบติดกับปากแผลที่ผิวหนังมากที่สุดเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารหรือของเหลวในกระเพาะลำไส้ที่ไหลออกมาตกลงไปในช่องท้องได้ในภายหลัง (ภาพที่ 2) ทำการล้างแผลผ่าตัดด้วย Normal saline solution ที่ผสมยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin ชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน



ภาพที่ 2 แสดงการเย็บผนังของกระเพาะลำไส้รั่วยึดกับผิวหนัง (ซ้าย) และการเปิดผนังกระเพาะ ลำไส้รั่วเป็นรูปวงกลม และเย็บขอบกระเพาะลำไส้รั่วยึดกับแผลผิวหนังโดยรอบ (ขวา) (อติชาติ, 2544)



ภาพที่ 3 แสดงผนังด้านนอกของกระเพาะลำไส้รั่ว หลังจากเย็บตรึงไว้กับชั้นกล้ามเนื้อและผิวหนัง



ภาพที่ 4 แสดงโคที่ได้รับการผ่าตัดและใส่กระบอกซิลิโคนพร้อมทั้งฝาจุกก่อนปิดฝา (ซ้าย) และหลังจากปิดฝาจุกเรียบร้อยแล้ว (ขวา)

3. ผลการผ่าตัด

หลังจากทำการผ่าตัดให้ยาปฏิชีวนะ Penicillin – Streptomycin ชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน วันเว้นวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ทำการล้างแผลโดยใช้ Normal Saline Solution ล้างแผลหลังจากการผ่าตัดและทาแผลด้วยทิงเจอร์ไอโอดีน และโรยด้วยยาผงไคแมลง (Negasunt[®]) อย่างต่อเนื่องทุกวัน วันละอย่างน้อย 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาที่ทำการรักษาบาดแผลหลังจากผ่าตัดโคได้รับอาหารหยابในปริมาณน้อยกว่าปกติเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารและของเหลวในกระเพาะผ้าขี้ริ้วล้นออกมาโดนแผลผ่าตัด แต่โคได้รับน้ำดื่มและอาหารขึ้นเป็นปกติ บาดแผลของโคทุกตัวหายดีหลังจากทำการศัลยกรรม 2 สัปดาห์

4. สรุปและวิจารณ์

การทำศัลยกรรมเพื่อทำท่อเปิดกระเพาะผ้าขี้ริ้วสำหรับการการวิจัยด้านโภชนศาสตร์สัตว์นั้นเป็นการทำศัลยกรรมที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของบาดแผลสูงมาก เนื่องจากกระเพาะผ้าขี้ริ้วเป็นอวัยวะที่มีจุลินทรีย์อยู่ภายในหลายชนิดและในปริมาณสูง ซึ่งโอกาสที่เชื้อจากภายในกระเพาะจะปนเปื้อนบาดแผลทำให้แผลติดเชื้อ และมีโอกาสลุกลามจนทำให้โคเสียชีวิตได้ (Komarek และ Leffel, 1961) การดูแลบาดแผลหลังจากการผ่าตัดจึงมีความสำคัญไม่น้อยกว่าขั้นตอนการทำศัลยกรรม การให้ยาปฏิชีวนะชนิด Penicillin-Streptomycin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ในวงกว้างจะช่วยป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียที่บาดแผลได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อบาดทะยักซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาจพบได้ เนื่องจากบาดแผลที่เกิดขึ้นมีโอกาสสัมผัสกับอากาศได้น้อย

โดยปกติทั่วไปสภาพแวดล้อมภายในกระเพาะผ้าขี้ริ้วเป็นสภาวะปิด การเปิดฝาระเพาะและทำท่อเปิดสู่ภายนอกอาจทำให้ระบบนิเวศภายในกระเพาะผ้าขี้ริ้วเสียไปหากขนาดของกระบอกที่ใช้มีขนาดไม่เหมาะสมกับบาดแผลผ่าตัด โดยหากกระบอกมีขนาดเล็กกว่าบาดแผล อาจทำให้มีอากาศเข้าไปภายในกระเพาะผ้าขี้ริ้วได้ แต่หากกระบอกมีขนาดใหญ่กว่าบาดแผลจะทำให้การใส่กระบอกทำได้ลำบาก Thyfanlt et al. (1975) กล่าวว่ากระบอกที่มีขนาดใหญ่ขึ้นก่อให้เกิดเนื้องอกจากการกดทับได้ เป็นเหตุให้แผลหายช้าได้ แต่อย่างไรก็ตามการเกิดเนื้องอกอาจพบได้บริเวณขอบของบาดแผล

ในอดีตที่ผ่านมากระบอกที่ใช้ต้องสั่งซื้อมาจากต่างประเทศซึ่งหากเลือกใช้กระบอกที่อ่อนเกินไปหรือมีความยืดหยุ่นสูงจะทำให้กระบอกที่ใส่ไว้หลุดได้ง่ายและบาดแผลจะหดเล็กลงจนทำให้ไม่สามารถใส่กระบอกอันเดิม

ได้อีก ซึ่งเป็นผลมาจากกระบอกไม้แฉ่งแรงพอที่จะเป็นโครงร่างป้องกันไม่ให้แผลหดเล็กลง นอกจากนี้หากใช้กระบอกชนิดที่มีความยืดหยุ่นตัวน้อย จะทำให้การเปิดและปิดถูกทำได้ลำบากโดยเฉพาะเมื่อกระบอกผ่านการใช้งานเป็นระยะเวลานาน ซึ่งปัจจุบันการผลิตกระบอกชนิดที่เป็นซิลิโคนซึ่งสามารถทำได้ในประเทศไทยมีความยืดหยุ่นสูงแต่มีความแข็งแรงป้องกันการรั่วของบาดแผลได้ดีซึ่งนับเป็นทางเลือกที่ดีและมีราคาถูกเหมาะสมแก่การนำมาใช้งานทดลองทางด้านโภชนาศาสตร์สัตว์

การจำกัดปริมาณการกินอาหารหยาบของโคภายหลังการทำศัลยกรรมมีความจำเป็นเป็นอย่างยิ่งเนื่องจาก การให้อาหารหยาบที่มีปริมาณมากจนเต็มกระเพาะผ้าขี้ริ้ว อาจทำให้ของเหลวภายในกระเพาะทะลักออกมาปนเปื้อนบาดแผล ส่งผลให้บาดแผลมีการติดเชื้อและทำให้แผลหายช้าได้ นอกจากนี้อาจพบเศษเนื้อตายบริเวณขอบแผล เนื่องจากการกดทับของกระบอกซิลิโคนและการปนเปื้อนของของเหลวจากภายในกระเพาะได้ สำหรับผลการหายของบาดแผลจากการทดลองนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Horigane et al. (1989) ซึ่งพบว่า บาดแผลจากการทำศัลยกรรมเพื่อทำช่องเปิดที่กระเพาะผ้าขี้ริ้วจะหายเป็นปกติภายในระยะเวลา 1-2 สัปดาห์

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ อ.สพ.ญ. อุมพร รุ่งฤกษ์ฤทธิ์ อาจารย์ประจำคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครเป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำศัลยกรรมครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

1. ทศนีย์ อภิชาติสารกุล และเทอดชัย เวียรศิลป์ 2530. การผ่าตัดใส่ท่อ Rumen Fistula ในวัวนมโดยวิธีการผ่าตัดครั้งเดียว (One-Stage Operation). เวชสารสัตวแพทย์. ปีที่ 17 (4): 349 - 355.
2. อติชาติ พรหมสา. 2544. ศัลยศาสตร์สัตว์ใหญ่. บริษัท ธนาเพรส แอนด์ กราฟฟิค จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 336 น.
Allen, D. G., Pringle, J. K., Smith, D. and Conlon, P. 1993. Handbook of Veterinary Drug. J. B. Lippincott. 678 p.
3. Hart, F. J. 1986. Rumen fistulation of swamp buffalo for nutritional studies. Proceedings of the Buffalo Seminar, Kasetsart Univ., Bangkok (Thailand). International Buffalo Information Center.- Bangkok (Thailand). pp. 206 - 212
4. Horigane, A., Gochou, S., Kishi, F., Ohotomo, Y. and Horiguchi, M. 1989. Silicone Rumen Cannula with a Soft Cylindrical Part and a Hard Flange. J. Dairy Sci 72 : 3230-3232.
5. Komarek, R. J., and Leffel. E. C. 1961. Gas - tight cannula for rumen fistula. J. Anim. Sci. 20 : 782 – 784.
Mendel, V. E. 1961. Pneumatic and Semipneumatic plus for large-diameter rumen fistulas in cattle. J. Dairy Sci 44 : 679-686.
6. Tassanawat, T., Sakpuaram, T. and Rojanasthien, S. 1990. Practical Approach of Paravertebral Nerve Block in Cattle. Proceedings of the 7th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associatins (FAVA) 4 – 7 Nov. Chonburi . Thailand. 685 p.
7. Thyfanlt, H. A., Leffel, E. C. and Huang, M. D. 1975. Simplified method for producing permanent ruminal fistulae. J. Dairy Sci. 58 : 1899.

**รายงานสัตว์ป่วย : การเกิดโรค Caseous Lymphadenitis ในฟาร์มแพะพ่อ แม่พันธุ์
เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย**

**Case report : The Caseous Lymphadenitis on Individual Breeder Goat Farm
in Nong-chock District, Bangkok Province, Thailand**

จตุพร กระจ่ายศรี (Jatuporn Kajaysri) *

บทคัดย่อ

ฟาร์มแพะพ่อ แม่พันธุ์ ในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร มีแพะทั้งหมด 87 ตัว (มีแม่พันธุ์ 60 ตัว, พ่อพันธุ์ 3 ตัว และลูกแพะอีก 24 ตัว) พบว่ามีแพะในฟาร์ม 18 ตัว อายุอยู่ระหว่าง 2-3 ปี มีอาการต่อมน้ำเหลืองใต้ผิวหนังบวมโตหลายที่ หลังจากทำการตรวจอาการทางคลินิก ซักประวัติ และดูผลการเพาะเชื้อจากหนองในฝั ท่างห้องปฏิบัติการซึ่งพบว่าเป็นเชื้อ *Corynebacterium pseudotuberculosis* จึงทำการวินิจฉัยว่าแพะทั้ง 18 ตัวดังกล่าวเป็นโรค Caseous lymphadenitis (CLA)

สำหรับการรักษาและควบคุมโรค ได้ทำการตัดทิ้งแพะที่มีสภาพร่างกายผอม อ่อนแอ และป่วยหนักไป 5 ตัว ส่วนแพะที่ป่วยอีก 8 ตัว ถูกรักษาโดยการเปิดฝีฝ่ออก และชะล้างฝีด้วยสารละลายไอโอดีน 7% และแพะที่เหลือที่ป่วยอีก 5 ตัว ถูกรักษาด้วยการผ่าตัดนำก้อนฝีออก เนื่องจากก้อนฝีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่กว่า 5 ซม และมีลักษณะเป็นแคปซูลที่ภายในอัดแน่นไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หลังจากทำการรักษาแพะทั้ง 13 ตัว ไปได้ประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่าผลที่รักษาไปหายดี แต่แพะเหล่านี้ยังถูกกักบริเวณไว้ในที่จำเพาะซึ่งถูกแยกออกมาอยู่ต่างหากจากฝูงเป็นเวลาถึง 2 เดือน เพื่อรอจนโรคสงบ แพะหายป่วยดีแล้ว และเพื่อเฝ้าระวังโรคต่อไป ซึ่งพบว่าไม่มีแพะตัวใดกลับมาเป็นฝีเกิดขึ้นอีก

คำสำคัญ Caseous lymphadenitis, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, ฝี, ต่อมน้ำเหลือง, แพะ

* คลินิกสำหรับสัตวศาสตร์ โภชนาวิทยา แอนโดรวิทยา และการผสมเทียมของสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
รายงานสัตว์ป่วย : การเกิดโรค Caseous Lymphadenitis ในฟาร์มแพะพ่อ แม่พันธุ์
เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

Abstract

One breeder goat farm bred Boer in Nong-chock district with totally 87 goats (60 female breeders, 3 male breeders and 24 kids) showed 18 goats varying in ages between 2-3 years old with clinical sign of many enlargement of the superficial lymph nodes. After history taking, clinical finding and the result of microbiological culture from content of abscesses that was identified *Corynebacterium pseudotuberculosis*. The 18 infected goats were diagnosed to be caseous lymphadenitis (CLA) disease. The 5 emaciated goats with poor body condition and hard sickness were culled. The 8 infected goats were surgically drained and flushed with 7% iodine solution and other 5 affected were surgically removed the abscesses when abscesses had diameter more than 5 cm and were associated with firm fibrous tissue capsules. Around 2 weeks after surgical treatments of the all 13 animals were the wound healing and kept in isolated area until 2 months for infection heals and monitoring of disappearance of recurring abscesses.

Keyword : Caseous lymphadenitis, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Abscess, Lymph node, Goat

1. Introduction

The caseous lymphadenitis (CLA) is a contagious chronic disease of goats and sheep that causes economic losses as a result of loss mostly from condemnation and trim of infected carcasses and devaluation of hides, lower body condition, poor wool harvest, subsequent reproductive failure and it decreases milk and meat yield (The Merck Veterinary Manual, 2008). Caseous lymphadenitis is a disease that occurs across the world and it is caused by bacteria, *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Goatworld.com, 2008). Although principally an infection of sheep and goats however, the rarely occurring is reported, sporadic disease also in horses, cattle, camels, water buffalo, wild ruminants, pigs and humans (The Merck Veterinary Manual, 2008). In Thailand, The caseous lymphadenitis is classified to exotic disease, it was reported outbreak in imported goats from Australia by department of livestock in year 1974.

Corynebacterium pseudotuberculosis is a gram positive bacteria with a very short rod, it can survive within purulent material in the environment of shaded areas, can be found for in feces, straw, hay, wood and soil for several months to year. Infection from bacterial in environment occurs through wounds of head butting, punctures, shearing and infection caused by oral ingestion or direct contact to mucous membranes of purulent from an abscess that has ruptured (Smith, 1990 and Kuria et al., 2001). The most obvious clinical signs of this disease are one or more of the superficial lymph node enlargements. The enlarged lymph nodes have a very thick wall with contain material that may be from thick semi-fluid through pasty to dry and caseous or calcified, its color can be from greenish to yellowish. The most common superficial lymph nodes become to easily seen or palpated abscesses, are parotid, mandibular, retropharyngeal, prescapular, prefemoral, mammary/superficial inguinal, popliteal lymph nodes (Lloyd, 1998). Some animals may have fever, anorexia and lethargy with the initial infection. The infection may spread and develop abscesses to other internal organs such as the liver, lung, kidney, reproductive tract and nervous system. They may cause weight loss, pneumonia and neurological signs. Usually no lesion occurs at the site of bacterial entry but, after an incubation period of between a few weeks and 2-4 months, an abscess may develop in the regional draining lymph node to the other lymph node or internal organs through the lymphatics or vasculature. The abscess of involved lymph nodes due to stage of necrosis and capsule formation are onion-like appearance on cross-section with fibrous band separating rings of caseous material (Lloyd, 1998, Luther and Stoltzenow, 2008).

A diagnosis of caseous lymphadenitis is based on the appearance of the animal and progression of clinical signs: 1. More than one palpable abscesses at a superficial or popliteal lymph node. Occasionally, the abscess may be rupture. 2. History of recurrent abscesses on individuals in herd, finding increasing prevalence with age. 3. Confirmation of the clinical diagnosis can be cultured identified *Corynebacterium pseudotuberculosis* organisms by abscess contents. Several serological tests including the hemolysis inhibition test, an ELISA test and agar gel immunoprecipitation test have been developed for the final confirmation of bacterial identity (Gezon et al., 1991, Lloyd, 1998 and Kuria et al., 2001). Treatment of caseous lymphadenitis with antibiotics by systemic is usually not successfully, because the antibiotics can not penetrate inside the abscess. Although the bacteria are sensitive to

many antibiotics. Abscesses can be surgically drained and flushed with iodine solution. Prevention is base on reducing transmission of the organism from infected to susceptible animals and individuals showing abscesses are isolated and flushed with iodine solution. Emaciated animals with poor body condition and recurring abscesses should be culled. Maintaining good hygiene in goat farm can be done for the environmental contamination prevented from purulent material. Commercial vaccines are only labeled for use in sheep and shown some safety concerns when used in goats, reduce the incidence and prevalence of caseous lymphadenitis within a flock, but they neither prevent all new infections nor cure animals already infected (Lloyd, 1998, Gleen, 2000 and The Merck Veterinary Manual, 2008).

Objective of this report is done for study of an effective treatment and preventive program to necessary control caseous lymphadenitis on individual goat farm in Nong-chock district, Thailand.

2. History of Infected Animals

One breeder goat farm bred Boer in Nong-chock district with totally 87 goats (60 female breeders, 3 male breeders and 24 kids) showed 18 goats varying in ages between 2-3 years old with clinical sign of many enlargements of the superficial lymph node. After history taking and clinical finding by the veterinarian of large animal for teaching hospital, Mahanakorn university of technology was found, this goat farm was built for two years ago. It had 6 houses with 2 meters high platform and the 10-15 female breeders were grouped with approximately similar size of body to be in same stall barns, it was the same being of kids and the living of 3 male breeders were in individual stall barns. The whole animals could be free in grazing field near their barns area. The most of goats were imported from Australia with ages around 12-18 months. The owner has done only FMD vaccines for breeder animals with single dose per goat per year.

One by one from 18 infected animals were determined the clinical signs of palpable enlargements of the superficial lymph nodes. The enlarged lymph nodes become more than one palpable abscesses with a very thick wall at a superficial or popliteal lymph node. Some animals had fever, anorexia, lethargy and/or purulent discharge from an abscess that has ruptured.

3. Diagnostic Methods

After the appearance of the first infected animals with progression of clinical signs until to the last finding of infected animal were taken a time for 2 months. All of sickness animals were done physical examination for disease diagnosis and collection of abscess contents for laboratory culture with aseptic syringes and large, 18 gauge needles. Some poor sickness animals were taken blood chemistry examination.

4. Diagnostic Results

Diagnostic results of 18 infected goats were caseous lymphadenitis (CLA), dependent on there being:

1. One or more than one palpable abscesses at a superficial or popliteal lymph node (see figure 1. showing the mandibular lymph node of goat at which caseous lymphadenitis abscesses)

2. Occasionally, some animals had fever, anorexia, lethargy and/or purulent discharge from an abscess that has ruptured. 3. History of current abscesses on individuals in herd, finding increasing prevalence with age. 4. The result of laboratory culture was identified *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

5. Treated Results and Control

Eighteen affected animals were not usually given systemic treatment. They were isolated from the herd, 5 emaciated goats with poor body condition and hard sickness (see results of blood chemistry examination) were culled. 8 infected goats (4 infected goats with ruptured abscesses) were surgically drained and flushed with 7% iodine solution and closed the wound with stitches. The animals were given intramuscular injection of Penicillin (40,000 I.U. per kg. of body weight) with streptomycin (10 mg. per kg. of body weight), repeated after 48 and 96 hrs. respectively, for preventing of the secondary bacterial infection after flushing. Other 5 affected were surgically removed the abscesses when abscesses had diameter more than 5 cm and were associated with firm fibrous tissue capsules. The content of abscesses were caseous with cream color and capsule formation were onion-like appearance on cross-section with fibrous band separating rings of caseous material (figure 2.). After removal abscesses that all 5 affected goats were injected by Penicillin with Streptomycin in the same dose of injection in 8 infected goats before. Around 2 weeks after surgical treatments of the all 13 animals were the wound healing. However they were kept in isolated area until 2 months for infection heals and monitoring of disappearance of recurring abscesses. After culling or treatments of affected goats for 1 year was not appearance this disease in this farm again. Because the owner has arranged his goat farm to control and eradicate disease from herd with this preventive programs:

1. Quarantine and monitor new animals at least 60 days.
2. Housing free of sharp objects
3. Clean and disinfect feeders and pen regularly
4. Bedding cleaned out regularly
5. Disinfect instruments that it can cause directed wound to animals like surgical instruments before using
6. Use a new hypodermic needle for each animal.
7. Young animals were separated from older animals that are more likely to be infected.

6. Discussion

The beginning of caseous lymphadenitis in this goat farm might be come from the imported goats into farm without the quarantine and monitor new animals at least 60 days and all goats could be free in grazing field near their barns area. Thus some goats were caseous lymphadenitis, typically transmitted to other goats when superficial abscesses were ruptured. Bacteria from pus contains would contaminate pen, barns, water buckets and

feed bunks and environment in farm, could be allowing infection to susceptible hosts when they exposed to the bacteria. Culling of the affected goats was the best method to control disease. If the goats were too valuable to cull, they should be cured. So, only 5 emaciated goats with poor body condition and hard sickness were culled. Treatment method could be used the first method as surgically drained and flushed with 7% iodine solution or the second method as removal of abscesses (The Merck Veterinary Manual, 2008). Results of both treatments were good and not difference but the pus from the first method should be flushed down a drain, or collected and burned. However, draining the abscess will increase risk of transmission of the organism to other animals if they are exposed to the pus. But the second method of treatment required the high skill and excellent aseptic technique to surgical remove the abscesses. This method was optimal to use with abscesses that they had the diameter more than 5 cm. with firm fibrous tissue capsules and so hard to drain and flush. About the vaccination, It was not used in Thailand. Another concern with caseous lymphadenitis was that it was a zoonotic disease. Thus treating and handling infected animals took sanitary precautions and maintaining good hygiene in goat farm. Always wear disposable gloves, and clean your hand, clothes after contract with suspected animals.

7. Conclusion

Knowing an effective treatment and preventive program of caseous lymphadenitis will help the goat owner to do the necessary measures for control this disease on individual goat farm in Nong-chock district, Thailand.



Figure 1. Location of a mandibular lymph node sites of goat at which caseous lymphadenitis abscesses was common palpable abscess.

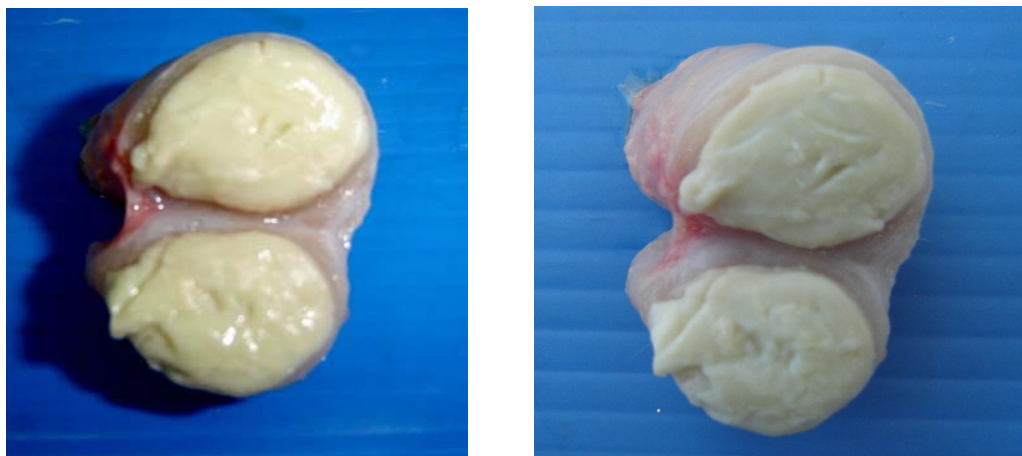


Figure 2. Showing the content of abscesses were caseous with cream color and capsule formation were onion-like appearance on cross-section with fibrous band separating rings of caseous material.

8. Acknowledgements

The finance was supported by Mahanakorn University of technology. The Authors thank to veterinarian of large animal for teaching hospital and diagnostic center of Mahanakorn university of technology, especially Dr. Umaporn Rungroekrit and Dr. Takdanai Jirapintu for helping, treatment and look after the animals as well.

9. Reference

1. Gezon, H.M., Bither, H.D., Hanson, L.A., Thompson, J.K. 1991. Epizootic of external and internal abscesses in a large goat herd over a 16-year period. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198 (2) : 257-263.
2. Glenn, J.S. February 2000. Caseous lymphadenitis in goats.
<http://www.saanendoah.com/GlennCL2000.html>
3. Goatworld.com. October 2008. Caseous lymphadenitis – goats and health.
<http://www.goatworld.com/articles/cl/cl.shtml>
4. Kuria, J.K.N., Mbutia, P.G., Kang'ethe, E.K. and Wahome, R.G. 2001. Caseous lymphadenitis in goats: The pathogenesis, incubation period and serological response after experimental infection. Vet. Research Communications. 25 : 89-87.
5. Lloyd, S. 1998. Caseous lymphadenitis in sheep and goats. The in practice handbooks, sheep and goat practice 2. W.B. Saunders Co., London. pp. 185-196.
6. Luther, J. and Stoltenow, C. February 2008. Caseous lymphadenitis: Is it a problem in your flock or herd?
<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/sheep/as1353.htm>
7. Smith, M.C. 1990. Exclusion of infectious diseases from sheep and goat farms. In: Advances in sheep and goat medicine. Vet. Clin. North Am. 6 : 705-720.

8. The Merck Veterinary Manual. October 2008. Caseous lymphadenitis of sheep and goats.

<http://www.merckvetmanual.com/mvm/htm/bc/10801.htm>

Effect of Fat Level and Yeast Supplementation on Feed intake, Nutrient Digestibility, Rumen Fermentation and Blood Metabolites in Goats

จิรวัลย์ โคตรศักดิ์ (Jirawan Khotsakdee) *

เฉลิมพล เมืองกลาง (Chalermpon Yuangklang) *

ไกรสิทธิ์ วสุเพ็ญ (Kraisit Vasupen) *

ศศิพันธ์ วงศ์สุทธารวส (Sasiphan Wongsuthavas) *

เสมอใจ บริณอก (Samurjai Bureenok) *

บทคัดย่อ

แพะเนื้อเพศผู้เจาะกระเพาะรูเมน ถูกจัดเข้าแผนงานทดลองแบบ 3x3 Latin square design เพื่อศึกษาผลของระดับไขมันและการเสริมยีสต์ต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของโภชนะและกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน มีทริทเมนต์ 3 ทริทเมนต์ ทริทเมนต์ที่ 1 ไขมัน 3.0% ทริทเมนต์ที่ 2 ไขมัน 6.0% และทริทเมนต์ที่ 3 6.0% ร่วมกับการเสริมยีสต์ เมื่อสิ้นสุดงานทดลอง พบว่าปริมาณการกินได้ของหญ้าหมักมีค่าเท่ากับ 283.00, 407.97 และ 308.62 กรัม วัตถุดิบในทริทเมนต์ที่ 1, 2 และ 3, ตามลำดับ ($P < 0.05$) ปริมาณการกินได้ของอาหารข้นและปริมาณการกินได้ทั้งหมด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างมีค่าสูงสุดในแพะที่ได้รับทริทเมนต์ที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์ที่ 1 และ 2 ส่วนกรดไขมันที่ระเหยได้ทั้งหมด ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ค่าความเข้มข้นของอะซิเตต โพรพิโอเนตและบิวทิเรต ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) จากข้อมูลงานทดลอง สามารถสรุปได้ว่าการเสริมยีสต์ในอาหารที่มีไขมันสูงช่วยปรับปรุงปริมาณการกินได้และการย่อยได้ของเชื้อใยที่ไม่ละลายในกรด

คำสำคัญ ยีสต์, ไบโมัน, แปะะ, กระบวนการหมักในกระเพาะเมน

* Department of Animal Science, Faculty of Natural Resources Rajamangala University of Technology-Isan, Sakon Nakhon Campus

Abstract

Three rumen fistulated male goats were used in a 3x3 Latin square design to investigate the effect of fat level and yeast supplementation on feed intake, nutrient digestibility and rumen fermentation. There were three experimental diets. Treatments were 3.0%fat (T1) and 6.0%fat (T2) and 6.0%fat with yeast supplementation (T3). Goats were received grass silage ad libitum. The experiment was lasted for 94 days. At the end of experiment, it was found that silage intake was 283.00, 407.97 and 308.62 gDM/d in T1, T2 and T3, respectively ($P<0.05$). Concentrate and total intakes were not significantly differ ($P>0.05$) among treatments. Rumen pH had highest in goats fed T3 when compared with T1 and T2. Total volatile fatty acids were not significantly differ ($P>0.05$). Concentration of acetate, propionate and butyrate were not significantly differ ($P>0.05$) among treatments. From the experimental data, it can be concluded that supplemental yeast in high fat diet did improve feed intake and ADF digestion.

Keyword : Yeast, Fat, Goat, Rumen fermentation

1. Introduction

Goat production is gradually increased in the northeast of Thailand. It is, however, a new career for the goat raiser to raise the goats. Generally speaking, there are three factors which commonly known to influence animal production such as breed, nutrition and management. Nutrition is a key factor to improve the efficient of goat production. Typically, goats are raised in the natural fields to reduce feed cost. But the performances of goats are not well improves so that the supplementation is needed. Fat is normally used in ruminant diets to enhance energy density. Yuangklang et al. (2005) demonstrated that supplemental fat was improved growth of meat goats. In agree with other researchers who showed that fat supplementation increased body weight gain and nutrient utilization in goats.

There have been, however, that added fat in ruminant diets were lowered fiber digestion (Devendra and Lewis, 1974). The native effect of added fat must be considered before feeding. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) is frequently incorporated into the ruminant diets to improve animal performance. Abd El-Ghani (2004) studied inclusion of yeast culture in dairy goats. Supplemental yeast culture was significantly higher in milk yield and milk composition when compared to control group. Titi et al. (2008) demonstrated that added yeast culture in Shami goats was significantly increased acid detergent fiber digestion when compared with control. In sheep, yeast supplementation was decreased rumen protozoa count when compared with control. Similar result with Doreau and Jouany (1998) studied supplemental *saccharomyce cerevisiae* in diary cow diet lowered rumen protozoa number when compared with control.

Moreover, it has been known that yeast culture enhanced cellulolytic bacteria (Newbold et al., 1996). The aim of this experiment was to study the effect of fat level and yeast supplementation on feed intake, nutrient digestibility and rumen fermentation in meat goats fed on grass silage as main roughage source.

2. Materials and Methods

Goats and diets

Three rumen fistulated male goats were used in a 3x3 Latin square design. Treatments were 3.0%fat (T1) and 6.0%fat (T2) and 6.0%fat with yeast supplementation (T3). Goats were received grass silage ad libitum. Each period was lasted for 28 days; 21 days was used to measure feed intake and last 7 days was used to measure digestibility by using total collection method (Schnieder and Flatt, 1977); 2 days for adaptation on the crate and last 5 days for sample collection.

The composition of experimental treatments is shown in Table 1. Grass silage and concentrate diets were fully supplied and feed refusals were measured once daily. The analyzed composition of experimental diets is shown in Table 2. During total collection periods, goats were housed on the metabolism crates and feces samples were collected in the last five consecutive days. Feed samples were collected weekly and pooled for analysis. At the end of each total collection period, rumen samples were collected by rumen fistula at 0, 2 and 4 h post feeding. Then, pH of rumen samples were measured immediately by pH/Temperature meter. The portion of 20 ml sub-

samples were acidified with 2 ml 6 N HCl to inhibit microbial activity and frozen at -20°C . Subsequently, individual rumen samples were thawed for volatile fatty acids analysis using HPLC (Shimadzu, Japan) (Samuel et al., 1997).

Feed and feces samples were dried at 60°C for 72 hr; ground and analyzed for dry matter (DM), crude protein (CP) and ash by the method of AOAC (1990). Neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were measured by the method of Goering and Van Soest (1970). Digestibility of nutrient was calculated as nutrient intake – nutrient in feces $\times$ nutrient intake $^{-1} \times 100$ (Schneider and Flatt, 1977)

Data were subjected to analysis of variance using GLM procedure (SAS, 1996). Treatment means were compared using Duncan's new multiple range test (Steel and Torries, 1960). The statistical significant was considered at $P < 0.05$.

Table 1 Ingredients of experimental diets

Item	T1	T2	T3
Cassava chip	59.0	56.0	56.0
Rice bran	10.0	10.0	10.0
Soybean meal	8.0	8.0	8.0
Dried tomato pomace	8.0	8.0	8.0
Whole cottonseed	3.0	3.0	3.0
Molasses	5.0	5.0	5.0
Urea	2.0	2.0	2.0
Salt	1.0	1.0	1.0
Ground oyster shell	0.3	0.3	0.3
Dicalcium phosphate	0.4	0.4	0.4
Sulfur	0.2	0.2	0.2
trace minerals	0.1	0.1	0.1
Tallow	3.0	6.0	6.0
Yea-Sac, g/d	-	-	10.0

T1 = 3.0%fat; T2 = 6.0%fat; T3 = 6.0%fat with yeast supplementation

Table 2 Chemical compositions of diets

Item	Grass silage	T1	T2
Dry matter (DM)	93.56	86.64	86.88
Ash	10.13	6.19	7.83
Organic matter (OM)	89.17	93.80	92.17
Crude protein (CP)	5.39	15.04	15.44
Ether extract (EE)	1.32	4.22	8.79
Neutral detergent fiber (NDF)	74.65	24.73	24.63
Acid detergent fiber (ADF)	47.91	17.79	18.05

3. Results and Discussions

Feed intake and nutrient digestibility

Goats fed high fat diets were higher ($p < 0.05$) in silage intake than goats fed low fat diet. Concentrate and total intakes were not significantly differ ($p > 0.0$) among treatments. Total intake was 2.48, 2.51 and 2.31%BW in T1, T2 and T3, respectively. Digestion of DM, OM CP, EE, NDF were not significantly differ ($p > 0.05$) among treatments. Goat fed high fat diets were enhanced fat digestion when compared with low fat diets. High fat diets were depressed NDF digestion ($p > 0.05$). But ADF digestion was trended to improve when yeast was supplemented ($P = 0.067$). Ahmed et al. (2007) found that supplemental yeast enhanced cellulose activity in goats fed Berseem hay. Belewu et al. (2004) found that yeast supplementation had improved feed intake and nutrient digestion in goats. Supplemental yeast has been repeatedly reported to improve feed intake and nutrient digestibility (Eramus et al., 1992). We hypothesized that supplemental yeast would reduce the inhibitory effect of high fat diet on fiber digestion through the stimulating of cellulolytic bacteria in the rumen. Thus these finding was approved our hypothesis.

Table 3 Silage, concentrate and total intakes of goats fed different diets

Item	T1	T2	T3	SEM
Silage intake				
gDM /d	283.00 ^b	407.97 ^a	308.62 ^b	1.58
% BW	0.97	1.20	0.97	0.12
g/kg BW ^{0.75}	22.45	28.88	22.90	0.52
Concentrate intake				
gDM /d	444.20	461.53	441.91	2.88
% BW	1.50	1.38	1.34	0.12
g/kg BW ^{0.75}	21.67	17.08	20.08	0.56
Total intake				
gDM /d	727.22	869.51	750.53	2.90
% BW	2.46	2.58	2.31	0.11
g/kg BW ^{0.75}	44.13	45.96	42.98	0.36
Digestibility, % of intake				
Dry matter	88.48	87.49	87.41	0.61
Organic matter	90.18	88.74	90.21	0.57
Crude protein	88.76	86.45	87.45	0.61
Ether extract	91.21	94.09	94.47	0.34
NDF	86.06	85.74	84.84	0.64
ADF	81.93	83.02	83.63	0.62

^{ab} Means with different within the same row are different ($p < 0.05$).

T1 = 3.0%fat; T2 = 6.0%fat; T3 = 6.0%fat with yeast supplementation

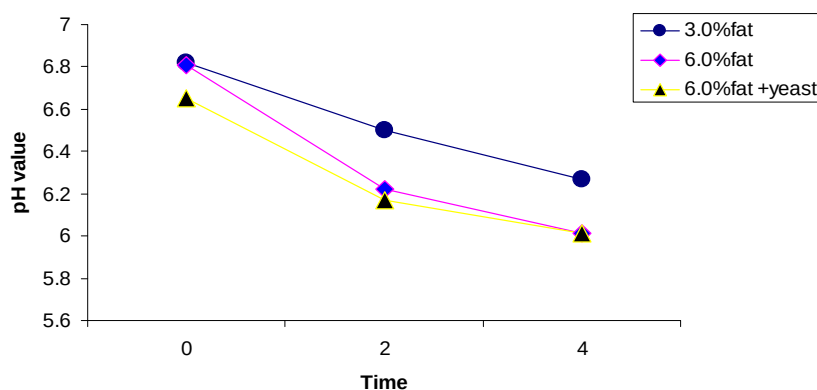


Figure 1 Diurnal change in rumen pH of goats fed 3.0%fat (T1), 6.0%fat (T2) and 6.0%fat with yeast supplementation (10 g/d) (T3)

Table 4 Total volatile fatty acids (TVFAs), acetate (C2), propionate (C3) and butyrate (C4) of goats fed different diets

Item	T1	T2	T3	SEM
TVFA, mM				
0	98.33	71.67	99.25	1.90
2	107.13	101.66	103.00	0.62
4	103.33	95.47	100.00	0.77
Acetate, %				
0	63.36	62.98	61.89	0.62
2	58.78	59.64	63.04	0.68
4	59.42	59.29	55.48	0.87
Propionate, %				
0	26.55	27.76	25.54	0.40
2	24.64	27.67	26.99	0.86
4	26.11	32.29	28.77	0.75
Butyrate, %				
0	10.08	9.24	12.56	0.57
2	16.47	12.67	13.29	0.50
4	14.46	12.21	11.85	0.43
Entodinium, $\times 10^3$/ml				
0	33.3	33.3	33.3	10.0
2	33.3 ^c	100.0 ^a	66.6 ^b	9.0
4	33.3 ^b	66.6 ^a	66.6 ^a	7.4
Isotricha, $\times 10^3$/ml				
0	38.3 ^b	53.3 ^a	41.7 ^b	1.65
2	45.0 ^a	45.0 ^a	31.7 ^b	1.06
4	25.0	25.0	25.0	1.08

T1 = 3.0%fat; T2 = 6.0%fat; T3 = 6.0%fat with yeast supplementation

^{ab} Means with different within the same row are different ($p < 0.05$).

Rumen pH and volatile fatty acids

Rumen fluid parameters for goats that were fed experimental diets are shown in Figure 1. Goats fed T1 had higher pH values ($p > 0.05$) at 0, 2 and 4 h post-feeding than T2 and T3. This finding was agreed with Abd El-Ghani (2004) found that Bucks fed YC had higher pH values at 3 h post-feeding than the control group.

Total volatile fatty acids (TVFAs) were not significantly differ ($p>0.05$) among treatments. Goats fed T2 had lowest TVFAs than T1 and T3. Yeast supplementation was increased TVFA when compared with non-supplemented groups. In accordance with Abd El-Ghani (2004) found that supplemental yeast culture was increased TVFA in goats. Concentration of acetate, propionate and butyrate at 0, 2 and 4 h post-feeding were not significantly differ ($p>0.05$) among treatments.

4. Conclusions

From the experimental data, it can be concluded that supplemental yeast in high fat diet did improve silage intake, acid detergent fiber digestion and total volatile fatty acids in goats. Thus, there is warrant further investigation to study effect of yeast supplementation on growth performance of goats.

5. Acknowledgements

The senior author would like to thanks Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus.

6. References

1. Abd EI – Ghani A.A. 2004. Influence of diet supplementation with yeast culture (*Sacharomyces cereviae*) on performance of Zaraibi goats. Small Rumin. Res., 52:223 – 229
2. Ahmed M.E.W. and H.R. Ibrahim. 2007. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* of yeast on fiber digestion in sheep fed Berseem (*Trifolium alexandrinum*) hay and cellulose activity. Australian Journal of Basic and Applied Science. 1(4): 379-385.
3. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analysis Chemists (15th ed.), DC, U.S.A.
4. Belewu, M. A., D. J. Ologunla and K. Y. Belewu. 2004. Effect of Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on feed intake and digestibility coefficient of west african dwarf goat Fed sawdust-cassava waste based Diet. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 10(2):
5. Devendra, C., and D. Lewis, 1974. The interaction between dietary lipids in the sheep. 2. Digestibility studies. Anim. Prod. 19:67-76
6. Erasmus, L.J., P.M. Botha and A. Kistner. 1992. Effect of yeast culture supplement on production rumen fermentation, and duodenal flow in dry cows. J. Dairy Sci. 75:3056-3065.
7. Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures and some Application). Agriculture Handbook No.379. Agricultural Research Service, USDA Washington, D.C., U.S.A. 20 p.
8. Newbold, C.J., R. J. Wallace and F.M. McIntosh. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. British Journal of Nutrition. 76: 249-261.
9. Samuel, M., Sagathewan, S., Thomus, J. and Mathen, G. 1997. An HPLC method for estimation of volatile fatty

- aids of rumen fluid. Indian J. Animal Sci. 67: 805-807.
10. SAS. 1996. User's Guide; Statistics. Statistical Analysis System Inst., Cary, NC, U.S.A.
 11. Schneider, B.H. and Flatt W.P. 1977. The Evaluation of Feeds through Digestibility Experiments. The University of Georgia Press, Athens, Georgia, U.S.A.
 12. Steel, R.G.D. and Torries, J.H. 1960. Principles and Procedure of Statistics; with Reference to the Biological Science. McGraw-Hill Book Company, New York, New York.
 13. Titi H.H., R.O. Dmour and A.Y. Abdullah. 2007. Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs and Shami goat kids fed yeast culture in their finishing diet. Animal Feed Science and Technology. 142: 33 – 43.
 14. Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. (2nd ED.), Cornell University Press, Ithaca, NY. 374 p.
 15. Yuangklang, C., S. Wittayakun, K. Vasupen, C. Sarnklong, S. Wonsutthavas, P. Srenanul, R. Kamdaw and S. Chaiphokhum. 2005. Effect of substitution of tallow by soybean oil on feed intake, rumen fermentation and nutrient digestibility in dairy steers fed with urea-treated rice straw as roughage source. In: Proceeding of Integrating Livestock-Crop System to meet the challenges of globalization. AHAT/BSAS International Conference, 14-18 November 2005, Khon Kaen, Thailand. T29.

**การเปรียบเทียบ 3 วิธีการลดอุณหภูมิร่างกายในม้านักกีฬาด้วย น้ำเปล่า, น้ำเย็น, น้ำเย็น และพัดลม
ภายหลังจากการออกกำลังกาย**

**The Comparison between Ambient Temperature Tap water, Cold Water and Cold Water with Air Cooling
Methods on the Recovery Rate after Exercise in Athletic Horses**

ธีรพล ชินกังสดาร (Teerapol Chinkangsadarn) *

ทัชชรัตน์ กิติโชคดำรงกุล (Tatcharat Kittichokdamrong) *

บทคัดย่อ

ม้าเป็นสัตว์นักกีฬาที่สามารถสร้างความร้อนจากการออกกำลังกายได้ถึง 1 องศาเซลเซียสต่อนาที แต่ในทางตรงกันข้าม ร่างกายของม้ามักมีข้อจำกัดในการระบายความร้อน เนื่องจากสัดส่วนของพื้นที่ผิวต่อน้ำหนักตัวน้อยเมื่อเทียบกับมนุษย์ และม้ามียีนปกคลุม ด้วยเหตุนี้ ม้าที่ออกกำลังกายเป็นเวลานานเกินไปอาจเกิดการบาดเจ็บต่อกล้ามเนื้อ และก่อให้เกิดความผิดปกติของระบบเมตาบอลิซึมได้ การศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีลดอุณหภูมิร่างกายของม้า 4 วิธี ได้แก่ เดินจูง (กลุ่มควบคุม), ใช้น้ำเปล่า, ใช้น้ำเย็น, ใช้น้ำเย็น และพัดลม ผลการศึกษาทุกวิธีมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างในเรื่องอุณหภูมิของน้ำ

* คลินิกสำหรับม้า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

Horses are born to be athlete by their nature. This make them be able to produce large amount of heat up to 1 °C/min. In contrast, horse has limited thermoregulatory control due to their major from of heat loss is evaporation via skin area, which is covered by fur. Furthermore, the surface area/ body weight ratio in horse is lower than in human. All these factors might cause an injury to musculoskeletal system in all athletic horses that have exercised in a long period of time. In this study we use 4 evening horses to perform exercise in treadmill with heart rate monitored every minute. After exercise all the horses will receive 4 different cool down methods; hand walk only (control), tap water, 2 °C ice cold water, 2 °C ice cold water with fan. The results are no different between each method but all the methods are different from control. The results indicated that every method is same for cool down horse after exercise.

**ผลกระทบของความหนาไขมันสันหลังในช่วงการอุ้มท้องของแม่สุกร
ต่อจำนวนลูกสุกรทั้งหมดต่อครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต และน้ำหนักแรกคลอดเฉลี่ย**

**The Effect of Backfat Thickness in Gestation Sows
to Total Born, Born Alive and Birth Weight**

ชัยณรงค์ ภูมิรัตนประพิณ (Chainarong Phumratnaprapin) *

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต (Annop Kunavongkrit)**

วิชัย ทันตศุการักษ์ (Wichai Tantasuparuk)**

เผด็จ ธรรมรักษ์ (Padet Tummaruk)**

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาไขมันสันหลังตั้งแต่ผสมพันธุ์ถึงคลอดในแม่สุกร กับจำนวนลูกสุกรแรกคลอดทั้งหมดต่อครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตต่อครอก และน้ำหนักแรกคลอดเฉลี่ย โดยศึกษาในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ผสมระหว่างพันธุ์ลาร์จไวท์ และแลนด์เรซ แบ่งการศึกษาเป็น 2 ฟาร์ม ประกอบด้วยฟาร์มที่ 1 และ 2 มีจำนวนแม่สุกรในแต่ละฟาร์มเท่ากับ 318 ตัว แม่สุกรมีการกระจายในลำดับครอกต่างๆ กัน ทำการวัดความหนาไขมันสันหลังต่อเนื่อง 4 ครั้งคือเริ่มต้นที่ผสมพันธุ์, อุ้มท้องสัปดาห์ที่ 4, อุ้มท้องสัปดาห์ที่ 12, และเมื่อคลอดวัดความหนาไขมันสันหลังด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ชนิด เอ-โมด บริเวณสันหลังที่ ตำแหน่ง P2 แบ่งกลุ่มแม่สุกรเป็น 5 กลุ่มตามปริมาณความหนาไขมันสันหลังประกอบด้วย BFT1 (เท่ากับหรือน้อยกว่า 11 มิลลิเมตร) BFT2 (11.5-15 มิลลิเมตร) BFT3 (15.5-20 มิลลิเมตร) BFT4 (20.5-25 มิลลิเมตร) BFT5 (เท่ากับมากกว่า 25.5 มิลลิเมตร) ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มแม่สุกรที่ความหนาไขมันสันหลังพอดี และหนา (BFT3 และ BFT4) เมื่อผสมพันธุ์และอุ้มท้อง 4 สัปดาห์ มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดทั้งหมดต่อครอกไม่แตกต่างกับกลุ่มอื่น ($p>0.05$) และเมื่ออุ้มท้อง 12 สัปดาห์และคลอด กลุ่ม BFT3 และ BFT4 (ฟาร์มที่ 1) จะมีน้ำหนักแรกคลอดเฉลี่ยมากกว่ากลุ่ม BFT1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

คำสำคัญ ความหนาไขมันสันหลัง, ลูกสุกรทั้งหมดต่อครอก, ลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต, น้ำหนักแรกคลอดเฉลี่ย, แม่สุกร

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** ภาควิชาสัตวศาสตร์ ไร่นาวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abstract

The aim of this study was to determine the changes in backfat thickness from mating to farrowing in sows, and whether had an effect on the total born (TB), numbers of born alive (BA) and the birth weight (BW). Two pig farms (1 and 2) with Largewhite $\times$ Landrace sows were used for this study. Each farms had 318 sows with normal parity distribution. Backfat thickness was measured using an A-mode ultrasonic detector at the P2 position, at mating, at 4 weeks, at 12 weeks of pregnancy and at farrowing. At each measurement, sows were grouped according to their backfat thickness, those less than 11 mm (BFT 1), 11.5-15 (BFT 2), 15.5-20 (BFT 3), 20.5-25 (BFT 4) and more than 25.5 mm (BFT 5). The TB in the groups which had good backfat thickness at mating and at 4 weeks of pregnancy was not significantly different from the other groups ($p>0.05$). When comparing the BW of piglets from sows which had backfat measured at 12 weeks pregnant and at farrowing, the BW of piglets (farm 1) in BFT 3 and BFT4 was heavier than that in BFT1 ($p<0.05$).

Keyword : Backfat thickness, Total born, Born alive, Birth weight, sow

ผลของระดับไขมันในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และการย่อยได้ของโภชนาในห่านเนื้อ

Effect of Fat Levels in Meat Goose Ration on Growth Performance and Nutrient Digestibility

ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส (Sasiphan Wongsuthavas) *

เฉลิมพล เชื้อกลาง (Chalermporn Yuangklang) *

ไกรสิทธิ์ วสุเพ็ญ (Kraisit Vasupen) *

จำลอง มิตรชาวไทย (Jamlong Mitchaothai)**

กนกอร นกบุญ (Kanok-on Nugboon) *

สิทธิชัย หัตถสาร (Sittichai Hattasarn) ***

เอนตอน ซี ไบเนน (Anton C. Beynen) *

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับไขมันในอาหาร ต่อการย่อยได้ของโภชนา และสมรรถภาพการเจริญเติบโตของห่านเนื้อ โดยใช้อาหารทดลอง 2 สูตรที่มีระดับไขมัน 2 ระดับ คือ ร้อยละ 3 และ 6 ใช้ห่านเนื้อพันธุ์จิน จำนวน 14 ตัว อายุเริ่มต้น 4 สัปดาห์ แบ่งเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 7 ตัว เลี้ยงในกรงขังเดี่ยว มีอาหาร และน้ำให้กินตลอดเวลาการทดลอง (6 สัปดาห์) วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) จากการศึกษาพบว่า ระดับของไขมันในอาหารไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต การย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีน เชื้อใย เถ้า และฟอสฟอรัส ($p > 0.05$) ส่วนการย่อยได้ของไขมัน และแคลเซียมมีค่าลดลงเมื่อระดับไขมันในอาหารสูงขึ้น (ร้อยละ 3 และ 6) เท่ากับร้อยละ 90.41 และ 83.29 ($p < 0.01$); 87.85 และ 85.69 ($p < 0.05$) ตามลำดับ

คำสำคัญ ระดับไขมัน, การเจริญเติบโต, การย่อยได้ของโภชนา

* คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร

** คลินิกสำหรับสุกร คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*** สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดสกลนคร กรมปศุสัตว์ จ.สกลนคร

Abstract

The aim of this experiment was carried out to investigate the effect of fat levels on growth performance and nutrient digestibility of meat goose. At 4 week old 14 Chinese geese were randomly distributed into 7 birds per treatments. They were kept in individual cages (7 replications per treatments). The experimental diets were formulated to 2 levels of fat (3 and 6%). Feed and water were freely at all period (6 weeks). Experimental treatments were subjected to Completely Randomized Design (CRD). The results shown that fat levels in diets did no influence on growth performance, digestibilities of dry matter, crude protein, crude fiber, ash as well as phosphorus ($P>0.05$) but digestibilities of fat and calcium were reduced when enhance levels of fat in diets (3 and 9%) [90.41 and 83.29 ($p<0.01$); 87.85 and 85.69 ($p<0.05$), respectively].

Keyword : Fat Levels, Growth Performance, Nutrient Digestibility

1. บทนำ

ห่านเป็นสัตว์ปีกที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว ทนทานต่อโรค และสภาพแห้งแล้งได้ดี นอกจากนี้ยังมีข้อดีคือสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารคุณภาพต่ำได้ดี จึงเหมาะที่เกษตรกรได้เลี้ยงไว้เป็นอาชีพเสริม (สมจิตร และคณะ, ไม่ระบุปีที่พิมพ์) จากรายงานการศึกษาทางด้านโภชนาการสำหรับห่านยังมีน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเสริมไขมันในอาหาร เนื่องจากไขมันเป็นการเพิ่มระดับพลังงานในอาหาร อีกทั้งยังช่วยให้วิตามินที่ละลายในไขมัน (เอ ดี อี และเค) สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ได้ จากรายงานของ Jahanian and Rahmani (2008); Wongsuthavas et al. (2008a) พบว่า การเสริมไขมันในระดับที่สูงขึ้น มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของสัตว์ปีกดีขึ้น อย่างไรก็ตามไขมันในอาหารจะส่งผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในสัตว์ปีก (Wongsuthavas et al., 2008b) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับไขมันแตกต่างกัน 2 ระดับ (ร้อยละ 3 และ 6) ซึ่งอาจจะมีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และการย่อยได้ของโภชนะของห่านเนื้อ

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

สัตว์ทดลอง อาหาร และการวางแผนการทดลอง

ใช้ห่านเนื้อพันธุ์จีน อายุ 1 เดือน จำนวน 14 ตัว ทำการสุ่มกลุ่มละ 7 ตัว นำเข้ากรงขังเดี่ยว (7 ข้างต่อ ทรีทเมนต์) มีอาหารและน้ำให้กินตลอดเวลา ประกอบสูตรอาหารทดลอง 2 สูตร โดยการเพิ่มระดับของไขมันในอาหาร คือ ร้อยละ 3 และ 6 ดังแสดงใน Table 1 การทดลองครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลอง (Completely Randomized Design, CRD)

การเก็บข้อมูล และการจดบันทึก

จดบันทึกปริมาณอาหาร และมูลที่ขับออกทุกวัน ตลอดการทดลอง (6 สัปดาห์) เพื่อคำนวณหาการย่อยได้ของโภชนะ ส่วนน้ำหนักตัวบันทึกทุกๆ สัปดาห์ เพื่อคำนวณหาสมรรถภาพการเจริญเติบโต จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 10 สัปดาห์

การวิเคราะห์ทางเคมี

วิเคราะห์ปริมาณโภชนะในอาหารทดลอง และมูล ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีน เถ้า เชื้อใย ไขมัน แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1985)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่น่ามาวิเคราะห์ทางสถิติ (Steel and Torries, 1980) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการคำนวณ (SPSS for windows 9.0, SPSS Inc., Chicago, IL, 1998) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ ได้แก่ น้ำหนักเริ่มต้น และ สิ้นสุด ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการย่อยได้ของโภชนะ (7 ตัวต่อ ทรีทเมนต์)

Table 1 Ingredients and chemical composition of experimental diets

Ingredients, %	Fat levels	
	3%	6%
Palm oil	3.00	6.00
Tapioca starch	46.02	43.02
Soybean meal	41.05	41.05
Rice bran hull	4.00	4.00
Di-calcium phosphate	3.87	3.87
DL-Methionine	0.30	0.30
L-Lysine hydrochloride	0.25	0.25
Sodium	0.51	0.51
Premixed	1.00	1.00
Total	100.00	100.00
Chemical composition, % (calculated)		
ME (Kcal/kg)	3,300	3,500
Energy : protein ratio	160	163
Methionine	0.50	0.50
Methionine + Cystine	0.73	0.73
Lysine	1.20	1.20
Chemical composition, % (Analysed)		
Dry matter	86.32	85.82
Crude protein (N*6.25)	20.60	21.47
Ether extract	4.40	7.36
Crude fiber	3.51	3.45
Ash	3.14	3.30
Calcium	0.45	0.50
Phosphorus	0.83	0.84

3. ผลและวิจารณ์

สมรรถภาพการเจริญเติบโต

ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของห่านเนื้อ ที่ได้รับไขมันร้อยละ 3 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Table 2 ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Min et al. (2007) พบว่า การเพิ่มระดับไขมันในอาหาร ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต (ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร)

Table 2 Effect of fat levels in diets on growth performance

Items	Fat levels		SEM	P-values
	3%	6%		
Birds number	7	7	-	-
Period (weeks)	6	6	-	-
Mortality (%)	0	0	-	-
Initial weight (g)	1,843	1,983	147.42	0.51
Final weight (g)	3,493	3,483	146.40	0.96
Feed intake (g/d)	136.4	134.4	4.31	0.75
Average daily gain (g/d)	39.32	35.71	2.82	0.39
Feed conversion ratio (kg/kg)	3.46	3.76	0.35	0.39

การย่อยได้ของโภชนะ

จากการศึกษาผลของระดับไขมันในอาหารต่อการย่อยได้ของโภชนะพบว่า การย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีน เยื่อใย เถ้า และฟอสฟอรัส ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนการย่อยได้ของไขมัน และแคลเซียมมีค่าลดลง เมื่อระดับไขมันในอาหารสูงขึ้น (ร้อยละ 90.41 และ 83.29 ($p<0.01$); ร้อยละ 87.85 และ 85.69 ($p<0.05$) ตามลำดับ) ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเกิดจากปริมาณไขมันในอาหารที่สูงขึ้น โดยไขมันจะมีโอกาสที่ไปทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับแคลเซียมให้อยู่ในรูปของสบู่แคลเซียม (Calcium soap) เนื่องจากแคลเซียมมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับหมู่ COO^- ของกรดไขมันในอาหารมากกว่าแร่ธาตุชนิดอื่นๆ ซึ่งจะไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (Lipase) ทำให้การเพิ่มระดับไขมันในอาหารมีผลให้การย่อยได้ของไขมัน และแคลเซียมลดลง (Wongsuthavas et al., 2008a; 2008b) เมื่อพิจารณาว่าการย่อยได้ของฟอสฟอรัสมีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Influence of fat levels in diets on nutrient digestibility

Nutrient digestibility, %	Fat levels		SEM	P-values
	3%	6%		
Dry matter	84.47	84.74	0.76	0.80
Crude Protein	79.49	78.76	1.03	0.63
Crude Fat	90.41 ^a	83.29 ^b	0.68	0.00
Crude Fiber	52.06	40.23	5.57	0.16
Ash	40.98	40.10	2.49	0.82
Calcium	87.85 ^a	85.69 ^b	0.65	0.04
Phosphorus	54.16	45.70	3.07	0.08

4. สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาระดับไขมันในอาหารห่านเนื้อไม่มีผลต่อการสมรรถภาพเจริญเติบโต (อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร) และการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีน เยื่อใย ธาตุ และ ฟอสฟอรัส ($p > 0.05$) ส่วนการย่อยได้ของไขมัน และแคลเซียมมีค่าลดลง ดังนั้นจากผลที่ได้สามารถกล่าวได้ว่าการใช้ไขมันในอาหารในระดับร้อยละ 3 น่าจะเหมาะสมต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และการย่อยได้ของโภชนะ

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะนักวิจัยขอขอบคุณคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขต สกลนคร ที่ช่วยสนับสนุนในการทำงาน พร้อมทั้งสถานที่ทำการทดลอง และนักศึกษาภาควิชาสัตวศาสตร์ทุกคนที่ช่วยเก็บตัวอย่างงานวิจัยครั้งนี้จนเสร็จลุล่วงด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

1. สมจิตร อินทรมณี นพวรรณ ชมชัย และอนันต์ ภูสิทธิกุล. ไม่ระบุปีที่พิมพ์. ผลการเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนต่างๆ ในห่านเลี้ยงด้วยหญ้าชันกาด. เข้าถึงได้จาก http://www.dld.go.th/nutrition/Research_Knowledge/RESEARCH/research_full/2535/R3505.doc
2. AOAC. 1985. Official Methods of Analysis. Washington, DC: Association of Official Analysis Chemists.
3. Jahanian, R., and H. R. Rahmani. 2008. The effect of dietary fat level on the response of broiler chicks to betaine and choline supplements. J. Biol. Sci. 8 (2): 362-367.
4. Min, Y.N., S. S. Hou, Y. P. Gao, W. Huang, and F. Z. Liu. 2007. Effect of Dietary Crude Protein and Energy on Gosling Growth Performance and Carcass Trait. Poult. Sci. 86: 661-664.

5. SPSS for Windows, Release 9.0., 1998. SPSS Inc., Chicago, IL.
6. Steel, R.G.D. and Torrie, T.H. 1980. Principle and Procedure of Statistic. McGraw Hill Book Company, New York.
7. Wongsuthavas, S., Terapuntuwat, S., Wongsrikeaw, W., Katawatin, S., Yuangklang, C., and Beynen, A.C. 2008a. Influence of amount and type of dietary fat on deposition, adipocyte count and iodine number of abdominal fat in broiler chickens. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 92: 92-98.
8. Wongsuthavas, S., Yuangklang, C., Vasupen, K., Mitchaothai, J., Nugboon, K. and A. C. Beynen. 2008b. Dietary soybean oil improved calcium and magnesium absorption when compared with dietary beef tallow in broiler chickens. The 13th Animal Science congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. Hanoi, Vietnam.

**การเฝ้าระวังและตรวจหาเชื้อ *Bacillus anthracis* จากหนังสัตว์นำเข้าราชอาณาจักรไทย
ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550**

**Surveillance and Detection of *Bacillus anthracis* in Imported Animal Hide into the Kingdom of Thailand
During 2003-2007**

อิงอร สมวงษ์อินทร์ (Ing-on Somwongintr) *

อุบลรัตน์ แทนกลาง (Ubonrat Tanklang) *

บทคัดย่อ

ทำการตรวจหาเชื้อ *Bacillus anthracis* จากหนังสัตว์นำเข้าจากต่างประเทศ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546-2550 ซึ่งมีการนำเข้าประมาณ 450 ครั้ง จากกว่า 40 ประเทศ รวมจำนวน 1,499 ตัวอย่าง โดยเฉพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sheep blood agar และ Tryptone soya broth ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก WHO ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อ *B. anthracis* ทั้ง 1,499 ตัวอย่าง เป็นไปได้ว่าประเทศที่ส่งหนังสัตว์เข้าประเทศไทยมีความระมัดระวังในการเลือกหนังสัตว์ที่เป็นสินค้าส่งออกจากแหล่งที่ไม่เกิดโรคระบาดแอนแทรกซ์ ดังนั้นการที่กรมปศุสัตว์มีความเข้มงวด โดยกำหนดมาตรฐานสำหรับใช้ในการควบคุมการนำเข้าราชอาณาจักรของสัตว์และซากสัตว์ เก็บตัวอย่างทดสอบโรคจากหนังสัตว์นำเข้าหรือตรวจหาเชื้อสาเหตุในตัวอย่างทั้งหมดก่อนนำเข้า นับว่าเป็นแนวทางการป้องกันและเฝ้าระวังการนำโรคระบาดสัตว์จากสินค้าปศุสัตว์นำเข้าที่เหมาะสม ซึ่งจะส่งผลให้สามารถควบคุมโรคมิให้แพร่ระบาดเข้าประเทศไทยได้ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และผู้ปฏิบัติงานกับสินค้าปศุสัตว์เหล่านี้

คำสำคัญ แอนแทรกซ์, หนังสัตว์นำเข้า, *Bacillus anthracis*

* สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ

Abstract

A total of 1,499 imported animal hide samples collected from approximately 450 shipments from more than 40 countries during 2003-2007 were cultured for *Bacillus anthracis* using Sheep blood agar and Tryptone soya broth. All samples showed negative result which indicated that the exporting countries carefully selected their products from the area of anthrax- free status. Emphasis on the regulation regarding to animal and product movement such as requirement for importation of animal and animal product into the Kingdom of Thailand as well as surveillance and detection of infectious agents through imported animal hide or products is needed for prevention and control the entrance of infectious diseases into Thailand. Therefore, consumers and workers would be safe from handling contaminated animal products.

Keyword : *Bacillus anthracis* , Anthrax, Imported animal hide

1. บทนำ

เชื้อ *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*) เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ (Anthrax) โรคนี้พบมีการระบาดแบบ sporadic ในทวีปอเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ ยุโรป เอเชีย แอฟริกา ออสเตรเลีย ในท้องที่ที่เคยมีโรคนี้ระบาดมักจะกลับมาเกิดซ้ำอีกในลักษณะหลาย ๆ ปีเกิดครั้งหนึ่ง (OIE, 1997) ทั้งนี้เพราะในท้องที่ที่มีสัตว์เป็นโรคแอนแทรกซ์ตายจะมีเลือดซึ่งมีเชื้อ *B. anthracis* ปนอยู่ไหลออกจากทวารต่างๆ ของสัตว์ เมื่อเชื้อมีโอกาสจะสร้างสปอร์ซึ่งคงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน เนื่องจากสปอร์เป็นเซลล์ที่มีปริมาณน้ำต่ำ มีการสร้างชั้นหุ้มเพิ่มขึ้นที่ได้ชั้นเซลล์เมมเบรนและผนังเซลล์หนา สปอร์จึงทนต่อความร้อน การแช่แข็งหรือแช่ในแอลกอฮอล์ การศึกษาของ Rice et al. (2004) พบว่าการต้มในน้ำเดือดที่ไม่ปิดฝาจะไม่สามารถทำลายสปอร์ของ *Bacillus spp.* รวมถึง *B. anthracis* ด้วย แต่การต้มในน้ำเดือดโดยใช้ภาชนะปิดจะทำลายสปอร์เหล่านี้ได้ภายในเวลา 5 นาที นอกจากนี้สปอร์ยังถูกทำลายด้วยสารเคมีประเภท sporicides (Gardner, 2001) สัตว์ต่าง ๆ มีโอกาสติดเชื้อในแหล่งที่เคยเกิดโรคจากการกินหญ้าที่มีสปอร์ของเชื้อมีปะปนอยู่ หรือสปอร์อาจติดไปกับหนัง กระดูก เขา ขนสัตว์ได้ เชื้อ *B. anthracis* เข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง ได้แก่ ผิวหนังบาดแผล รอยถลอก การกิน การสูดดมเอาสปอร์ของเชื้อ เข้าไป (Weyant et al., 2001) พบการติดเชื้อทางผิวหนังมากที่สุด คือ ประมาณ 95% ของผู้ป่วยแอนแทรกซ์ ติดเชื้อโดยสปอร์เข้าทางบาดแผล หรือรอยถลอก มักเป็นที่มือ แขน คอ หรือขา จากการสัมผัสหนังและขนสัตว์ที่ปนเปื้อน โดยเฉพาะจากขนแพะซึ่งพบอุบัติการณ์สูง (Tumbull, 1998) หรือจากการกัดของแมลง ภายใน 1-2 วัน จะพัฒนาไปเป็นตุ่ม หรือตุ่ม และจะกลายเป็นแผล ที่มีขอบนูน ตรงกลางมีสีดำ ไม่กินลึก เส้นผ่าศูนย์กลางแผลประมาณ 1-3 เซนติเมตร มีอัตราการตายสูงถึง 20% หากไม่ได้ทำการรักษาเนื่องจากเชื้อจะแพร่เข้าสู่กระแสเลือดและเกิดอาการในระบบอื่น การติดเชื้อทางการหายใจโดยสูดเอาสปอร์ตามขนสัตว์เข้าไป ทำให้เกิดอาการหนาวสั่น ซึ่งหลายวันต่อมาเกิดปัญหารุนแรงในการหายใจ อาจทำให้หมดสติและถึงแก่ความตายได้ทางการกิน เช่น กินเนื้อที่มีเชื้อแอนแทรกซ์ปนเปื้อน จะแสดงอาการเจ็บปถันในทางเดินอาหาร ทำให้คลื่นเหียน อาเจียน มีไข้ตามด้วยปวดช่องท้อง อาเจียนเป็นเลือด ท้องเสียอย่างรุนแรง หมดสติ มีอัตราการตาย 25-60% ดังนั้นผู้ที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์นั้นมีความเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อจากการสัมผัสหรือหายใจเอาฝุ่นจากขนสัตว์ที่มีสปอร์ของเชื้อเข้าไปได้ (นฤมล, 2544)

เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าสัตว์หมักเกลือเข้าประเทศ ได้แก่ หนังโค หนังกระบือ หนังม้า หนังสุกร หนังแกะ หนังอูฐ สัตว์ปีกและสัตว์เหล่านี้อาจนำเชื้อ *B. anthracis* แพร่ระบาดเข้าสู่ประเทศไทย โรคแอนแทรกซ์จัดเป็นโรคที่มีความสำคัญ เนื่องจากเป็นโรคที่สามารถก่อให้เกิดผลกระทบหรือติดต่อไปในปศุสัตว์จำนวนมาก ๆ ได้จากการระบาดเพียงครั้งเดียว จากข้อมูลการเกิดโรคแอนแทรกซ์ พบว่าในระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 มีการระบาดเกิดขึ้นในประเทศที่ส่งออกหนังสัตว์เข้าประเทศไทย เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา รัสเซีย ออสเตรเลีย แคนาดา และอินโดนีเซีย เป็นต้น (ตารางที่ 1) จึงอาจมีโอกาสพบการปนเปื้อนสปอร์ของเชื้อ *B. anthracis* มาในสินค้าประเภทนี้ได้อีก หนึ่ง คณะรัฐมนตรีมีมติเห็นชอบให้ด้านตรวจปศุสัตว์มีกระบวนการตรวจสอบ ควบคุมมาตรฐาน และความปลอดภัยของระบบการนำเข้าสินค้าเกษตร กรมปศุสัตว์จึงได้กำหนดมาตรฐานที่จะใช้ในการควบคุมการนำเข้าราชอาณาจักรของหนังสัตว์และสินค้าปศุสัตว์ หรือลดความเสี่ยงของการแพร่ระบาดของโรคเข้ามาภายในประเทศ และเก็บข้อมูลพื้นฐานของอัตราการพบเชื้อ หรือโรคระบาดสัตว์ที่เฝ้าระวังจากประเทศนำเข้า โดยเจ้าหน้าที่จากด่านกักกันสัตว์ระหว่างประเทศและด่านกักกันสัตว์ตามแนวชายแดนจะดำเนินการส่งตัวอย่างสินค้าปศุสัตว์ให้แก่ห้องปฏิบัติการต่างๆ ของกรมปศุสัตว์ เพื่อทดสอบโรคตามเงื่อนไขที่กรมปศุสัตว์กำหนด

ปี พ.ศ. 2546-2550 ได้ดำเนินการที่ด่านกักกันสัตว์ระหว่างประเทศทางอากาศ ด่านระหว่างประเทศทางน้ำ และด่านกักกันสัตว์ชลบุรี เก็บตัวอย่างจากหนังสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์นำเข้า ส่งทดสอบโรคตามที่กำหนดรวมถึงเชื้อ *B. anthracis* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ ตามกฎกระทรวง ออกตามความในพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2499 ตัวอย่างหนังสัตว์ดังกล่าวนำมาตรวจหาเชื้อ *B. anthracis* ที่ห้องปฏิบัติการแบคทีเรียและเชื้อรา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ โดยใช้วิธีเพาะแยกเชื้อ เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและควบคุมการนำเข้าราชอาณาจักรของสัตว์และซากสัตว์จากประเทศต่าง ๆ ให้เป็นไปตามเงื่อนไขการนำสัตว์และซากสัตว์เข้าราชอาณาจักร (Requirement for the importation of animal and animal product into the Kingdom of Thailand) เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดโรคระบาดสัตว์ที่สำคัญในประเทศไทย และสร้างความมั่นใจแก่ผู้ประกอบการนำเข้า อีกทั้งเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

ตารางที่ 1 การระบาดของโรคแอนแทรกซ์ในประเทศไทยนำเข้าหนังสัตว์หมักเกลือ ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550

ประเทศ	การระบาดของโรคแอนแทรกซ์ (ครั้ง)			
	ปี 2546 – 2547	ปี 2548 – 2549	ปี 2550	รวม
สหรัฐอเมริกา	3	5	4	12
รัสเซีย	1	5	4	10
ออสเตรเลีย	2	0	4	6
แคนาดา	2	2	5	9
อินโดนีเซีย	0	3	0	3
อิตาลี	1	0	1	2
อิสราเอล	1	0	1	2

(ที่มา: รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของ กลุ่มระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์ สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ ปี พ.ศ. 2546 - 2550)

2. อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างหนังสัตว์หมักเกลือที่นำเข้าระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 ทำการเก็บโดยเจ้าหน้าที่ ด่านระหว่างประเทศ ได้แก่ ด่านกักกันสัตว์ระหว่างประเทศทางอากาศ ด่านระหว่างประเทศทางน้ำ และด่านกักกันสัตว์ชลบุรีเก็บตัวอย่างจากหนังสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์นำเข้า จากการนำเข้าทั้งหมด 440 ครั้ง จาก 42 ประเทศ และ ไม่ระบุ (ไม่ถูกกฎหมาย) จำนวน 12 ครั้ง ได้แก่ หนังโคหมักเกลือ 1,364 ตัวอย่าง หนังกระบือหมักเกลือ 125 ตัวอย่าง หนังม้าหมักเกลือ 1 ตัวอย่าง หนังสุกรหมักเกลือ 3 ตัวอย่าง หนังแกะหมักเกลือ 2 ตัวอย่าง และหนังอูหมักเกลือ 4 ตัวอย่าง รวมเป็นตัวอย่างทั้งหมด 1,499 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างหนังจำนวน 5 ชิ้นต่อ 1 container คิดเป็น 1 ตัวอย่าง ทำการตัดชิ้นหนังจากทั้ง 5 ชิ้น ให้ได้น้ำหนักรวม 25-30 กรัมต่อตัวอย่าง

อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อาหารวุ้นแข็ง 7-10% sheep blood agar (SBA), อาหารเหลว tryptone soya broth ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่า (2x TSB)

วิธีการเพาะเชื้อ คัดแปลงจาก Manual for Laboratory Diagnosis of Anthrax (WHO, 2003) โดยนำตัวอย่างหนังสัตว์หนัก 25-30 กรัม ใส่ถุงพลาสติกขนาด 8 x 12 นิ้ว เติมน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 100 มิลลิลิตร ขยี้ให้หนังเข้ากับน้ำแล้ววางแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน รุ่งขึ้นนำถุงที่แช่หนังสัตว์มาขยี้ให้สปอร์ของแบคทีเรีย ที่ติดหนัง หรือขน

สัตว์หลุดออกมาผสมกับที่แช่หนังสัตว์ในถุง แล้วตัดกันถุงพลาสติก เทน้ำแช่หนังสัตว์ประมาณ 50 มิลลิลิตร ลงขวดพลาสติก นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 62.5 °C นาน 15 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่าง ที่ต้มวางในตู้ปลอดเชื้อทิ้งให้เย็นประมาณ 10 – 15 นาที แล้วใช้ loop เหล็ก กวนทั่วผิวหน้าลึก 0.5 ซม. และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SBA เชื้อเชื้อให้แยกเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1°C นาน 18-24 ชั่วโมง ส่วนน้ำแช่หนังที่เหลือให้เติมอาหารเหลว 2x TSB จำนวน 50 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากันดี นำไปบ่มที่ 37±1°C นาน 1 คืน จากนั้นดักตัวอย่างจาก TSB 1 loopful และลง SBA แล้วเชื้อเชื้อให้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ นำไปบ่มที่ 37±1°C นาน 1 คืน รุ่งขึ้นเลือกเพลทที่สงสัยว่ามีเชื้อ *B. anthracis* เจริญอยู่โดยสังเกตจากลักษณะโคโลนีบน SBA ว่าโคโลนีที่เกิดขึ้นไม่ย่อยสลายเม็ดเลือด มีสีขาวเทาขุ่น เป็นเกล็ดหยาบ ขรุขระ มีหางหงิกงอ (Medusa head) และเหนียวเหนียวติดปลายเข็มเชื้อเชื้อขึ้นมา นำโคโลนีที่สงสัยมาทำการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ เพื่อพิสูจน์ว่าเป็น *B. anthracis*

วิธีการพิสูจน์เชื้อ

Induction of capsule formation โดยเพาะเชื้อลงบน Tryptic soy agar ที่มี 5-10% ซีรัมม้า บ่มที่ 37 °C ในบรรยากาศที่มี 5-10% CO₂ จะได้โคโลนีกลม เป็นมันเยิ้ม (Mucoïd) นำไปย้อมสี Loeffler's alkaline methylene blue เชื้อ *B. anthracis* จะมีรูปร่างเป็นปลายแท่งตัด ดิดสีน้ำตาลเข้ม และมีแคปซูลดิดสีแดงล้อมรอบ เรียงต่อกันเป็นสายสั้นหรือยาวได้หลายขนาด

Cotton wool growth on tryptic soy broth (TSB) โดยเพาะเชื้อลงใน TSB ที่มีปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มข้ามคืนที่ 37 °C ผลบวกจะเห็นเชื้อ *B. anthracis* ขึ้นเป็นปุยคล้ายก้อนสำลี

String of pearls test เชื้อเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ตัดเป็นสี่เหลี่ยม ขนาด 1.5-2.0 ตารางเซนติเมตร วางอยู่บนแผ่นสไลด์ ปิดทับบริเวณที่เชื้อเชื้อด้วยแผ่น cover slip แล้ววางแผ่นยาเพนนิซิลินขนาด 10 ยูนิต ใกล้กับขอบของ cover slip วางสไลด์ลงในเพลท รักษาความชื้นด้วยก้อนสำลีชุบน้ำหมาด ๆ ปิดฝา นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 2 -4 ชั่วโมง ตรวจดูผลใต้กล้อง microscope ลักษณะเซลล์ของเชื้อ *B. anthracis* จะบวมกลมขึ้น ต่อกันเป็นสาย ทำให้เห็นคล้ายสร้อยไข่มุก ถ้าผลลบเชื้อไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่าง

Lysis by gamma phage แบ่งเพลทเป็นสองส่วน นำเชื้อที่สงสัยว่าเป็น *B. anthracis* เพาะลงบน SBA และเชื้อ *B. anthracis* มาเพาะอีกครั้งของเพลท (ส่วนควบคุมบวก) แล้วหยด gamma phage ลงบนกึ่งกลางของทั้งสองด้าน ด้านละ 1 หยด แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 8-12 ชั่วโมง หรือข้ามคืน ผลบวก คือ เชื้อจะไม่ขึ้น ตรงตำแหน่งที่หยด gamma phage ทั้งสองส่วน

3. ผล

การตรวจเชื้อ *B. anthracis* ที่ก่อโรคแอนแทรกซ์ จากผลิตภัณฑ์นำเข้าจากต่างประเทศ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546-2550 จำนวนทั้งหมด 1,499 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อ *B. anthracis* ทั้งหมด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจ *Bacillus anthracis* ในตัวอย่างสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์นำเข้า ปี พ.ศ. 2546-2550

ชนิดตัวอย่าง	ประเทศ	จำนวนตัวอย่าง					รวม	จำนวน ที่พบเชื้อ
		2546	2547	2548	2549	2550		
หนังโคหมักเกลือ	ออสเตรเลีย	78	79	11	27	15	210	0
	อเมริกา	158	39	1	5	7	210	0
	เยอรมัน	33	121	3	2	12	171	0
	ไมร์ระบุ*	26	116	-	9	16	167	0
	เนเธอร์แลนด์	29	30	7	8	19	93	0
	ญี่ปุ่น	20	34	1	2	5	62	0
	อิสราเอล	25	24	1	1	3	54	0
	เวเนซุเอลา	21	24	-	1	-	46	0
	นิวซีแลนด์	8	6	-	15	11	40	0
	ฟิลิปปินส์	20	12	1	2	3	38	0
	ไอซ์แลนด์	6	14	9	-	6	35	0
	พม่า	20	10	-	-	1	31	0
	รัสเซีย	15	12	1	-	1	29	0
	เวียดนาม	17	7	-	2	-	26	0
	เอสโตเนีย	-	19	-	2	-	21	0
	ลัตเวีย	15	5	-	-	-	20	0
	ฟินแลนด์	5	10	-	-	-	15	0
	อิตาลี	2	4	2	2	4	14	0
	โดมินีกัน	-	11	-	-	-	11	0
	บรูไน	3	2	1	1	1	8	0
	แอฟริกาใต้	2	-	-	2	4	8	0
	สวีเดน	3	1	-	2	-	6	0
	เชค	-	5	-	-	-	5	0
	เบลเยียม	-	5	-	-	-	5	0
	สวิตเซอร์แลนด์	1	3	-	-	-	4	0
	คอซตาริกา	-	-	-	-	3	3	0
	จีน	-	3	-	-	-	3	0

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจ *Bacillus anthracis* ในตัวอย่างสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์นำเข้า ปี พ.ศ. 2546-2550 (ต่อ)

ชนิดตัวอย่าง	ประเทศ	จำนวนตัวอย่าง					รวม	จำนวน ที่พบเชื้อ
		2546	2547	2548	2549	2550		
หนังโคหมักเกลือ	ชิลี	1	1	-	1	-	3	0
	ศรีลังกา	-	-	-	3	-	3	0
	อังกฤษ	-	-	-	-	3	3	0
	ออสเตรเลีย	1	2	-	-	-	3	0
	โปแลนด์	2	1	-	-	-	3	0
	ตุรกี	-	-	-	2	-	2	0
	อเมริกาใต้**	-	-	-	2	-	2	0
	แคนาดา	-	-	2	-	-	2	0
	เกาหลี	-	-	-	1	-	1	0
	บราซิล	-	-	-	-	1	1	0
	สโลวาเกีย	-	-	1	-	-	1	0
	สเปน	-	1	-	-	-	1	0
	อินโดนีเซีย	-	1	-	-	-	1	0
	เคนยา	-	1	-	-	-	1	0
	เอกวาดอร์	-	1	-	-	-	1	0
	เอมิเรตส์	1	-	-	-	-	1	0
หนังกระบือหมักเกลือ	เวียดนาม	63	50	-	-	-	113	0
	ฟิลิปปินส์	5	-	1	1	-	7	0
	จีน	3	-	-	-	-	3	0
	อิตาลี	-	-	-	2	-	2	0
หนังม้าหมักเกลือ	ญี่ปุ่น	1	-	-	-	-	1	0
หนังสุกรหมักเกลือ	ญี่ปุ่น	1	1	1	-	-	3	0
หนังแกะหมักเกลือ	เอธิโอเปีย	1	1	-	-	-	2	0
หนังอูฐหมักเกลือ	เอมิเรตส์	1	3	-	-	-	4	0
รวมหนังสัตว์ทั้งหมด							1,499	

* ไม่ระบุ คือ นำเข้าหนังสัตว์โดยไม่ถูกกฎหมาย

** หมายถึง ประเทศในทวีปอเมริกาใต้

4. วิจัย

ในระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 มีการนำเข้าหนังสัตว์หมักเกลือทั้งสิ้น 440 ครั้ง จาก 42 ประเทศ และจากการลักลอบอีก 12 ครั้ง ซึ่งมีทั้งประเทศที่ไม่มีรายงานการระบาดของโรคแอนแทรกซ์และประเทศที่มีรายงานการระบาด

ของโรคแอนแทรกซ์ในช่วงเวลาดังกล่าว การที่ประเทศที่ไม่มีการรายงานของโรคถูกตรวจสอบตัวอย่าง ทุกครั้งที่มีการนำเข้าเช่นกัน เนื่องจากแม้จะไม่มีการรายงาน แต่อาจมีการเกิดโรคขึ้น โดยที่เจ้าหน้าที่ไม่ทราบข้อมูลได้ เพราะการตายในสัตว์โดยที่ไม่ได้มีการชันสูตรและวินิจฉัยโรคอย่างเพียงพอและเหมาะสมเกิดขึ้นได้ทุกแห่งทั่วโลก (Turnbull, 1998) ดังนั้นการตรวจตัวอย่างจากประเทศที่ไม่มียางานการเกิดโรคแอนแทรกซ์ จึงยังคงมีความจำเป็น ซึ่งจากการตรวจหาเชื้อ *B. anthracis* ในตัวอย่างหนึ่งสัตว์นำเข้าจากประเทศที่ไม่มีการมีรายงานการระบาดของโรคแอนแทรกซ์ ในครั้งนี้ไม่พบตัวอย่างที่มีเชื้อ

จากรายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของสำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์ พบว่า ในระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 มีการระบาดของโรคแอนแทรกซ์ในประเทศที่ส่งออกหนังสือสัตว์เข้าประเทศไทย รวมทั้งสิ้น 44 ครั้ง จาก 7 ประเทศ ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา จำนวน 12 ครั้ง รัสเซีย 10 ครั้ง ออสเตรเลีย 6 ครั้ง แคนาดา 9 ครั้ง อินโดนีเซีย 3 ครั้ง อิตาลี 2 ครั้ง และอิสราเอล 2 ครั้ง (กลุ่มระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์ สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์, 2546-2550) เนื่องจากแอนแทรกซ์เป็นโรคสำคัญที่ต้องรายงานแก่องค์การโรคระบาดสัตว์ และสามารถสืบค้นข้อมูลได้ทางอินเทอร์เน็ต ทำให้ทราบว่าสถานะของโรคแอนแทรกซ์ ในบางประเทศเป็นเพียงการติดเชื้อที่อยู่ในขอบเขตจำกัด (Confirmed infection but limited to certain zones) เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกาและเวียดนาม แต่ในปัจจุบันภาวะโลกร้อนทำให้เกิดภัยธรรมชาติหลายอย่างขึ้นอย่างกว้างขวางและบ่อยครั้ง อาจส่งผลให้สปอร์กระจายออกไปไกลจนเกิดความเสียหายได้ และมีหลายประเทศที่ยังคงเกิดโรคแอนแทรกซ์ในปศุสัตว์อยู่เกือบทุกปี เช่น แคนาดา พม่า ฟิลิปปินส์ อิสราเอล ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้และเอธิโอเปีย เป็นต้น (OIE World Animal Health Information Database, 2005-2008) ซึ่งประเทศไทยมีการนำเข้าหนังสือสัตว์มักเหลือเป็นจำนวนมากจากบางประเทศในกลุ่มนี้จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการเฝ้าระวังโรคอย่างเข้มงวด แต่จากรายงานการตรวจตัวอย่างหนึ่งสัตว์นำเข้า (ตารางที่ 2) ผลปรากฏว่าไม่พบเชื้อ *B. anthracis* จากตัวอย่างทั้งหมด เป็นการยืนยันว่าไม่มี การปนเปื้อนของเชื้อในหนังสือสัตว์ที่นำเข้ามาในประเทศไทย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากประเทศที่มีการระบาดของ โรคแอนแทรกซ์ใช้วิธีการควบคุมโรคที่ดี หรือคัดเลือหนังสือสัตว์จากแหล่งที่ไม่เกิด โรคระบาดส่งออกนอกประเทศของตนเอง

นอกจากนี้สิ่งที่ควรให้ความสำคัญ คือ การควบคุมและจับกุมการลักลอบนำสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์มาจากประเทศใกล้เคียง เนื่องจากในอดีตพบว่า ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2530 เป็นต้นมา โรคแอนแทรกซ์ในคนและสัตว์ในประเทศ ไทย มีสาเหตุมาจากการลักลอบนำโค กระบือติดโรคเข้ามา หรือนำเนื้อสัตว์ติดเชื้อเข้ามาตามชายแดนไทยกับพม่า เช่น ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี กาญจนบุรี ตาก แม่ฮ่องสอน และชายแดนไทยกับลาวในจังหวัดหนองคาย อุบลราชธานี และนครพนม รวมทั้งชายแดนไทยกับกัมพูชาในจังหวัดสุรินทร์ นุรีรัมย์และสระแก้ว (จิต, 2546; ประวิทย์, 2546) อย่างไรก็ตามตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 จนถึงปัจจุบันยังไม่มีการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในประเทศไทยอีก ดังนั้นการควบคุม การเคลื่อนย้ายสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ ควบคู่ไปกับกระบวนการเฝ้าระวังและตรวจสอบสินค้าอย่างมีประสิทธิภาพ มีความสำคัญต่อความปลอดภัยของประชาชน เกษตรกร ผู้ปฏิบัติงาน ตลอดจนปศุสัตว์ได้ การที่กรมปศุสัตว์มีความเข้มงวดโดยกำหนดมาตรฐานสำหรับใช้ในการควบคุมการนำเข้าราชอาณาจักรของสัตว์และซากสัตว์ เก็บตัวอย่างทดสอบโรคจากหนังสือสัตว์นำเข้าหรือตรวจหาเชื้อสาเหตุในตัวอย่างทั้งหมดก่อนนำเข้า นับว่าเป็นแนวทางการป้องกันและเฝ้าระวังการนำโรคระบาดสัตว์จากการนำเข้าสินค้าปศุสัตว์ที่เหมาะสม ที่จะส่งผลให้สามารถควบคุมโรคมิให้แพร่ระบาดเข้าประเทศไทยได้

5. สรุป

การเฝ้าระวังการระบาดของโรคแอนแทรกซ์ โดยการเก็บตัวอย่างหนังสือตัวนำเข้าประเทศมาเพาะเชื้อ เพื่อตรวจหาเชื้อ *B. anthracis* ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 จากตัวอย่างที่ส่งตรวจทั้งหมด 1,499 ตัวอย่าง ผลคือตรวจไม่พบเชื้อ *B. anthracis* ทั้ง 1,499 ตัวอย่าง

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ. ลัดดา มุลิกา สพ.ญ. วันทนีย์ เนรมิตมานสุข สพ.ญ. พัชร ทงคำคุณ คุณนัยนา หัสสรังสี คุณชยภัค สีบุญ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มแบคทีเรียทุกท่านที่ให้การร่วมมือ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ด่านกักกันระหว่างประเทศ ทางอากาศ ทางน้ำ และชลบุรี

7. เอกสารอ้างอิง

1. กลุ่มระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์ สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ 2546-2550. สรุปรายงานการระบาดของโรคระบาดของสัตว์จากประเทศต่าง ๆ รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา ปี พ.ศ. 2546-2550 ปีที่พิมพ์ 9, 10, 13 ฉบับที่ 94, 95, 99, 101, 103-105, 107, 110-111, 113-121, 135-137, 139-146.
2. ชิต ศิริวรรณ 2546. โรคแอนแทรกซ์ หนังสือประกอบการฝึกอบรมโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ 7-8 กรกฎาคม 2546 หน้า 86-92.
3. นฤมล คงทน 2544. แอนแทรกซ์ วารสารสถาบันอาหาร ปีที่ 4 ฉบับที่ 20 หน้า 55-56. ประวิทย์ ชุมเกษียร 2546. สถานการณ์ทางระบาดวิทยาของโรคแอนแทรกซ์ในประเทศไทย หนังสือประกอบการฝึกอบรมโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ 7-8 กรกฎาคม 2546 หน้า 93-97.
4. Gardner, R.A., 2001. Anthrax (*Bacillus anthracis*). [On line]. Available: <http://www.csa.com/discoveryguides/anthrax/overview.php>
5. OIE, 1997. OIE Animal health and disease control report 1997. Office International des Epizooties, Paris, France.
6. OIE WAHID, 2005-2008. Disease timelines: Anthrax. [On line]. Available: http://www.oie.int/wahid-prod/public.php?page=disease_timelines
7. Rice, E.W., Rose, L.J., Johnson, C.H., Boczek, L.A., Arduino, M.J. and Reasoner, D.J., 2004. Boiling and *Bacillus* Spores. Emerging Infectious Diseases www.cdc.gov/eid, Vol. 10 (10): 1887-1888.
8. Tunbull, P.C.B., 1998. Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Humans and Animals. WHO/EMC/ZDI/98.6. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
9. WHO, 2003. Manual for Laboratory diagnosis of Anthrax. World Health Organization. Regional office for South-East Asia, New Delhi, India.[Online]. Available: http://www.searo.who.int/LinkFiles/Reports_anthrax.pdf
10. Weyant, R.S., Ezzell Jr., J.W. and Papovic, T., 2001. Basic laboratory protocols for the presumptive identification of *Bacillus anthracis*. Centers for Disease Control and Prevention. (Unpublished document CDC 4/18/01)

โรคติดเชื้ออิริโดไวรัสจิ้งหรีด ในฟาร์มเพาะเลี้ยง จ.ลำพูน

Iridovirus Infection in Cricket farm in Lamphoon Province

นพพร โต๊ะมี (Nopporn Tohmee) *

ตวงทอง ปัจฉิมะศิริ (Tuangthong Patchimasiri) *

มนทกานต์ วงศ์ภากร (Monthakan Wongpakorn) *

ทินรัตน์ ศรีสุวรรณ (Thinnarat Srisuvan) *

บทคัดย่อ

ฟาร์มเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด จ.ลำพูน ในช่วงเดือนมิถุนายน 2551 พบจิ้งหรีดมีการเจริญเติบโตผิดปกติ ไม่เคลื่อนไหว ช่องท้องขยายใหญ่อย่างเห็นได้ชัด โดยมีอัตราการป่วย 100 % และอัตราการตายสูง อย่างน้อย 30-40 % ผลผ่าซากพบของเหลวสีขาวขุ่นในช่องท้องเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอ่อนเมื่อสัมผัสกับอากาศ พบอนุภาคขนาดเล็กมีการเคลื่อนไหวแบบ Brownian movement จากของเหลวดังกล่าวเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างธรรมดา การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาพบลักษณะการเสื่อมสภาพของเซลล์ไขมันจำนวนมาก มีลักษณะขยายใหญ่ (Hypertrophy) ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอมม่วง (Basophilic intracytoplasmic inclusion body) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของการติดเชื้อไวรัสในตระกูล Iridovirus การใช้เทคนิค PCR ซึ่งจำเพาะต่อ major capsid protein gene (MCP) ของ Iridovirus กับตัวอย่างของเหลวในช่องท้องดังกล่าว พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ซึ่งมีขนาดประมาณ 1 กิโลเบสได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่าเป็นลำดับเบสในส่วนของ MCP ของเชื้อไวรัสจิ้งหรีดจริงโดยมีความคล้ายคลึงกับเชื้อ Chilo iridescent virus [AF303741] ถึง 96 % และ Gryllus bimaculatus iridovirus major capsid protein gene [AF247641] ถึง 97 % และจากการเปรียบเทียบลำดับเบสกับ Cricket Iridovirus ที่พบในประเทศเนเธอร์แลนด์พบว่ามีความคล้ายกันถึง 97 % จึงสรุปได้ว่า Iridovirus เป็นสาเหตุให้เกิดการป่วย และตายของจิ้งหรีดในฟาร์มแห่งนี้ และเป็นรายงานครั้งแรกในประเทศไทย

คำสำคัญ จิ้งหรีด, อิริโดไวรัส

* สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กทม

Abstract

In June 2008, the crickets in a farm in Lampoon province showed the signs of swollen abdomen, strikingly sluggish, reduced fecundity and short life span. Morbidity and mortality were approximately 100% and 30-40%, respectively. Pathological lesions were bluish iridescence of abdominal fluid when exposed to the air. Brownian movement of tiny particles on phase contrast light microscopy was observed. From histopathological lesion, basophilic intracytoplasmic inclusion bodies in fat cells were found. Those were typical characteristics of cricket iridovirus infection. Specific PCR technique was used to amplify a major capsid protein (MCP) gene of the isolates, and the PCR products about 1 kb was subsequently analyzed. Nucleotides sequence of MCP gene was 96% and 97% homology to Chilo iridescent virus [AF303741] and Gryllus bimaculatus iridovirus major capsid protein gene [AF247641], respectively. In addition, the sequence was over 97% homology in comparison to the previously isolated cricket iridovirus in the Netherland. We concluded that those crickets were severely infected with iridovirus. This is the first report of Cricket Iridovirus in Thailand.

Keyword : Cricket, Iridovirus, Cricket iridovirus

1. บทนำ

Iridovirus หรือ Invertebrate iridescent viruses (IIVs) จัดอยู่ใน family Iridoviridae เป็น double-stranded DNA เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 120-200 นาโนเมตร มีแกนกลาง internal lipid membrane และ capsid เป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง (Williams, 2008) และมีรูปร่างแบบ Icosahedral ในบางสายพันธุ์มีเส้นใยสั้นๆประมาณ 2.5 นาโนเมตร ติดอยู่ที่ผิวส่วนนอกของ capsid สามารถเพิ่มจำนวนในไซโตพลาสซึมของโฮสต์ โดยผ่านทาง pinocytosis ถอดรหัสและสร้าง genome ใน nucleus (Kleespies et al., 1999; Jakob et al., 2002; Chinchar and Hyatt, 2008) ทำให้เกิดการติดเชื้อในโฮสต์ทั้งที่มีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง ความรุนแรงมีตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงตาย เป็นกลุ่มที่ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากเชื้อนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ กล่าวคือทำให้เกิดการตายของสัตว์ในปริมาณมาก เช่นปลา และแมลงต่างๆ และยังสามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช และแมลงพาหะนำโรคทางชีวภาพ (Hall, 1989; Goldberg et al., 2003) มีการแยกเชื้อไวรัสชนิดนี้ได้จากแมลงใน ตระกูล Lepidoptera, Diptera, Hemiptera และ Coleoptera (Tinsley และ Kelly, 1985; Williams, 1994, 1996) ซึ่งมีรายงานจำนวนไม่มากนักที่แยกเชื้อได้จากแมลงพวก orthopteran และจิ้งหรีด (Boucias et al., 1987; Fowler, 1989; Kleespies et al., 1999; Just and Essbauer, 2001) Genus นี้มีหลายสปีชีส์ ตัวอย่างเช่น Chilo iridescent virus (Invertebrate iridescent virus 6: IIV-6) ที่ก่อโรคในแมลง *Chilo suppressalis* ในประเทศญี่ปุ่น มีความยาวของ complete genome 212,482 คู่เบส [AF303741, NC_003038] (Jakob et al., 2001; Williams, 2008)

Kleespies et al. (1999) ได้รายงานความผิดปกติของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของจิ้งหรีดสองชนิด ได้แก่ *Geyllus campestris* L. และ *Acheta domesticus* L. ที่เลี้ยงเชิงการค้าในประเทศเนเธอร์แลนด์ มีอัตราการตายสูง ความสมบูรณ์ลดลง และช่วงอายุสั้นลง การศึกษาทางพยาธิสภาพในตัวจิ้งหรีดที่เกิดโรคแสดงให้เห็นถึงลักษณะของไขมันมีการขยายใหญ่อย่างเห็นได้ชัดจากการผ่าซาก และมีสีฟ้าเห็นได้ชัดเจน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของการติดเชื้อ iridovirus การทำ squash preparation ของเนื้อเยื่อพบลักษณะของอนุภาคขนาดเล็กจำนวนมากที่มีการเคลื่อนไหวแบบ Brownian movement และทำการศึกษาทางอนุชีววิทยาโดยวิธี viral DNA and restriction endonucleas analysis พบว่าเป็นสมาชิกตัวใหม่ใน family Iridoviridae ให้ชื่อว่า Cricket iridovirus ต่อมา Jakob et al. (2002) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมโดยการหาลำดับเบสในส่วน of MCP ของเชื้อ Cricket iridovirus เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อ Chilo iridescent virus พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในระดับสปีชีส์

จิ้งหรีด (House cricket) เป็นแมลงที่จัดอยู่ใน Phylum Arthropoda, Class Insecta, Order Orthoptera, Family Grillidae และ Genus Acheta พันธุ์ที่นิยมเลี้ยงเชิงการค้าในประเทศไทยได้แก่ พันธุ์ทองแดงลาย *Acheta domestica* พันธุ์ทองแดง *Acheta testacea* และพันธุ์ทองคำ *Gryllus bimaculatus* (กรมส่งเสริมการเกษตร 2008) เดิมจิ้งหรีดเป็นแมลงที่ไม่ค่อยมีโรค หรือศัตรูรบกวนมากนัก (อรสา 2002) แต่หลังจากมีการเลี้ยงเชิงการค้ามากขึ้น ประกอบกับการลดต้นทุนโดยใช้เศษวัสดุที่เหลือจากการผลิตพืชอาหาร หรือการเร่งผลผลิตโดยทำการเลี้ยงอย่างแออัด และการเกิดสายเลือดชิด [ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดเชียงใหม่ (ผึ้ง) 2008] อาจเป็นสาเหตุทำให้จิ้งหรีดเกิดความอ่อนแอ และติดเชื้อได้ง่าย

การรายงานครั้งนี้กล่าวถึงการป่วยตายของจิ้งหรีดในฟาร์มเพาะเลี้ยง จังหวัดลำพูน เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลในการชันสูตรและวินิจฉัยโรค การควบคุมป้องกันโรค และเป็นการรายงานโรคอิริโดไวรัสจิ้งหรีดครั้งแรกในประเทศไทย สำหรับการศึกษาวิจัยด้านโรคแมลงที่อาจมีความสัมพันธ์กับโรคในสัตว์อื่น ๆ ควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

ประวัติ ฟาร์มจิ้งหรีด ในจังหวัดลำพูน เพาะเลี้ยงจิ้งหรีดในวงปูนขนาด รัศมี 50 ซม. จำนวน 200-300 วงปูน มีจิ้งหรีดประมาณ 8000 ตัว/วงปูน ในช่วงเดือนมิถุนายน 2551 พบมีความผิดปกติคือ กินอาหารลดลง ไม่ค่อยเคลื่อนไหว ส่วนท้องขยายอย่างเห็นได้ชัด ส่วนหัวมีขนาดเล็ก ปีกไม่เจริญ และตายในที่สุดโดยพบอาการได้ทุกช่วงอายุ มีอาการป่วย และตายโดยเฉพาะที่อายุประมาณ 30-40 วัน อัตราการป่วยประมาณ 100 % และอัตราการตายสูงอย่างน้อย 30-40 %

ตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างซากจิ้งหรีด อายุ 30-40 วัน จำนวน 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างประกอบด้วย จิ้งหรีด 40-50 ตัว จาก 1 วงปูน และตัวอย่างไข่จิ้งหรีด จากถาดเพาะฟัก 10 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างประกอบด้วยไข่จิ้งหรีดประมาณ 100-200 ฟอง ที่เลี้ยงในถาดฟักขนาด รัศมี 4 นิ้ว โดยนิยมฟักไข่ประมาณ 2000 ฟอง/ถาด นำมาตรวจหาสาเหตุของการเกิดโรคที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

การตรวจลักษณะทางพยาธิวิทยาและจุลพยาธิวิทยา ตรวจดูลักษณะภายนอก และเปิดผ่าซาก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ จากนั้นนำของเหลวจากช่องท้องมาคู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างธรรมดาด้วยวิธี Squash preparation ที่กำลังขยาย 400 เท่า (Kleespies et al., 1999) และนำส่วนของอวัยวะภายใน มาทำ Impression smear ย้อมด้วยสี Giemsa ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างธรรมดา เพื่อตรวจหาเชื้อโปรโตซัว และนำตัวอย่างจิ้งหรีดแช่ในน้ำยา 10% ฟอรัมาลิน เข้าสู่ขบวนการตัด ย้อมด้วยสี Haematoxylin & Eosin ตามวิธีของ Luna (1968) แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างธรรมดา เพื่อสังเกตลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

การตรวจทางแบคทีเรียวิทยา นำตัวอย่างจิ้งหรีดจุ่มใน 70% เอทานอล แล้ววางบนกระดาษซับให้แห้ง หลังจากนั้นเปิดผ่าซาก ใช้ Loop เขี่ยของเหลวในช่องท้อง และอวัยวะภายในเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood agar base No.2 ที่ผสมเลือดแกะ 5% และ MacConkey agar บ่มที่อุณหภูมิ 37° C 24 ชม. และจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ได้ ตามวิธีของ Quinn et al. (1994)

การตรวจทางอณูชีววิทยา นำตัวอย่างของเหลวในช่องท้อง และไข่จิ้งหรีด มาทำการสกัดดีเอ็นเอ ด้วย InstaGene™ Matrix (QIAGEN, USA) ตามวิธีการของผู้ผลิต นำดีเอ็นเอที่ได้มาเป็นต้นแบบ (template) ในขบวนการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) โดยมีส่วนผสมในปริมาณ 25 µl ต่อตัวอย่างดังนี้ 1x High Fidelity PCR Buffer, dNTP 0.2 mM (each) MgSO₄ 2 mM ไพร์เมอร์อย่างละ 0.2 µM Foreword primer 5'-GGTTTCATCGATATCGCCAC-3' and Reverse primer 5'-GAAAAGTAATCACTGCCCAT-3' (Jakob et al., 2002) เติมดีเอ็นเอต้นแบบ 1 µl Platinum® Taq (invitrogen, USA) 1 unit และ น้ำกลั่น โดยมีขั้นตอนการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน ดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง thermocycler 35 รอบ ตามเงื่อนไขดังนี้ denaturation 94 °C นาน 1 นาที annealing 50 °C นาน 1 นาที และ extension 72 °C นาน 2 นาที จากนั้นนำผลผลิตที่ได้มาทำ electrophoresis ใน 0.8% agarose gel แล้วย้อมด้วย ethidium bromide จากนั้นนำมาอ่านผลที่ได้ด้วย U-V transilluminator

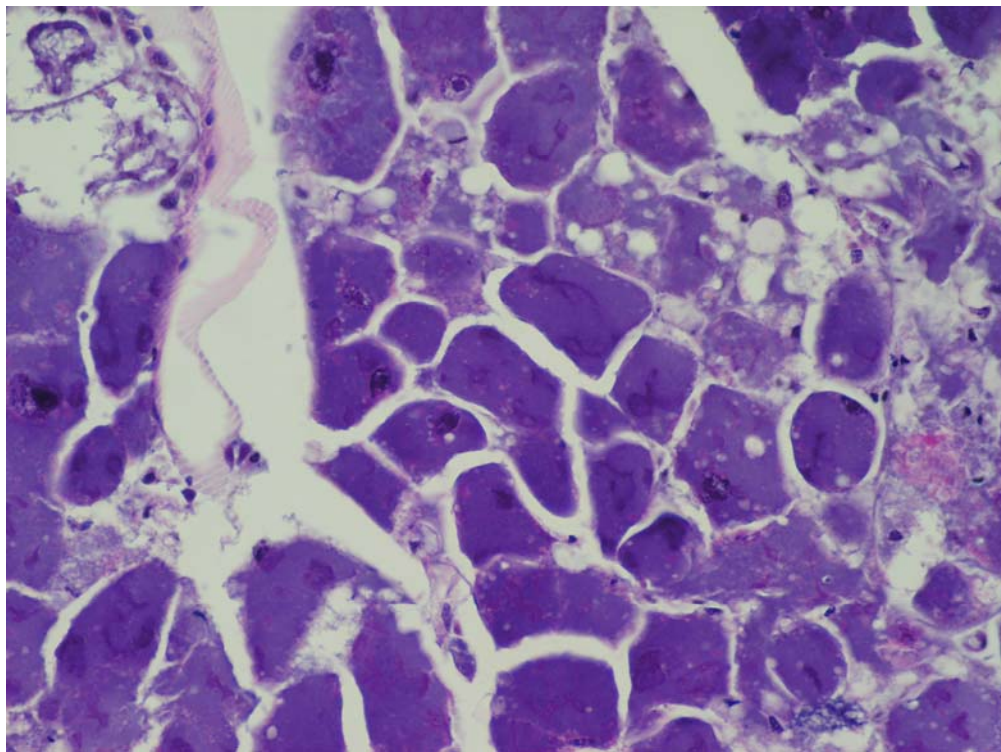
การหาลำดับเบส (DNA sequencing) นำ PCR products ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด MinElute™ PCR Purification Kit (50) (QIAGEN, USA) และนำไปหาค่าความเข้มข้นของ DNA ด้วยเครื่อง NanoDrop® Spectrophotometer ND-1000 นำ PCR products ที่ได้มาเป็นต้นแบบ โดยมีส่วนผสมของ sequencing reaction ตาม ABI Prism® BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems) โดยใช้ primer คู่ดังกล่าวข้างต้น นำไปเข้าเครื่อง Thermocycler จำนวน 25 รอบ ตามเงื่อนไขดังนี้ denaturation 96°C นาน 10 วินาที annealing 50°C นาน 5 วินาที extension 60°C นาน 4 นาที จากนั้นนำเข้าทำการอ่านลำดับเบสในเครื่อง 3130 Genetic Analyzer ของ ABI Applied Biosystem (HITACHI) และนำลำดับเบสที่ได้ทั้งสองสายมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Genetic Information Processing Software; GENETYX-WIN Version 4.0 เมื่อได้ลำดับเบสที่จับคู่ได้ถูกต้องมากที่สุดแล้วนำไปพิสูจน์ยืนยันใน Basic Local Alignments Search Tool (BLAST) in GenBank ของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI)

3. ผลและวิจารณ์

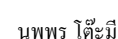
จากการศึกษาลักษณะภายนอกของซากจึงหาค้นพบว่ามีลักษณะแคระแกรน ส่วนหัว และปีกมีขนาดเล็กกว่าปกติ (รูปที่ 1A) ท้องขยายใหญ่ (รูปที่ 1B) พบไรชนิด Trombidiform mite และจากการผ่าซากพบ ของเหลวสีขาวมันวาวเต็มช่องท้อง เมื่อสัมผัสกับอากาศ จะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอ่อน (รูปที่ 1C) ส่วนการนำของเหลวในช่องท้องมาทำ Squash preparation และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดาค้นพบลักษณะของอนุภาคขนาดเล็ก มีการเคลื่อนไหวแบบ Brownian movement ผลการทำ Impression smear และย้อมสีไม่พบเชื้อโปรโตซัวและเชื้อแบคทีเรีย ส่วนการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบการเสื่อมสภาพของเซลล์ไขมันจำนวนมาก มีลักษณะขยายใหญ่ (hypertrophy) ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอมม่วง (basophilic intracytoplasmic inclusion body) (รูปที่ 2) ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากของเหลวในช่องท้องพบ *Enterococcus* spp. และจากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมพบแถบดีเอ็นเอ ที่ขนาดความยาวประมาณ 1 กิโลเบส (รูปที่ 3) ผลจากการหาลำดับเบสได้ลำดับเบสหลังจากการทำ alignment ของลำดับเบสสองสายที่ complementary แล้วและจับคู่ถูกต้องมากที่สุดที่ 668 คู่เบส เมื่อนำลำดับเบสที่ได้ BLAST ใน GenBank พบว่าลำดับเบสมีความคล้ายคลึงกับลำดับเบสของเชื้อ *Chilo iridescent virus complete genome (CIV)* [AF303741] 96% และคล้ายคลึงกับลำดับเบสของ *Gryllus bimaculatus iridovirus major capsid protein gene (GIV-MCP)* [AF247641] 97% และเมื่อเปรียบเทียบกับลำดับเบสในส่วน of major capsid protein ของเชื้อ Cricket Iridovirus มีความคล้ายคลึงถึง 97% (รูปที่ 4)



รูปที่ 1 (A) แสดงลักษณะของจิ้งหรีด แคระแกรน ส่วนของหัว และปีกมีขนาดเล็กกว่าปกติ
(B) แสดงลักษณะส่วนท้องของจิ้งหรีด ขยายใหญ่อย่างเห็นได้ชัด
(C) แสดงลักษณะของเหลวสีขาว มันวาว เต็มช่องท้อง เมื่อสัมผัสกับอากาศ จะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอ่อน



รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเสื่อมสภาพของเซลล์ไขมันในช่องท้อง มีลักษณะขยายใหญ่ ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอมม่วง (Basophilic intracytoplasmic inclusion bodies)



ไข่ม้วนมีลักษณะขยายใหญ่ (hypertrophy) และไซโตพลาสซึม ดิคลีนีนาเงินอมม่วง (basophilic intracytoplasmic inclusion body) แสดงถึงลักษณะเฉพาะของการติดเชื้อไวรัสตระกูล iridovirus สอดคล้องกับรายงานของ Kleespies และคณะ (1999) and Hall (1985) เมื่อทำการศึกษาทางอนุชีววิทยา โดยวิธีการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในส่วนของ Major Capsid Protein ตามวิธีของ Jakob และคณะ (2002) ได้ขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอมีความยาวประมาณ 1 kb ใกล้เคียงกับที่ Jakob และคณะ (2002) ได้รายงานไว้ที่ 999 bp แต่เนื่องจากไม่มีตัวอย่างผลบวกอ้างอิงเพื่อเปรียบเทียบ และเพื่อยืนยันชนิดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ จึงทำการหาลำดับเบสและเปรียบเทียบกับลำดับเบสใน GenBank พบว่ามีความคล้ายคลึงกับลำดับเบสของ CIV ถึง 96% (Delius et al., 1984; Lorbacher et al., 1986; Schnitzler et al., 1987, 1994; Fischer et al., 1988; Handermann et al., 1992; Sonntag and Darai, 1992; Stohwasser et al., 1993; Sonntag et al., 1994; Bahr et al., 1997; Muller et al., 1998, 1999; Jakob et al., 2001) และส่วนของ major capsid protein ในส่วนของไวรัสที่ติดเชื้อในจิ้งหรีด *Gryllus bimaculatus* (Just, F.T. and Essbauer, S.S., 2000) ถึง 97% นอกจากนี้ยังมีส่วนคล้ายคลึงกับลำดับเบสในส่วน of major capsid protein ของ CrIV ถึง 97% (Jakob et al., 2002) จึงสรุปได้ว่าจิ้งหรีดในจังหวัดลำพูนมีการติดเชื้อไวรัสตระกูล Iridovirus และเชื้อไวรัสนี้สามารถติดต่อผ่านทางไข่โดยปนเปื้อนมากับผิวของเปลือกไข่ได้ (Davis and Lawrence, 2006)

หลังจากทราบสาเหตุการตายของจิ้งหรีด ได้แจ้งและประสานงานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อควบคุมป้องกันการแพร่ระบาดของโรค โดยแนะนำให้ทำลายจิ้งหรีดที่เป็นโรค รวมถึงไข่จิ้งหรีด จากฟาร์มที่เป็นโรค ด้วยการฝังใต้ระดับผิวดิน ไม่ต่ำกว่า 20 เซนติเมตร แล้วราดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น Sodium hypochlorite (OIE, 2007) หรือเผาทำลายซาก รวมทั้งการทำความสะอาด อุปกรณ์ โรงเรือน และพักโรงเรือนอย่างน้อย 14-21 วันก่อนนำจิ้งหรีดชุดใหม่เข้าเลี้ยง ปรับปรุงรูปแบบการเลี้ยงให้เป็นระบบ all in-all out ควบคุมการเข้าออกของคน สัตว์ และยานพาหนะ และผ่านน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนเข้าฟาร์ม กำจัดสัตว์ที่อาจเป็นพาหะ เช่น แมลงสาบ ตั๊กแตน (Kleespies et al., 1999; Jakob et al., 2002) คัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนต่อโรค และเปลี่ยนพ่อแม่พันธุ์เพื่อป้องกันการเกิดสายเลือดชิด รวมถึงการตรวจไข่จิ้งหรีดว่ามีการปนเปื้อนเชื้อไวรัสชนิดนี้หรือไม่ก่อนนำเข้ามาเลี้ยงใหม่

อย่างไรก็ดี ควรศึกษาถึงคุณสมบัติของเชื้อไวรัสชนิดนี้ เช่น การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การแยกเชื้อในเนื้อเยื่อเซลล์แมลง และทดสอบความคงทนของเชื้อไวรัสต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ เพื่อใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อ Iridovirus ที่พบในสัตว์ชนิดอื่น และเพื่อประโยชน์ในการควบคุมป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อ รวมทั้งเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากเชื้อในการควบคุมแมลงศัตรูพืช และแมลงที่เป็นพาหะนำโรคต่อไปในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สัตวแพทย์หญิงวันทนี นรมิตมานสุข กลุ่มงานแบคทีเรียและเชื้อรา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ช่วยให้คำปรึกษาในการตรวจวินิจฉัยหาสาเหตุการตายของจิ้งหรีด และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ให้คำแนะนำในการเขียนรายงาน

6. เอกสารอ้างอิง

1. กรมส่งเสริมการเกษตร. 2008. “ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการเลี้ยงจิ้งหรีด.” [Online]. Available: http://agriqua.doae.go.th/lac_cricket_web/Criclet1.htm

2. กรมส่งเสริมการเกษตร. 2008. “โครงการส่งเสริมการเลี้ยงจิ้งหรีด.” [Online]. Available: http://www.doae.go.th/prompt/total_budget.doc
3. พงษ์ธร สังข์เผือก และประภาศรี ภูวเสถียร. 1983. “คุณค่าอาหารของแมลงชนิดต่างๆ.” [Online]. Available: <http://www.siamreptile.com/webboard>
4. เรวัตร คงประดิษฐ์ และจิราพร เกษรจันทร์. 1996. Iridovirus สาเหตุการตายของลูกปลากะพงขาวในโรงเพาะฟัก. เอกสารวิชาการ สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 13: 1-13
5. อีสานบ้านเฮา. 2008. “วัฒนธรรมการบริโภคอาหารของชาวอีสาน.” [Online]. Available: <http://www.pantown.com/board.php>
6. ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดเชียงใหม่ (ผึ้ง). 2008. “ข้อมูลการเลี้ยงจิ้งหรีดในประเทศไทย.” [Online]. Available: <http://www.doae.go.th/tour/puengchiangmai.html>
7. สมบูรณ์ ชารัมย์. 2008. การเลี้ยงจิ้งหรีดเพื่อการค้า. ศูนย์อนุรักษ์และขยายพันธุ์ผึ้งที่ 3 จังหวัดขอนแก่น. 10 หน้า.
8. อภิรพล ชาวปากน้ำ. 2008. “การเลี้ยงจิ้งหรีด.” [Online]. Available: http://www.vet.ku.ac.th/library-homepage/db_directory/exotic/miscel/jingled.htm
9. อรสา เสนิงศ์ ณ อยุธยา อุดม จิรเสวตกุล สุทธิชัย สุทธิวรารักษ์ และนิพนธ์ เดชะ. 2008. “จิ้งหรีด.” [Online]. Available: http://agriqua.doae.go.th/lac_cricket_web/indexcricket.htm
10. Bahr,U., Tidona,C.A. and Darai,G. 1997. The DNA sequence of Chilo iridescent virus between the genome coordinates 0.101 and 0.391; similarities in coding strategy between insect and vertebrate iridoviruses. J. Virus Genes. 15 (3): 235-45.
11. Bennett, S.M. 2008. “Common House Cricket, *Acheta domestica*.” [Online]. Available: <http://www.the-piedpiper.co.uk/th2f.htm>
12. Boucias, D.G., Maruniak, J.E. and Pendland, J.C. 1987. Characterization of an iridovirus from the Southern mole cricket, *Scapteriscus vicinus*. J. Invertebr. Pathol. 50: 238 - 245.
13. Chinchar V. G. and Hyatt, A.D. 2008. Iridoviruses: General Features. Encyclopedia of Virology. 3: 161-7.
14. Davis, F.M. and Lawrence, A. 2006. “Prevention and Management of Insect Diseases in Laboratory Environment.” [Online]. Available: http://butterflybreeders.org/pages/docs/Prevention_Management_of_Diseases_Insects_10-4-07.doc
15. Delius,H., Darai,G. and Fluegel,R.M. 1984. DNA analysis of insect iridescent virus 6: evidence for circular permutation and terminal redundancy. J. Virol. 49 (2): 609-14.
16. Elizabeth M. H. and James W. P. 2006. Ranavirus in Wood Frogs (*Rana Sylvatica*): Potential Sources of Transmission Within and Between Ponds. J. Wildlife Diseases. 42(2): 307-18.
17. Fischer,M., Schnitzler,P., Delius,H. and Darai,G. 1988. Identification and characterization of the repetitive DNA element in the genome of insect iridescent virus type 6. J. Virol. 167 (2): 485-96.

18. Fowler, H.G. 1989. Natural microbial control of crickets populations (Orthoptera: Gryllotalpidae: *Scapteriscus borellii*): regulation of populations aggregated in time and space. *Revista Brasileira de Biologia*. 49: 1039 – 1051.
19. Goldberg, T.L., Coleman, D.A., Grant, E.C., Inendino, K.R., and Philipp, D.P. 2003. Strain Variation in an Emerging Iridovirus of Warm-Water Fishes. *J. virol.* 77(16): 8812-18.
20. Hall, D.W. 1989. Pathobiology of icosahedral cytoplasmic deoxyriboviruses (Iridoviridae). In “Viral Insecticides for Biological Control” (K. Maramorosch and K. E. Sherman, Eds.). 163-196.
21. Handermann, M., Schnitzler, P., Rosen-Wolff, A., Raab, K., Sonntag, K.C. and Darai, G. 1992. Identification and mapping of origins of DNA replication within the DNA sequences of the genome of insect iridescent virus type 6. *J. Virus Genes*. 6 (1): 19-32.
22. Hunter, W.B., Patte, C.P., Sinisterra, X.H., Achor, D.S., Funk, C.J. and Polston, J.E. 2001. Discovering New Insect Viruses. *J. Invertebr. Pathol.* 78: 220 – 225.
23. Jakob, N.J., Darai, G. and Williams, T. 2002. Genus Iridovirus. In: “The Springer Index of Viruses”. Springer-Verlag, Austria. 1-6.
24. Jakob, N.J., Kleespies, R.G., Tidona, C.A., Muller, K., Gelderblom, H.R. and Darai, G. 2002. Comparative analysis of the genome and host range characteristics of two insect iridoviruses: Chilo iridescent virus and a cricket iridovirus isolate. *J. Gen. Virol.* 83: 463 – 470.
25. Jakob, N.J., Muller, K., Bahr, U. and Darai, G. 2001. Analysis of the First Complete DNA Sequence of an Invertebrate Iridovirus: Coding Strategy of the Genome of Chilo Iridescent Virus. *J. Virol.* 286(1): 182-96.
26. Just, F.T. and Essbauer, S.S. 2000. Direct Submission. Submitted (22-MAR-2000) IZFF, LMU, Kaulbachstr. 37, Muenchen 80539, Germany.
27. Just, F.T. and Essbauer, S.S. 2007. Characterization of an Iridescent Virus Isolated from *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera: Gryllidae). *J. Invertebr. Pathol.* 77: 51 – 61.
28. Kanchanachan, S., Polchana, J., Nuanchan, T., and Tantavanijit, S. 2008. Isolation and Characterisation of Ranavirus from Diseased Frog, *Rana* spp., Imported from Cambodia [Online]. Available: http://www.nicaonline.com/articles10/site/view_article.asp?idarticle=602
29. Kelly, D.C. 1985. Insect iridescent viruses. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 116: 23–35.
30. Kitamura, S. I., Ko, J. Y., Lee, W. L., Kim, S. R., Song, J. Y., Kim, D. K., Jung, S. J. and Oh, M. J. 2007. Seasonal prevalence of lymphocystis disease virus and aquabirnavirus in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* and blue mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *J. Aquacult.* 266 (1-4): 26-31.
31. Kleespies, R. G., Tidona, C. A. and Darai, G. 1999. Characterization of a New Iridovirus Isolated from Crickets and Investigations on the Host Range. *J. Invertebr. Pathol.* 73: 84 – 90.
32. Kulzer L. 1998. House Crickets. *Bug of the month*. 215: 2 - 4.

33. Lorbacher R. H., Gelderblom,H., Hofmann,W. and Darai,G. 1986. Insect iridescent virus type 6 induced toxic degenerative hepatitis in mice. *J. Med. Microbiol. Immunol.* 175 (1): 43-53.
34. Luna. L. G. 1968. Manual of histologic staining method of the Arm Forces Institute of Pathology. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company. New York USA. 1-38.
35. Muller,K., Tidona,C.A., Bahr,U. and Darai,G. 1998. Identification of a thymidylate synthase gene within the genome of Chilo iridescent virus. *J. Virus Genes.* 17 (3): 243-58.
36. Muller,K., Tidona,C.A. and Darai,G. 1999. Identification of a gene cluster within the genome of Chilo iridescent virus encoding enzymes involved in viral DNA replication and processing. *J. Virus Genes.* 18 (3): 243-64.
37. Oh M-J., Kitamura S-I., Kim W-S., Park M-K., Jung S-J., Miyadai T., and Ohtani M. 2006. Susceptibility of marine fish species to a megalocytivirus, turbot iridovirus, isolated from turbot, *Psetta maximus* (L.). *J. Fish Dis.* 29 (7): 415-21.
38. O.I.E. 2007. Epizootic Haematopoietic Necrosis. *CFSPH.* 1-4.
39. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology.* Mosby-Year Book Europe Limited. London England. 1-648.
40. Schnitzler,P., Hug,M., Handermann,M., Janssen,W., Koonin,E.V., Delius,H. and Darai,C. 1994. Identification of genes encoding zinc finger proteins, non-histone chromosomal HMG protein homologue, and a putative GTP phosphohydrolase in the genome of Chilo iridescent virus. *J. Nucleic Acids Res.* 22 (2): 158-66.
41. Schnitzler,P., Soltau,J.B., Fischer,M., Reisner,H., Scholz,J., Delius,H. and Darai,G. 1987. Molecular cloning and physical mapping of the genome of insect iridescent virus type 6: further evidence for circular permutation of the viral genome. *J. Virol.* 160 (1): 66-74.
42. Schnitzler,P., Sonntag,K.C., Muller,M., Janssen,W., Bugert,J.J., Koonin,E.V. and Darai,G. 1994. Insect iridescent virus type 6 encodes a polypeptide related to the largest subunit of eukaryotic RNA polymerase II. *J. Gen. Virol.* 75 (Pt 7): 1557-567.
43. Sonntag,K.C. and Darai,G. 1992. Characterization of the third origin of DNA replication of the genome of insect iridescent virus type 6. *J. Virus Genes.* 6 (4): 333-42.
44. Sonntag,K.C., Schnitzler,P., Koonin,E.V. and Darai,G. 1994. Chilo iridescent virus encodes a putative helicase belonging to a distinct family within the 'DEAD/H' superfamily: implications for the evolution of large DNA viruses. *J. Virus Genes* 8 (2): 151-58.
45. Sonntag,K.C., Schnitzler,P., Janssen,W. and Darai,G. 1994. Identification of the primary structure and the coding capacity of the genome of insect iridescent virus type 6 between the genome coordinates 0.310 and 0.347 (7990 bp). *J. Intervirol.* 37 (5): 287-97.
46. Stohwasser,R., Raab,K., Schnitzler,P., Janssen,W. and Darai,G. 1993. Identification of the gene encoding the major capsid protein of insect iridescent virus type 6 by polymerase chain reaction. *J. Gen. Virol.* 74 (Pt 5): 873-79.

47. Stoltz, D.B. and Summers, M.D. Pathway of Infection of Mosquito Iridescent Virus. 1971. J. Virol. 8(6): 900-09.
48. Tinsley, T.W. and Kelly, D.C. 1985. Taxonomy and nomenclature of insect pathogenic viruses. In: Viral Insecticides for Biological Control. Edited by K. Maramorosch and K.E. Sherman. Academic Press, London, England. p. 325.
49. University of Otago, Dunedin, Newzeland. 1998. “Iridoviruses.” [Online]. Available: <http://www.microbiologybytes.com/virology/kalmazoff/Iridovirus.html>
50. Williams, T. 1994. Comparative studies of iridoviruses: further support for a new classification. Virus Res. 33: 99 – 121.
51. Williams, T. 1993. Covert iridovirus infection of blackfly larvae. Proceedings of the Royal Society B: Biol. Sci. 251: 225.
52. Williams, T. and Cory, J.S. 1993. DNA restriction fragment polymorphism in iridovirus isolates from individual blackflies (Diptera: Simuliidae). Medical & Veterinary Entomology. 7: 199-201.
53. Williams, T. and Cory, J.S. 1994. Proposals for a new classification of iridescent viruses. J. Gen. Virol. 75: 1291.
54. Williams, T. 1998. Invertebrate iridescent viruses. In: The Insect Viruses. Plenum Press, NY: 31.
55. Williams, T. 2008. Iridoviruses of Invertebrates. Encyclopedia of Virology. 3: 161-7.
56. Williams, T. 1996. The iridoviruses. Adv. Virus Res. 46: 345 – 412.

**การศึกษาผลของการเสริม Catalase, Superoxide dismutase และ Glutathione peroxidase
ในน้ำเชื้อสุนัขต่อคุณภาพของอสุจิภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 37°C**

**Effect of Catalase, Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Supplementation
in Dog Semen on Sperm Quality after Incubation at 4 and 37 °C**

สราวุธ ศรีงาม (Sarawut Sringam)*

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว (Adisak Sangkaew)*

พิทักษ์พงษ์ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ (Pitakpong Maneeratrungrote)**

พัชนี ศรีงาม (Patchanee Sringam)**

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 และ 37 °C โดยใช้เวลา 48 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการเก็บน้ำเชื้อจากสุนัขจำนวน 8 ตัว โดยน้ำเชื้อที่เก็บได้จะถูกเจือจางและแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มการทดลองดังนี้ 1) กลุ่มควบคุมที่มีเฉพาะน้ำเชื้อเจือจางในสารละลาย egg yolk tris กลุ่มที่ 2-7 ใช้น้ำเชื้อเจือจางที่เสริมด้วย 2) 100 U/ml catalase, 3) 500 U/ml catalase, 4) 100 U/ml superoxide dismutase, 5) 500 U/ml superoxide dismutase, 6) 5 U/ml glutathione peroxidase และ 7) 15 U/ml glutathione peroxidase ตามลำดับ โดยทำการประเมินความมีชีวิตและการเคลื่อนที่ของอสุจิทั้งก่อนและหลังการบ่มน้ำเชื้อ เพื่อหาอัตราการรอดของอสุจิ จากการทดลองพบว่าการเสริมเอนไซม์ในน้ำเชื้อและบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จะมีอัตราการรอดชีวิตและการเคลื่อนที่ของอสุจิ มากกว่าน้ำเชื้อในกลุ่มที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (91.3, 80.2 และ 85.6, 74.5% ตามลำดับ) และน้ำเชื้อที่มีการเสริมเอนไซม์และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C นั้นพบว่าในกลุ่มที่ 2 และ 5 จะมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุดและมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (91.3, 88.8 และ 79.1% ตามลำดับ) ในขณะที่น้ำเชื้อที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C นั้นพบว่าในกลุ่มที่ 2 และ 4 จะมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุดและมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (83.4, 82.2 และ 64.9% ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามการเสริมเอนไซม์ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เกี่ยวกับอัตราการรอดชีวิตของอสุจิในน้ำเชื้อที่บ่มไว้ที่ทั้งสองอุณหภูมิ

คำสำคัญ น้ำเชื้อ, สุนัข, Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase

* ภาควิชาสัตวศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Abstract

The venom of green pit viper (*Trimeresurus purpureomaculatus*) was used to study its effect on damage of human cholangiocarcinoma cell line, HuCCA-1. After treating by various concentration of snake venom for different time points, the cells were collected for transmission electron microscopy. The result showed that treatment of 40 µg/ml snake venom for 6 hours caused various degree of cell alteration. Some cells presented plasma membrane blebs, increased number of cytoplasmic vacuoles and granules, organelles enlargement or deterioration, decreased nucleus size, irregular nuclear membrane and clumping of nuclear chromatin. However, no cells died from plasma membrane rupture. Such features indicated characteristics of cell apoptosis. Since an action of snake venom in family Viperidae causes hemorrhagic symptoms by the functions of several components including phospholipaseA₂, we assumed that the venom of *Trimeresurus purpureomaculatus* is similar to that of *Trimeresurus albolabris*, which lacks hemolysis activity but shows an ability to induce cancer cell apoptosis.

Keyword : Dog semen, Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase

1. บทนำ

อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่เกิดขึ้นตลอดเวลาระหว่างที่ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยเมื่อมีอนุมูลอิสระ (Free radical) เกิดขึ้นมากเกินไปจะทำให้เกิดความเสียหายต่ออสุจิ (de Lamirande and Gagnon, 1995; Aitken, 1999; Saleh and Agarwall, 2002) โดยทำให้การเคลื่อนที่ลดลง เชื่อมหุ้มเซลล์ผิดปกติไป ความมีชีวิตลดลง เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆภายในเซลล์ (Jones and Mann, 1973,1977; Alvarez and Storey, 1982) โดยปกติแล้วอสุจิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั่วไปมีระบบเอนไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระปกป้องตัวเองอยู่แล้วโดยอยู่ในตัวของอสุจิเองและในส่วนของน้ำกาม สารที่นำมาใช้ในการป้องกันออกซิเดทีฟสเตรสได้แก่ เอนไซม์กำจัดอนุมูลอิสระ (Enzyme scavengers) ชนิดต่างๆ เช่น catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP) หรือการใช้วิตามินชนิดต่างๆ เช่น วิตามินอี, วิตามินซี เป็นต้น อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาการใช้สารป้องกันออกซิเดทีฟสเตรสในสัตว์หลายชนิด เช่น โค ม้า สุกร และ แพะ พบว่าการเสริมเอนไซม์ดังกล่าวอาจไม่ส่งผลดีต่ออสุจิอย่างเด่นชัด

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ SOD, catalase และ GP ในระดับที่ต่างกันว่ามีผลอย่างไรต่อการเคลื่อนที่และความมีชีวิตของตัวอสุจิในน้ำเชื้อสุนัข โดยทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 4 และ 37 °C

2. อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง สุนัขเพศผู้ อายุ 2-4 ปี จำนวน 8 ตัว

แผนการทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำเชื้อในตัวอย่าง จำนวน 7 ทริทเมนต์

วิธีการศึกษา

1. ทำการรีดน้ำเชื้อสุนัขด้วยมือ แล้วจึงเจือจางด้วยสารละลาย egg yolk tris (250 mM Tris, 90 mM citric acid และ 70 mM fructose) โดยให้ความเข้มข้นของอสุจิประมาณ 200 ล้านตัวต่อมิลลิลิตรและแบ่งน้ำเชื้อเจือจาง 1 มิลลิลิตรไปใช้ในแต่ละกลุ่มการทดลองดังนี้ 1) กลุ่มควบคุม 2) น้ำเชื้อ + 100 U/ml catalase 3) น้ำเชื้อ + 500 U/ml catalase 4) น้ำเชื้อ + 100 U/ml superoxide dismutase 5) น้ำเชื้อ + 500 U/ml superoxide dismutase 6) น้ำเชื้อ + 5 U/ml glutathione peroxidase 7) น้ำเชื้อ + 15 U/ml glutathione peroxidase

2. นำน้ำเชื้อเจือจางจากทุกกลุ่มการทดลองเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C และ 37 °C เป็นระยะเวลา 48 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ แล้วจึงทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ เกี่ยวกับการเคลื่อนที่และความมีชีวิตของอสุจิทั้งก่อนและหลังการทดลอง นำผลการตรวจวัดมาคิดเป็นอัตราการคงอยู่ของความสามารถของอสุจิ จากสูตร

$$\text{อัตราการรอด} = \frac{100 \times \text{ความสามารถของอสุจีก่อนการบ่มน้ำเชื้อ}}{\text{ความสามารถของอสุจิหลังการบ่มน้ำเชื้อ}}$$

การเคลื่อนที่ของอสุจิ (Percentage of sperm motility)

ทำการหยดน้ำเชื้อ 1 หยดลงบนสไลด์ที่อุ่นไว้ที่ 37°C ปิดทับด้วยกระจกบาง ทำการประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ทำการตรวจการเคลื่อนที่ของอสุจิจาก 5 ตำแหน่งบนสไลด์ และประเมินอสุจิที่เคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าโดยให้ค่าคะแนนการเคลื่อนที่ตั้งแต่ 0-100%

อัตราการมีชีวิตของอสุจิ (Percentage of viable spermatozoa)

โดยการหยดน้ำเชื้อ 1 หยดลงบนสไลด์ที่อุ่นไว้ที่ 37°C และเติมสี Eosin-nigrosin 1 หยด ใช้ไม้จิ้มฟันสะอาดผสมน้ำเชื้อและสีให้เข้ากัน เติมน้ำยบนสไลด์ เป่าให้แห้งและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า อสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสี ส่วนอสุจิที่ตายจะติดสีแดงของสี eosin ทำการตรวจนับอสุจิจำนวน 200 ตัวต่อ 1 ตัวอย่างแล้วจึงคำนวณเทียบเป็นร้อยละของอสุจิที่มีชีวิต

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิและการเสริม enzyme scavengers ทั้ง 6 กลุ่มและกลุ่มควบคุมต่ออัตราการรอดทั้งการเคลื่อนที่ และความมีชีวิตของอสุจิของสุนัข โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1988)

3. ผลการทดลอง

การทดสอบเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมงให้อัตราการรอดชีวิตและการเคลื่อนที่สูงกว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (91.3, 80.2 และ 85.6, 74.5% ตามลำดับ)

น้ำเชื้อที่มีการเสริมเอนไซม์และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ในกลุ่มที่เสริม 100 U/ml catalase และ 500 U/ml SOD จะมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุดและมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (91.3, 88.8 และ 79.1% ตามลำดับ) ในขณะที่น้ำเชื้อที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C นั้นพบว่าในกลุ่มที่ 100 U/ml catalase และ 500 U/ml SOD จะมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุดและมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (83.4, 82.2 และ 64.9% ตามลำดับ) (แผนภาพที่ 1) แต่การเสริมเอนไซม์ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เกี่ยวกับอัตราการรอดชีวิตของอสุจิในน้ำเชื้อที่บ่มไว้ที่ทั้งสองอุณหภูมิ (แผนภาพที่ 2)

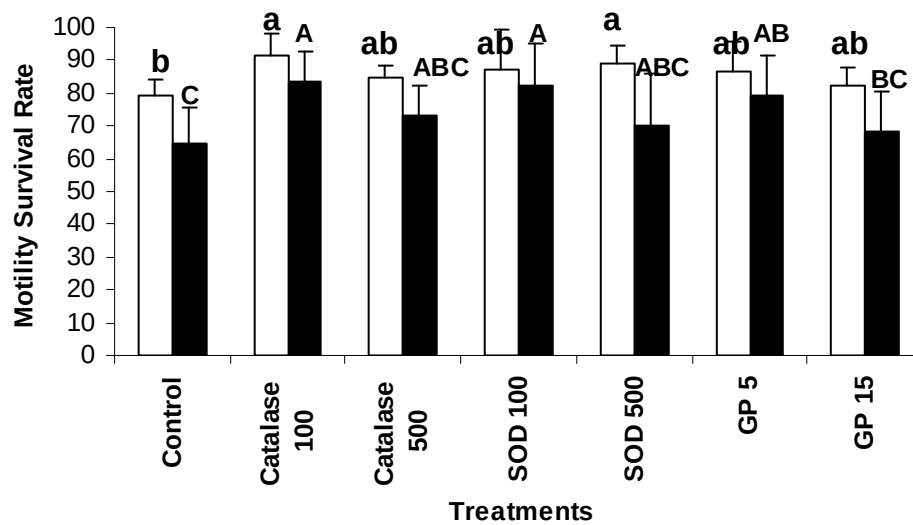


Figure 1. The effect of various levels of enzyme scavengers in dog semen on the motility survival rate after incubation at 4 and 37°C in vitro

□ 4 °C ■ 37 °C

Data are mean ± S.D. from 8 dogs.

a-c, A-C Difference (p<0.05) letters between treatment groups over the same preservation period

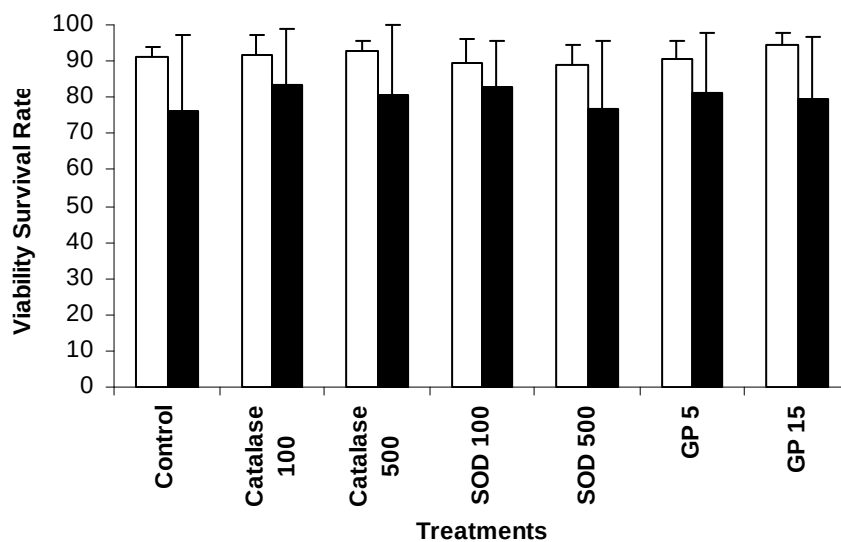


Figure 2. The effect of various levels of enzyme scavengers in dog semen on the viability survival rate after incubation at 4 and 37°C in vitro

□ 4 °C ■ 37 °C

Data are mean ± S.D. from 8 dogs.

4. สรุปและวิจารณ์

ในการศึกษาจากครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ได้ โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นต่อสpermatozoa ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C จะมีความเสียหายมากกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ดังนั้นการเลือกอุณหภูมิที่ใช้ทดสอบควรใช้ที่อุณหภูมิ 37 °C เพื่อให้มีโอกาสเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสและตรวจผลการทำงานของเอนไซม์ได้ดียิ่งขึ้น หรือเพิ่มระยะเวลาในการทดสอบ (Kankofer et al., 2005)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสุนัขแต่ละตัวมีการตอบสนองต่อการเสริมเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการรีดน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของสpermatozoa ที่แตกต่างกัน น้ำเชื้อสุนัขที่ได้จากการเก็บนั้นจะนำมาจากส่วนที่มีสpermatozoa เข้มข้น (sperm-rich fraction) ซึ่งพบว่ามีระดับการทำงานของเอนไซม์ที่สูงที่สุด คือมี SOD สูงถึง 411 U ต่อสpermatozoa 1,000 ล้านตัว ในขณะที่น้ำเชื้อส่วนที่เหลือ (post-spermic fraction) มี SOD เพียง 10.3 U ต่อสpermatozoa 1,000 ล้านตัว ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบดังกล่าวจะเพิ่มมากขึ้นในกรณีที่มีน้ำเชื้อที่มีปริมาณของสpermatozoa ที่ผิดปกติสูง (Cassani et al., 2005)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเอนไซม์ catalase, SOD และ GP ในขนาดดังผลการทดลองสามารถช่วยในการคงอัตราการรอดของสpermatozoa และการเคลื่อนที่ได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความรู้พื้นฐานในด้านชนิดและระดับของเอนไซม์ที่มีอยู่ในน้ำเชื้อ และปัจจัยที่เกี่ยวข้องจะช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการเก็บน้ำเชื้อของสุนัขเพื่อนำไปใช้ในการผสมเทียมต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

1. Aitken, R.J. 1999. The human spermatozoon: a cell in crisis? The Amoroso lecture. J. Reprod. Fertil. 115, 1–7.
2. Alvarez, J.G. and B.T. Storey, B.T. 1982. Spontaneous lipid peroxidation in rabbit epididymal spermatozoa: its effect on sperm motility. Biol. Reprod. 27, 1102–1108.
3. Cassani, P., T.B. Martha and C. O’Flaherty. 2005. Relationship between total superoxide dismutase activity with lipid peroxidation, dynamics and morphological parameters in canine semen Anim. Reprod. Sci. 86, 163–173.
4. de Lamirande, E. and C. Gagnon. 1995. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. Hum. Reprod. 10 (1), 15–21.
5. Jones, R. and T. Mann. 1973. Lipid peroxidation in spermatozoa. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 184, 103–107.
6. Jones, R. and T. Mann. 1977. Damage to ram spermatozoa by peroxidation of endogenous phospholipids. J. Reprod. Fertil. 50, 261–268.
7. Kankofer, M., G., Kolm, J. Aurich and C., Aurich. 2005. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5 degrees C. Theriogenology. 63(5):1354-65

8. Saleh, R.A. and A. Agarwall. 2002. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. J. Androl. 23, 737–752.
9. SAS. 1988. SAS User's Guide for PC Computers. SAS Inst., Cary Nc, USA.

การแช่แข็งเอ็มบริโอโคระยะแซพท์บลาสโตซิสต์แบบวิทริฟิเคชัน โดยใช้ Micropipette แก้ว

Cryopreservation of Bovine Hatched Blastocysts Using Glass Micropipette Vitrification Technique

ศักดิ์ศิริ สิริเสถียร (Saksiri Sirisathien) *

ทรงพล ศรีลับซ้าย (Songpol Srilupsai) **

สุจิรา ธรรมวัง (Suchira Thammawung) **

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการละลาย 2 วิธี ต่ออัตราการรอดชีวิตของเอ็มบริโอโคภายหลังการแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชัน เอ็มบริโอโคระยะแซพท์บลาสโตซิสต์ อายุ 9 วัน ที่ได้จากการปฏิสนธินอกร่างกาย ถูกแช่แข็งใน micropipette แก้ว ที่ได้จากการขัด pasteur pipette ด้วยความร้อน การทำวิทริฟิเคชันมีขั้นตอนคือ บ่มเอ็มบริโอในสารละลาย 10% ethylene glycol + 10% dimethyl sulfoxide ใน holding medium (น้ำยา TCM-199 ที่มี 20% ซีรัมลูกโค) นาน 2 นาที ที่อุณหภูมิห้องทดลอง (27-28°ซ) จากนั้นบ่มเอ็มบริโอในสารละลาย 20% ethylene glycol + 20% dimethyl sulfoxide และ 0.5 M ซูโครส ใน holding medium นาน 10-12 วินาที คูดเอ็มบริโอเข้าใน micropipette แก้ว แล้วจุ่มลงในไนโตรเจนเหลว การละลายเอ็มบริโอมีขั้นตอนคือ จุ่ม micropipette แก้วใน holding medium ที่มี 0.26 M ซูโครส นาน 1 นาที จากนั้นบ่มเอ็มบริโอใน Holding medium ที่มี 0.13 M ซูโครส นาน 5 นาที หรือ 2 นาที สำหรับวิธีการละลายแบบที่ 1 และ 2 ตามลำดับ จากนั้นบ่มในน้ำยาเลี้ยงเอ็มบริโอ นานอย่างน้อย 5 นาที เลี้ยงเอ็มบริโอที่ 5% CO₂ และ 5% O₂ อุณหภูมิ 38.6°ซ เป็นเวลา 14-16 ชม. ประเมินอัตราการรอดชีวิตจากการกลับคืนสภาพ (re-expansion) ของเอ็มบริโอ ผลการทดลองพบว่ามีความแตกต่างระหว่างการละลายแบบที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญ 52.6 % (20/38) ต่อ 78.0 % (32/41) p<0.05 การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงการปรับปรุงการแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชันให้ดีขึ้นด้วยวิธีการละลายที่เหมาะสม

คำสำคัญ วิทริฟิเคชัน, เอ็มบริโอโค, Micropipette แก้ว

* ภาควิชาสัตวศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of two thawing procedures on the survival of in vitro produced bovine embryos. Bovine hatched blastocysts at day 9 were vitrified using the glass micropipette made from the pulled pasteur pipette. For vitrification, each embryo was equilibrated in 10% ethylene glycol (EG) + 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) in holding medium (TCM-199 + 20% fetal calf serum) for 2 min at ambient temperature (27-28 °C). Embryo was then exposed to 20 % EG + 20% DMSO + 0.5 M sucrose in holding medium for 10-12 sec, then loaded into a glass micropipette by means of capillary action, and plunged into liquid nitrogen. Vitrified embryos were thawed in holding medium containing 0.26 M sucrose for 1 min and further equilibrated in holding medium containing 0.13 M sucrose for 5 min or 2 min for thawing method 1 and 2, respectively. After that, embryos were washed in embryo culture medium for at least 5 min. Embryos were subsequently cultured under 5% CO₂ and 5% O₂ at 38.6°C for 14-16 h. The survival rates were determined by using re-expansion of embryos. Difference in re-expansion rates between thawing method 1 and 2 were found; 52.6% (20/38) vs. 78.0% (32/41), $p < 0.05$. This result demonstrated that vitrification procedure can be improved using a more suitable thawing method.

Keyword : Blastocyst, Vitrification, Glass micropipette

1. บทนำ

การแช่แข็งเอ็มบริโอ (embryo cryopreservation) เป็นองค์ประกอบสำคัญอย่างหนึ่งในการทำให้เทคโนโลยีชีวภาพทางการสืบพันธุ์ (reproductive biotechnology) ถูกนำไปใช้ได้อย่างเต็มศักยภาพ วิทริฟิเคชัน (vitrification) เป็นการแช่แข็งแบบทางเลือก นอกเหนือจากการแช่แข็งแบบลดอุณหภูมิอย่างช้า (Slow freezing) ซึ่งมีข้อจำกัดที่ต้องอาศัยเครื่องมือจำเพาะ การแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชันกระทำโดยการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วยิ่งยวด (ultra rapid freezing) ทำให้ของเหลวเปลี่ยนสถานะไปเป็นของแข็ง (Solidification) โดยไม่มีเกล็ดน้ำแข็ง (Ice crystal) เกิดขึ้น (Fahy et al., 1984) การบรรจุอัตราการลดอุณหภูมิที่สูงขึ้นนั้นมีความสำคัญอย่างมากต่อการเพิ่มความสำเร็จของการแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชัน มีรายงานความสำเร็จของวิธีการวิทริฟิเคชันที่เพิ่มอัตราการลดอุณหภูมิให้สูงขึ้น อาทิ เทคนิค minimum drop size (Arav and Zeron, 1997) เทคนิค electron microscope grid (Park et al., 1999) เทคนิค cryo-loop (Lane et al., 1999) เทคนิค Solid surface vitrification (Dinnyés et al., 2000)

การแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชันด้วยเทคนิค Open pulled straw (OPS) ได้ถูกคิดค้นโดย Vajta และคณะ (1998) ซึ่งเป็นการลดขนาดและความหนาของหลอดบรรจุน้ำเชื้อ 0.25 มล. ทำให้สามารถบรรจุอัตราการลดและเพิ่มอุณหภูมิขณะแช่แข็งและละลายได้ถึง 20,000°ซ ต่อนาที เทียบกับการใช้หลอดบรรจุน้ำเชื้อปกติที่มีอัตราการลดและเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่แช่แข็งและละลายเพียงประมาณ 2,000°ซ ต่อนาที เป็นที่น่าสนใจว่าการแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชันโดยใช้ micropipette แก้ว (glass micropipette) มีจุดเด่นเหนือเทคนิค OPS ในเรื่องการถ่ายเทความร้อนของแก้วที่สูงกว่าพลาสติก และความสม่ำเสมอในขนาดของ pipette (Kong et al., 2000; Cho et al., 2002) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบวิธีการละลาย 2 วิธี ต่อการรอดชีวิตของเอ็มบริโอ โคโรอะ Hatched blastocyst ที่ผลิตจากห้องปฏิบัติการภายหลังการแช่แข็งแบบวิทริฟิเคชันด้วยเทคนิค Glass micropipette

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

การผลิตเอ็มบริโอจากห้องปฏิบัติการ (In vitro production of bovine embryos)

เก็บรังไข่จากโรงฆ่าสัตว์ภายในจังหวัดขอนแก่นและนํารังไข่มาห้องปฏิบัติการ เจาะดูโอโอไซต์ (Oocytes) ภายใน 1 ชั่วโมงจากเวลาได้รังไข่ ด้วยเข็มขนาด 18 G และ syringe ขนาด 5 มล. คัดเลือกโอโอไซต์ที่มีชั้น cumulus cell ล้อมรอบ (Cumulus-oocyte complexes) และมีไซโตพลาสซึมเป็นเนื้อเดียวกัน ล้างโอโอไซต์ 2 ครั้ง เพาะบ่มโอโอไซต์ให้สมบูรณ์พร้อมปฏิสนธิด้วยน้ำยา TCM-199 (M0650, Sigma) เสริมด้วย 1 mg/mL PVA, 7.5 mM HEPES, 0.45 mM pyruvate, 0.1 mM cysteamine, 0.1 mM cysteine, 0.25 mM glutamine, 25 mM NaHCO₃, 5% fetal calf serum และ 0.025 IU ของ FSH (F2293, Sigma) เพาะบ่ม 20 โอโอไซต์ ใน 100 μ L drop ใน petri dish ขนาด 60×15 มม. (Nunc) ราบทึบด้วย mineral oil (M8410, Sigma) เพาะบ่มโอโอไซต์ในตู้ 5% CO₂ อุณหภูมิ 38.6°C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำโอโอไซต์เข้าสู่การปฏิสนธิแบบนอกอกร่างกาย (In Vitro Fertilization) ต่อไป

คัดเลือกอสุจิโดยการปั่นล้าง (Centrifugation) 2 ครั้ง ด้วยน้ำยา TALP-HEPES (114 mM NaCl, 3.2 mM KCl, 0.4 mM NaH₂PO₄, 2.0 mM CaCl₂, 0.5 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, 5 mM glucose, 1 mg/mL PVA, 5 mM caffeine, 21.6 mM lactate, 1 mM pyruvate และ 25 mM NaHCO₃) ละลายน้ำเชื้อโคแช่แข็ง 2 หลอด (0.25 มล.) ในน้ำอุณหภูมิ 37°C นาน 30 วินาที คัดน้ำเชื้อใส่หลอดทดลอง ขนาด 15 มล. ที่มีน้ำยา TALP-HEPES เต็มหลอด ปั่นเหวี่ยงที่ความแรง 300 ×g อุณหภูมิ 33-35°C นาน 5 นาที ดูอสุจิที่ก้นหลอดในปริมาตร 300 μ L ใส่ในหลอดขนาด 15 มล. เติมน้ำยา TALP-HEPES 5 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 38.6°C นาน 20 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความแรง 35 ×g นาน

5 นาที ดูดสุจิที่กั้นหลอดในปริมาตร 80 μL นับความเข้มข้นและประเมินการเคลื่อนที่ ใส่สุจิลงใน drop น้ำยา TALP-IVF (น้ำยา TALP-HEPES แต่มี 5 mM HEPES, 13 mM lactate, และ 0.4 mM pyruvate) ร่วมกับ 1 mg/mL BSA (A-9418, Sigma) และ 10 $\mu\text{g/mL}$ heparin (H 4784, Sigma) ให้ความเข้มข้นของสุจิเท่ากับ $2 \times 10^6 / \text{mL}$ ใน 100 μL drop ของน้ำยา TALP-IVF บ่มไวนาน 5 นาที จากนั้นนำโอโอไซต์ที่สมบูรณ์พร้อมปฏิสนธิ (mature oocytes) ย้ายลง 100 μL drop โดยใช้จำนวน 20 โอโอไซต์ ต่อ 100 μL drop

หลังการปฏิสนธิเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง นำไซโกต (Zygotes) มาเพาะเลี้ยงต่อแบบ non co-culture โดยขจัด cumulus cells และดูดสุจิที่เกาะอยู่หลวมๆออกโดยใช้ pipette แก้ว ดูดเข้าออก จากนั้นล้างเพาะเลี้ยงต่อด้วยน้ำยา Synthetic oviductal fluid (SOF) (Tervit et al, 1972) รวมด้วย 3 mg/mL PVA, 10 mM HEPES, 0.4 mM threonine, 0.1 mM non-essential amino acids (NEA), 0.5 mM glutamine และ BSA 1 mg/mL (A0281, Sigma) แต่ไม่มี glucose เพาะเลี้ยง 20 เอมบริโอใน 50 μL drop ของน้ำยา SOF ราวทับด้วย mineral oil เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 38.6°C ร่วมกับ 5%CO₂ และ 5%O₂ ที่ 72 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิคัดเลือกเอมบริโอที่มีจำนวนเซลล์มากกว่าหรือเท่ากับ 4 เซลล์ และเปลี่ยนน้ำยาเป็น SOF ที่มี 0.50 mM citrate และ 1.5 mM glucose แต่ไม่มี glutamine ที่ 144 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ เปลี่ยนน้ำยาเป็น TCM-199 เช่นเดียวกับที่ใช้ในช่วงบ่มโอโอไซต์เพื่อพร้อมปฏิสนธิแต่มี 2% fetal calf serum และไม่มีฮอร์โมน FSH

การแช่แข็งแบบวิธีฟิเคชั่นและการละลาย

เตรียม micropipette แก้ว โดยการยึด pasteur pipette แก้วด้วย pipette puller (model PB-7, Narishigi, Japan) ฉ่ำเชื้อด้วยการอบความร้อนแห้ง (hot air oven) ก่อนนำไปใช้ การทำวิธีฟิเคชั่นมีขั้นตอนคือ บ่มเอมบริโอโคระยะ hatched blastocyst อายุ 9 วัน ในสารละลาย vitrification ที่ 1 ประกอบด้วย 10% (v/v) ethylene glycol + 10% (v/v) dimethyl sulfoxide ใน holding medium (น้ำยา TCM-199 ที่มี 20% fetal calf serum) นาน 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ทดลอง (27-28°C) จากนั้นบ่มเอมบริโอในสารละลาย vitrification ที่ 2 ประกอบด้วย 20% (v/v) ethylene glycol + 20% (v/v) dimethyl sulfoxide และ 0.5 M ซูโครส ใน holding medium นาน 10-12 วินาที แล้วดูดเอมบริโอเข้าใน micropipette แก้ว โดยการแตะและยกออกอย่างรวดเร็ว เพื่อให้เอมบริโออยู่ในส่วนแคบของ micropipette แก้ว ดังรูปที่ 4 จุ่ม micropipette แก้วลงในไนโตรเจนเหลว เก็บ micropipette แก้วในหลอดบรรจุน้ำแข็ง 0.5 มล. ดังรูปที่ 5 จากนั้นเก็บลงถังบรรจุไนโตรเจนเหลวในแนวตั้งดังเช่นการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็ง

ละลายเอมบริโอโดยจุ่ม micropipette แก้วในน้ำยา holding medium ที่มี 0.26 M ซูโครส อุณหภูมิ 38°C นาน 20 วินาที เป่าเอมบริโอออกจาก micropipette แก้วอย่างนุ่มนวล ทิ้งให้เอมบริโออยู่นครบ 1 นาที จากนั้นบ่มเอมบริโอใน holding medium ที่มี 0.13 M ซูโครส นาน 5 นาที สำหรับวิธีการละลายแบบที่ 1 หรือ นาน 2 นาที สำหรับวิธีการละลายแบบที่ 2 แล้วบ่มเอมบริโอในน้ำยา TCM-199 นานอย่างน้อย 5 นาที เลี้ยงเอมบริโอที่ 5% CO₂ และ 5% O₂ อุณหภูมิ 38.6 °C เป็นเวลา 14 -16 ชม. ในน้ำยา TCM-199 เช่นเดียวกับที่ใช้ในช่วงโอโอไซต์เจริญพร้อมปฏิสนธิที่มี 2% fetal calf serum

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินอัตราการรอดชีวิตจากการกลับคืนสภาพ (Re-expansion) ของเอมบริโอ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย chi-square test

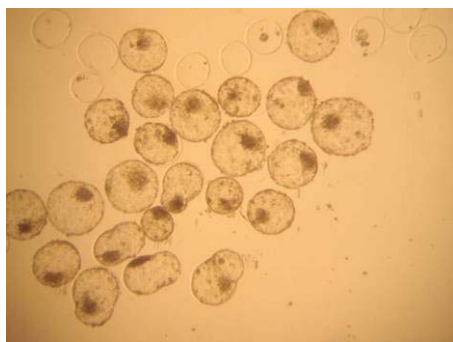
3. ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาพบว่าอัตราการรอดชีวิตของเอ็มบริโอโดยการประเมินการกลับคืนสภาพ (re-expansion) จากวิธีการละลายแบบที่ 2 สูงกว่า อัตราการรอดชีวิตของเอ็มบริโอจากวิธีการละลายแบบที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ $p < 0.05$ ดังแสดงในตารางที่ 1

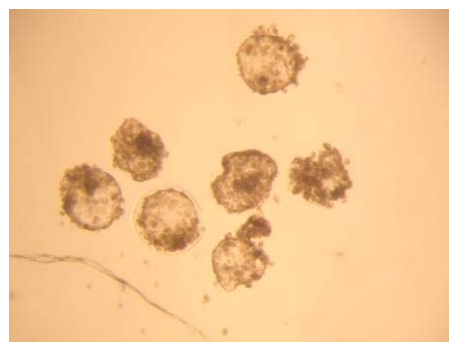
Table 1. Effect of thawing methods on re-expansion of vitrified bovine hatched blastocysts

Thawing methods	No. of re-expanding embryos (%)
Method 1	20/38 (52.6%) ^a
Method 2	32/41 (78.0%) ^b

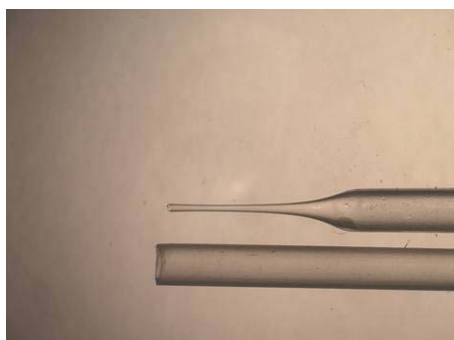
^{a,b} values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)



รูปที่ 1 เอ็มบริโอโคระยะ hatched blastocyst ก่อนการ vitrification



รูปที่ 2 เอ็มบริโอโคระยะ ที่กลับคืนสภาพ (re-expansion) ภายหลังการ vitrification



รูปที่ 3 micropipette แก้ว เมื่อเทียบกับหลอดบรรจุน้ำเชื้อ 0.25 มล.



รูปที่ 4 เอ็มบริโอโคระยะ hatched blastocyst อยู่ใน micropipette แก้ว ก่อนการ vitrification



รูปที่ 5 แสดงการเก็บ micropipette แก้ว ในหลอดบรรจุน้ำเชื้อ 0.5 มล. ก่อนเก็บลงถังบรรจุไนโตรเจนเหลว

การแช่แข็งเอ็มบริโอโคระยะ hatched blastocyst แบบวิธีพีเคชั่นด้วย micropipette แก้วในการศึกษานี้มีอัตราการรอดชีวิตอยู่ในเกณฑ์ดีเปรียบเทียบกับได้กับการแช่แข็งเอ็มบริโอโคระยะ blastocyst ในการศึกษาอื่นๆ (Vatja et al., 1999; Lazar et al., 2000; Cho et al., 2002; Mucci et al., 2006)

การแช่แข็งแบบวิธีพีเคชั่นด้วย micropipette แก้วมีจุดเด่นหลายประการกล่าวคือ micropipette แก้ว นั้นไม่ลอยในไนโตรเจนเหลวเมื่อเทียบกับเทคนิค OPS ขนาดของ micropipette แก้วแต่ละชิ้นมีความใกล้เคียงกันมากเนื่องจากการดึงยึดด้วย pipette puller เมื่อเทียบกับเทคนิค OPS ซึ่งเป็นการดึงยึดด้วยมือ และประการสุดท้าย การเก็บ micropipette แก้วในหลอดบรรจุน้ำเชื้อ 0.5 มล. มีประโยชน์อย่างยิ่งในการใช้เป็นที่เขียนติดฉลากสำหรับแต่ละเอ็มบริโอ ทำให้สะดวกต่อการจัดเก็บในถังบรรจุไนโตรเจนเหลวและการหยิบใช้งาน จากการทดลองพบว่า micropipette แก้วมีความแข็งแรงเป็นที่น่าพอใจ โดยไม่พบการแตกหักในระหว่างปฏิบัติงานแต่อย่างใด แต่อย่างไรก็ตามการแช่แข็งแบบวิธีพีเคชั่นด้วย micropipette แก้ว ยังคงมีจุดด้อยเหมือนดังเช่นเทคนิค OPS และเทคนิคใกล้เคียงอื่นๆ กล่าวคือ เป็นการแช่แข็งที่มีการสัมผัสโดยตรงกับไนโตรเจนเหลว จึงมีความเสี่ยงต่อการติดและแพร่กระจายเชื้อโรคที่อาจปนเปื้อนอยู่ได้ในไนโตรเจนเหลว โดยสรุป การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงการปรับปรุงการแช่แข็งแบบวิธีพีเคชั่นให้ดีขึ้นด้วยวิธีการละลายที่เหมาะสม

4. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ผสมเทียมลำพญากลาง กรมปศุสัตว์ ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำเชื้อแช่แข็ง การทำวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนโดย ทูสนับสนุนโครงการวิจัย ประเภท ทูอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น

5. เอกสารอ้างอิง

1. Arav, A. and Zeron, Y. 1997. Vitrification of bovine oocytes using modified minimum drop size technique (MDS) is effected by the composition and the concentration of the vitrification solution and by the cooling conditions. Theriogenology 47(1): 341
2. Cho, S.K., Ch,o S.G., Bae, I.H., Park, C.S. and Kong, I.K. 2002. Improvement in post-thaw viability of in vitro produced bovine blastocysts vitrified by glass micropipette (GMP). Anim Reprod Sci. 73(3-4):151-158.
3. Dinnyés, A., Dai, Y., Jiang, S. and Yang, X. 2000. High developmental rates of vitrified bovine oocytes

- following parthenogenetic activation, in vitro fertilization, and somatic cell nuclear transfer. *Biol Reprod.* 63(2):513-518.
4. Fahy, G.M., MacFarlane, D.R., Angell, C.A. and Meryman, H.T. 1984. Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 4:407-426.
 5. Kong, I.K., Lee, S.I., Cho, S.G., Cho, S.K. and Park, C.S. 2000. Comparison of open pulled straw (OPS) vs glass micropipette (GMP) vitrification in mouse blastocysts. *Theriogenology* 53(9):1817-1826.
 6. Lane, M., Schoolcraft, W.B. and Gardner, D.K. 1999. Vitrification of mouse and human blastocysts using a novel cryoloop container-less technique. *Fertil Steril.* 72(6):1073-1078.
 7. Lazar, L., Spak, J. and Dávid, V. 2000. The vitrification of in vitro fertilized cow blastocysts by the open pulled straw method. *Theriogenology* 54(4):571-578.
 8. Mucci, N., Aller, J., Kaiser, G.G., Hozbor, F., Cabodevila, J. and Alberio, R.H. 2006. Effect of estrous cow serum during bovine embryo culture on blastocyst development and cryotolerance after slow freezing or vitrification. *Theriogenology* 65(8):1551-1562.
 9. Park, S.P., Kim, E.Y., Kim, D.I., Park, N.H., Won, Y.S., Yoon, S.H., Chung, K.S. and Lim J.H. 1999. Simple, efficient and successful vitrification of bovine blastocysts using electron microscope grids. *Hum Reprod.* 14(11):2838-2843.
 10. Tervit, H.R., Whittingham, D.G. and Rowson, L.E. 1972. Successful culture in vitro of sheep and cattle ova. *J Reprod Fertil.* 30(3):493-497.
 11. Vajta, G., Holm, P., Kuwayama, M., Booth, P.J., Jacobsen, H., Greve, T. and Callesen, H. 1998. Open Pulled Straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol Reprod Dev.* 51(1):53-58.
 12. Vajta, G., Rindom, N., Peura, T.T., Holm, P., Greve, T. and Callesen, H. 1999. The effect of media, serum and temperature on in vitro survival of bovine blastocysts after Open Pulled Straw (OPS) vitrification. *Theriogenology* 52(5):939-948.

**The Study of Effect of Oxytocin Supplemented Semen on
Fertility of Weaned and Repeated Sows Performance.**

Pongthorn Suwannathada *

Nongyao Suwannathada **

บทคัดย่อ

สุกรในฟาร์มเอกชนในเขตจังหวัดขอนแก่น จำนวน 542 แม่ได้ถูกนำมาศึกษาผลของการเติม ออกซิโทซิน ลงในน้ำเชื้อเพื่อการนำไปผสมเทียมผ่านคอมดลูก โดยทำการศึกษาในสุกรนางเป็นสัดครั้งแรกหลังจากหย่านมจำนวน 442 ตัวกับสุกรที่ผสมไม่ติดแล้วถูกนำกลับมาผสมซ้ำจำนวน 100 ตัว แบ่งสุกรทั้งหมดเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ผสมด้วย น้ำเชื้อปกติ 271 ตัว และน้ำเชื้อที่เติม ออกซิโทซินขนาด 5 IU 271 ตัว น้ำเชื้อที่นำมาผสมมีอายุไม่เกิน 2 วัน พบว่า อัตราการเข้าคลอดของสุกรผสมซ้ำมีอัตราการเข้าคลอด (64.7%) ต่ำกว่าสุกรปกติ (84.9%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) แต่ขนาดครอกของทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน

* Department of Theriogenology and Surgery Faculty of Veterinary medicine, Khon Kaen University.

** Department of Medicine Faculty of Veterinary medicine, Khon Kaen University

Abstract

Mixed parity sows on commercial farrow-to-wean units in Kone Kaen province (542 sows) were determine to study for the efficacy of supplemental oxytocin added to the semen dose immediately prior to an transcervical insemination. Inseminated at their first estrus after weaning (weaned sows; n = 442) or at a repeat estrus following a previous failure to successfully conceive (repeat sows; n = 100), the semen did (271 sows), or did not (271 sows), contain 5 IU oxytocin. Semen age at insemination varied from 1 to 2 days. Farrowing rates were lower ($P < .05$) for repeat sows (64.7%) than for weaned sows (84.9%), but litter size was not affected.

Keyword : swine, sows, transcervical insemination, oxytocin, fertility

1. Introduction

A strategy to enhance farrowing rate and litter size of artificially inseminated female pigs is to “stimulate” the uterus and oviduct by adding various compounds to extended boar semen or injecting a compound into the female before insemination. Although the use of these products may cover up sub-optimal conditions for artificial insemination (poor estrous detection procedures, use of old sperm cells, inexperienced technicians, and poor insemination techniques), it may be wise for some operations to use these products to increase productivity¹⁰.

Oxytocin. The use of oxytocin in boar semen was presented in a review of scientific literature by Langendijk (2003)⁷. The conclusions from the review are: 1) Adding 4 to 5 IU's of oxytocin to a dose of semen improves farrowing rate and litter size⁴; 2) Use of oxytocin-treated semen is more effective in multiparous sows than gilts; 3) During the summer months, oxytocin-treated semen significantly increased farrowing rate and litter size⁹; and 4) In most studies, the use of oxytocin at the time of insemination was profitable. Oxytocin can be added to the semen with an insulin syringe or repeater syringe immediately before attaching the semen vessel to the insemination catheter. All the studies used 100% artificial insemination.

Previous studies have shown improved sow fertility when oxytocin has been added to the semen dose, but responses have been variable^{4, 5}. The reason for the variable response is unknown. The ultimate objective of the breeding protocol is to have a sufficient number of sperm cells in the oviductal sperm cell reservoir in the 24-hour period preceding ovulation, and any action that reduces this reservoir may compromise fertility. With AI, such a reduction in the sperm cell reservoir may result from poor timing of semen deposition relative to time of ovulation, or inadequate stimulation of the sow during and after insemination resulting in reduced myometrial contractions and a poorer sperm cell transport to the oviduct. Also, excess semen reflux (backflow) during insemination may reduce fertility, presumably by reducing the potential size of the sperm cell reservoir^{11, 12}. Oxytocin added may solve that problem. For the present day pig farm in Thailand were found the economic loss from non productive sow day more than 45 days.

Aim of this study for evaluation for the effectiveness of oxytocin added semen on reproductive performance (total born and farrowing rate) of normal cycle from weaned to first serviced and repeated sows.

2. Materials and Methods

This study employed 542 mixed parity sows housed on commercial farrow-to-wean swine operations started in March 2007. The target lactation length of each herd was 24 days (range 21 to 26 days), and sows were weaned into individual gestation stalls. Estrus detection of weaned sows involved boar contact in front of the stalls once daily starting on day 3 after weaning. Additionally, sows bred in previous weeks were exposed to the boar to facilitate detection of estrus in nonpregnant sows (repeat sows). At detection of the first or repeat estrus, sows were inseminated with 3×10^9 sperm cells in 75 ml BTS extender (Minitube, Verona, Wisconsin). Insemination was

repeated 12 hours later if sows still exhibited estrous behavior. Third estrus inseminations were not allowed. Age of semen at insemination was 2 days^{6,11}.

At the time of AI, sows were assigned to AI using either a sponge-tip cervical catheter (Golden Pig; IMV International Corp, Minneapolis, Minnesota; control, n =271) and with 5 IU oxytocin¹ added to the semen dose to insemination (OT; n =271).

A total of 442 sows were inseminated at their first estrus after weaning, and 100 sows were inseminated at a first repeat estrus. Sires were equally represented among treatments. Data recorded were service outcome (farrowed or returned) and subsequent total born litter size.

Data collected using commercial computer programmed and analyzed using SAS statistical software (SAS Institute, Cary, North Carolina).

3. Results

There was no effect of treatment on either controlled farrowing rate or subsequent litter size. Subsequent litter size was not influenced overall by treatment ($P > .05$) or estrus number (wean or repeat; $P > .05$). Litter sizes were similar for weaned sows and repeat sows. Subsequent farrowing rate was not influenced overall by treatment ($P > .05$) or estrus number (wean or repeat; $P > .05$). Farrowing rate were similar for weaned sows and repeat sows. (Table 1 and 2).

Table 1 Effect of Oxytocin supplemented (OT) and differenced status sows on total litter size ($P > .05$)

Sow status	Total born litter size (± SD)	
	Control	OT
Weaned Sows	11.6±1.2 ^a	11.9±1.2 ^a
Repeat Sows	10.6±1.6 ^b	10.3±1.0 ^b

Table 2 Effect of Oxytocin supplemented (OT) and differenced status sows on farrowing rate. ($P > .05$)

Sow status	Farrowing (%)	
	Control	OT
Weaned Sows	83.9 ^a	84.9 ^a
Repeat Sows	58.2 ^b	64.7 ^b

^{a,b} Means with different superscripts differ ($P < 0.05$).

4. Discussion

The present study demonstrated no overall effect of oxytocin in the semen on farrowing rates or subsequent litter size in weaned sows but differ in repeat sows. This supports the suggestion that no positive or negative effects will accrue from use of oxytocin supplement for insemination. The higher farrowing rates for OT sows may be due to oxytocin-induced increased uterine contractions improving sperm cell transport and so allowing the establishment of an adequate oviductal sperm cell reservoir. However, since we did not assess amounts of semen backflow, this suggestion is speculative.

For the farms in this study, the largest litters were obtained from the insemination of primiparous sows. Although the estrus at insemination and number of inseminations during estrus did not affect the overall litter size, there were interactions between parity and number of inseminations and between parity and estrus number. Considering the number of inseminations, when sows received two inseminations, there was a decrease in litter size in the multiparous sows, for which we have no explanation. When considered by estrus number, weaned sows showed the classic with recovery thereafter. The repeat sows also had smaller litters in their second parity, but there was no recovery thereafter². Therefore, although there was no overall detrimental effect of estrus number on litter size, these data suggest that, except for primiparous sows, fertility is lower for repeat sows than for those conceiving at the first estrus after weaning.

The data presented demonstrated the expected reduced farrowing rate following insemination of repeat-breeder sows. The reason for this effect is not known, but in the absence of evidence to the contrary, it has been assumed to reflect a subpopulation of sows with lower fertility. However, this assumption is not supported by the data for litter sizes. On the basis of these data, it is reasonable to suggest that ovulation rate is not different in repeat-breeding sows. Similarly, in those repeat-breeding sows that maintain their pregnancy, embryo-fetal mortality is unaffected. We have no explanation for the etiology of the lower farrowing rate of this group of sows, but in the absence of an effect on litter size, it does appear to be an all-or-nothing effect.

5. References

1. สุจิตรา อจริยะวัฒนกุล. 2545. ผลของระดับฮอร์โมนออกซีโทซินต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่เก็บรักษาและอัตราการผสมติดในสุกรนาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
2. Clowes EJ, Aherne FX, Foxcroft GR. 1994. Effect of delayed breeding on the endocrinology and fecundity of sows. *J Anim Sci.*;72:283-291.
3. Flowers WL, Esbenshade KL. 1994. Optimizing management of natural and artificial matings in swine. *J Reprod Fertil.*;48(suppl):217-228.
4. Gibson S, Tempelman RJ, Kirkwood RN. 2004. Effect of oxytocin-supplemented semen on fertility of sows bred by intracervical insemination. *J Swine Health Prod.*;12(4):182-185
5. Huhn U, Fritzsche M, Dahms R. 1977. Control of fertility outcome in artificially inseminated gilts and old sows. 2: Addition of oxytocin to boar semen. Its effect on length of insemination, pregnancy rate and litter size. *Arch Exp Veterinarmed.*;31:561.
6. Kemp B, Soede NM. 1996. Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows. *J Anim Sci.*;74:944-949.
7. Langendijk P, Bouwman EG, Schams D, Soede NM, Kemp B. 2003. Effects of different sexual stimuli on oxytocin release, uterine activity and receptive behavior in estrous sows. *Theriogenology.*;59:849-861.
8. Langendijk P, Bouwman EG, Kidson A, Kirkwood RN, Soede NM, Kemp B. 1998. Functions of myometrial activity in sperm transport through the genital tract and fertilization in sows. *Reproduction.* 2002;123:683-690.
9. Pena FJ, Dominguez JC, Alegre B. Effect of addition of oxytocin to seminal doses on seasonality of pig reproduction. *Vet Rec.*;143:54.
10. Singleton WL. 2001. State of the art in artificial insemination of pigs in the United States. *Theriogenology.* ;56:1305-1310.
11. Soede NM, Wetzels CCH, Zondag W, de Koning MAI, Kemp B. 1995. Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. *J Reprod Fertil.*;104:99-106.
12. Steverink DWB, Soede NM, Bouwman EG, Kemp B. 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilisation in sows. *Anim Reprod Sci.*;54:109-119.

รายงานสัตว์ป่วย: โรคมกคล่อเทียมในแพะ

Case Report: Melioidosis in Does in Nongchok, Bangkok

จุฬาภา สอนกลิ่น (Chulabha Sonklein) *

มงคล ชวนิช (Mongkol Chawanit) **

ชาครีย์ ลือสรามาศ (Chakree Leeisaramas) ***

วัลย์พร ตนพิทักษ์ (Walaiporn Tonpitak) *

บทคัดย่อ

แพะจำนวน 2 ตัว เพศเมีย อายุ 4 ปี ในเขตหนองจอกกรุงเทพมหานครตายเฉียบพลัน จากการผ่าซากพบรอยโรคเป็นก้อนหนองจำนวนมากแพร่กระจายทั่วอวัยวะภายใน เช่น ปอด ตับ ม้าม ไต ต่อม้ำน้ำเหลือง พบแผลหลุมรูปกระดุมในลำไส้ ผลการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาพบก้อนฝีขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่ออย่างดังกล่าวสามารถแยกเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* จำนวนมากจาก ปอด ตับ ม้าม และไต จากผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการสรุปผลการวินิจฉัยได้ว่าแพะทั้งสองตัวเป็นโรคมกคล่อเทียม ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะพบว่าเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ที่แยกได้มีความไวต่อยา Amoxycillin/Clavulanic acid Oxytetracycline Doxycycline และ Sulfa-trimetroprim มีความไวปานกลางต่อยา Ceftriaxone Enrofloxacin และ Ciprofloxacin ต่ำต่อ Amoxycillin Cephalixin Azithromycin Lincomycin Clindamycin และ Gentamicin

คำสำคัญ *Burkholderia pseudomallei*, แพะ, มกคล่อเทียม

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** คลินิกสำหรับโค กระบือและสัตว์กีบคู่ขนาดเล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*** คลินิกสัตว์ปีก คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

Two 4-year old does, in Nongchok Bangkok, were sudden death. Postmortem examination showed multiple abscesses in lung, liver, kidney, lymphnodes and botton ulcer in small intestine. Histopathologic result revealed small multiple abscesses in all organs as mention above. *Burkholderia pseudomallei* were isolated from lung, liver, spleen, and kidney. Thus melioidosis was diagnosed. The result of in vitro susceptibility testing, *Burkholderia pseudomallei* isolates were sensitive to Amoxycillin/Clavulanic acid Oxytetracycline Doxycycline and Sulfa-Trimetoprim, intermediate resistance to Ceftriaxone enrofloxacin and Ciprofloxacin, resistance to Amoxycillin Cephalixin Azithromycin Lincomycin Clindamycin and Gentamicin.

Keyword : *Burkholderia pseudomallei*, goat, melioidosis

อุบัติการณ์ของเชื้อ *Streptococcus suis* ในเลือดสุกรดิบที่วางจำหน่าย
ในตลาดเขตกรุงเทพมหานคร

Incidence of *Streptococcus suis* Contamination in Raw Pig Blood
Distributing in Bangkok's Fresh Markets

วสันต์ ฤกษ์กรธนา (Wasan Kritakornthana) *

มัทนี เอกพนิชกิจ (Muttanee Ekpanichakit) *

ทรงกริช หนูนารถ (Songgrit Nunad) *

อภิรดี อินทรพัศตร์ (Apiradee Intarapuk) **

นวลวิ เวชประสิทธิ์ (Nuanchawee Wetprasit) ***

โชติกา ทิวาลัย (Chotica Thivalai) **

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนเชื้อ *Streptococcus (S.) suis* ในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์ เป็นปัญหาสำคัญปัญหาหนึ่งทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทย เนื่องจากพบอุบัติการณ์เกิดโรคจากการติดเชื้อ *S. suis* เพิ่มขึ้นทุกๆ ปี ปัจจัยสำคัญที่เอื้อต่อการติดเชื้อจากอาหารคือความนิยมในการบริโภคอาหารดิบ หรืออาหารกึ่งสุกกึ่งดิบของคนไทย เลือดสุกรดิบเป็นอาหารประเภทหนึ่งที่นิยมบริโภคและมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *S. suis* ที่ปนเปื้อนอยู่ จึงได้มีการสำรวจการปนเปื้อนเชื้อ *S. suis* ในเลือดสุกรที่มีจำหน่ายอยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร โดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจากตลาดสดทั้งหมดที่อยู่ในเขตกรุงเทพมหานครด้วยเทคนิคการสุ่มตัวอย่างแบบสองขั้น (Two-stage random sampling technique) ได้ตัวอย่างทั้งหมดในการศึกษาจำนวน 36 ตัวอย่าง จาก 8 ตลาดสด ใน 3 เขตของกรุงเทพมหานคร นำตัวอย่างเลือดสุกรทั้งหมดมาตรวจหาเชื้อ *S. suis* โดยวิธีของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ผลการสำรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *S. suis* ในตัวอย่างใดๆ ที่เก็บมา แต่มีบางตัวอย่างที่สามารถแยกเชื้อ *Streptococcus* species อื่นๆ ได้ ถึงแม้ว่าไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. suis* ในเลือดสุกรที่วางขายอยู่ในตลาดสดกรุงเทพมหานคร แต่ทราบได้ที่ผู้บริโภคยังคงนิยมบริโภคอาหารดิบอยู่ การเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อโรคในอาหารก็ควรมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพเพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

คำสำคัญ *Streptococcus suis*, เลือดสุกรดิบ, อาหารปนเปื้อน, กรุงเทพมหานคร

* คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** ภาควิชาคลินิก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

Abstract

Contamination of *Streptococcus (S.) suis* in raw pork and its products has become increasingly public health problem in Thailand, since the incidence of patients with *S. suis* infection findings have risen as well. Consumption of contaminated food could result in severe illness especially in patients with underlying health problems. Moreover, Thai tradition of consuming improperly cooked food could amplify the risks of infection. The cross-sectional study was designed for observing the *S. suis* contaminated raw pig blood in Bangkok. The 36 samples selected in the study by the two-stage random sampling technique were collected from 8 fresh markets. *S. suis* was identified by culture and bio-chemical assays that were modified from the method of Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Although, the result showed that not at all samples were detected *S. suis*, some samples could be identified other species of *Streptococcus*. No *S. suis* contamination may be from a factor of sanitary slaughtering processes. However, for safety of consumers, the effective surveillance of *S. suis* contaminated food should be continued.

Keyword : *Streptococcus suis*, Raw pig blood, Food contamination, Bangkok

การจำแนกหว่านเชื้อโปรโตซัว *Entamoeba histolytica* และ *Entamoeba dispar*
โดยใช้เทคนิค พี ซี อาร์ จำเพาะต่อยีน SSU-rDNA, Chitinase และ Serine rich protein

Identification of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* using PCR based on the SSU-rDNA, chitinase
and serine rich protein genes

อภิรดี อินทรพิทักษ์(Apiradee Intarapuk)*
ธารีรัตน์ กะลัมพะเหติ(Thareerat Kalambaheti)**
นิตยา ธรรมพาลเลิศ(Nitaya Thammapalerd)**
พัศกรพัชร์ มหรรณพ(Pakpimol Mahannop)***
อดิศักดิ์ ภูมิรัตน์(Adisak Bhumiratan)***
ประดิษฐ์ แก้วเสถียร(Pradit Kaewsatien)****

บทคัดย่อ

เนื่องจากเชื้อโปรโตซัว *Entamoeba* (E.) ที่พบได้ในลำไส้มนุษย์และสัตว์ ชนิดที่ก่อโรคได้แก่เชื้อ *E. histolytica* และชนิดที่ไม่ก่อโรคได้แก่เชื้อ *E. dispar* มีลักษณะรูปร่างของเซลล์ที่เหมือนกัน และไม่สามารถจำแนกเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ได้โดยการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ และถ้าตรวจพบเชื้อ *E. histolytica* เท่านั้นจึงจำเป็นต้องให้การรักษา ดังนั้นการจำแนกการติดเชื้อในลำไส้ของโปรโตซัวทั้ง 2 ชนิดนี้จึงมีความสำคัญกับทั้งการรักษาและการควบคุมป้องกันโรค การศึกษาในครั้งนี้เป็นการใช้เทคนิคพอลิเมอร์เชน รีแอคชัน (Polymerase Chain Reaction, PCR) ในการตรวจหาชิ้นที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E. histolytica* และ *E. dispar* โดยเลือกศึกษายีน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Small subunit rRNA (SSU-rDNA), Chitinase และ Serine rich *Entamoeba* protein genes การเพิ่มจำนวนยีน SSU-rDNA โดยใช้ E1/2 primers ซึ่งมีความจำต่อทั้ง *E. histolytica* และ *E. dispar* เป็นการยืนยันการติดเชื้อ *Entamoeba* และสามารถเพิ่มจำนวน DNA ขนาด 1,080 คู่เบส CEH1/2 primers ใช้สำหรับจำแนกยีน Chitinase ของ *E. histolytica* ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวน DNA ขนาด 500 และ 1,200 คู่เบส ยีน Serine rich *E. histolytica* protein สามารถเพิ่มจำนวนโดยใช้ SREH1/2 primers ซึ่งมีความจำเพาะกับเชื้อ *E. histolytica* และให้ DNA ขนาด 527 และ 700 คู่เบส การจำแนกเชื้อ *E. dispar* ด้วยเทคนิค Nested PCR โดยใช้ SED1/2 primers สามารถเพิ่มจำนวน DNA ขนาด 557 คู่เบส และ nSED1/2 primers สามารถเพิ่มจำนวน DNA ขนาด 477 คู่เบส Primers ทั้งหมดถูกนำมาทดสอบกับ *E. histolytica* strain HM1:IMSS, S, AP และ LA และเชื้อ *E. dispar* ซึ่งพบว่าสามารถจำแนกหว่านเชื้อ *E. histolytica* และ *E. dispar* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถนำวิธีนี้ไปประยุกต์ใช้ในการจำแนกการติดเชื้อจาก

* สาขาวิชาคลินิก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

*** ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสาธารณสุข มหาวิทยาลัยมหิดล

**** กองระบาดวิทยา สถาบันวิจัยทางการแพทย์ กองทัพบก

อุจจาระผู้ป่วยได้โดยตรง โดยสามารถแยกเชื้อได้ดีกว่าวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ และประหยัดเวลาและ
แรงงานในการตรวจจำแนกเชื้อด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ : *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, PCR, SSU-rRNA, chitinase gene, serine rich
protein gene

Abstract

Due to the indistinguishable morphology between *Entamoeba histolytica* (pathogenic) and *Entamoeba dispar* (non pathogenic), the further analysis was required to distinguish between them. The correct identification would support the medical treatment and controlling the disease. Based on molecular detection, the 5 sets of primers (E1/2, CEH1/2, SREH1/2, SED1/2 and nSED1/2) were designed to identify the target genes of *E. histolytica* and *E. dispar* for the polymerase chain reaction (PCR) amplification included the genes encoding small subunit rRNA (SSU-rRNA), chitinase and serine rich protein. The PCR primers derived from SSU-rRNA were expected to amplify both *E. histolytica* and *E. dispar* with expected size of 1,080 bp. The PCR primers derived from chitinase gene were expected to specifically amplified *E. histolytica*, with expected product of 500 and 1200 bp. Due the high variation of genes encoding serine rich protein between *E. histolytica* and *E. dispar*, two specific sets of primers were designed, SREH-primer set was specific to *E. histolytica*, and the expected PCR products were 524 and 700 bp. The SED-primer set was specific to *E. dispar* and liberate the product size of 557 bp. In addition the nested primers were designed internally from the product and yield the product of 477 bp. *E. histolytica* DNA derived from axenic culture as *E. histolytica* strain HM1: IMSS and xenic culture as *E. histolytica* strain S, AP and LA could be well amplified by all primer sets. The nested - PCR primers could identify *E. dispar* and differentiate between infections of *E. dispar* and *E. histolytica*. The differentiation between the 2 *Entamoeba* species by this method could be applied to effectively demonstrate directly from DNA-extracted from faeces without culturing the parasites.

Key words: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, PCR, SSU-rRNA, chitinase gene, serine rich protein gene

ปรากฏการณ์ เซลล์ลูปัส อิริธีมาโตรซิส ในหนูตะเภา: รายงานสัตว์ป่วย

Lupus Erythematosus Cell Phenomenon in Guinea Pig: A Case Report

เกรียงศักดิ์ ไพริญกิจ (Kreangsak Prihirunkit) *

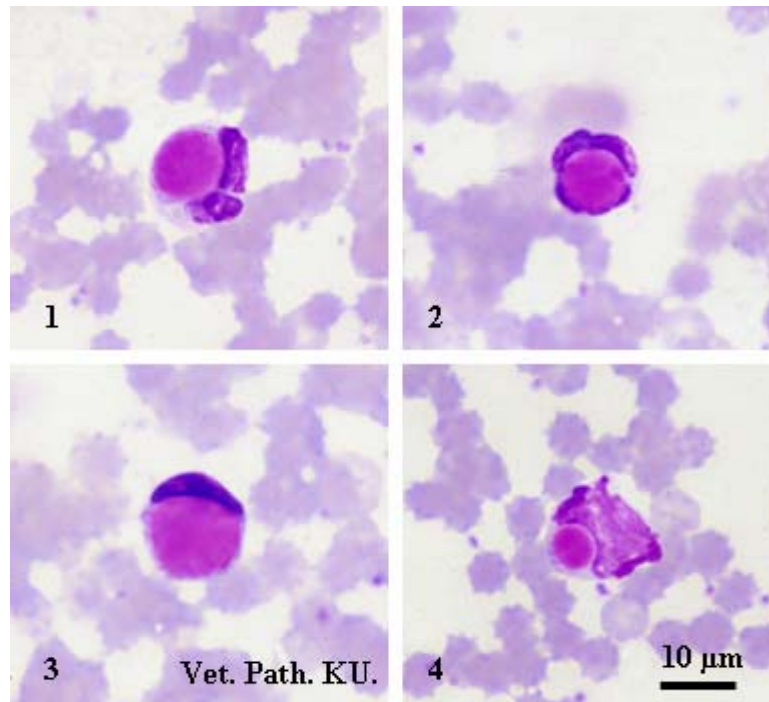
กิตตินาท พลไพบูลย์ (Kittinart Pholpaibool) **

บทคัดย่อ

จากการตรวจทางโลหิตวิทยาของหนูตะเภา เพศเมีย อายุ 5 ปี เพื่อตรวจสุขภาพสำหรับเตรียมผ่าตัดก่อน
เนื้องอกบริเวณใบหน้าด้านขวาที่โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน พบก้อนสีชมพูอมม่วงเนื้อ
เดียวกันในไขโตพลาสมของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล และโมโนไซต์ (รูปที่ 1-4) จำนวนมากบนสเมียร์
เลือด จากการตรวจสอบเอกสารหลายแหล่งพบว่าสิ่งที่พบดังกล่าวคือ เซลล์ลูปัส อิริธีมาโตรซิส ซึ่งยังไม่พบว่ามี
การรายงานมาก่อนในสัตว์ชนิดนี้

คำสำคัญ

หนูตะเภา, เซลล์ลูปัส อิริธีมาโตรซิส



รูปที่ 1-4. แสดงเซลล์ลูปัส อิริธีมาโตรซิสที่พบบนสเมียร์เลือดของหนูตะเภา; ก้อนสีชมพูอมม่วงเนื้อเดียวกันในไขโตพลาสมของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (1-3) และโมโนไซต์ (4)

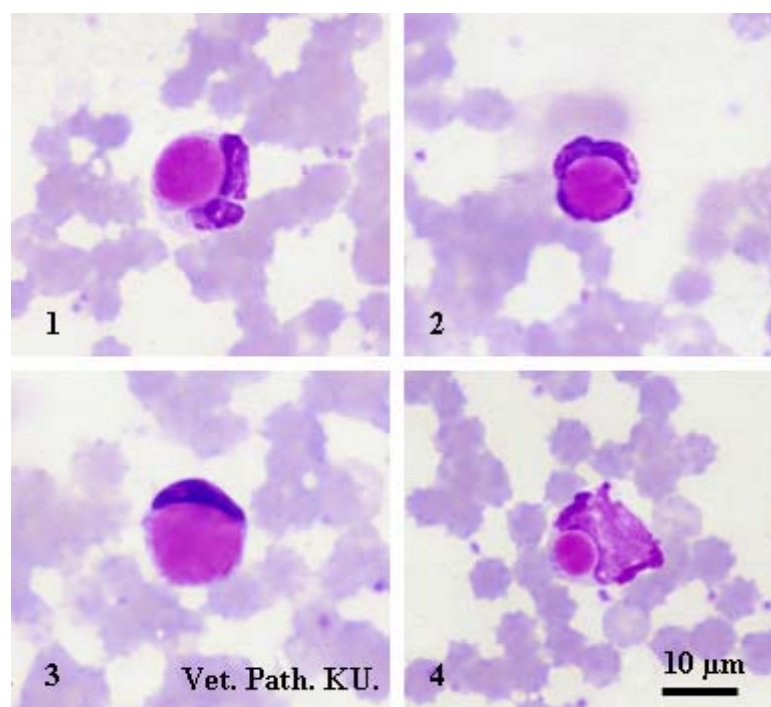
* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

** โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

Abstract

The complete blood count of a 5-year-old female guinea pig was evaluated for preparing surgical removal of facial tumor at Kasetsart Veterinary Teaching Hospital, Bangkok, Thailand. We found many purple homogeneous materials phagocytosed by neutrophils and monocytes (Figures. 1-4) on her blood smear. These findings were recognized as lupus erythematosus (L.E.) cells.

Keyword : Guinea pig, Lupus erythematosus cell



Figures 1-4. Presentation of L.E. cells in peripheral blood of guinea pig; an eosinophilic inclusion body in neutrophils (1-3) and monocyte (4). ; modified Wright's stain.

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตับภายหลังได้รับพิษงูเขียวหางไหม้ ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

Electron Microscopy of Human Cholangiocarcinoma Cellular Changes after Green Pit Viper Venom Exposure

อุไร พงษ์ชัยฤกษ์ (Urai Pongchairerk) *

ศิริรักษ์ จันทกรู (Sirirak Chantakru) *

ผกาวดี พงษ์เกษ (Pakawadee Pongket) *

กฤษณา แสงประไพพิทย์ (Krisana Saengprapaitip) *

บทคัดย่อ

พิษของงูเขียวหางไหม้ลายเสือ (*Trimeresurus purpureomaculatus*) ถูกนำมาใช้ในการศึกษาฤทธิ์ของการทำลายเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตับในคน ได้แก่เซลล์ HuCCA-1 โดยใช้พิษงูขนาดความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ กัน เติมนลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ จากนั้นเก็บตัวอย่างเซลล์ แล้วศึกษาดูความเปลี่ยนแปลงของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน พบว่าการใช้พิษงูขนาดความเข้มข้น 40 µg/ml เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ทำให้เห็นความเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระดับความรุนแรงแตกต่างกันไป โดยพบการพองตัวของผนังเซลล์ มีจำนวนของ vacuole และ granule ภายในไซโตพลาสซึมมากขึ้น มีการขยายใหญ่และเสื่อมสลายของ organelles ภายในเซลล์ จนมองเห็นเป็นช่องว่างขนาดใหญ่ มีขนาดของนิวเคลียสที่เล็กลง มีการบิดเบี้ยวของผนังเซลล์นิวเคลียส และมีเส้นใยโครมาตินที่เกาะกันเป็นกลุ่ม อย่างไรก็ตาม ไม่พบเซลล์ที่ถูกทำลายโดยการแตกออกของผนังเซลล์ ลักษณะต่างๆ ดังกล่าวนี้ เป็นลักษณะของเซลล์ที่กำลังมีการตายแบบ apoptosis ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดขึ้นได้โดยการทำงานขององค์ประกอบหลักในพิษงูเขียวหางไหม้ ได้แก่ Phospholipase A₂ ชนิดเดียวกับที่มีการศึกษาพบในพิษของงูเขียวหางไหม้ทองเหลือง (*Trimeresurus albolabris*) โดยโครงสร้างของโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ทำให้ฤทธิ์ของการทำลายระบบโลหิตนั้นหมดไป แต่มีฤทธิ์ต่อการเกิด apoptosis ของเซลล์มะเร็ง

คำสำคัญ งูเขียวหางไหม้, พิษงูเขียวหางไหม้, มะเร็งท่อน้ำดีตับ, HuCCA-1, การตายแบบ apoptosis

* ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Abstract

The venom of green pit viper (*Trimeresurus purpureomaculatus*) was used to study its effect on damage of human cholangiocarcinoma cell line, HuCCA-1. After treating by various concentration of snake venom for different time points, the cells were collected for transmission electron microscopy. The result showed that treatment of 40 µg/ml snake venom for 6 hours caused various degree of cell alteration. Some cells presented plasma membrane blebs, increased number of cytoplasmic vacuoles and granules, organelles enlargement or deterioration, decreased nucleus size, irregular nuclear membrane and clumping of nuclear chromatin. However, no cells died from plasma membrane rupture. Such features indicated characteristics of cell apoptosis. Since an action of snake venom in family Viperidae causes hemorrhagic symptoms by the functions of several components including phospholipaseA₂, we assumed that the venom of *Trimeresurus purpureomaculatus* is similar to that of *Trimeresurus albolabris*, which lacks hemolysis activity but shows an ability to induce cancer cell apoptosis.

Keyword : Green pit viper, Green pit viper's venom, Cholangiocarcinoma, HuCCA-1, Apoptosis

**ประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของเชื้อ *Bacillus stearothermophilus*
ในชุดทดสอบด้วยหม้อนึ่งอัดความดันที่ใช้สำหรับปรุงอาหาร**

The Sterilization Efficiency of Pressure Cooker on *Bacillus stearothermophilus* Test Kits

สมยศ อิมารมณ (Somyod Imarom1) *

สุทธินีย์ บุญให้ (Suttinee Boonhai)**

มรกต วงศ์หน่อ (Morrakod Wongnhor)**

บทคัดย่อ

ชุดทดสอบที่บรรจุสปอร์ของเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* (Biological indicators: Steam Prospore II) ถูกนำมาห่อด้วยด้วยวิธีการต่างๆ 4 วิธีเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของหม้อนึ่งอัดความดันสำหรับปรุงอาหาร ชุดทดสอบแต่ละชุดจะถูกห่อด้วยผ้าเครป กระดาษ , ซองที่ผลิตขึ้นสำหรับการอบฆ่าเชื้อ และกระดาษหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปนึ่งเป็นเวลา 15, 20, 25, 30, 35 หรือ 45 นาที หลังจากนั้นนำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบพบว่า สปอร์ของเชื้อจะถูกทำลายในเวลา 25 นาทีสำหรับชุดทดสอบที่ห่อด้วยกระดาษ และซองที่ผลิตขึ้นสำหรับการอบฆ่าเชื้อ 35 นาที สำหรับชุดทดสอบที่ห่อด้วยผ้าคลุมผ้าตัด และ 45 นาที สำหรับชุดทดสอบซึ่งห่อด้วยกระดาษแล้วหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์อีกชั้น ตามลำดับ

คำสำคัญ การฆ่าเชื้อ, หม้อนึ่งอัดความดันสำหรับปรุงอาหาร

* คลินิกสำหรับสุกร คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** คลินิกสำหรับโค กระบือ และสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

Test kits which contained *Bacillus stearothermophilus* spores (biological indicators: Steam Prospore II) were wrapped with difference four methods to determine the sterilization efficiency of pressure cooker. Each test kit was wrapped with drape, paper, sterile pack and paper with aluminum foil. They were steamed by pressure cooker for 15, 20, 25, 30, 35 or 45 minutes and then incubated at 60 °C for 24 hours. The results show that the spores were destroyed in 25, 35 and 45 minutes for paper- and sterile pack-, drape- and paper with aluminum foil-wrapped test kit, respectively.

Keyword : Sterilization, Pressure cooker

การปรากฏของเริลซัลฟาเทสเอในระบบสืบพันธุ์เพศเมียในหนูเมาส์

Expression of Arylsulfatase-A (AS-A) in Female Mouse Reproductive Tract

อารยา สืบข้าเพชร (Araya Suebkhampet) *

ประพีร์ เสริฐฐรักษา (Prapee Sretarugsa) **

นงนุช ดันไพจิตร (Nongnuj Tanphaichitr) ***

บทคัดย่อ

เริลซัลฟาเทส เอ (AS-A) เป็นเอนไซม์ที่พบในไลโซโซมของเซลล์ร่างกายและอะโครโซมของอสุจิ AS-A ที่ผิวอสุจิได้มาในขณะอสุจิเคลื่อนที่ผ่านท่อ Epididymis และมีบทบาทในการจับกันระหว่างอสุจิและไข่ AS-A เร่งปฏิกิริยาการตัดหมู่ sulfate ออกจากโมเลกุลของสารกลุ่ม Sulfogalactolipids รวมทั้ง Sulfogalactosylceramide (SGC) ซึ่งมีรายงานการพบที่ผิวเซลล์ของเยื่อบุโพรงมดลูกและมดลูก วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อศึกษาการปรากฏและบทบาทของ AS-A ในระบบสืบพันธุ์เพศเมียของหนูเมาส์ การศึกษาโดยวิธี Immunocytochemistry พบ AS-A ปรากฏในเซลล์และผิวของเซลล์เยื่อบุโพรงมดลูก นอกจากนี้ยังพบปรากฏในต่อมของมดลูก และเซลล์เยื่อบุของมดลูกและช่องคลอด ผลจากการศึกษาด้วยวิธี Immunoblotting พบ AS-A ปรากฏในของเหลวในระบบสืบพันธุ์ทุกระยะในวงจรการเป็นสัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะเป็นสัด พบว่ามีปริมาณมากที่สุด เป็นไปได้ว่า AS-A ที่พบในของเหลวในระบบสืบพันธุ์ถูกดูดซับเข้าสู่ผิวอสุจิขณะที่อสุจิว่ายไปหาไข่ซึ่งอาจมีส่วนเพิ่มความสามารถในการปฏิสนธิ หรือปริมาณ AS-A ที่ลดลงใน Luteal phase อาจช่วยรักษาสมดุลของ Sulfogalactosylceramide (SGC) ซึ่งเป็นซับสเตรตของ AS-A ที่พบในเยื่อบุโพรงมดลูกและมดลูกซึ่งเชื่อว่ามีส่วนเกี่ยวข้องในการฝังตัวของตัวอ่อน

คำสำคัญ เริลซัลฟาเทส เอ, ระบบสืบพันธุ์เพศเมีย, หนูเมาส์

* ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

*** Chronic Disease Program, Ottawa Health Research Institute, Ottawa, Ontario, Canada

Department of Biochemistry/Microbiology/Immunology and Obstetrics/Gynecology, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada

Abstract

Arylsulfatase A (AS-A) is known as a lysosomal enzyme in somatic cells and an acrosomal enzyme in the sperm. AS-A is acquired onto the mouse sperm surface during epididymal transit and plays a role in sperm-egg binding. This enzyme catalyzes the desulfation of certain sulfogalactolipids, including sulfogalactosylceramide (SCG), which is known to present in the uterine/oviductal epithelial cell surface. These led us to investigate the presence and possible function of AS-A in female reproductive tract. Immunocytochemistry revealed that AS-A was present intracellular and on the surface of oviductal epithelial cells. The positive staining was also observed in the uterine glands, epithelial cells of uterus and vagina. Immunoblotting of female reproductive tract fluid during estrous cycle revealed the presence of AS-A in all samples. The most intense reactive band was presented in the fluid during estrus. The results indicated AS-A expression in the epithelia and fluid of the female mouse reproductive tract. Secreted AS-A in the fluid may be adsorbed onto the surface of sperm that are moving towards the eggs, thus enhancing their fertilizing ability. Since SGC is present on the oviductal/uterine epithelia and is believed to be important for implantation, a drop of AS-A level in the luteal phase may be beneficial to embryo implantation.

Keyword : Arylsulfatase A (AS-A), Female mouse reproductive tract, Mouse

การศึกษาย้อนหลังทางจุลพยาธิวิทยาในไตของแมวที่เกิดอะมีลอยด์

A Retrospective Histopathological Study of Renal Amyloidosis in Cats

นันทิดา ทรัพย์แก้ว (Nantida Supkaew) *

หัสตินทร์ บุญศรีโรจน์ (Hassadin Boonsriroj) *

ทนงศักดิ์ มะมม (Thanongsak Mamom) *

บทคัดย่อ

จากการศึกษาย้อนหลังโดยการรวบรวมข้อมูลทางคลินิก ผลการชันสูตรซาก และตัวอย่างชิ้นเนื้อไตของแมวที่เสียชีวิตเนื่องจากภาวะไตวายเรื้อรัง และมีปัญหาอะมีลอยด์ไตซิส จำนวน 4 ตัว ที่ได้ส่งมาชันสูตรซาก ณ ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ผลการศึกษาเพิ่มเติมทางจุลพยาธิวิทยาโดยการย้อมสไลด์เนื้อเยื่อด้วยสี ฮีมาทอกซิดิน-อีโอซิน และสีกองโกเร็ด เพื่อศึกษาดำแหน่งที่มีการสะสมของอะมีลอยด์ในไต พบว่า ตำแหน่งที่สารอะมีลอยด์สะสมบ่อยได้แก่ บริเวณ Medullary interstitium กับ Glomerular capillary นอกจากนี้ยังพบรอยโรคอื่นๆที่อาจเป็นผลเกี่ยวเนื่องจากการสะสมของสารอะมีลอยด์ ได้แก่ Interstitial fibrosis และ Papillary necrosis ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาได้ถูกนำมาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลทางคลินิก รวมถึงได้เสนอแนะแนวทางการวินิจฉัยโรคทางคลินิกไว้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

คำสำคัญ จุลพยาธิวิทยา, ไต, แมว, อะมีลอยด์

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

A Retrospective histopathological study in 4 siamese cats died from chronic renal failure with present of amyloidosis was performed. Clinical data, necropsy finding and renal histopathologic result were collected. Addition histopathologic study using H&E and Congo red stain was performed to localize the area of amyloid deposition in renal tissue of those cats. The result showed that medullary interstitium and glomerular capillary were the most common area for amyloid deposition in kidney. Futhermore other histologic finding associated with amyloid deposition such as interstitial fibrosis and papillary necrosis were also found. Histopathologic result and clinical data including suggestion for clinical diagnosis were discussed in this study.

Keyword : Histopathologic study, Renal, Cats , Amyloid

ลักษณะทางกายวิภาคของกระเพาะอาหารในลิ่นชวา

The Anatomical Structure of Pangolin's Stomach

ธนสิทธิ์ สอนภู (Tanasid Sormphu) *

อารยา สืบจำเพชร (Araya Suebkhampet)**

วราดี พุทธโกสัย (Waradee Buddhakosai)**

บทคัดย่อ

ชากลิ่นชวา (*Manis javanica*) จำนวน 4 ตัว ได้ถูกนำมาศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของกระเพาะอาหาร พบว่าลักษณะทางมหกายวิภาคศาสตร์ของกระเพาะอาหารเป็นรูปโค้ง ต่อเนื่องมาจากหลอดอาหาร ส่วนท้ายของกระเพาะอาหารต่อกับลำไส้เล็กส่วนต้น ประกอบด้วยด้าน Greater และ Lesser curvature ซึ่งมี Grater และ Lesser omentum มายึดเกาะ ตามลำดับ ขนาดของกระเพาะอาหารนี้ มีขนาดเล็กโดยประมาณ เท่ากับ $5.08 \times 12.03 \times 2.33$ เซนติเมตร ผนังด้านในบุด้วยเนื้อเยื่อสีขาว พื้นผิวไม่เรียบ หยิบเป็นคุ่ม พบต่อมขนาดใหญ่วางตัวอยู่ทางด้าน Greater curvature มีขนาดประมาณ $3.90 \times 3.23 \times 0.85$ เซนติเมตร พบท่อภายในจำนวน 3 ท่อ ซึ่งมีรูเปิดร่วมกันอยู่เฉพาะทางด้าน Proximal ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของกระเพาะอาหารพบว่าบริเวณกระเพาะอาหารโดยทั่วไปบุด้วยเยื่อผิวหนัง Keratinized stratified squamous epithelium และพบ conical papillae ขนาดเล็ก ชั้น Tunica mucosa พบ mucous gland จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป ส่วนชั้น Tunica muscularis ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบเรียงตัว 2 ชั้น ตรงบริเวณที่เป็นต่อมขนาดใหญ่ มีเยื่อผิวหนังติดอยู่กับกระเพาะอาหารส่วนอื่น ในชั้น Tunica submucosa พบต่อมมีท่อขนาดใหญ่ ซึ่งถูกล้อมรอบด้วย Elastic connective tissue บางๆ ภายในประกอบด้วยเซลล์ 2 ประเภทหลักๆ ได้แก่ เซลล์เยื่อผิวหนังรูปร่างลูกบาศก์ และเซลล์รูปร่างกลมที่มีไซโทพลาซึมติดสีแดงสด ลักษณะคล้ายคลึงกับเซลล์ที่พบในต่อมสร้างน้ำย่อยในสัตว์ชนิดอื่น จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าลักษณะทางกายวิภาคของกระเพาะอาหาร และการกระจายตัวของต่อมสร้างน้ำย่อยของลิ่นชวามีความแตกต่างจากสัตว์กระเพาะเดี่ยวชนิดอื่น โดยมีต่อมสร้างน้ำย่อยเฉพาะบริเวณด้านท้ายของกระเพาะซึ่งมีลักษณะนูนเด่นชัด ส่วนบริเวณอื่นๆ มีต่อมสร้างเมือกจำนวนมาก เนื่องจากลิ่นชวาไม่มีฟันและกินพวกแมลงต่างๆ เป็นอาหาร เมื่อที่สร้างออกมาเป็นส่วนผสมในน้ำย่อย อาจช่วยปกป้องผนังของกระเพาะอาหารและมีส่วนร่วมในการย่อยอาหาร

คำสำคัญ ลิ่นชวา, กายวิภาค, กระเพาะอาหาร

* ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** คลินิกสำหรับสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

Four Pangolins (*Manis javanica*) were dissected to approach the stomach. The gross anatomical structure revealed J-shaped stomach with 2 curvatures (Greater and Lesser curvature). They lied continuously from esophagus to small intestine with dimensions of 5.08x12.03x2.33 cm. Their inner surface was lined by white tissue and showed rough bumping surface. Interestingly, the large gland protruding from the inner and outer surface at the greater curvature side was presented. The dimensions were 3.90x3.23x0.85 cm. with 3 tubes that opened together only at the proximal side of this gland. Histological structures revealed that all of their epithelial lining was keratinized stratified squamous epithelium with small conical papillae of mucosa. Numerous mucous glands were found in tunica submucosa. Tunica muscularis composed of 2 layers of inner longitudinal and outer circular smooth muscle. The epithelium of large glandular region was also keratinized stratified squamous epithelium. Large glandular tissues were found in tunica submucosa. They were surrounded by elastic connective tissue and their secretory unit composed of 2 main cell types: the simple cuboidal epithelial cells and bright acidophilic round cells. These cells were similar to the cells of glandular stomach of other animals. The study indicated that the anatomical structure and glandular distribution of Pangolin stomach were different from that of the monogastric animals. They presented a very large gastric gland as mentioned above and lot of mucous glands. Since Pangolins have no teeth and they eat various insect species, mucin secreted from the mucous glands may provide a protective function as being a part of digestive tract.

Keyword : Pangolins, Anatomy, Stomach

มะเร็งต่อมน้ำเหลืองในสุนัขพันธุ์ไทยหลังอาน: รายงานทางคลินิกและพยาธิวิทยา

Multicentric Lymphoma in a Male Thai Ridgeback Dog: Clinico-Pathological Report

ทนงศักดิ์ มะมม (Thanongsak Mamom) *

หัสตินทร์ บุญศิริโรจน์ (Hassadin Boonsriroj) *

กนิงนิจ อินทะสอน (Khaneungnit Intason) **

บทคัดย่อ

สุนัขพันธุ์ไทยหลังอานเพศผู้ อายุ 7 ปี เข้ารับการตรวจทางคลินิกด้วยประวัติมีก้อนเนื้อโตเร็วที่ต่อมน้ำเหลืองใต้ผิวหนังหลายแห่ง ผลการตรวจทางเซลล์วิทยาจากก้อนดังกล่าวพบเซลล์เนื้องอกรูปร่างกลมลักษณะคล้ายเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลือง สุนัขถูกทำให้ตายโดยสงบด้วยเหตุผลเรื่องของสวัสดิภาพสัตว์ และ คุณภาพชีวิตของสัตว์ ผลการชันสูตรซากพบต่อมน้ำเหลืองทั่วร่างกายขยายใหญ่ บางแห่งถึง 20 เท่าของขนาดปกติ พบก้อนเนื้อขนาดต่างๆ ที่ตับ ม้าม ปอด ช่องอก และ ทอนซิล ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา พบเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองกระจายไปตามอวัยวะต่างๆ (Multicentric lymphoma) ได้ทำการแยกชนิดของเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองโดยใช้ Kiel classification (Kiel) และ National Cancer Institute Working Foundation (WF) classification นอกจากนี้ยังได้จำแนกชนิดของเซลล์โดย Immunophenotypic classification ด้วย ข้อมูลทางด้านคลินิกและพยาธิวิทยาได้ถูกนำมาวิเคราะห์และนำเสนอ

คำสำคัญ lymphoma, Canine, multicentric, pathology, classification, immunophenotype

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** S&J สัตวแพทย์ เขตหนองจอก กรุงเทพฯ 10530

Abstract

A 7-year-old male Thai Ridgeback dog was clinically investigated for a history of rapid growing multiple nodules at skin. Cytologic examination from enlarged superficial lymph nodes revealed many round cells tumor highly suggestive for lymphoid neoplasm. The dog was later euthanized due to poor quality of life and the owner's request. Necropsy findings showed generalized lymph nodes enlargement up to about 20 times of normal size. Multiple white firm masses of various sizes were also detected from liver, spleen, lung, mediastinum and tonsils. Histopathologic examination confirmed the formerly cytologic diagnosis of lymphoma with multiple organs involvement (multicentric lymphoma). The type of lymphoma was classified using Kiel classification (Kiel) and National Cancer Institute Working Foundation (WF) classification for lymphoma. Immunophenotypic classification was attempted to perform and all the results including clinical staging were discussed.

Keyword : lymphoma, Canine, multicentric, pathology, classification, immunophenotype

รายงานสัตว์ป่วย: การรักษาแผลหลุมตื้นชนิดที่มีชอกลึกที่กระจกตาในแมว ด้วยวิธี Corneal Epithelium Debridement

Case Report: Treatment of Indolent Corneal Ulcer in Cat with Corneal Epithelium Debridement

ธเนศ อนุศักดิ์เสถียร (Thanate Anusaksathien) *

จิตารีย์ เลาหารัชชานนท์ (Titaree Laoharatchatathanin)**

บทคัดย่อ

แมวเปอร์เซีย เพศผู้ อายุ 5 เดือน ประวัติการทำวัคซีนครบ มาด้วยอาการตาขาวหริ้ เยื่อตาขาวแดง บวมแดง ปิดลูกตา เจ็บปวด และมีน้ำตาไหลมาก เจ้าของไม่ทราบระยะเวลาการเกิดแน่นอน ในวันแรกทำการตรวจตาไม่ได้ เพราะตาบวมมากจึงได้ทำการหยอดยาให้ยา Ketorolac tromethamine 0.5 %, Atropine Sulfate 1%, Polymyxin B, Neomycin และ Gramicidin และนัดดูอาการต่อเนื่อง หลังจากหยอดยาเป็นเวลา 1 วัน ได้ทำการตรวจซ้ำ พบอาการเยื่อตาขาวบวมลดลง แต่แมวยังคงหริ้ตาอยู่ ทำการตรวจตาพบว่ากระจกตาใส วัดปริมาณน้ำตาได้ 30 มิลลิเมตร/นาที ทำการตรวจตาแมวข้างขวา พบว่า Papillary light reflex (+) Menace response (+) Dazzle reflex (+) ย้อมตาดำด้วย Fluorescein paper ให้ผล (+) พบติ่งสีที่กระจกตาเป็นบริเวณกว้างทั่วกระจกตา มีขอบเขตไม่ชัดเจน และมีการติ่งสีเข้าไปใต้ขอบของแผลหลุมของชั้นเยื่อบุผิวของกระจกตา จัดเป็นแผลหลุมตื้นชนิดที่มีชอกลึกที่กระจกตา (Indolent corneal Ulcer) ได้ทำการรักษาด้วยวิธี Corneal Epithelium Debridement โดยการหยอดยา Tetracaine Hydrochloride 0.5 % จากนั้นขัดโดยใช้ก้านสำลือบฆ่าเชื้อชุบด้วย Betadine 1 % ขัดที่ขอบของแผลหลุมสองทิศทาง จนกระทั่งขอบแผลหลุดออกมา หลังจากนั้นล้างตาด้วยน้ำเกลือ NSS 0.9 % และโดยนัดทำการรักษาด้วยวิธีนี้ติดต่อกัน สัปดาห์ละหนึ่งครั้ง ระหว่างการรักษาให้หยอดตาด้วยยาปฏิชีวนะ Ofloxacin 0.3 % ทุก 2 ชั่วโมงในสองสัปดาห์แรก และ Atropine Sulfate 1% วันละสองครั้ง ให้ยาปฏิชีวนะชนิดกิน Cephalexin 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละสองครั้ง ในสัปดาห์ที่สามและสี่ปรับยาหยอดตาปฏิชีวนะ Ofloxacin 0.3 % ทุก 4 ชั่วโมง การรักษาตั้งแต่สัปดาห์ที่หนึ่งถึงสัปดาห์ที่สี่ ขนาดแผลหลุมมีขนาดเล็กลงตามลำดับ

คำสำคัญ แผลหลุมตื้นชนิดที่มีชอกลึกที่กระจกตา, แมว, การขัดขอบแผลที่กระจกตา

* โรงพยาบาลเพื่อการสอนสัตวเล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** คลินิกสำหรับสัตว์เลี้ยงขนาดเล็กและรังสีวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

A 5 month-old male Persian kitten presented with blepharospasm, chemosis and hyperemia in the right eye. The examination could not be performed on the first day due to severe chemosis. The patient was treated with an instillation of 0.5% Ketorolac Tromethamine, 1% Atropine Sulfate, Ploymyxin B, Neomycin and Gramicidin. The following day, an examination of the right eye revealed improvement of chemosis, blepharospasm and hyperemia. A complete ophthalmic examination included, Schmier tear test (30 mm/min), papillary light reflex (+), menace response (+), dazzle reflex (+) were performed. The fluorescein stain showed a halo fluorescein staining pattern, the stain ran under and seen through the lip, this pattern is diagnosed as an Indolent Corneal Ulcer. The debridement of the ulcer promotes healing by removing the outer non-adhering layer of the cornea was used in this patient. First, a topical ophthalmic anesthetic (0.5% Tetracaine Hydrochloride) is placed in the eye for 5 minutes. Then, the devitalized epithelium is mechanically removed by using a cotton swab soaked with 1% betadine applied in radial sweeps toward the limbus and around the margins of the ulcer. After debridement, corneal was washed with 0.9% NSS. This procedure was repeated once a week for 4 times in an attempt to avoid secondary infection and pain, the cat was treated with topical antibiotics 0.3% ofloxacin every 2 hours, 1% Atropine sulfate and cepalexin 25 mg/kg orally twice daily for 2 weeks. During the last 2 weeks, only a topical antibiotic 0.3% ofloxacin every 3 hours was used. After 4 weeks of treatment, significant improvement of the ulcer was observed. The results of this study suggest that these procedures could be performed for treatment of Indolent Corneal Ulcer in cats.

Keyword : Indolent corneal ulcer, Cat, Corneal epithelium debridement

Effects of Neem Foliage and Defaunation Reagent in the Diets on Rumen Ecology and Productive Performances of Goats

Pramote Paengkoum *

Supreena Srisaikhram *

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการเสริมอาหารขึ้นที่มีการเสริมคอนเดนซ์แทนนินจากใบรวมก้านของสะเดา (*Azadirachta indica* A. Juss var. *Siamensis* Valeton) และสารกำจัดโปรโตซัว คือ โซเดียมคลอริด์ซัลเฟต (SLS) ที่แพะได้รับข้าวโพดหมักเป็นแหล่งอาหารหลัก ต่อจุลินทรีย์ในรูเมน และประสิทธิภาพการผลิตของแพะเนื้อลูกผสมเพศผู้พันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียน จำนวน 24 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized completely block design (RCBD) โดยทรีทเมนต์ประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม ได้รับข้าวโพดหมักเป็นอาหารหลัก (basal diet, B), 2) B + SLS 8 กรัม/วัน, 3) B + ใบรวมก้านสะเดา 40 กรัม/วัน และ 4) B + SLS 4 กรัม/วัน + ใบรวมก้านสะเดา 20 กรัม/วัน ผลการทดลองพบว่าแพะที่ได้รับคอนเดนซ์แทนนิน 1% (ใบรวมก้านสะเดา 40 กรัม/วัน) มีผลทำให้กรดไขมันระเหยได้คือ โพรพิโอนัตเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) แต่อะซิเตตลดลง ในกลุ่มที่เสริมใบรวมก้านสะเดาและ SLS มีผลทำให้ไขพยาธิในมูล โปรโตซัวในของเหลวจากรูเมนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังทำให้แบคทีเรียในรูเมนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) อย่างไรก็ตามปริมาณการกินได้ การให้ผลผลิตและยูเรียไนโตรเจนในเลือดในทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ Neem, *Azadirachta indica* A. Juss var. *Siamensis* Valeton, Rumen Ecology, Productive Performances, Goat

* School of Animal Production Technology, Institution of Agricultural Technology,
Suranaree University of Technology

Abstract

Study on the effect of condensed tannins from Neem (*Azadirachta indica* A. Juss var. *Siamensis* Valetton) foliages, and defaunation reagent as sodium lauryl sulfate (SLS) addition to a basal diet of corn silage on microbial in the rumen and productive performances within Thai native x Anglo-Nubian male goats was studied. Goats (n=24; male; BW=14+5) were randomly considered toward treatment position into randomized completely block design. The treatments were: 1) Basal (B; 1.0-1.2 kg /head/day, corn silage), 2) B + SLS 8 g /head/day 3) B + 40 g Neem foliages /head/day (1.0% condensed tannins), and 4) B + 20 g Neem foliages /head/day (1.0% condensed tannins) with SLS 4 g /head/day). These studies indicate that the action of 1% condensed tannins by Neem with 8 g SLS effect C3 has increased ($p<0.05$) opposite of C2 decreased ($p<0.05$) mainly both of intestinal as well as nematode eggs and protozoa interaction in the rumen may reduce highly significantly ($p<0.01$). Moreover, affect raise bacteria population ($p<0.01$). Nevertheless, all of these treatments have not affect intake, productive performances and blood urea nitrogen.

Keyword : Neem, *Azadirachta indica* A. Juss var. *Siamensis* Valetton, Rumen Ecology, Productive Performances, Goat

1. Introduction

Tannins are phenolic secondary compounds of plant products, mainly comprising tannins, are important part in the dietary protein of animals, in particular for ruminants in smallholder farming systems in developing countries where the main ruminant production in dry tropical regions is commonly limited by adequate protein supply to the rumen. Supplementary protein can be made available via pods, shrub, bark and leaves. In the tropical countries of the world, the ruminants are fed on lignocellulosic agricultural by-product namely cereal straws, sugarcane bagasse, groundnut, cotton, mohua, mustard and tree foliage like Neem, which (Neem) were high protein around 32-36 g/KgDM (Barry and Manley, 1984), produce large amount of condensed tannins (CT). However these plants contain CT which complex with protein, thus reducing nitrogen availability to rumen microorganisms that compose by-pass protein happened. Min et al. (1999) CT also may react directly by interfering with parasite egg hatching and increase then flow of protein compounds through rumen to small intestine thereby escaping microbial fermentation. Above mentioned, the protein nutrients of feeds are necessary for goats to maximize the potential of meat production. Subsequently the nutrition is important for production. Although local feed contained CT has been reported useful, tannins in forage have both negative and positive effects on nutritive value (Reed et al., 1982). The objective of this experiment was aimed to determine the effects of Neem foliage in meat goat diets on rumen ecology and productive performances.

2. Materials and Methods

The types of Neem foliages in fresh form were collected in the dark and dry-ice block to reduce the condensed tannins activity during carry to lab from Suranaree University of Technology, freeze drier for 60 hr, and ground despite the fact that 0.5 mm screen sieve. Twenty-four goats (male) by means of an average weight from maximum and minimum weight around 14±5 kg and 7-8 months of old, There are feeding 98 days, last 7 days for sampling. They are individually fed and free access water and clean every day. Isolation of the CT from *Leucaena* species: The method used was that of (Reed et al., 1982) with some modifications. Condensed tannins was isolated from *Azadirachta indica* A. Juss var. *Siamensis* Valetton foliage by 2 L of 70% aqueous acetone (v/v) and 2 g of ascorbic acid (70-act) extraction following adsorption chromatography on Sephadex LH-20 packed in the column as the two respective mobile phases. The final products of purified CT pulverize store at 4 °C for final purified CT obtained.

Feed offered and refused were weighed daily prior to the morning feeding to determine the daily dry matter intake (DMI). Body weight of each animal was measured weekly immediately before the morning feeding.

Rumen fluid is collect during the last days of each period. Samples were collected at 0, 3 and 6 hrs. post-feeding. Samples are measure for pH immediately and prepared for later analyses of Volatile fatty acids (VFA), total feasible counts of protozoa and total bacteria populations. Fecal samples were collected during the last 7 days of each period. Composite are dry at 60 °C and ground and analyzed for DM, Ash, CP, NDF and ADF. Blood

samples were taken from jugular venipuncture at the same time of rumen fluid sampling and supernatant stored at 4 °C for blood urea nitrogen analysis.

The chemical composition of biological samples (feed, faeces and urine) were determined by the methods described by AOAC (1985). VFAs analyzed Gas Chromatography (GCD system HP 6890). Dry matter intake and digestibility of nutrient were calculated.

The calculation was subject matter to psychoanalysis of variance using SAS software (SAS, 1998). The difference between treatment means was statistically compared by Duncan's New Multiple Range Test using Proc GLM (SAS, 1985).

3. Results and Discussion

Table 1. Effect of dietary treatments on rumen ecology, productive performances and nematode eggs.

Items	Treatments				SEM
	Control	Treatment II	Treatment III	Treatment IV	
Concentrate DM intake/d					
g/day	143.9	141.3	133.3	146.1	4.43
%BW	1.07	1.04	1.04	0.99	0.02
Roughage DM intake/d					
g/day	280.9	309.6	281.1	291.9	6.99
%BW	2.12	2.30	2.20	2.03	0.08
Total DM intake/d					
g/day	424.8	450.9	414.4	438.0	10.54
%BW	3.19	3.33	3.24	3.01	0.10
ADG (g/day)	48.9	47.2	48.6	49.2	2.77
Nematode eggs (egg/g)*	249.7 ^a	225.5 ^a	122.7 ^b	146.6 ^b	12.55
Ruminal pH*	7.1 ^a	6.9 ^b	7.2 ^a	7.1 ^a	0.04
Bacteria, x10 ¹⁰ cells/ml*	1.7 ^c	2.0 ^b	2.3 ^{ab}	2.7 ^a	0.70
Protozoa, x10 ⁵ cells/ml*	2.8 ^a	2.6 ^{ab}	2.4 ^{ab}	2.2 ^b	0.10
Acetic acid, mol/100 mol	78.6 ^a	76.7 ^{ab}	75.7 ^b	75.9 ^{ab}	0.45
Propionic acid, mol/100 mol	14.8 ^b	15.9 ^{ab}	17.3 ^a	17.0 ^a	0.27
Butyric acid, mol/100 mol	6.6 ^{ab}	7.4 ^a	7.0 ^{ab}	5.7 ^b	0.28
Blood urea nitrogen mg%	8.9	8.8	8.4	8.7	0.15

^{a, b, c} Values on the same row with different superscripts differ (p<0.05)

^{*a, b, c} Values on the same row with different superscripts differ (p<0.01)

As discussed above tannins do have results with Neem foliage 1% CT+8 g SLS defaunation reagent effect on rumen microbes and this treatment are the most effective degraded protozoa and nematode eggs ($p<0.01$) with several responses to the presence of condensed tannin that has been confirm to be present decreasing C2 ($p<0.05$) while affect raise bacteria population ($p<0.01$) and C3 increased ($p<0.05$). Then results with 8 g SLS demonstrate rumen pH was lower ($p<0.01$). However, effect of activity which operating parameter have should be discussed moreover on prolonged feeding of high concentrations and yield of CT was discussed moreover CT often appear tropical protein foliage to be an importance sources of protein for the ruminants.

4. Conclusion

The studies in Nakhon Ratchasima province indicate the potential for the use of plant as anthelmintics and defaunation in goats and to confirm the effects of condensed tannin in GI nematode infection and reduce protozoa in rumen. No differences between intact plant and defaunation reagent on protozoa in rumen, further research into the effect of feeding with plant extracts is required.

5. References

1. Association of Official Analytical Chemists. 1985. Official Method of Analysis. 15th ed. Arlington. Washington D.C p. 1298.
2. Barry, T.N. and T.R. Manley. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of Lotus pedunculatus for sheep 2. Quantitative digestion of carbohydrates and protein. Br. J. Nutr. 51:493-504.
3. Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analysis (apparatus, reagent, procedures and some application). Washington. D.C. Agric. Handbook No. 379, U.S.A. Department of Animal and Range Science. New Mexico State University.
4. Reed, J.D., R.E. McDowell, P.J. Van Soest and P.J. Horvath. 1982. Condensed tannins a factor limiting the use of cassava forage. J. Sci. Food Agric. 33: 2131.
5. SAS. 1988. User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., North Carolina. 231p. Version 6 14th Ed Cary, NC: SAS Inst.
6. Steel, R.G.D. and J.H. Torries, 1980. Principles and Procedures of Statistic a Biomaterial Approach. (2nd ed), McGraw-Hill. New York: U.S.A.

ผลของแคลเซียมและเลซิทินในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกรป่า

Effect of Dietary Calcium and Lecithin on Growth Performance of Wild Pigs

จำลอง มิตรชาวไทย (Jamlong Mitchaothai) *

เฉลิมพล เชื่องกลาง (Chalermpon Yuangklang) **

ไกรสิทธิ์ วสุเพ็ญ (Kraisit Vasupen) **

ศศิพันธุ์ วงศ์สุททาวาส (Sasiphan Wongsuthavas) **

แอนตอน ซี ไบเนน (Anton C. Beynen) ***

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีจุดประสงค์ เพื่อทดสอบว่าการเสริมแคลเซียมและเลซิทิน มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกรป่าหรือไม่ สุกรป่าจำนวน 6 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 6.0 กิโลกรัม นำเข้ามาใช้ในแผนงานทดลองแบบ 3 X 3 จตุรัสละตินแบบซ้ำ อาหารทดลองประกอบด้วย อาหารสูตรควบคุม (Cont) แคลเซียมระดับสูง (HC) และแคลเซียมระดับสูงร่วมกับเลซิทิน (HCL) โดยสุกรได้รับอาหารแบบเต็มที่ได้ทดลองงานทดลอง ผลการทดลองพบว่า การเสริมแคลเซียมและเลซิทินในอาหารไม่มีผลต่อการกินได้เฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และอัตราแลกเนื้อ อย่างไรก็ตามสุกรที่ได้รับอาหารควบคุมมีแนวโน้มที่อัตราแลกเนื้อมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า สุกรที่ได้รับอาหารแคลเซียมระดับสูง และแคลเซียมระดับสูงร่วมกับเลซิทิน สุกรที่ได้รับอาหารที่มีแคลเซียมระดับสูงมีแนวโน้มที่ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตต่ำกว่าสุกรกลุ่มอื่นๆ ในขณะที่การเสริมเลซิทินในอาหารที่มีแคลเซียมระดับสูงมีแนวโน้มช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ดังนั้นภายใต้สภาพการทดลองนี้ สรุปได้ว่าการเสริมแคลเซียมระดับสูงและเลซิทิน ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกรป่า

คำสำคัญ แคลเซียม, เลซิทิน, ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต, สุกรป่า

* คลินิกสำหรับสุกร คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน

*** ภาควิชาโภชนาการ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยฮูเวิร์ด เมืองอูเทร็ค ประเทศเนเธอร์แลนด์

Abstract

The current study was conducted to test whether dietary supplementation of calcium and lecithin affects growth performance of wild pigs. Six wild pigs with an average of 6.0 kg were used in a 3 X 3 Replicated Latin Square design. The experimental diets consist of basal (Cont), high calcium (HC) and high calcium and lecithin (HCL) diet and the pigs were fed ad libitum throughout the study. The results showed that the dietary supplementation of calcium and lecithin had no effect on ADFI, ADG and Feed:gain. However, the feed:gain of the pigs fed the control diet tended to be better than those fed the HC and HCL diets. The pigs fed high calcium level diet seem to lower growth performance while the supplementation of lecithin in the high calcium diet seems to be improve the growth performance. Therefore, under the condition of the current study, the supplementation of high calcium and lecithin had no effect on growth performance of wild pigs.

Keyword : Calcium, Lecithin, Growth performance, Wild pigs

1. Introduction

Presently, wild pigs production is given more interest as a source for exotic meat and for crossbreeding. As we have been known that wild pigs have low efficiency of nutrient utilization and then result in lowering growth performance. Improving nutrient amount and utilization of the wild pigs might be solutions to increase production. Increasing calcium level in diets for wild pigs is an alternative method aiming to increase calcium retention in body of the pigs. However, previous studies (Ajakaiye et al., 2003; Atteh and Leeson, 1983; 1984) in chickens have shown that dietary calcium can form calcium soap with fatty acids resulting in lower digestion and absorption of fat and calcium. Adding lecithin in commercial pig diet was reported as an improvement of fat or fatty acid utilization (Jones et al., 1992; Wieland et al., 1993). Dietary supplementation of high calcium and lecithin for wild pigs might have a similar influences as mentioned earlier. Thus, the objective of the present study was to investigate the effect of high calcium and lecithin dietary supplementation for wild pigs on growth performance of the pigs.

2. Materials and Methods

Six wild pigs with an average body weight (BW) of 6.0 kg were allocated into 3 groups of 2, balanced for BW and they were kept individually in metabolism cages. The current experiment was conducted according to a 3 X 3 Latin Square Design with 2 replicates. The pigs were fed ad libitum throughout the experiment with three experimental diets which are 1) basal diet containing 1% calcium (control; Cont), 2) basal diet containing 2.46% calcium (High calcium; HC) and 3) basal diet containing 2.42% calcium and 1.93% lecithin (High calcium with lecithin; HCL) as shown in Table 1. The nutrient composition of the diets also has shown in the Table 1. Feed intake of each pigs was recorded daily and individual live BW was measured weekly. The results of growth performance were evaluated by SAS program (SAS, 1996).

3. Results and Discussion

Wild pigs fed high calcium had no difference in average daily feed intake (ADFI), average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR) among three experimental diets as demonstrated in Table 2. However, supplementation of high calcium in the diets for the wild pigs seem to decrease growth performance, ADG and FCR. The explanation for this results might be the more formation of calcium soap and increase of bile acid excretion in feces as reports earlier (Brink et al., 1992; Govers et al., 1994; Xu et al., 1998; Yuangklang et al., 2004). Therefore, high supplementation of calcium in wild pig diets might need more fat adding into the diets. Lecithin supplementation in the high calcium diet (HCL) seems to improve growth performance when compared with the diet containing only high calcium (HC). This might be the results that lecithin acts as an emulsifier increasing formation of micelles and fat absorption (Jones et al., 1992; Wieland et al., 1993), however some previous reports have demonstrated no influence of lecithin on utilization of fat (Overland et al., 1994; Overland et al., 1993a; Overland et al., 1993b). Hence, lecithin supplementation in wild pig diets still has unclear effect on growth performance and fat utilization of wild pigs.

Table 1 The composition of the experimental diets

	Experimental diets		
	Cont	HC	HCL
<i>Ingredients, %</i>			
Cassava chips	44.53	43.87	43.02
Soybean meal (44% CP)	42.00	41.38	40.58
Molasses	4.00	3.94	3.86
Dicalcium phosphate	2.70	2.66	2.61
NaCl	0.35	0.34	0.34
DL-Methionine	0.17	0.17	0.16
Premix	0.25	0.25	0.24
Calcium carbonate	1.00	2.46	2.42
Beef tallow	5.00	4.93	4.83
Lecithin	-	-	1.93
Total	100.00	100.00	100.00
<i>Analysed nutrient, %</i>			
Dry matter	79.45	78.27	76.76
Crude protein	16.81	16.56	16.24
Crude fat	5.96	5.98	7.79
Crude fiber	4.41	4.35	4.26
<i>Calculated ME (kcal/kg)</i>	3,300	3,287	3,224

Table 2 The effects of the experimental diets on growth performance of the wild pigs

	Experimental diets			SEM	P-value
	Cont	HC	HCL		
Average daily feed intake (ADFI), g/day	557.93	521.88	590.97	34.88	0.1876
Average daily gain (ADG), g/day	292.87	225.02	265.48	32.98	0.1825
Feed : Gain (FCR), g/g	1.92	2.80	2.44	0.30	0.0616

4. Conclusion

Supplementation of high calcium level and lecithin in diets for wild pigs under raising condition of the current study had no influence on growth performance of wild pigs.

5. Acknowledgments

The authors would like to thank Department of Animal Science, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus for facility provide and Mahanakorn University of Technology for financial support.

6. เอกสารอ้างอิง

1. Ajakaiye, A., Atteh, J.O., Leeson, S., 2003, Biological availability of calcium in broiler chicks from different calcium sources found in Nigeria. *Animal Feed Science and Technology* 104, 209-214.
2. Atteh, J.O., Leeson, S., 1983, Effect of dietary saturated fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chickens. *Poultry Science* 63, 2252-2260.
3. Atteh, J.O., Leeson, S., 1984, Effects of dietary fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chickens. *Poultry Science* 62, 2412-2419.
4. Brink, E.J., Beynen, A.C., Dekker, P.R., van Beresteijn, E.C., van der Meer, R., 1992, Interaction of calcium and phosphate decreases ileal magnesium solubility and apparent magnesium absorption in rats. *J Nutr* 122, 580-586.
5. Govers, M.J., Termont, D.S., van Aken, G.A., van der Meer, R., 1994, Characterization of the adsorption of conjugated and unconjugated bile acids to insoluble, amorphous calcium phosphate. *J Lipid Res* 35, 741-748.
6. Jones, D.B., Hancock, J.D., Harmon, D.L., Walker, C.E., 1992, Effects of exogenous emulsifiers and fat sources on nutrient digestibility, serum lipids, and growth performance in weanling pigs. *J Anim Sci* 70, 3473-3482.
7. Overland, M., Mroz, Z., Sundstol, F., 1994, Effect of lecithin on the apparent ileal and overall digestibility of crude fat and fatty acids in pigs. *J Anim Sci* 72, 2022-2028.
8. Overland, M., Tokach, M.D., Cornelius, S.G., Pettigrew, J.E., Rust, J.W., 1993a, Lecithin in swine diets: I. Weanling pigs. *J Anim Sci* 71, 1187-1193.
9. Overland, M., Tokach, M.D., Cornelius, S.G., Pettigrew, J.E., Wilson, M.E., 1993b, Lecithin in swine diets: II. Growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 71, 1194-1197.
10. Wieland, T.M., Lin, X., Odle, J., 1993, Utilization of medium-chain triglycerides by neonatal pigs: Effects of emulsification and dose delivered. *Journal of Animal Science* 71, 1863-1868.
11. Xu, C., Wensing, T., Beynen, A.C., 1998, Effects of high calcium intake on fat digestion and bile acid excretion in feces of veal calves. *J Dairy Sci* 81, 2173-2177.

12. Yuangklang, C., Wensing, T., Van den Broek, L., Jittakhot, S., Beynen, A.C., 2004, Fat digestion in veal calves fed milk replacers low or high in calcium and containing either casein or soy protein isolate. J Dairy Sci 87, 1051-1056.

ระดับกรดเซียลิกรวมในพลาสมาของสุนัขที่เป็นมะเร็งเต้านม

Plasma Total Sialic Acid Levels in Mammary Cancer Dogs

เอกชัย ภัทรพันธุ์วิชัย (Aekachai Pattarapanwichien) *

อารยาพร มคธเพศ (Arayaporn Macotpet) **

สรินญา รูปใหญ่ (Sarinya Roobyai) *

ศิริรัตน์ พรหมจารีต (Sirirat Phomjareet) *

คัทลีญา ศรีไชย (Katthaleeya Srichai) *

บทคัดย่อ

เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับกรดเซียลิกรวมในพลาสมาของสุนัข ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพปกติ กับกลุ่มที่เป็นมะเร็งเต้านม ทำการเก็บตัวอย่างพลาสมาของสุนัขที่มีสุขภาพปกติจำนวน 8 ราย และสุนัขที่เป็นมะเร็งเต้านมจำนวน 8 ราย ที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สุนัขทุกตัวที่เป็นมะเร็งเต้านมได้รับการยืนยันผลด้วยวิธีทางจุลพยาธิวิทยา สำหรับการตรวจวัดระดับกรดเซียลิกรวมในพลาสมาใช้วิธี Thiobarbituric acid ผลจากการศึกษาพบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับกรดเซียลิกรวมในพลาสมาของกลุ่มที่เป็นมะเร็งเต้านม (1.98 ± 0.15 มิลลิโมลาร์) มีค่าสูงกว่าในพลาสมาของกลุ่มที่มีสุขภาพปกติ (1.76 ± 0.09 มิลลิโมลาร์) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลการศึกษานี้เสนอแนะว่า ระดับกรดเซียลิกรวมในพลาสมา อาจจะเป็นตัวบ่งชี้ตัวหนึ่ง สำหรับมะเร็งเต้านมในสุนัข

คำสำคัญ กรดเซียลิกรวม, มะเร็งเต้านม , สุนัข

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Abstract

To compare mean of plasma total sialic acid levels in dogs between healthy group and mammary cancer group, plasma specimens were collected from 8 healthy dogs and 8 mammary cancer dogs at Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University. All mammary cancer dogs were confirmed by histopathologic method. Plasma total sialic acid levels was measured by thiobarbituric acid assay. The results showed mean plasma total sialic acid levels of mammary cancer group (1.98 ± 0.15 mmol/L) was significantly higher than that of healthy group (1.76 ± 0.09 mmol/L ; $p < 0.05$) The study results suggested that plasma total sialic acid levels may be a indicator for mammary cancers in dogs.

Keyword : Total sialic acid, Mammary cancer, Dogs

ภาคผนวก

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”
วันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551 ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ
การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

ชื่อ – สกุล	หน่วยงาน
Professor Dr.Anton C.Beynen	Utrecht University, Netherland
รศ.ดร.เขวมาลัย คำเจริญ	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.น.สพ.ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์	ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รศ.น.สพ.ดร.ณรงค์ กิจพาณิชย์	โรงพยาบาลสัตว์สวนหลวง 34/2 ถ.สุขุมวิท ซ.103 (อุดมสุข) หมู่ 5 แขวงหนองบอน เขตประเวศ กรุงเทพฯ 10900
ผศ.น.สพ.ดร.ไชยยันต์ เกษรดอกบัว	ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
สพ.ญ.ฉันทนิษฐ์ มงคลศรีสวัสดิ์	บริษัท เอ็น ทู เอ็น อินเตอร์เทรด จำกัด
สพ.ญ.อุไรวรรณ แสงเขียว	โรงพยาบาลสัตว์เจริญสุข 167 ซ.เจริญสุข เอกมัย ซ.5 สุขุมวิท 63 คลองตัน เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110
น.สพ.ณรงค์ เลียงเจริญ	ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีย้ายฝากตัวอ่อน ทรัพย์ห้วย
น.สพ.รุจเวทย์ ทหารแก้ว	ศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโกร 136 หมู่ 9 ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี
คุณ รัชจวน เอ็งตระกูลสิน	มูราห์ฟาร์ม 99/14 หมู่ 12 ต.หนองไม้แก่น อ.แปลงยาว จ. ฉะเชิงเทรา
น.สพ.วรรณสิทธิ์ จันทรวงศ์	โรงพยาบาลสัตว์เอแอนด์ 91 หมู่ 18 ถ.คูมเกล้า แขวงแสนแสบ เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510
ดร.สรรเพชญ์ โสภณ	ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหา นคร
น.สพ.ดร.พรชัย กรองสวัสดิ์กุล	ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหา นคร
น.สพ.ดร.ตำราญ บรรณจิรกุล	ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหา นคร
สพ.ญ.วรดิษฐ์ พุทธโกสัย	คลินิกสำหรับสัตว์ป่า คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี มหานคร
น.สพ.วีรพันธ์ นกแก้ว	คลินิกสำหรับสัตว์ป่า คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี มหานคร

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”
วันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551 ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

รายนามผู้ให้การสนับสนุนหลัก
การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

1. บริษัท อินเทอร์เน็ต เซอร์วิซ-พลาว แอนนิมัลเฮลท์ จำกัด
2. บริษัท เพ็ทเวลด์ เซ็นเตอร์ จำกัด

การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551 เรื่อง “สัตวแพทย์ในยุควิกฤตเศรษฐกิจ”
วันที่ 28-29 พฤศจิกายน 2551 ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์มทม.ครั้งที่ 2 ประจำปี 2551

กองบรรณาธิการ

- | | | |
|-----|----------------------|-----------------|
| 1. | รศ.น.สพ.ดร.จตุพร | กระจายศรี |
| 2. | อ.ดร. สรรเพชญ์ | โสภณ |
| 3. | อ.น.สพ.ดร.สมยศ | อิมอาร์มณ |
| 4. | อ.น.สพ.ดร.สำราญ | บรรณจิรกุล |
| 5. | อ.สพ.ญ.ดร.วลัยพร | ตนพิทักษ์ |
| 6. | อ.น.สพ.ดร.พรชัย | ครองสวัสดิ์กุล |
| 7. | อ.สพ.ญ.ดร.อารยา | สืบจำเพชร |
| 8. | อ.น.สพ.ดร. ทนงศักดิ์ | มะมม |
| 9. | อ.น.สพ.ดร.ธนสิทธิ์ | สอนภู |
| 10. | อ.น.สพ.ดร.มงคล | ชวนิช |
| 11. | อ.น.สพ.ดร.จำลอง | มิตรชาวไทย |
| 12. | อ.น.สพ.ดร.เจษฎา | รุ่งภูประดิษฐ์ |
| 13. | อ.จุฬาภา | สอนกลิ่น |
| 14. | อ.สพ.ญ.อภริดี | อินทรพัคตร์ |
| 15. | อ.ธีรวัฒน์ | พัฒนรัชต์ |
| 16. | อ.ทัศนีย์ | ตรัยรัตน์อภิวัน |