

PROCEEDINGS OF THE 7th MUT VETERINARY ANNUAL CONFERENCE 2013

**THE 7th
MUT
VETERINARY
ANNUAL
CONFERENCE
2013**

**BY
FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE
MAHANAKORN
UNIVERSITY OF TECHNOLOGY**



ประมวลเรื่อง

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ 7

**“สัตวแพทย์เฉพาะทาง :
โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล”**

วันที่ ๒๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๖
ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ประมวลเรื่อง

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556

เรื่อง

สัตวแพทย์เฉพาะทาง:
โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล

โดย

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

วันที่ 22 พฤศจิกายน 2556

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556
Proceedings of the 7th MUT Veterinary Annual Conference 2013

ISBN: 978-974-8242-87-3

จำนวนหน้า 78 หน้า

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556
เรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล”
วันที่ 22 พฤศจิกายน 2556
ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

จัดโดย คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

พิมพ์ครั้งที่ 1 1 (พ.ศ.2556)

จำนวน 50 เล่ม

Proceedings of

The 7th MUT Veterinary

Annual Conference 2013

**“Veterinary Specialist:
Opportunity to the Universal Veterinarians”**

by

Faculty of Veterinary Medicine

Mahanakorn University of Technology

November 22nd, 2013

สารจากอธิการบดี



ในปีพุทธศักราช 2556 นี้ นับเป็นปีที่กลุ่มประเทศอาเซียนอยู่ระหว่างการเตรียมความพร้อม เพื่อการเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนอันใกล้นี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านสังคม เศรษฐกิจ การศึกษา

เป็นเรื่องน่ายินดีเป็นอย่างยิ่งที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ได้จัดการประชุมวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556 ขึ้นในวันที่ 22 พฤศจิกายน 2556 ในหัวข้อบทบาท สัตวแพทย์เฉพาะทาง : โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล ซึ่งนับได้ว่าเป็นส่วนหนึ่งในการจัดกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อสังคมส่วนรวม เพื่อเผยแพร่ความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการสู่สังคม และเป็นการพัฒนาวิชาชีพทางด้านสัตวแพทย์ ในสาขาต่างๆ อีกด้วย ทั้งยังเป็นการเปิดโอกาสให้นักวิชาการ ผู้เชี่ยวชาญ ได้ร่วมแลกเปลี่ยนความรู้ความคิดเห็น ประสบการณ์ที่เป็นประโยชน์ต่อกัน และยังเป็นการพบประสังสรรค์กันอีกด้วย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครมีนโยบายชัดเจน ที่จะส่งเสริมให้บุคลากรทำงานวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่องเสมอมา การจัดการประชุมวิชาการต่างๆ จึงถือเป็นเวทีสำคัญในการรวบรวม หมุ่นักวิจัย ก่อให้เกิดการต่อยอดของงานวิจัย และเป็นจุดเริ่มต้นของการสร้างสรรค์งานวิจัยใหม่ๆ ได้ในอนาคต

กระผมเชื่อว่าผลที่ได้รับจากการประชุมวิชาการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ ในครั้งนี้ จะช่วยกระตุ้นให้มีการพัฒนาทางด้านวิชาชีพสัตวแพทย์มากขึ้น อันจะเป็นประโยชน์ทั้งต่อนักวิชาการ ตัวองค์กร สังคม และประเทศชาติในที่สุด และยังสร้างความพร้อมเข้าสู่สากลของสัตวแพทย์ไทย

รองศาสตราจารย์ ดร.สุเจตน์ จันทรัมย์
อธิการบดีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

สารจากคณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์



ในปีพุทธศักราช 2556 นี้ สมาชิกประชาคมของอาเซียนเตรียมความพร้อมในการก้าวเข้าสู่ประชาคมอาเซียน ปัจจุบันคนไทยในหลายภาคส่วนมีส่วนร่วมในการเตรียมความพร้อมในด้านที่จำเป็นดังกล่าว

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ก็เล็งเห็นถึงความสำคัญในการเตรียมความพร้อมของสัตวแพทย์สำหรับประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน และได้เคยจัดประชุมวิชาการพร้อมทั้งการเสวนาใหญ่ในเรื่อง สัตวแพทย์ไทยก้าวไกลสู่อาเซียน ไปแล้วครั้งหนึ่งเมื่อปีที่แล้ว และมาในปีนี้นี้คณะฯยังคงให้ความสำคัญต่อการเตรียมความพร้อมของวิชาชีพสัตวแพทย์ไทยในการก้าวเข้าสู่สมาชิกประชาคมของอาเซียน จึงได้จัดประชุมวิชาการทางสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556 ขึ้นในหัวข้อเรื่อง สัตวแพทย์เฉพาะทาง: โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล เพื่อกำหนดบทบาทหน้าที่ของสัตวแพทย์ในการเตรียมความพร้อมเข้าสู่ประชาคมอาเซียน และเสวนาถึงความก้าวหน้าด้านต่างๆ ต่อจากปีที่แล้วด้วยเช่นกัน ซึ่งในการประชุมวิชาการครั้งนี้ ทางคณะฯ ได้รับเกียรติจากผู้ทรงคุณวุฒิหลายภาคส่วนร่วมเสวนา เรื่อง สัตวแพทย์เฉพาะทาง : โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล ด้วยนับเป็นเกียรติกับทางคณะฯเป็นอย่างสูง นอกจากนี้ยังมีการบรรยายทางวิชาการ และนำเสนอผลงานวิจัย ที่เป็นประโยชน์อีกมากต่อวิชาชีพสัตวแพทย์

สุดท้ายขอขอบคุณ ท่านอธิการบดี ท่านรองอธิการบดี และท่านผู้บริหารมหาวิทยาลัยเป็นอย่างสูงที่ให้เกียรติมาร่วมงาน ขอขอบคุณวิทยากร ผู้ทรงคุณวุฒิ บริษัทเอกชนต่างๆ ที่สนับสนุนการความสุขจัดงานครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้เข้าร่วมสัมมนา คณะผู้จัดสัมมนาทุกท่าน ขอให้ทุกท่านจงมีแต่ความเจริญตลอดไป



รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.จตุพร กระจายศรี

คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

สารจากประธานคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการฯ



ในปีพุทธศักราช 2556 นี้ ประเทศสมาชิกของอาเซียนต่างเร่งเตรียมความพร้อมในการก้าวเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (AEC) ปัจจุบันคนไทยในหลายภาคส่วนตื่นตัวและมีส่วนร่วมในการเตรียมความพร้อมในด้านที่จำเป็นดังกล่าวเช่นกัน

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญในการเตรียมความพร้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับวิชาชีพการสัตวแพทย์ในการก้าวเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน และในประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556 ซึ่งกำหนดจัดขึ้นในวันที่ 22 พฤศจิกายน 2556 โดยมีวัตถุประสงค์หลัก คือ เป็นเวทีสำหรับสัตวแพทย์ นักวิชาการ นิสิต นักศึกษาและผู้สนใจ ในการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ในทางวิชาการและประสบการณ์ทางวิชาชีพ สัตวแพทย์รวมถึงด้านการเลี้ยงสัตว์และเรื่องอื่นๆที่เกี่ยวข้องด้วย และในโอกาสพิเศษดังกล่าวข้างต้น จึงได้กำหนดหัวข้อการประชุมในชื่อเรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง : โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล” ขึ้น เพื่อให้สัตวแพทย์ผู้เข้าร่วมประชุมได้เล็งเห็นถึงบทบาทหน้าที่ของสัตวแพทย์ไทยในฐานะผู้นำในวิชาชีพสัตวแพทย์ รวมถึงการเตรียมความพร้อมทั้งในเชิงรับและเชิงรุกในการเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนด้วย อนึ่ง ในการประชุมวิชาการฯครั้งนี้ ทางคณะฯได้รับเกียรติจากผู้ทรงคุณวุฒิหลายภาคส่วนร่วมเสวนา ในหัวข้อ “สัตวแพทย์เฉพาะทาง : โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล” ด้วย นับเป็นเกียรติกับทางคณะฯเป็นอย่างสูง นอกจากนี้ยังมีการบรรยายทางวิชาการทางด้านสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ โดยวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิและผู้ชำนาญการในสัตว์ชนิดต่างๆ ตลอดจนมีการนำเสนอผลงานวิจัยหรือผลงานทางวิชาการที่เป็น ประโยชน์ต่อวิชาชีพสัตวแพทย์ในสาขา Veterinary science และ Animal sciences รวมถึงการออกร้านแสดงสินค้าจากผู้สนับสนุนการจัดประชุมวิชาการฯด้วย

ในฐานะประธานคณะกรรมการจัดประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556 ขอต้อนรับผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการทุกท่านด้วยความยินดี และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าการจัดการประชุมวิชาการฯ ในครั้งนี้จะสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และยังประโยชน์แก่ผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการฯ ทุกท่านสมดังวัตถุประสงค์ของการจัดงานที่ได้ตั้งไว้ทุกประการ และท้ายที่สุด ทางคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการฯ ใคร่ขอขอบคุณ ผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน บริษัทห้างร้านและเจ้าของกิจการต่างๆ ที่ร่วมเป็นผู้สนับสนุนการจัดการประชุมวิชาการฯ ในครั้งนี้ทุกท่านที่มีส่วนร่วม ทำให้สามารถจัดงานได้อย่างราบรื่น และหวังว่าจะได้รับการสนับสนุนจากทุกท่านอีกในโอกาสต่อไป



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ทงศักดิ์ มะम्म)

ประธานคณะกรรมการจัดประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556

คำนำ

ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556 ฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวมข้อมูลทางวิชาการที่มีการนำเสนอในการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556 ที่จัดขึ้น ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ในวันที่ 22 พฤศจิกายน 2556 ในหัวข้อ “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล” ข้อมูลทางวิชาการในแต่ละหัวข้อของวิทยากรผู้บรรยายหรือนำเสนอผลงานเป็นการจัดเตรียม และอยู่ในความรับผิดชอบของผู้แต่งหัวข้อนั้นโดยตรง ทางกรรมการและอนุกรรมการฝ่ายวิชาการ เป็นผู้ตรวจสอบรูปแบบ เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง และรวบรวมเพื่อจัดทำเป็นหนังสือขึ้น หากแต่ระยะเวลาในการจัดเตรียมมีจำกัด จึงอาจมีข้อบกพร่องซึ่งตรวจพบภายหลังได้ ทางคณะผู้จัดทำขอน้อมรับ และขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย อย่างไรก็ตามผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า หนังสือ “ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556” ฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจติดตามข้อมูลทางวิชาการด้านสัตวแพทยศาสตร์

อ.สพ.ญ.ดร.คานัย แสงทอง

อ.น.สพ.ดร.สมยศ อิมอาร์มณ

อ.น.สพ.ดร.มงคล ชวนิช

อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์ศิริวะ โสคติพันธุ์

คณะผู้จัดทำ

พฤศจิกายน 2556

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556
เรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล”
วันศุกร์ที่ 22 พฤศจิกายน 2556

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

เวลา	ห้อง A (R306)	ห้อง B (R305)	ห้อง C (R301)
08.15-09.00	ลงทะเบียน (บริเวณ โถงชั้น 1 อาคาร R)		
09.00-09.30	พิธีเปิดงานประชุม (R306) (อธิการบดี/คณบดี)		
09.30-10.30	เสวนาเรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: โอกาสของสัตวแพทย์ไทยสู่สากล” (R306) (ผู้ร่วมเสวนา 1: ศ.น.สพ.ดร.อภิรักษ์ สุประเสริฐ ผู้ร่วมเสวนา 2: น.สพ.ธานีพร ชีวะผลาบูรณ์ ผู้ร่วมเสวนา 3: ศพ.สพ.ญ.ดร.วลิตินี มูลอามาตย์) (ผู้ดำเนินการเสวนา: รศ.น.สพ.ดร.จุฬพร กระจ่ายศรี)		
10.30-10.45	พักรับประทานอาหารว่าง และการนำเสนอผลงานโปสเตอร์ (บริเวณ โถงชั้น 1 อาคาร R)		
10.45-12.00	การจัดการระบบสืบพันธุ์ในฟาร์มแพะ (อ.น.สพ.ดร.มงคล ขวณิช)	Tip of osteoarthritis and pain management in dog (ศพ.สพ.ญ.ดร. มนชนก วิจารณ์สรณ์)	Oral Presentation I
12.00-13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน (R205-R206) และการนำเสนอผลงานโปสเตอร์ (บริเวณ โถงชั้น 1 อาคาร R)		
13.00-14.15	พันธุกรรมแม่ผู้กรเปลี่ยน : อาหารต้องเปลี่ยนตาม (ศพ.น.สพ.ฉัฐวิณี รัตนวินัยโรจน์)	Current Thailand vaccination trends for dogs and cats (อ.น.สพ.ดร.วิน สุรเชษฐพงษ์)	Oral Presentation II
14.15-14.30	พักรับประทานอาหารว่าง และชมผลงานโปสเตอร์ (บริเวณ โถงชั้น 1 อาคาร R)		
14.30-15.45	“เมื่อคลินิกรรรมคาต้องมกรักยาสัตว์ (เสียงชนิด) พิเศษ” (ศพ.น.สพ.ดร.สมโภชน์ วีระกุล)	Diagnostic approach and management of immune-mediate blood disorder (อ.น.สพ.พญ ศรีสุกร)	Oral Presentation III



รายชื่อคณะกรรมการและอนุกรรมการจัดงานประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556

ประธานกรรมการ

ผศ.น.สพ.ดร.ทองศักดิ์ มะมม

กรรมการฝ่ายวิชาการ

อ.สพ.ญ.ดร.คานัย แสงทอง

อนุกรรมการฝ่ายวิชาการ

1. ผศ.น.สพ.ดร.ทองศักดิ์ มะมม
2. ผศ.สพ.ญ.ดร.อารยา สืบข้าเพชร
3. ผศ.สพ.ญ.ดร.วัลย์พร ตนพิทักษ์
4. ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิรกุล
5. อ.สพ.ญ.ดร.พรรณนิการ ชัยชนะศักดิ์
6. อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์วิภา โสคติพันธุ์
7. อ.ดร.สรพรเพชญ์ โสภณ
8. อ.น.สพ.ดร.มงคล ขวณิช
9. อ.น.สพ.ดร.สมยศ อิมอรณ
10. อ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย
11. อ.น.สพ.อนุสรณ์ จำแสนชื่น
12. อ.มนตรี แสงลากเจริญกิจ
13. คุณนัยนา คะเด

กรรมการฝ่ายดำเนินการประชุมและปฏิคม

อ.สพ.ญ.ดร.อภิรดี อินทรพักตร์

อนุกรรมการฝ่ายดำเนินการประชุมและปฏิคม

1. ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิรกุล
2. อ.น.สพ.ดร.พรชัย ครอบงำสวัสดิ์กุล
3. อ.สพ.ญ.ดร.คานัย แสงทอง
4. อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์วิภา โสคติพันธุ์
5. อ.สพ.ญ.ดร.สุกัญญา ผลิตกุล
6. อ.สพ.ญ.ชาริณี ไสภารัตน์
7. อ.สพ.ญ.ปิ่นกาญจน์ จันทวงศ์
8. คุณนัยนา คะเด
9. คุณสุวรรณา ไล สะนิละ

กรรมการฝ่ายลงทะเบียนและการเงิน

อ.สพ.ญ.ดร.จิตรบรรจง เวียงเจริญ

อนุกรรมการฝ่ายลงทะเบียนและการเงิน

1. อ.จุฬาภา สอนกลิ่น
2. อ.สพ.ญ.ดร.สุกัญญา ผลิตกุล
3. อ.สพ.ญ.เรณู สันติบรรณเลิศ
4. อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
5. อ.สพ.ญ.กรกมล ปดิฐพร
6. คุณศิริจันทร์ ช่างจั่น
7. คุณพรรณธิดา ประสงค์เยี่ยม
8. คุณสุวรี เทียงทัศน์
9. คุณจิตติมา ทวีมา
10. คุณสุพรรณิ สงพะสะโรช
11. คุณพจนกร เลานภากุล
12. คุณวิภาดา อับดุลสลาม

กรรมการฝ่ายรายได้

อ.น.สพ.ดร.เจษฎา ฐิฎฐประคิษฐ์

อนุกรรมการฝ่ายรายได้

1. อ.น.สพ.ดร.ศักดิ์ชัย เรือนเพชร
2. อ.สพ.ญ.ชาริณี ไสภารัตน์
3. อ.สพ.ญ.ธนิกานต์ สุวรรณโชติ
4. อ.น.สพ.สมจินต์ สุทธิกาญจน์
5. อ.สพ.ญ.ธนวัน มังละพะฤกษ์
6. อ.น.สพ.นัฐชัย สุรรุจิ
7. อ.น.สพ.พีรทัศน์ จิตต์วิวัฒน์
8. อ.สพ.ญ.ปิ่นกาญจน์ จันทวงศ์
9. คุณเนาวรัตน์ งามเมือง

กรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

อ.น.สพ.ดร.กฤษฎา ขำพูล

อนุกรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

1. อ.น.สพ.ดร.ศักดิ์ชัย เรือนเพชร
2. อ.สพ.ญ.โชติกา ทิวาลัย
3. อ.น.สพ.อนุสรณ์ จำแสนชื่น
4. คุณสามารถ สุวรรณเคน
5. คุณศิริรัตน์ พิมพ์ว่าปี
6. คุณนิภาพร เกตุเพชร
7. คุณณัจจุรียา คະณะสา
8. น.สพ.อนุวัฒน์ วัฒนนรเศรษฐ์

กรรมการฝ่ายสถานที่และระบบ

อ.น.สพ.สุภรัช วุฒิวิทย์พงศ์

อนุกรรมการฝ่ายสถานที่และระบบ.

1. อ.สพ.ญ.ดร.พรรณนิการ ชัยชนะศักดิ์
2. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงจิต คณิงเพียร
3. อ.ดร.วิรัชฐา อังศิริจินดา
4. อ.น.สพ.พัฒนพร ถาวรพัฒน์พงศ์
5. อ.สพ.ญ.จิตรา สนิสูริวงษ์
6. อ.สพ.ญ.อจจิมา จันทน์แสนโรจน์
7. อ.สพ.ญ.รักดาภา ไบสีจวง
8. คุณฟาริส ชื่นภักดี
9. คุณจำเนียร ประสาทนาค
10. คุณสุนิสา สุชาติธรรม
11. คุณพัชรีย์ กองเป้ง
12. คุณนาคยา ดีเสมอ
13. คุณนารีรัตน์ ทองอ่อน
14. คุณวิจิตรา สำราญ
15. นายจักรพงษ์ วิริยะพงศ์

กรรมการฝ่ายบริการอาหารและสวัสดิการ

อ.สพ.ญ.ปณิดา ล้อมวงษ์

อนุกรรมการฝ่ายบริการอาหารและสวัสดิการ

1. อ.น.สพ.ดร.ชนสิทธิ์ สอนภู
2. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงใจ เจริญราษฎร์
3. อ.สพ.ญ.ดร.พรรณนีย์ บุญยพรรณนีย์
4. อ.สพ.ญ.อจรรววรรณ โลหะวนิชย์
5. อ.สพ.ญ.สุกัลยาณ์ แก้วขวัญ
6. อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ

กรรมการฝ่ายเลขานุการและประสานงาน

อ.สพ.ญ.อจรรววรรณ โลหะวนิชย์

อนุกรรมการฝ่ายเลขานุการและประสานงาน

1. อ.สพ.ญ.ภควดี คำพลงาม
2. อ.น.สพ.สิทธิชน รัตนจันทร์



รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556

1. ศ.น.สพ.ดร.อภิรักษ์ สุประเสริฐ
2. น.สพ.ชานินทร์ ชีวะผลาบูรณ์
3. ผศ.สพ.ญ.ดร.วลาสินี มูลอามาตย์
4. อ.น.สพ.ดร.มงคล ขวณิช
5. ผศ.น.สพ.ณัฐวุฒิ รัตนวิชัยโรจน์
6. ผศ.น.สพ.ดร.สมโภชน์ วีระกุล
7. ผศ.สพ.ญ.ดร. มนชนก วิจารณ์
8. อ.น.สพ.ดร.วิน สุรเชษฐพงษ์
9. อ.น.สพ.พายุ ศรีสุภร



รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ พิจารณาผลงานวิจัย บทความวิชาการ และโปสเตอร์

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556

ผู้ทรงคุณวุฒิจากหน่วยงานภายนอก

1. ผศ.น.สพ.ดร.นรินทร์ นิมสุพรรณ
2. ผศ.น.สพ.ดร.พีระศักดิ์ สุทธิโยธิน
3. ดร.ทวีวัฒน์ ดีมะการ

ผู้ทรงคุณวุฒิจากหน่วยงานภายใน

1. ผศ.น.สพ.ดร.ทนต์ศักดิ์ มะมม
2. ผศ.สพ.ญ.ดร.อารยา สืบจำเพชร
3. อ.น.สพ.ดร.มงคล ขวณิช
4. อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
5. อ.สพ.ญ.เรณู สันติบรรณเลิศ
6. อ.สพ.ญ.ดร.อภิรดี อินทรพัทตร์
7. ผศ.สพ.ญ.ดร.วัลย์พร ตนพิทักษ์
8. อ.น.สพ.ชนกร พจน์ประสาท
9. อ.สพ.ญ.ดร.สุกัญญา ผลิตกุล
10. ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิริกุล
11. อ.น.สพ.ดร.วิษณุ วรรณแสง
12. อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์ศิระ โสติพันธ์

สารบัญ

สารจากอธิการบดี.....	I
สารจากคณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์.....	II
สารจากประธานกรรมการการจัดงานประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์.....	III
กำหนดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์.....	V
รายชื่อคณะกรรมการและอนุกรรมการจัดงานประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์.....	VII
รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ.....	IX
รายนามผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาผลงานวิจัย บทความวิชาการ และโปสเตอร์.....	X

Oral presentation

O-01 การใช้ฮอร์โมนโปรสตาแกลนดิน อีทู เพื่อการเพิ่มอัตราการตั้งท้องในแม่ม้าโดยใช้จำนวนอสุจิน้อยต่อการผสมเทียม Effect of PGE ₂ on pregnancy rate in mare by Artificial insemination with low sperm number.....	1
มงคล โปร่งเจริญ กมลวรรณ น้อยนวล กรกษ ลาภอรรมณ์ ณัฐกานต์ ลิขิตอาภากุล	
O-02/P-02 ประสิทธิภาพของวิธีการปั่นเหวี่ยงและวิธีเปอร์คอลก่อนการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในโค The efficacy of conventional and Percoll gradient centrifugation prior to freezing on bull sperm cryosurvival.....	10
วรพงศ์ โกษารักษ์ ณัฐพล บางแก้ว สราวุธ ศรีงาม	
O-03 ประสิทธิภาพของสารทรานเฟอร์ แฟคเตอร์ต่อการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงปลานิล (<i>Oreochromis niloticus</i>) Effective of Transfer Factor on Growth in Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) Culture.....	12
สำราญ บรรณจิรกุล นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์	
O-04 รายงานสัตว์ป่วย ภาวะเนื้องอก Spindle cell tumor ในปลาทอง Case report : Spindle cell Tumor in Goldfish (<i>Carassius auratus</i> L.)	15
สุกัญญา พลิตกุล สำราญ บรรณจิรกุล	
O-05 การทำหมันแบบไม่ทำศัลยกรรม ด้วยการฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอวัยวะในแมวบ้านเพศผู้ The Nonsurgical Sterilization with Calcium Chloride Solution Intratesticular Injection in Domestic Male Cats.....	17
อัจฉิมา จันทน์แสนโรจน์ จตุพร กระจายศรี รุ่งฤทัย เลิศชนะชมภู ภัค รัตนอุดม วิมลรัตน์ เดิบโต กมลชนก เทศน้อย ทนงศักดิ์ มะम्म	

Poster presentation

- P-01** การศึกษาวิธีการย้อมสีพยาธิใบไม้ *Prosthogonimus pellucidus* ที่ผ่านการเก็บรักษาใน 10% buffer formalin เพื่อทำสไลด์ถาวร
A modified method of permanently stained slide for the fixed *Prosthogonimus pellucidus* in 10% buffer formalin.....29
กฤษฎา ขำพูล
- P-02/O-02** ประสิทธิภาพของวิธีการปั่นเหวี่ยงและวิธีเปอร์คอลก่อนการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในโค
The efficacy of conventional and Percoll gradient centrifugation prior to freezing on bull sperm cryosurvival.....10
วรพงศ์ โกษารักษ์ ฌัฐพล บางแก้ว สราวุธ ศรีงาม
- P-03** การวัดผลของการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ต่อการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็ก
Measurement for impact of updating hygiene management on *Salmonella* spp. contamination in a small scale chicken slaughterhouse.....31
จำลอง มิตรชาวไทย กมลชนก ศรีเอียง ภัทรพงศ์ จันทร์เจริญ รัชกฤษ เลิศภัทร โกมล
ทัศนีย์ ตริยรัตน์อกวัน และ ดวงจิต คณิงเพียร
- P-04** การวัดประสิทธิผลของการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็ก
Measuring effectiveness of hygiene decontamination for total aerobic bacteria in a small scale chicken slaughterhouse.....35
กมลชนก ศรีเอียง จำลอง มิตรชาวไทย ภัทรพงศ์ จันทร์เจริญ รัชกฤษ เลิศภัทร โกมล
ทัศนีย์ ตริยรัตน์อกวัน และ ดวงจิต คณิงเพียร
- P-05** การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อชีวภาพต่อไวรัสโรคนิวคาสเซิล
Study on efficacy of Bio-disinfectants against Newcastle disease virus.....39
ภควดี คำพลงาม ศักดิ์ชัย เรือนเพชร ทรรชนี บุญยทรรชนี จำลอง มิตรชาวไทย
และ Kazuaki Takehara
- P-06** ประสิทธิภาพของมะรุมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ PCNA ในเนื้อเยื่อเหงือกและตับของปลาตะเพียน
Effects of *Moringa oleifera* on antioxidant defenses and PCNA labelled in gill and liver of *Puntius altus*.....43
สุนิษา ศิริมงคลวรกุล วรณีย์ จีรังกรสกุล ทวีวัลย์ คณิสิต นรินทร์ ปริยวิชญภักดี ปิยะ โคสัย
- P-07** การประยุกต์ใช้ Rothera's reaction เพื่อตรวจหาคีโตนบอดีส์ ในปัสสาวะโค
Application of Simple Rothera's Reaction for Detection Ketone Body in Cow Urine.....47
สุทธินิษฐ์ บุญให้ มงคล ขวณิช อนุสรณ์ จำแสนชื่น และ ธนสิทธิ์ สอนภู
- P-08** โรค Ovine pulmonary adenomatosis ในแกะ: รายงานทางคลินิกและพยาธิวิทยา
Ovine Pulmonary Adenomatosis in a Sheep: A Clinico-pathological Report.....49
ทองศักดิ์ มะมม และ มงคล ขวณิช

P-09	เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดระหว่าง CIDR กับ Medroxyprogesterone Acetate ในแกะภายหลังคลอดลูก	
	Comparison of Estrus Synchronization Efficiency between CIDR and Medroxyprogesterone Acetate in Postpartum Ewes.....	53
	ชัยวัฒน์ ชุ่มช่วง สรรเพชญ์ โสภณ จตุพร กระจ่ายศรี วรณวิภา สุทธิไกร	
P-10	การตรวจความมีชีวิตของเซลล์เยื่อปอดในกระบบทางเดินหายใจของสุกรที่เตรียมจาก Precision cut lung slice (PCLS) ด้วยวิธี Live-dead staining	
	Viability of Porcine Airway Epithelial cells with Live/dead staining assay.....	63
	ทรงศนี นุณยพรรณนีย์ นุราคม ชูปาศักดิ์ชัย เรือนเพชร ภควดี คำพลงาม	
P-11	การพัฒนาวิธีจำแนก Staphylococcal cassette chromosome <i>mec</i> ชนิดที่ 1-10 โดยตรวจหากลุ่มยีน <i>mec</i> และกลุ่มยีน <i>ccr</i> โดยวิธี multiplex PCR และ simple PCR	
	Development of Staphylococcal cassette chromosome <i>mec</i> Assay of Type I to X based on the <i>mec</i> - and the <i>ccr</i> -gene complexes by two multiplex PCRs and one simple PCR.....	67
	วลัยพร คนพิทักษ์	
P-12	การใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์โมเลกุลในการจำแนกปูในสกุล <i>Scylla</i> โดยใช้ยีนไมโทคอนเดรีย	
	Molecular Identification of Mud Crab Species (genus <i>Scylla</i>) using mitochondrial gene.....	71
	สองเมือง สุวรรณรัตน์ คานัย แสงทอง ประดิษฐ์ แสงทอง	
	ดัชนีผู้นำเสนอผลงาน.....	76
	รายนามผู้สนับสนุนการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์.....	78

การใช้ฮอร์โมนโปรสตาแกรนดิน อีทู ต่อการเพิ่มอัตราการตั้งท้องในแม่ม้า โดยใช้จำนวนอสุจิน้อยต่อการผสมเทียม

มงคล โปร่งเจริญ^{1*} กมลวรรณ น้อยนวล² กรกช ลาภอารมณ³ ญัฐกานต์ ลิขิตอาภากุล²

*ผู้รับผิดชอบบทความ: มงคล โปร่งเจริญ (e-mail address: mpprongcharoen@yahoo.com)

¹ภาควิชาสัตวศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²นักศึกษาชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อเพิ่มอัตราการตั้งท้องในแม่ม้าโดยการใช้ฮอร์โมนโปรสตาแกรนดิน อีทู (PGE₂) ร่วมกับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีจำนวนอสุจิ 50×10^6 ตัว เคลื่อนที่ทำการศึกษาโดยใช้แม่ม้า จำนวน 20 ตัว แบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มทดสอบ 10 ตัว และกลุ่มควบคุม 10 ตัว เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้อง โดยทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีจำนวนตัวอสุจิ 50×10^6 ตัวเคลื่อนที่ ในสารละลายเจือจางที่มีส่วนประกอบของนมผง (หางนม) โดยฉีดน้ำเชื้อเข้าสู่มดลูกของแม่ม้า ในกลุ่มทดสอบจะใช้ฮอร์โมน PGE₂ รูปแบบเจล ในขนาด 0.5 มิลลิกรัม ฉีดเข้าสู่มดลูก ปล่อยทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วจึงทำการผสมเทียม และในกลุ่มควบคุมไม่ได้ใช้ฮอร์โมน PGE₂ รูปแบบเจล ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งตามปกติ ทำการตรวจท้องด้วยอัลตราซาวด์หลังจากผสมเทียมไปแล้ว 18 – 25 วัน จากการศึกษาพบว่า อัตราการตั้งท้องของแม่ม้าในกลุ่มทดสอบ และกลุ่มควบคุมคือ 20% , 10% ตามลำดับ สรุปอัตราการตั้งท้องในแม่ม้าจากการใช้ฮอร์โมน PGE₂ รูปแบบเจล ก่อนการผสมเทียมสามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องในแม่ม้าได้

คำสำคัญ: ฮอร์โมนโปรสตาแกรนดิน อีทู การผสมเทียม แม่ม้า น้ำเชื้อแช่แข็ง อัตราการตั้งท้อง

Effect of PGE₂ on pregnancy rate in mare by Artificial insemination with low sperm number

Mongkol Prongchareon^{1*} Kamonwan Noinual² Goragod labarom² Nuttakarn Likiarpakul²

**Corresponding author: Mongkol Prongchareon (e-mail address: mpprongchareon@yahoo.com)*

¹Department of Surgery and Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

²The sixth year student, faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

Abstract

The purpose of this study is to increase pregnancy rate in mare by using Prostaglandin E₂ (PGE₂) with a conventional artificial insemination (AI) method of using frozen thawed semen with 50 x 10⁶ sperm motile. Twenty mares were divided into two groups equally: the experimental group and the control group. The pregnancy rate in mares were compared. All mares were inseminated with frozen thawed semen 50 x 10⁶ motile spermatozoa in non-fat dry skim milk extender by using conventional method. The experimental group was inseminated by using 0.5 mg PGE₂ gel, then injected into the uterus and rest for one hour before artificial insemination (AI). The control group non used PGE₂ gel before AI. Pregnancy diagnosis was conducted on 18 – 25 days post AI by transrectal ultrasonography technique. Pregnancy rates of mares in experimental group and control group are 20% and 10%, respectively. In conclusion, the usage of PGE₂ gel before AI has increased the pregnancy rate in mares.

Keywords: PGE₂, Artificial insemination, Mare, Frozen semen, Pregnancy rate

บทนำ

การผลิตลูกม้าได้รับความนิยมมากขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มม้าสวยงาม และม้าแข่งเพื่อความเพลิดเพลิน และการกีฬา สิ่งที่สำคัญคือ การจัดหาพ่อม้าที่ดี และมีคุณภาพ เพื่อใช้ในการกระจายสายพันธุ์ การใช้น้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อม้าที่มีคุณภาพ และสวยงาม เป็นวิธีหนึ่งในการจัดการการผสมพันธุ์ที่ง่าย และมีราคาถูกเมื่อเทียบกับราคาพ่อม้า แต่อัตราการตั้งท้องของการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งในการผสมพันธุ์มีความสำเร็จต่ำ และแตกต่างกันอย่างมาก 32 – 73% ต่อรอบการผสมพันธุ์ และ 56 – 89 % ต่อฤดูกาลผสมพันธุ์ (Loomis, 2001) หรือ 0- 100% ต่อรอบการผสมพันธุ์ (Metcalf, 2007) ซึ่งผลอัตราการตั้งท้องที่แตกต่างนี้เกิดจากปัจจัยของคุณภาพน้ำเชื้อพ่อม้า ปริมาณตัวอสุจิที่ใช้ในการผสมเทียม การเลือกและจัดการแม่ม้าก่อนและหลังผสมพันธุ์ (Samper, 2001) เป็นต้น ดังนั้นจะอย่างไรจึงจะทำการเพิ่มอัตราการตั้งท้องของม้าจากน้ำเชื้อแช่แข็ง

โดยปกติแล้วจะพบตัวอสุจิได้ที่ท่อนำไข่หลังจากผสมพันธุ์ไปแล้ว 4 ชั่วโมง (Katila, 2001, 2012) และจำนวนตัวอสุจิที่มีความสามารถไปถึงตำแหน่งรอกการปฏิสนธิที่บริเวณรอยต่อ isthmus-ampulla หรือ sperm reservoir มีเพียงไม่กี่ตัวเท่านั้น ในม้าพบว่าตัวอสุจิเพียง 5- 100 ตัวเท่านั้น (Hunter, 2003, Lyle and Ferrer, 2005) นั่นหมายความว่า การสูญเสียตัวอสุจิเป็นจำนวนมากที่เกิดจากการเดินทางในท่อระบบสืบพันธุ์ของเพศเมีย และระบบการป้องกันการเกิดตัวอสุจิที่มากเกินไปในการปฏิสนธิกับไข่ (polyspermic fertilization) ซึ่งอาจก่อให้เกิดการตายของตัวอ่อนในระยะแรกด้วย (early embryonic death) (Morris et al., 2000) จึงได้มีการพัฒนาวิธีการผสมเทียม โดยปล่อยน้ำเชื้อที่ปลายปีกมดลูก (Samper and Plough, 2010), (Samper et al., 2008), (Rigby et al., 2001), (Morris et al., 2003) เพื่อเพิ่มโอกาส และจำนวนของตัวอสุจิที่จะเข้าไปอยู่ในท่อนำไข่ เพื่อรอกการปฏิสนธิ แต่กระนั้นก็ตาม อัตราการตั้งท้องก็ยังต่ำอยู่เช่นเคย

อาจมีปัจจัยบางอย่างที่ทำให้อัตราตั้งท้องลดลง โดยเฉพาะที่บริเวณท่อนำไข่ ที่เป็นบริเวณสำคัญในการปฏิสนธิระหว่างไข่ และตัวอสุจิ พบว่ามีปัจจัยหลักใหญ่ๆ ที่ทำให้ตัวอสุจิและไข่ไม่สามารถมาปฏิสนธิกันได้คือ ถุงน้ำที่บริเวณตกไข่ (ovarian fossa cyst) , การอุดตันของท่อนำไข่ ซึ่งเกิดจากของเหลวในฟอลลิเคิลจำนวนมาก (protein-rich fraction) ที่ไหลเข้ามาในท่อนำไข่หลังจากเกิดการตกไข่ เรียกว่า gelatinous mass ทำให้เกิดการอุดตันของท่อนำไข่ (Tsutsumi et al., 1979) และขัดขวางการเดินทางของตัวอสุจิและไข่ที่จะมาปฏิสนธิกัน (Allen et al., 2006) หรือเกิดการอุดตัน และขัดขวางการเดินทางของไข่ จากไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ (Flood et al., 1979) และอาจเกิดจาก ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิไปแล้วเป็นตัวคัพพะ อยู่ในท่อนำไข่นานเกินกว่าเวลาที่เหมาะสม (ปกติแล้วตัวคัพพะของม้า จะใช้เวลาในการอยู่ในท่อนำไข่ 120 – 144 ชั่วโมง ก่อนเข้าสู่มดลูก นานกว่าสัตว์ชนิดอื่น (24 – 96 ชั่วโมง) (Betteridge and Mitchell, 1974) เพราะการอุดตันของท่อนำไข่ จึงทำให้อัตราการตั้งท้องลดลง (Arnold and Love, 2013) ดังนั้น หากมีวิธีการใดก็ตามที่เพิ่มโอกาสพาตัวอสุจิ หรือไข่ที่ตกมาแล้ว เข้าไปถึงตำแหน่งเหมาะสมในการปฏิสนธิ และพาตัวคัพพะเคลื่อนตัวเข้าสู่มดลูกได้เร็ว จะเป็นการเพิ่มอัตราการตั้งท้องได้

มีการทดลองใช้ฮอร์โมน PGE_2 เจล ทาป้ายลงไปที่ตำแหน่งท่อนำไข่ (โดยการใช้วิธีเจาะผาด้านข้างลำตัว) พบว่าเพิ่มอัตราการตั้งท้องให้กับแม่ม้าได้ 85% – 93% (Allen et al., 2006), (Ortiz et al., 2013) หรือการใช้ PGE_2 เจล ฉีดเข้าไปในมดลูกก่อนผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่าเพิ่มอัตราการตั้งท้องได้ 59% สำหรับน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพดี (ประวัติการผสมติดท้องสูง) และ 29% สำหรับพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพต่ำ

(ประวัติการผสมติดท้องต่ำ) (Wood et al., 2000) เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน PGE₂ จะไปช่วยกระตุ้นการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูก ปากมดลูกขยาย และเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแวนอน ช่วยการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบในแวนอวา จึงทำให้เป็นการเพิ่มจำนวนตัวอสุจิเข้าสู่ท่อหน้าไข่มากขึ้น โดยเฉพาะที่ตำแหน่งบริเวณรอยต่อ isthmus-ampulla หรือ sperm reservoir (Wood et al., 2000) แต่การทำน้ำเชื้อแช่แข็ง ตัวอสุจิที่ละลายออกมา มีคุณภาพค่อนข้างต่ำ และถ้ามีการใช้ฮอร์โมน PGE₂ เจล ร่วมกับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง จากพ่อพันธุ์คุณภาพต่ำ อาจทำให้เพิ่มอัตราการตั้งท้องมากขึ้นได้

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จะใช้ฮอร์โมน PGE₂ เจล ฉีดเข้าไปในมดลูก ก่อนการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง เป็นวิธีการที่ง่าย และเพิ่มโอกาสจำนวนตัวอสุจิที่จะเข้าไปสู่ท่อหน้าไข์ เพิ่มโอกาสการปฏิสนธิ และเพิ่มอัตราการตั้งท้องของแม่ม้าด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างการทดลอง

ใช้แม่ม้า สายพันธุ์โรโรเบรด (Thoroughbred) จากแผนกสัตว์บาล กองการสัตว์และเกษตรกรรมที่ 2 กรมการสัตว์ทหารบก จังหวัดขอนแก่น อายุ 3 - 5 ปี จำนวน 20 ตัว โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่าง ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ กลุ่มละ 10 ตัว เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตั้ง

การทดลอง

การเตรียมแม่ม้า

ม้าทุกตัวจะถูกทำการตรวจระบบสืบพันธุ์ด้วยการส่องตรวจ และการอัลตราซาวด์ระบบสืบพันธุ์ผ่านทางทวารหนัก (Transrectal ultrasonography) แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดด้วยการฉีดฮอร์โมนโปรสตาแกรนดิน (PGF_{2α}) (Estrumate®) จำนวน 2 มิลลิลิตร เข้ากล้ามเนื้อ และทำการตรวจการเป็นสัดหลังจากฉีดฮอร์โมนไปแล้ว 3 วัน โดยใช้พ่อม้าตรวจการเป็นสัด ม้าที่แสดงอาการเป็นสัดจะเข้ามาทำการตรวจระบบสืบพันธุ์ และวัดขนาดฟอลลิเคิลทุกวัน เมื่อขนาดฟอลลิเคิลมากกว่า 4.5 เซนติเมตร จะทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ด้วยการฉีดฮอร์โมน hCG (Chorulon®) ในปริมาณ 3,000 i.u. เข้าเส้นเลือดดำที่คอ หลังจากฉีดฮอร์โมน hCG ไปแล้ว 24-30 ชั่วโมง ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิหลังละลาย 40% และจำนวนตัวอสุจิที่ใช้ในการผสมทั้งหมด 50x10⁶ ตัวเคลื่อนที่ในสารละลายเจือจางที่มีส่วนประกอบของนมผง (หางนม) (Kenney's extender, KE): glucose, 4.9 g; non-fat dry skim milk, 2.4 g; Na penicillin, 1.5 x 10⁵ units; streptomycin, 150 mg; and deionized water to 100 ml (Padilla and Foote, 1991) ปริมาณ 30 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

กลุ่มควบคุม

เมื่อพบลักษณะฟอลลิเคิลที่เหมาะสมต่อการผสมพันธุ์ดังกล่าวแล้ว แม่ม้าจะถูกเตรียมตัวก่อนผสมเทียมโดยการทำควมบริเวณสะดือบั้นท้าย และอวัยวะสืบพันธุ์ของแม่ม้า ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่

แข็ง ที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิหลังละลาย 40% และจำนวนตัวอสุจิที่ใช้ในการผสมเทียมทั้งหมด 50×10^6 ตัว เคลื่อนที่และปล่อยน้ำเชื้อที่มดลูก (Conventional method) ด้วยท่อพลาสติกแข็ง (Uterine infusion catheter)

กลุ่มทดสอบ

ใช้วิธีการเช่นเดียวกันกับในกลุ่มควบคุม แต่จะเตรียมฮอร์โมน PGE_2 รูปแบบเจล ในขนาด 0.5 มิลลิกรัม (Prepidil® Gel, dinoprostone 0.5 mg/3 g (2.5 mL gel), Pharmacia and Upjohn Company/Pfizer, Moscow Russia) ฉีดเข้าสู่มดลูกด้วยท่อพลาสติกแข็ง (Uterine infusion catheter) แล้วปล่อยทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ก่อนการผสมเทียม

การอ่านผลการทดลอง

หลังจากการผสมเทียม 24 ชั่วโมง ทำการสังวตรวจระบบสืบพันธุ์และใช้การอัลตราซาวนด์ผ่านทาง ทวารหนักเพื่อลงประวัติ และตรวจลักษณะมดลูก และการตกไข่หลังจากผสมเทียม แล้วทำการตรวจการตั้ง ท้องด้วยวิธีการอัลตราซาวนด์ที่ 18 – 25 วัน หลังการผสมเทียม

การวิเคราะห์ทางสถิติ

บันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลองโดยใช้วิธี Generalized Linear Models ที่มีฟังก์ชันแบบ Binomial logistic โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 19 ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตั้ง ท้อง ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ

ผลการทดลอง

ในกลุ่มควบคุมซึ่งใช้แม่ม้าในการทดลองทั้งหมด 10 ตัว ($n=10$) ตรวจการเป็นสัดและผสมเทียม ตามวิธีการที่ได้กำหนดไว้ในขั้นตอนการทดลอง แล้วตรวจการตั้งท้องโดยการอัลตราซาวนด์ระบบสืบพันธุ์ 18 – 25 วัน หลังการผสมเทียม พบว่ามีแม่ม้าท้องจำนวน 1 ตัว (10%, 1/10) ขณะที่กลุ่มทดสอบซึ่งใช้แม่ม้า ในการทดลองทั้งหมด 10 ตัว ($n=10$) ตรวจการเป็นสัดและใช้ฮอร์โมน PGE_2 ร่วมกับการผสมเทียม จากนั้น ตรวจการตั้งท้องด้วยวิธีการเช่นเดียวกันกับในกลุ่มควบคุม พบว่ามีแม่ม้าท้องจำนวน 2 ตัว (20%, 2/10) ซึ่ง พบว่าอัตราการตั้งท้องในกลุ่มทดสอบมีโอกาสสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ทั้งสองกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

วิจารณ์

จากการทดลองทำการศึกษา พบว่าอัตราการตั้งท้องในแม่ม้ากลุ่มทดลอง ไม่แตกต่างจากกลุ่ม ควบคุม ($p > 0.05$) โดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีจำนวนตัวอสุจิหลังละลาย 50×10^6 ตัวเคลื่อนที่ ซึ่งสอดคล้องกับ การทดลองของ Wood et al. (2000) ที่ทำการผสมเทียมให้กับแม่ม้าด้วยน้ำเชื้อเหลว โดยมีจำนวนตัวอสุจิ 25

$\times 10^6$ เคลื่อนที่ ให้ผลอัตราการตั้งท้องเป็น 29% (สำหรับพอม้าที่มีคุณภาพน้ำเชื้อต่ำ) และอัตราการตั้งท้อง 59% สำหรับพอม้าที่มีคุณภาพน้ำเชื้อดี ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่คุณภาพตัวอสุจิหลังละลายออกมาแล้วมีคุณภาพต่ำ โดยมีการอธิบายไว้ว่า ที่ผนังเซลล์ของตัวอสุจิหลังละลายออกมาแล้ว เกิดการแลกเปลี่ยนไอออน ทำให้ผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป จึงเกิดลักษณะ capacitation-like ส่งผลทำให้ตัวอสุจิมีอายุสั้นลง และยังพบอีกว่าตัวอสุจิที่ผ่านกระบวนการแช่แข็งแล้วนั้น มีความสามารถในการเกาะติดกับผนังเยื่อบุท่อนำไข่ลดลง (Samper, 2001) สำหรับจำนวนตัวอสุจิน้อยในการผสมเทียมอาจส่งผลต่ออัตราการตั้งท้องได้ ซึ่งมีการทดลองใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง จำนวนตัวอสุจิที่ใช้ในการผสมเทียม 100 หรือ 800×10^6 ตัวเคลื่อนที่ ให้ผลอัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน (27% และ 31%) (Sieme et al., 2004), (Leipold et al., 1998) และมีการแนะนำว่าไม่ควรใช้จำนวนตัวอสุจิในการผสมเทียมน้อยกว่า 3×10^6 ตัว เพราะจะทำให้ส่งผลต่ออัตราการตั้งท้องได้ (Morris et al., 2003)

ในการทดลองนี้ได้นำใช้ฮอร์โมน PGE_2 ชนิดเจล ฉีดเข้าไปในมดลูกก่อนทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง เพื่อเป็นการเพิ่มโอกาสของตัวอสุจิเข้าสู่มดลูก และท่อนำไข่ เพื่อรอการปฏิสนธิ แต่ผลการทดลองพบว่าอัตราการตั้งท้องยังต่ำอยู่ ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่ ฮอร์โมน PGE_2 เพิ่มการบีบตัวที่กล้ามเนื้อมดลูก และกล้ามเนื้อท่อนำไข่ในแนวอน และคลายกล้ามเนื้อท่อนำไข่ในแนวขวาง ทำให้เพิ่มจำนวนตัวอสุจิทั้งปกติและผิดปกติเข้าสู่ท่อนำไข่ได้ (โดยปกติแล้วท่อนำไข่ จะเป็นตัวกรองตัวอสุจิที่ปกติเท่านั้นเข้ามา รออยู่ที่ท่อนำไข่ในบริเวณที่เกิดการปฏิสนธิ (ampullary isthmic junction) (Wood et al., 2000), (Suarez, 2008) ส่งผลให้อัตราการตั้งท้องต่ำ มีความพยายามที่จะเพิ่มโอกาสของตัวอสุจิเข้าสู่มดลูกมากขึ้น โดยใช้ฮอร์โมน อ็อกซิโตซิน ใช้ร่วมกับการผสมเทียมในม้า (Rigby et al., 1999) หรือ ฮอร์โมน PGE_{2a} ในการผสมเทียมโค (Gabriel et al., 2011) ผลพบว่าอัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาใช้ ฮอร์โมน PGE_2 ทาไปที่ท่อนำไข่ เพื่อใช้แก้ปัญหาระบบสืบพันธุ์ของแม่ม้ากลุ่มผสมพันธุ์หลายครั้ง พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องสูงถึง 93% (Allen et al., 2006), (Ortis et al., 2013) ซึ่งได้อธิบายไว้ว่า ฮอร์โมน PGE_2 ส่งผลโดยตรงต่อท่อนำไข่ ทำให้ก้อนของเหลว (gelatinous mass) ที่อุดตัน หรือ ไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิที่อุดตัน เคลื่อนหลุดออกมา ทำให้ตัวอสุจิและไข่ สามารถเกิดการปฏิสนธิได้ หรือ เพิ่มการเคลื่อนที่ของตัวอ่อนหลังจากปฏิสนธิ เข้าสู่มดลูกได้เร็วขึ้น เพื่อหลีกเลี่ยงการอยู่ในท่อนำไข่ที่ยาว (Weber et al., 1991) หรือเป็นการเสริมเพิ่มปริมาณฮอร์โมน PGE_2 ที่ผลิตได้จากตัวภะ ซึ่งไม่เพียงพอที่จะเพิ่มการเคลื่อนที่ในท่อนำไข่ ให้ลงสู่มดลูก เพราะหากตัวภะใช้เวลานานในท่อนำไข่ อาจทำให้ตัวภะตายได้ เพราะไม่ใช่เป็นตำแหน่งที่เหมาะสมของตัวภะในอายุนั้นๆ (Allen et al., 2006), (Webber et al., 1991)

สรุป การใช้ ฮอร์โมน PGE_2 เจล ฉีดเข้าไปในมดลูกก่อนทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีจำนวนตัวอสุจิปริมาณน้อย มีโอกาสเพิ่มอัตราการผสมติดท้องขึ้น เมื่อเทียบกับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งแบบวิธีปกติ และในการศึกษาครั้งต่อไปควรใช้วิธีการกรองแยกตัวอสุจิของน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีคุณภาพ มาใช้ในการผสมเทียม ซึ่งอาจจะทำให้เพิ่มอัตราการผสมติดท้องได้

เอกสารอ้างอิง

- Allen, W.R., Wilsher, S., Morris, L., Crowhurst, J.S., Hillyer, M.H and Neal, H.N. 2006. Laparoscopic application of PGE2 to re-establish oviductal patency and fertility in infertile mares: a preliminary study. *Equine Vet. J.* 38(5): 454-459.
- Arnold, C and Love, C.C. 2013. Laparoscopic evaluation of oviductal patency in the standing mare. *Theriogenology*. 79: 905-910.
- Betteridge, K.J and Mitchell, D. 1974. Direct evidence of retention of unfertilized ova in the oviduct of the mare. *J. Reprod. Fert.* 39: 145-148.
- Flood, P.F., Jong, A and Betteridge, K.J. 1979. The location of eggs retained in the oviducts of mares. *J. Reprod. Fert.* 57; 29
- Gabriel, H.G., Wallenhorst, S., Dietrich, E and Holtz, W. 2011. The effect of prostaglandin F_{2a} administration at the time of insemination on the pregnancy rate of dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 123: 1-4.
- Hunter, R.H.F. 2003. Advances in deep uterine insemination: a fruitful way forward to exploit new sperm technologies in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 79: 157-170.
- Katila, T. 2001. Sperm-uterine interactions: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 68:267-272.
- Katila, T. 2012. Post-mating inflammatory response of the uterus. *Reprod. in Dom. Anim.* 47 (Supplement 5): 31-41
- Leipold, S.D., Graham, J.K., Squires, F.L., McCue, P.M., Brinsko, S.P and Vanderwall, D.K. 1998. Effect of spermatozoa concentration and number on fertility of frozen equine semen. *Theriogenology*. 49: 1537-1543.
- Loomis, P.R. 2001. The equine frozen semen industry. *Anim. Reprod. Sci.* 68: 191-200.
- Lyle, S.K and Ferrer, M.S. 2005. Low-dose insemination- Why, When and How. *Theriogenology*. 64: 572-579.
- Metcalf, E.S. 2007. The efficient use of equine cryopreserved semen. *Theriogenology*. 68: 423-428.
- Morris, L.H.A., Hunter, R.H.F and Allen, W.R. 2000. Hysteroscopic insemination of small numbers of spermatozoa at the uterotubal junction of preovulatory mares. *J. Reprod and Fert.* 118: 95-100.

- Morris, L.H.A., Tiplady, C and Allen, W.R. 2003. Pregnancy rates in mares affect a single fixed time hysteroscopic insemination of low numbers of frozen-thawed spermatozoa on to the uterotubal junction. *Equine Vet. J.* 35(2): 197-201.
- Ortis, H.A., Foss, R.R., McCue, P.M., Bradecamp, E.A., Ferris, R.A and Hendrickson, D.A. 2013. Laparoscopic application of PGE₂ to the uterine tube surface enhances fertility in selected subfertile mares. *J. Equine. Vet. Sci.* :1-5.
- Padilla, A.W and Foote, R.H. 1991. Extender and centrifugation effects on the motility patterns of slow-cooled stallion spermatozoa. *J. Anim. Sci.* 69:3308-3313.
- Rigby, S., Hill, J., Thompson, J., Varner, D and Blanchard, T. 1999. Administration of oxytocin immediately after insemination does not improve pregnancy rates in mares bred by fertile or subfertile stallions. *Theriogenology*. 51: 1143-1150.
- Rigby, S., Lindsey AC, Brinsko SP, Blanchard TL, Love CC. 2001. Varner DD. Pregnancy rates in mares following hysteroscope or rectally-guided utero-tubal insemination with low sperm numbers. *Anim. Reprod. Sci.* 68: 331-334
- Samper, J.C. 2001. Management and fertility of mares bred with frozen semen. *Anim. Reprod. Sci.* 68: 219-228.
- Sieme, H., Bonk, A., Hamann, H., Klug, E and Katila, T. 2004. Effect of different artificial insemination techniques and sperm doses on fertility of normal mares and mares with abnormal reproductive history. *Theriogenology*. 62: 915-928.
- Suarez, S.S. 2008. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int. J. Dev. Biol.* 52: 455-462.
- Samper, J.C., Gomez, I and Sanchez, R. 2008. Rectally guided or hysteroscopic insemination: Is there a difference?. *J. Equine Vet. Sci.* 28(11): 640-644.
- Samper, J.C and Plough, T. 2010. Techniques for insemination of low doses of stallion sperm. *Reprod. Dom. Anim.* 45 (Suppl. 2): 35-39. 1-294.
- Tsutsumi, Y., Suzuki, H., Takeda, T and Terami, Y. 1979. Evidence of the origin of the gelatinous masses in the oviducts of mares. *J. Reprod. Fert.* 57: 287-290.
- Weber, J.A., Freeman, D.A., Vanderwall, D.K. and Wood, G.L. 1991. Prostaglandin E₂ secretion by oviductal transport-stage equine embryo. *Bio. Reprod.* 45: 540-543.

Woods, J., Rigby, S., Brinsko, S., Varner, D and Blanchard, T. 2000. Effect of intrauterine treatment with prostaglandin E₂ prior to insemination of mares in the uterine horn or body. *Theriogenology*. 53: 1827-1836.

ประสิทธิภาพของวิธีการปั่นเหวี่ยงและวิธีเปอร์คอลก่อนการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในโค

วรพงศ์ โกษารักษ์¹ ญัฐพล บางแก้ว¹ สราวุธ ศรีงาม^{2*}

*ผู้รับผิดชอบบทความ: สราวุธ ศรีงาม (e-mail address: sarsri@kku.ac.th)

¹นักศึกษาชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²ภาควิชาสัตวศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

การคัดเลือ่น้ำเชื้อจากพ่อโคที่ให้น้ำเชื้อคุณภาพต่ำถือเป็นวิธีการที่สำคัญก่อนที่จะนำไปทำการแช่แข็งการศึกษาครั้งนี้ทำการเปรียบเทียบวิธีการปั่นเหวี่ยงและวิธีเปอร์คอลก่อนการแช่แข็ง ในน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์ภูพานต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการละลาย โดยแบ่งน้ำเชื้อที่รีดได้ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1)กลุ่มควบคุมเป็นน้ำเชื้อตั้งต้น 2) กลุ่มปั่นเหวี่ยง (600 x g ต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที) และ 3) กลุ่มที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำยาเปอร์คอลล์ (ชั้นบนและชั้นล่างมีความเข้มข้น 45 และ 60% ตามลำดับ; 930 x g ต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที) ก่อนนำไปทำการแช่แข็งด้วยวิธีการปกติ ภายหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งทำการตรวจวัดความมีชีวิต การเคลื่อนที่และความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิด้วยวิธีทดสอบในสารละลายแรงดันต่ำ (hypo-osmotic swelling test; HOST) พบว่าอสุจิที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยสารละลายเปอร์คอลล์มีค่าความมีชีวิต การเคลื่อนที่และความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิสูงที่สุด (38.1 ± 11.1 , 29.0 ± 2.2 , $42.5 \pm 10.5\%$, ตามลำดับ) ถึงแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ทำการปั่นเหวี่ยง ($P > 0.05$) (32.4 ± 5.5 , 25.0 ± 10.0 , $32.5 \pm 9.8\%$, ตามลำดับ) แต่ก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (25.4 ± 10.7 , 10.0 ± 3.3 , $22.5 \pm 9.5\%$, ตามลำดับ) การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อโคที่ให้น้ำเชื้อคุณภาพต่ำสามารถทำได้โดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงน้ำเชื้อด้วยวิธีการเปอร์คอลล์ก่อนการแช่แข็ง

คำสำคัญ: การปั่นเหวี่ยง เปอร์คอลล์ โค น้ำเชื้อ แช่แข็ง

The efficacy of conventional and Percoll gradient centrifugation prior to freezing on bull sperm cryosurvival

Woraphong Kosaruk¹, Nuttapon Bangkaew¹, **Sarawut Sringam^{2*}**

**Corresponding author: Sarawut Sringam (e-mail address: sarsri@kku.ac.th)*

¹The sixth year student of Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

²Department of Surgery and Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

Abstract

Selection of spermatozoa from the substandard bull semen is one of the essential methods for cryopreservation. In this study, the efficacy of conventional and Percoll gradient centrifugation before freezing on sperm cryosurvival were evaluated in a Phuphan bull. After semen collection, the sample was divided into 3 groups; 1) control group, 2) conventional centrifugation (600 x g for 5 min), 3) Percoll gradient centrifugation (upper and lower layer were 45 and 60%, respectively; 930 x g for 10 min). The semen samples were subsequently cryopreserved using a standard 0.5-mL straw freezing protocol. After thawing, the semen was evaluated for viability, motility, and plasma membrane integrity by hypo-osmotic swelling test (HOST). The viability, motility and plasma membrane integrity of sperm in Percoll gradient centrifugation group were highest in all parameters (38.1±11.1, 29.0±2.2, 42.5±10.5%, respectively). Although they were not significantly different from conventional centrifugation group (32.4±5.5, 25.0±10.0, 32.5±9.8%, respectively, P>0.05), all of parameters were significantly higher than those of control group (25.4±10.7, 10.0±3.3, 22.5±9.5%, respectively, P<0.05). These findings support the conclusion that the sperm selection before freezing using the Percoll gradient centrifuge technique improves the freezability of substandard bull sperm.

Keywords: Centrifugation, Percoll, bull, semen, frozen

ประสิทธิผลของสารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ต่อการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

สำราญ บรรณจิริกุล^{1*} นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์²

*ผู้รับผิดชอบบทความ : สำราญ บรรณจิริกุล (e-mail address: sumrarn@mut.ac.th)

¹คลินิกสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

²สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

บทคัดย่อ

[บทนำ] การเพาะเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในประเทศไทยนั้น มีอัตราการขยายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงเพื่อการบริโภคภายในประเทศ และบางส่วนส่งออกตลาดต่างประเทศ ปัจจุบันมีการใช้สารที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ เช่น สไปรูลิน่า ยีสต์ ซึ่งทำให้อัตรารอดและการเจริญเติบโตดีขึ้น สารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ (Transfer Factor) เป็นสารสกัดมาจากนมแม่เหลืองของโค และไข่แดง ที่ใช้เพื่อส่งเสริมสุขภาพในสัตว์หลายชนิด โดยทำให้ร่างกายมีความต้านทานต่อโรคต่างๆ และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์เลี้ยง วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตในการเลี้ยงปลานิล และใช้เป็นต้นแบบในการนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดอื่น

[วิธีดำเนินการวิจัย] ใช้ปลานิลจำนวน 160 ตัว ที่มีความยาวเฉลี่ย 6 เซนติเมตร และน้ำหนักตัวเฉลี่ย 4 กรัม โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มว่า โดยแต่ละกลุ่มใช้ปลาจำนวน 20 ตัวกลุ่มที่ 1 ให้อาหารควบคุม (ไม่มีสารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์) กลุ่มที่ 2 3 และ 4 ให้อาหารที่ผสมสารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ขนาด 5 10 และ 100 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 40 วัน

โดยในแต่ละกลุ่มการทดลองจะมีการทำซ้ำกลุ่มละ 2 ซ้ำ ทำการเก็บข้อมูลส่วนของน้ำหนักและความยาวลำตัว ตลอดจนเนื้อเยื่อสำหรับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

[ผลการวิจัย] ปลานิลกลุ่มที่ได้รับสารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ในปริมาณ 10 มิลลิกรัม/ 1 กิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุดคือ 9.14 ± 2.79 กรัม และมีความยาวลำตัวเท่ากับ 7.88 ± 0.89 เซนติเมตร กรัม ถัดมา คือ ปลานิลกลุ่มที่ได้รับสารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ในปริมาณ 100 มิลลิกรัม และ 5 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มควบคุม มีน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวลำตัวเท่ากับ 8.65 ± 3.67 กรัม และ 7.88 ± 1.05 เซนติเมตร 8.33 ± 2.23 กรัม และ 7.6 ± 0.82 เซนติเมตร 8.03 ± 2.57 กรัม และ 7.9 ± 1.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ไม่พบความผิดปกติใดๆ ทุกกลุ่มการทดลอง

[วิจารณ์] จากผลการทดลองการเปรียบเทียบ น้ำหนักพบว่ามีความแตกต่างเชิงเศรษฐกิจอย่างชัดเจน ในส่วนทางจุลพยาธิวิทยาซึ่งไม่พบความผิดปกติในทุกกลุ่มการทดลอง แม้แต่ในกลุ่มที่ได้รับสารทรานสเฟอร์ แฟกเตอร์ 100 mg/kg BW แสดงให้เห็นว่าสารชนิดนี้มีความปลอดภัยในการนำมาใช้ค่อนข้างสูง ซึ่งควร

จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ในการ
เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Kannika, K.,et al. 2011. Proceedings of
the 49th Kasetsart University Annual
Conference, Kasetsart University 3: 408-415.

2. Srinuansom K. et al. 2011. Proceedings of
the 49th Kasetsart University Annual
Conference, Kasetsart University 3: 341-348.

Effective of Transfer Factor on Growth in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Culture

Sumrarn Bunnajirakul^{1*} Nutcharnart Tipmongkolsilp²

**Corresponding author : Sumrarn Bunnajirakul (e-mail address: sumrarn@mut.ac.th)*

¹Aquatic Animals Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

²Bureau of Livestock Standards and Certification, Department of Livestock Development

Abstract

[Introduction] Tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in Thailand expanded rapidly. Product from fish was served inland and exported market. Health promoter for better survival and growth rate and such as spirulina yeast was implemented in cultural processing. Transfer Factor (TF) is an extract from colostrum and yolk. This substance acts as health supplement in livestock. Transfer factor promotes body to diseases resistant and growth. Study of application of Transfer factor in tilapia culture as a growth promoter was performed in this experiment.

[Materials and Methods] One hundred and sixty tilapia fishes of about 6 centimeters average length and 4 grams average body weight (BW) were divided in 4 treatment groups (20 fish) with 2 replication. Each treatment group was fed with TF supplement diets containing in 0, 5, 10 and 100 mg of TF / kg BW respectively for 40 days. During the experiment, body weight and body length (BL) were monitored and tissue sample from each group was submitted for histopathological examination.

[Results] Tilapia which fed with 10 mg of TF/kg BW gained the best BW at 9.14 ± 2.79 g and 7.88 ± 0.89 cm of body length. Treatment groups with 100, 5 and 0 mg of TF/kg BW gained BW and BL at 8.65 ± 3.67 g and 7.88 ± 1.05 cm 8.33 ± 2.23 g and 7.6 ± 0.82 cm 8.03 ± 2.57 g and 7.9 ± 1.00 cm respectively. Histopathological change in each treatment group was not revealed.

[Discussion] Comparison of body weight of treatment with control fish revealed economical different. In histopathological observation in each treatment group, especially in high dosage of 100 mg TF/BW was non any changes, therefore safety of application of TF is considered. Thus study of TF application in others fish should be performed in future research.

References

1. Kannika, K., et al. 2011. Proceedings of the 49th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart University 3: 408-415.
2. Srinuansom K. et al. 2011. Proceedings of the 49th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart University 3: 341-348.

รายงานสัตว์ป่วย ภาวะเนื้องอก Spindle cell tumor ในปลาทอง

สุกัญญา ผลิตกุล^{1*} สำราญ บรรณจิรกุล²

*ผู้รับผิดชอบบทความ : สุกัญญา ผลิตกุล (e-mail address: sukanya.P@mut.ac.th)

¹ภาควิชาเภสัชวิทยา ²คลินิกสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

[บทนำ] ภาวะเนื้องอกสามารถพบในสัตว์เลี้ยงหลายชนิดก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์ ความรุนแรงขึ้นอยู่กับ ชนิดของเนื้องอกในปลาทอง มีรายงานอุบัติการณ์การพบเนื้องอกภายนอกลำตัว เช่น Nerve sheath tumor ซึ่งการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นและการให้การรักษามีส่วนช่วยให้สัตว์สามารถดำรงชีวิตได้ ในรายงานสัตว์ป่วยนี้มีวัตถุประสงค์ในการตรวจวินิจฉัยเนื้องอกที่พบและแนวทางการรักษาในปลาทอง

[วิธีดำเนินการวิจัย] ปลาทอง (*Carassius auratus* L.) อายุ 2.5 ปี ความยาวลำตัว 12 เซนติเมตร เข้ารับการรักษาในคลินิกสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ด้วยลักษณะก้อนเนื้องอกบริเวณด้านข้างลำตัว (flank) จึงได้วางแผนการรักษาโดยการผ่าตัดลอกเนื้องอก (excision surgery) ทำการวางยาสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู (clove oil) ภายหลังการผ่าตัดเนื้องอก ปลาป่วยถูกแช่ด้วยยาปฏิชีวนะ enrofloxacin 2 ppm เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อควบคุมการติดเชื้อบริเวณผ่าตัด สภาพผิวหนังมีการสมานตัว

ของแผลดี การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้องอกบริเวณผิวหนัง

[ผลการวิจัย] พบลักษณะของ spindle shaped neoplastic cells ในเนื้อเยื่อและมีการจัดเรียงตัวรอบหลอดเลือด (perivascular arrangement) ร่วมกับจุดเลือดออก (hemorrhage)

[วิจารณ์] การพบเนื้องอกในสัตว์ป่วยตัวนี้พบเนื้องอกชนิด Spindle cell tumor เป็นเนื้องอกชนิดที่ไม่ร้ายแรง (benign tumor) ซึ่งคล้ายกับ Fibroma ที่พบรายงานก่อนหน้านี้ในปลาทอง แต่ทั้งนี้ควรมีการตรวจวินิจฉัยก็ต้องพิจารณาจากตำแหน่งที่พบร่วมด้วย ถ้าพบว่ามี ความเกี่ยวข้องกับอวัยวะภายในอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของตัวสัตว์ จึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าสังเกตอย่างใกล้ชิด เพื่อทำการประเมินความรุนแรงของเนื้องอกดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

1. Schlumberger H. G., 1952. *Cancer Res* 12:890-899.
2. Morales P. et al, 1991. *J. Fish Diseases* 14(4):499-502.

Case report : Spindle cell Tumor in Goldfish (*Carassius auratus* L.)

Sukanya Phalitkul^{1*} Sumrarn Bunnajirakul²

*Corresponding author : Sukanya Phalitkul (e-mail address: sukanya.P@mut.ac.th)

^{1*}Department of Pharmacology, ²Aquatic Animals Clinic, Faculty of Veterinary Medicine
Mahanakorn University of Technology

Abstract

[Introduction] Tumor was found in many species of domestic animals and has effect to health. Severity of tumor depend on type. Incidence in aquatic animals was reported at external surface such as nerve sheath tumor. Early diagnosis and treatment can help fish to survive. The aim of this study was to diagnosis tumor and treatment which found in goldfish.

[Materials and Methods] Goldfish (*Carassius auratus* L.) 2.5 years, 12 centimeters length was submitted in aquatic animals clinic with tumor mass at flank. Fish was anesthetized with clove oil. Tumor mass was removed by excision surgery. After operation fish was bathed in antibiotic drug: enrofloxacin 2 ppm for 14 days. Wound healing was good.

[Results] Histopathological observation revealed spindle shaped neoplastic cells in tumor tissue. Perivascular arrangement in some area with hemorrhage was found.

[Discussion] Spindle cell tumor in fish was classified commonly as benign tumor which was similar with fibroma same as previous report in goldfish. However location of tumor, especially in internal organ, should be considered for fish health. Closely monitoring was necessary protocol for severity of tumor evaluation.

References

1. Schlumberger H. G., 1952. *Cancer Res* 12:890-899.
2. Morales P. et al, 1991. *J. Fish Diseases* 14(4):499-502.

การทำหมันแบบไม่ทำศัลยกรรม ด้วยการฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอวัยวะในแมวบ้านเพศผู้

อัจจิมา จันทน์แสนโรจน์^{1*} จตุพร กระจ่ายศรี¹ รุ่งฤทธิ เลิศชนะชมภู² ภัก รัตนอุดม² วิมลรัตน์ เต็บโต²
กมลชนก เทศน้อย² ทนงศักดิ์ มะมม³

*ผู้รับผิดชอบบทความ: อัจจิมา จันทน์แสนโรจน์ (e-mail address: ajjima_c@hotmail.com)

¹คลินิกสำหรับสัตวศาสตร์ โภชนาวิทยา แอนโดรวิทยา และการผสมเทียมของสัตว์เลี้ยง

²นักศึกษาสัตวแพทย์ ชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2555

³ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการฉีดสารแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เข้าอวัยวะเพียงครั้งเดียวเพื่อทำลายเซลล์ที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และทำให้แมวเป็นหมัน แมวบ้านเพศผู้ อายุ 1-3 ปี จำนวน 12 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มเท่าๆ กัน กลุ่มที่ 1 ฉีด 25% (W/V) CaCl_2 เข้าอวัยวะข้างละ 0.2 มล กลุ่มที่ 2 ฉีด 50% (W/V) CaCl_2 เข้าอวัยวะข้างละ 0.2 มล จากนั้นรีดน้ำเชื้อด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้า เพื่อตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ และเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ภายหลังจากฉีดสารเข้าอวัยวะ สัปดาห์ละหนึ่งครั้ง เป็นเวลา 2 เดือน และเมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงผ่าตัดทำหมันแมวดังกล่าว เพื่อนำอวัยวะไปตรวจทางมหากายวิภาค และจุลพยาธิวิทยา ผลการทดลองพบว่า กลุ่มที่ 1 และ 2 คุณภาพน้ำเชื้อและระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนลดลง อีกทั้งเนื้อเยื่ออวัยวะยังเกิดความเสียหาย ในกลุ่มที่ 2 พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อลดลงอย่างชัดเจนในสัปดาห์ที่ 2 หลังการฉีด CaCl_2 ส่วนระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังการฉีด CaCl_2 และเมื่อตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาพบการเสื่อมและการตายของท่อสร้างตัวอสุจิ (seminiferous tubule) โดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรก สรุปผลการทดลองนี้คือการฉีด 50% (W/V) CaCl_2 เข้าอวัยวะเพียงครั้งเดียวทำให้แมวเพศผู้เป็นหมันได้

คำสำคัญ: แคลเซียมคลอไรด์ ทำหมันแบบไม่ทำศัลยกรรม สอรัโมนเทสโทสเตอโรน แมวเพศผู้

The Nonsurgical Sterilization with Calcium Chloride Solution Intratesticular Injection in Domestic Male Cats

Ajjima Chansaenroj^{1*} Jatuporn Kajaysri¹ Roongrit Lertchanachompoo² Pak Rattanaudom²
Wimonrat Toepto² Kamonchanok Tednoi² Thanongsak Mamom³

^{*}*Corresponding Author: Ajjima Chansaenroj (e-mail address: ajjima_c@hotmail.com)*

¹Clinic for Obstetrics Gynecology Andrology and Artificial Insemination of Domestic Animals

²The 6th year veterinary students of year 2012

³Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

Abstract

The objective of this study was to find the possibility of single intratesticular injection of calcium chloride for damaging the cell which is the source of sperm production and sterilization. Twelve 1-3 yr old domestic male cats were equally divided into 2 groups. Cats in group one were injected with 0.2 ml of 25% (W/V) CaCl_2 into each testicle whereas the cats in group 2 were injected with 0.2 ml 50% (W/V) CaCl_2 . After injection, semen collection by electroejaculator was performed for semen evaluation and blood collection was also performed in order to evaluate serum testosterone level every week interval for 2 months. Castration was performed for anatomical and histopathological evaluation after the end of this study. The result showed that semen quality and serum testosterone level in both groups were decreased and the testicular tissues were damaged. In group 2, semen quality were dramatically decreased in 2 weeks after calcium chloride injection, however, serum testosterone level were diminished in 1 week after calcium chloride injection. Histopathological evaluation revealed degeneration and necrosis of seminiferous tubules with interstitial fibrosis. Conclusion of this study showed that single intratesticular injection of 50% (W/V) calcium chloride, could be able to use for sterilization in male cat.

Keyword: Calcium chloride, nonsurgical sterilization, testosterone hormone, male cat

บทนำ

การควบคุมประชากรแมวจรจัดด้วยวิธีการป้องกันไม่ให้แพร่พันธุ์ สามารถทำได้ด้วยกันหลายวิธี เช่น การทำหมันโดยการผ่าตัดเอาอวัยวะออก หรือการตัดท่อน้ำเลี้ยงอสุจิในแมวเพศผู้ การใช้ยาคุมกำเนิด หรือการผ่าตัดเอารังไข่และมดลูกออกในแมวเพศเมีย ในแมวเพศผู้วิธีการทำหมันที่นิยมทำกันอย่างกว้างขวางทั่วไป คือการทำหมันโดยการศัลยกรรม ซึ่งต้องอาศัยการวางยาสลบทั้งตัวด้วย ส่งผลให้การควบคุมประชากรแมวจรจัดที่มีจำนวนมากในคราวเดียวกันมีข้อจำกัด เพราะจำเป็นต้องมีสัตวแพทย์และผู้ช่วยในการผ่าตัดทำหมันและวางยาสลบเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังใช้เวลาในการทำหมันนาน มีค่าใช้จ่ายสูง และสัตว์มีโอกาสเสี่ยงที่จะเกิดแผลติดเชื้อหลังการผ่าตัดได้ เพราะเป็นแมวจรจัดที่ไม่มีผู้คอยดูแลหลังผ่าตัดทำหมัน ดังนั้นการทำหมันแบบไม่ทำศัลยกรรมจึงเป็นอีกทางเลือกที่อาจนำมาใช้กับแมวจรจัดซึ่งทำได้คราวละจำนวนมากๆ ในเวลาที่จำกัด และมีผลแทรกซ้อนดังกล่าวได้น้อยลงได้ด้วย

การฉีดสารเคมีเข้าอวัยวะเพื่อคุมกำเนิดในสัตว์เพศผู้ นั้น มีมานานแล้วมากกว่า 50 ปี ซึ่งสารเคมีที่ฉีดเข้าไบนั้นจะทำให้เกิด Spermatogenic orchitis Severe oligospermia หรือ Azoospermia โดยไม่พบการสร้าง Anti-sperm antibodies ส่งผลให้ผสมไม่ติดใน 6 สัปดาห์ ต่อมา ปีค.ศ. 2003 องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้ยอมรับให้ใช้สารเคมีในการฉีดเข้าอวัยวะเพื่อทำหมันสุนัขเพศผู้

สารเคมีที่ใช้ฉีดเข้าอวัยวะสัตว์ได้นั้นมีหลายชนิด และให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกันด้วย เช่น การใช้ Zinc gluconate solution ในขนาดตามความกว้างของถุงหุ้มอวัยวะในลูกสุนัขอายุ 3 – 10 เดือน จากการตรวจอวัยวะทางพยาธิวิทยาหลังจากฉีดสารดังกล่าวไปแล้ว 10 สัปดาห์ พบว่าเกิด Fibrosis ใน Seminiferous tubules และ Leydig cells อย่างสมบูรณ์ (Jana and Samanta, 2011) นอกจากนี้ยังมีการใช้ Zinc arginine ฉีดเข้าไปในส่วนหางของ Epididymis แล้วส่งผลให้เกิด Azoospermia เมื่อดูลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะพบว่า Seminiferous tubules ยังปกติ แต่เกิดการฝ่อลีบของ Rete testes หลังฉีดไป 60 วัน (Oliveira et al., 2007) หรือการฉีด 70% Glycerol solution ทำให้เกิด Azoospermia และเป็นหมันในสุนัข (Jana and Samanta, 2011) นอกจากนี้ยังมีรายงานจากการศึกษาการคุมกำเนิดในสุนัขตัวผู้ ด้วยการฉีดสารแคลเซียมคลอไรด์ เข้าอวัยวะนั้น ไม่ทำให้สัตว์เกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงภายหลังการฉีดสารเคมี โดยอาจพบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอวัยวะอาจเพิ่มขึ้นบ้าง อาจมีแผลหลุมและการอักเสบที่ถุงหุ้มอวัยวะ แผลจากการกัดแทะของตัวสุนัขเอง Preputial swelling การอาเจียน ท้องเสีย เบื่ออาหาร อ่อนเพลียและ Leukocytosis ในช่วงเวลาสั้นๆ ภายหลังฉีด (Jana and Samanta, 2011)

ส่วนรายงานการฉีดสารแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10% เข้าอวัยวะของแมว พบว่าทำให้เกิด Necrosis ที่ Seminiferous tubule และเกิด Testicular atrophy ตามมา ส่วนแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 20% ทำให้เกิดการเสื่อมของ Germ cells อย่างสมบูรณ์เนื่องจากไม่พบขอบเขตที่แน่ชัดของ Seminiferous tubule และ Interstitial space อีกทั้งยังพบ Fibrous tissue และ Hyaline tissue การเสื่อมสลายของ Leydig cells ซึ่งส่งผลทำให้ระดับฮอร์โมน Testosterone ลดลง (Jana and Samanta, 2011) การแทรกตัวของ Leukocyte เข้าไปใน Seminiferous tubule และ Interstitial space ภายหลังการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ทำให้เกิดความเสียหายต่อ Testicular tissue นอกจากนี้การฉีดแคลเซียมคลอไรด์ยังทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระจำนวนมากใน Testicular tissue โดยอนุมูลอิสระจะไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ทั้งหมดและทำลายไขมันด้วยกระบวนการ Lipid peroxidation ทำให้ระดับฮอร์โมน Testosterone ลดลง (Jana and Samanta, 2011) การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการ

ฉีดสารแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เข้าอ้นทะเพียงครั้งเดียวเพื่อทำลายเซลล์ที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และทำให้แมวเป็นหมัน

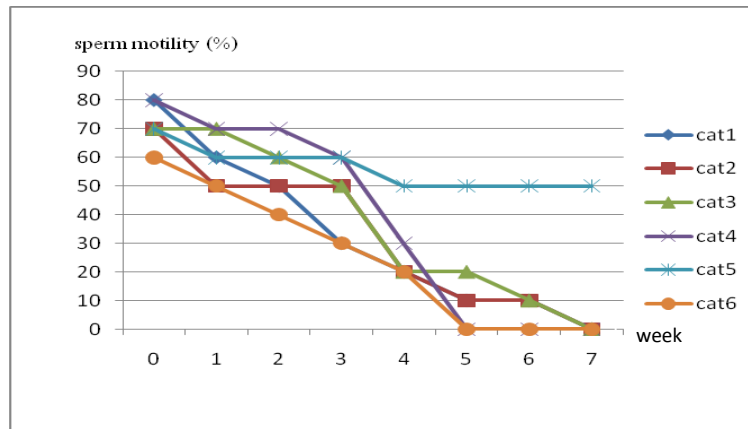
อุปกรณ์และวิธีการ

แมวบ้านเพศผู้สุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่มีโรคทางระบบสืบพันธุ์ ทำวัคซีนครบตามมาตรฐานการป้องกันโรคในแมว มีอายุ 1-3 ปี จำนวน 12 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละเท่าๆกัน แมวในกลุ่มที่ 1 ถูกฉีดด้วย 25% (W/V) CaCl_2 เข้าอ้นทะ ข้างละ 0.2 มล เพียงครั้งเดียว ส่วนแมวในกลุ่มที่ 2 ถูกฉีดด้วย 50% (W/V) CaCl_2 เข้าอ้นทะข้างละ 0.2 มล เพียงครั้งเดียวเช่นเดียวกัน ซึ่งตำแหน่งที่ฉีดคือบริเวณcaudal pole ของอ้นทะ แทะเข็มจนกระทั่งปลายเข็มอยู่บริเวณกึ่งกลางของลูกอ้นทะจึงทำการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ จากนั้นรีดน้ำเชื้อแมวทุกตัว ด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้า (Electro-Ejectulator) เพื่อนำน้ำเชื้อมาตรวจดูคุณภาพ ในด้านการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไปข้างหน้า (Sperm progressive motility) การมีชีวิตของตัวอสุจิ (Dead and live sperm) ความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ (Sperm morphology abnormality) ความเข้มข้นของตัวอสุจิ (Sperm concentration) และขณะเดียวกันทำการเจาะเลือดเพื่อนำไปตรวจหาระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (Testosterone hormone) โดยวิธี chemiluminescence สัปดาห์ละหนึ่งครั้งต่อเนื่องกันไปเป็นเวลา 2 เดือน ภายหลังจากฉีดสาร CaCl_2 เข้าสู่อ้นทะ การทดลองดังกล่าวดำเนินการภายใต้หลักสวัสดิภาพสัตว์ “อิสรภาพ 5 ประการ” คือ ได้รับอาหารและน้ำเพื่อบริโภค มีที่อยู่อาศัยอย่างสะดวกสบาย ได้รับการดูแลที่ดี มีการปฏิบัติด้วยความเมตตา และได้รับโอกาสแสดงพฤติกรรมตามธรรมชาติ โดยให้มันน้ำและอาหารเม็ดคุณภาพดีกินอย่างเต็มที่ อยู่ในกรงขนาดใหญ่ $100 \times 150 \times 120$ เซนติเมตร มีการทำความสะอาดกรงและสถานที่อยู่ทุกวัน มีการให้ยาป้องกันการเจ็บปวดและติดตามพฤติกรรมอย่างต่อเนื่องระหว่างการทำทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง จากนั้นผ่าตัดทำหมันแบบทำศัลยกรรม เพื่อนำอ้นทะมาตรวจดูลักษณะทางมหกายวิภาค และนำเนื้อเยื่ออ้นทะบางส่วนไปตรวจทางจุลพยาธิวิทยาด้วย

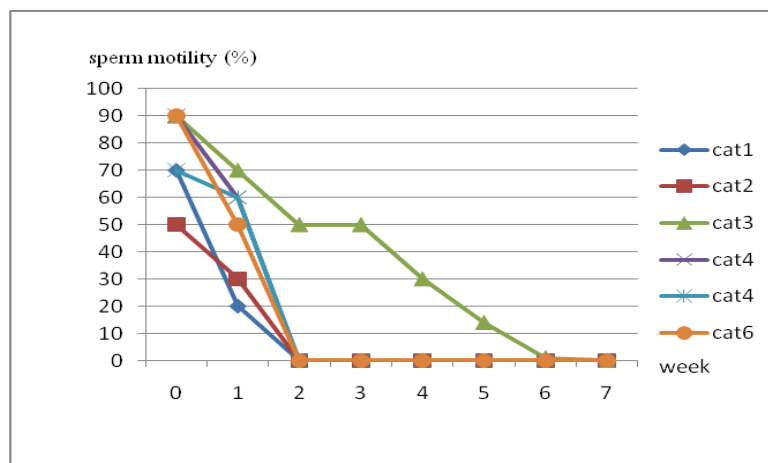
ผลการทดลอง

ผลการทดลองพบว่า เปอร์เซนต์อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า ของทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีจำนวนลดลงมากกว่าปกติ แมว 5/6 ตัว จากกลุ่มที่ 1 (ฉีด CaCl_2 25% W/V เข้าอ้นทะ) มีเปอร์เซนต์อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าลดลงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่ง 2 เดือนหลังจากฉีดแคลเซียมคลอไรด์ (กราฟที่ 1) ในขณะที่แมว 5/6 ตัว จากกลุ่มที่ 2 (ฉีด CaCl_2 50% W/V เข้าอ้นทะ) มีเปอร์เซนต์อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าลดลงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งไม่พบตัวอสุจิที่เคลื่อนที่เลย ภายในสัปดาห์ที่ 2 หลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ (กราฟที่ 2)

กราฟที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า จากแมวในกลุ่มที่ฉีด CaCl_2 25% (W/V) เข้าอัมชะ ในแต่ละสัปดาห์



กราฟที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์อสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า จากแมวในกลุ่มที่ฉีด CaCl_2 50% (W/V) เข้าอัมชะ ในแต่ละสัปดาห์



ด้านการมีชีวิตของตัวอสุจิ (Dead and live sperm) แมวทั้งสองกลุ่มพบว่ามีความจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตน้อยกว่าก่อนการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ แมวทุกตัวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) พบว่ามีความจำนวนอสุจิที่ตายเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 4 หลังฉีด แต่กลับพบตัวอสุจิที่มีชีวิตมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 ภายหลังการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ยกเว้น แมวตัวที่ 6 ที่มีความจำนวนอสุจิที่ตายเพิ่มขึ้น ในขณะที่แมว 5/6 ตัวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50%(W/V) พบว่ามีความจำนวนอสุจิที่ตายเพิ่มมากขึ้น และรีดไม่พบตัวอสุจิเลย ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนครบ 2 เดือนหลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ยกเว้น แมวตัวที่ 3 ในกลุ่มที่ 2 ที่พบว่ามีความจำนวนอสุจิที่ตายเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 4 ภายหลังการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ แต่กลับมีความจำนวนอสุจิที่มีชีวิตเพิ่มขึ้น ในสัปดาห์ที่ 6 ภายหลังการฉีดแคลเซียมคลอไรด์

ด้านความผิดปกติของตัวอสุจิ (Sperm abnormal morphology) แมวทั้งสองกลุ่มพบว่ามีความจำนวนตัวอสุจิที่ผิดปกติเพิ่มขึ้นมากกว่าก่อนการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ แมวทุกตัวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) พบว่ามีความจำนวนอสุจิที่ผิดปกติเพิ่มขึ้นหลังฉีด และเพิ่มขึ้นจนกระทั่ง 2 เดือน

หลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งจำนวนตัวอสุจิที่มีความผิดปกติที่หางมีมากกว่าจำนวนอสุจิที่มีความผิดปกติที่หัว ในขณะที่แมวส่วนใหญ่ในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50%(W/V) พบว่ามีจำนวนอสุจิที่ผิดปกติเพิ่มขึ้นหลังฉีด ซึ่งจำนวนตัวอสุจิที่มีความผิดปกติที่หางมีจำนวนมากกว่าจำนวนอสุจิที่มีความผิดปกติที่หัว และการรีดน้ำเชื้อไม่พบตัวอสุจิตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนกระทั่งครบ 2 เดือนหลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ยกเว้น แมวตัวที่ 3 ในกลุ่มที่ 2 ที่พบว่ามีจำนวนอสุจิที่ผิดปกติเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นจนกระทั่ง 2 เดือนหลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งจำนวนตัวอสุจิที่มีความผิดปกติที่หางมีจำนวนมากกว่าจำนวนอสุจิที่มีความผิดปกติที่หัว

ด้านความเข้มข้นของตัวอสุจิ (Sperm concentration) แมวทั้งสองกลุ่มพบว่ามีความเข้มข้นของน้ำเชื้อลดลงจากก่อนที่จะทำการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ แมวส่วนใหญ่ในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) พบว่ามีความเข้มข้นของตัวอสุจิตดลงหลังฉีด และลดลงเรื่อยๆจนถึงสัปดาห์ที่ 7 หลังฉีด ยกเว้นแมวตัวที่ 5 ในกลุ่มที่ 1 ที่มีความเข้มข้นของน้ำเชื้อกลับมาเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 หลังฉีด ในขณะที่แมว 5 ใน 6 ตัวจากกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 50% พบว่ามีความเข้มข้นของน้ำเชื้อลดลงหลังฉีด และรีดน้ำเชื้อไม่พบตัวอสุจิตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2-5 จนกระทั่ง 2 เดือนหลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ยกเว้น แมวตัวที่ 3 ในกลุ่มที่ 2 พบว่ามีความเข้มข้นของน้ำเชื้อลดลงหลังฉีด และลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งจบการทดลอง

ส่วนระดับฮอร์โมน Testosterone ที่พบหลังจากการฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอวัยวะเพศที่ความเข้มข้น 25% และ 50% ส่งผลให้ระดับฮอร์โมน Testosterone ลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ ดังตารางที่ 1 และ 2

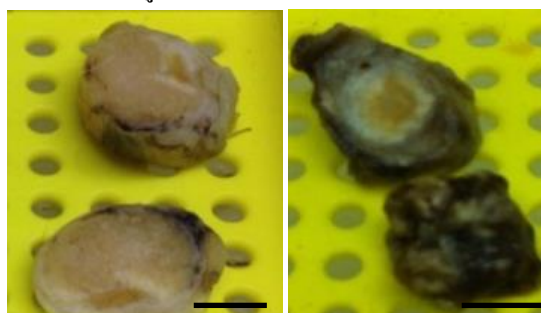
ตารางที่ 1 แสดงระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในกระแสเลือด (ng/ml) ของแมวกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) ในแต่ละสัปดาห์

Animals Testosterone	Cat1	Cat2	Cat3	Cat4	Cat5	Cat6
Week 0	9.82	8.86	5.86	3.32	6.37	6.06
Week 1	1.41	2.19	4.2	0.5	2.92	0.76
Week 2	3.5	0.81	4.74	2.55	2.78	3.66
Week 3	2.02	6.96	2.8	2.69	1.41	3.97
Week 4	4.35	4.59	1.66	2.4	4.15	2.08
Week 5	2.26	3.82	2.56	1.37	3.42	3.24
Week 6	1.86	1.68	1.96	1.45	3.48	2.56
Week 7	2.43	4.47	2.26	2.77	3.26	1.24

ตารางที่ 2 แสดงระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในกระแสเลือด (ng/ml) ของแมวกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50% (W/V) ในแต่ละสัปดาห์

Animals Testosterone	Cat1	Cat2	Cat3	Cat4	Cat5	Cat6
Week 0	6.86	3.09	3.67	3.7	9.22	3.47
Week 1	0.33	0.3	2.8	1.36	0.38	0.41
Week 2	0.43	0.67	3.01	2.69	0.24	0.24
Week 3	0.5	0.24	1.03	2.69	0.33	0.29
Week 4	0.49	0.28	2.23	2.45	0.27	0.29
Week 5	0.36	0.33	1.74	0.85	0.33	0.24
Week 6	0.39	0.26	1.96	1.45	0.48	0.33
Week 7	0.42	0.28	2.26	0.82	0.26	0.24

ลักษณะทางมหากายวิภาคของอวัยวะ หลังจากฉีดแคลเซียมคลอไรด์มาแล้ว 60 วัน พบว่าอวัยวะของแมวกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) และ 50% (W/V) มีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับก่อนทำการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อเปิดผ่าดูพบว่าอวัยวะของแมวกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50% (W/V) พบเนื้อตายและแผลเป็น ซึ่งไม่พบในอวัยวะของแมวกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) ดังรูปที่ 1 และ 2

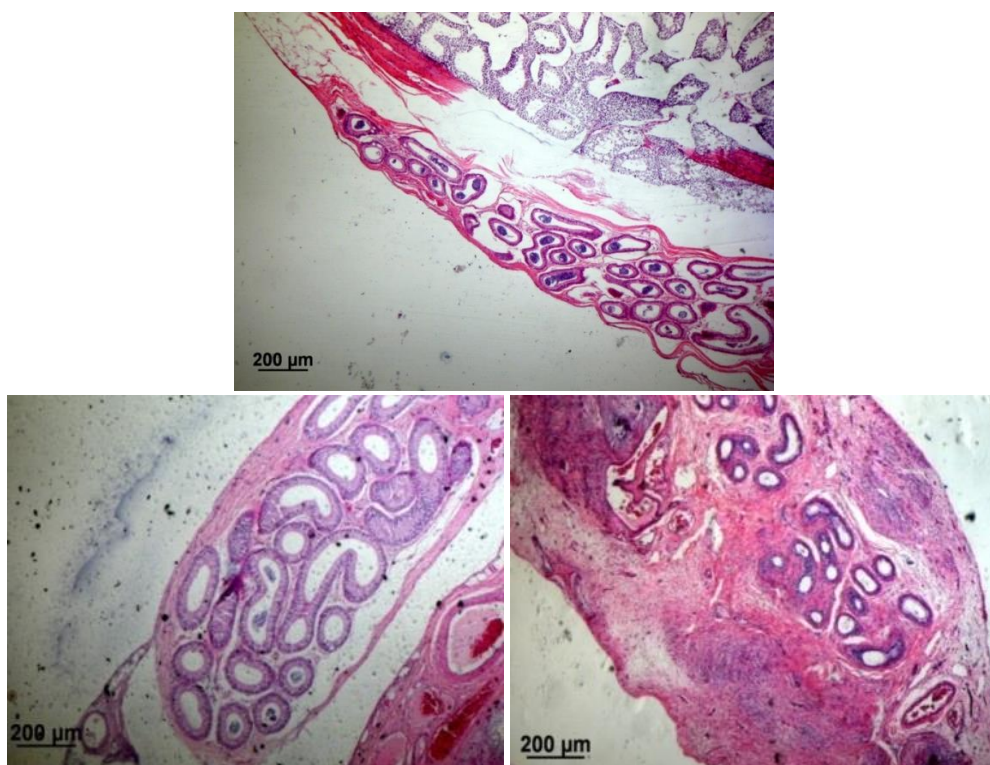


รูปที่ 1 (ซ้าย) ลักษณะทางมหากายวิภาคของอวัยวะแมวกลุ่มที่ฉีด 25% (W/V) แคลเซียมคลอไรด์ มาแล้ว 60 วัน (bar = 0.5 ซม.)

รูปที่ 2 (ขวา) ลักษณะทางมหากายวิภาคของอวัยวะแมวกลุ่มที่ฉีด 50% (W/V) แคลเซียมคลอไรด์ มาแล้ว 60 วัน (bar = 0.5 ซม.)

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะ หลังฉีดแคลเซียมคลอไรด์ 60 วัน พบว่าแมวทั้งสองกลุ่มมีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Epididymis แตกต่างไปจากปกติ (รูปที่ 3) โดยแมวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) พบลักษณะการเสื่อมของท่อนำตัวอสุจิ และยังมีตัวอสุจิอยู่

บ้างในท่อนำตัวสุจิ (รูปที่ 4) ส่วนแมวกุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50% (W/V) พบความเสียหายที่รุนแรงกว่า คือพบเซลล์ตายและมี Fibrous tissue จำนวนมากแทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อของ Epididymis และไม่พบตัวสุจิในท่อนำตัวสุจิ (รูปที่ 5)

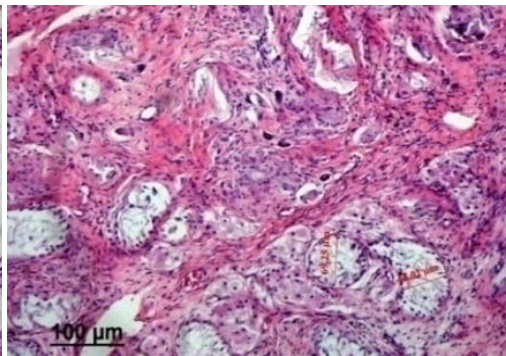
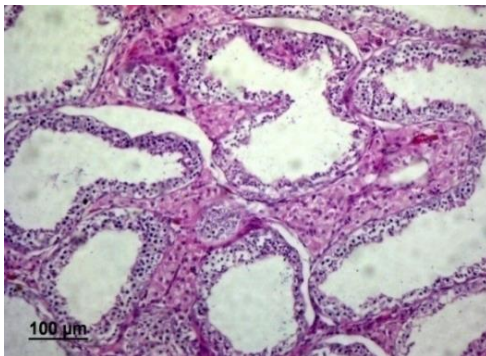
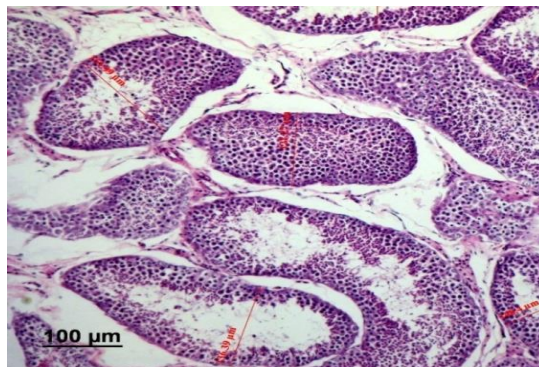


รูปที่ 3 (บน) ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Epididymis ในแมวกุ่มที่ไม่ได้ฉีดแคลเซียมคลอไรด์

รูปที่ 4 (ซ้าย) ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Epididymis ของแมวกุ่มที่ฉีด 25% (W/V) แคลเซียมคลอไรด์ด้วย ซึ่งพบว่าการเสื่อมของท่อ Epididymis และบางท่อ Epididymis ไม่พบตัวสุจิ เริ่มมี fibrous tissue แทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อ

รูปที่ 5 (ขวา) ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Epididymis ของแมวกุ่มที่ฉีด 50% (W/V) แคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งพบว่าท่อ Epididymis เกิดการตายขนาดเล็กลง และมี Fibrous tissue จำนวนมากแทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อ และไม่พบว่ามีตัวสุจิอยู่ในท่อ Epididymis

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Seminiferous tubule ในแมวทั้งสองกลุ่ม แตกต่างจากแมวปกติ (รูปที่ 6) โดยแมวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 25% (W/V) พบว่าเซลล์สร้างตัวอสุจิใน Seminiferous tubule บางส่วนเกิดการเสื่อมสภาพไป มี Fibrous tissueแทรกเล็กน้อย แต่ยังพบตัวอสุจิอยู่บ้างภายในท่อ Seminiferous tubule (รูปที่ 7) ซึ่งแตกต่างจากแมวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 50% (W/V) พบว่าท่อ Seminiferous tubule เกิดเนื้องอกและมีการอักเสบอย่างมาก พบ fibrous tissue จำนวนมากแทรกอยู่ระหว่าง Seminiferous tubule และไม่พบการสร้างตัวอสุจิภายในท่อ (รูปที่ 8)



รูปที่ 6 (บน) ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Seminiferous tubule ในแมวปกติที่ไม่ได้ฉีดแคลเซียมคลอไรด์

รูปที่ 7 (ซ้าย) ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Seminiferous tubule ในแมวในกลุ่มที่ฉีด 25% (W/V) แคลเซียมคลอไรด์

รูปที่ 8 (ขวา) ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ Seminiferous tubule ในแมวในกลุ่มที่ฉีด 50% (W/V) แคลเซียมคลอไรด์

วิจารณ์ผลการทดลอง

การฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอณฑะแมวทั้งสองข้างเพียงครั้งเดียวเพื่อทำหมัน โดยแคลเซียมคลอไรด์ ส่งผลให้เกิดการตายแบบจับตัวกันเป็นก้อนของเนื้อเยื่ออณฑะเกือบทั้งหมด สอดคล้องกับข้อมูลในรายงานก่อนหน้านี้ที่พบในสุนัข หนู และแมว (Jana and Samanta, 2011; Jana and Samanta, 2006; Jana et al., 2002; Jana et al., 2005) ที่ 60 วัน หลังจากการฉีดแคลเซียมเข้าอณฑะแมวทั้งสองข้าง พบว่าลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอณฑะแมวในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 50% (W/V) ในส่วนของ Epididymis, Leydig cell และ Seminiferous tubule เกิดความเสียหายไปมากกว่าในแมวก่อนที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 25% (W/V) เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงทำให้เกิดการ Necrosis และมี Fibrous tissue แทรกอยู่ตามเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ จึงทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง ส่วนแมวก่อนที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 25% (W/V) พบแค่การเสื่อมของเซลล์บางส่วน จึงสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้น 25%(W/V) ยังไม่สามารถทำให้สัตว์เป็นหมันได้ เนื่องจากเซลล์ที่เสื่อมไปอาจมีการซ่อมแซมตัวเองกลับมา ทำให้ยังคงมีการสร้างตัวอสุจิและฮอร์โมน Testosterone ในขณะที่การฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50% (W/V) สามารถสร้างความเสียหายต่อคุณภาพน้ำเชื้อได้มากและใช้ระยะเวลาน้อยกว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) ซึ่งตรงข้ามกับผลจากการศึกษาก่อนหน้า (Jana and Samanta, 2011) ที่รายงานว่าแมวก่อนที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 20% กลับมีส่วนของเนื้อเยื่ออณฑะที่ถูกทำลายอย่างสมบูรณ์โดยที่ไม่พบ Germ cells หรือ Leydig cells ร่วมกับมี Fibrous tissue และ Hyaline tissue แทรก

จากการฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอณฑะ พบว่าระดับความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่ต่างกันส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อด้วย โดยในการทดลองพบว่าแมวก่อนที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 50% (W/V) มีการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิที่ลดลงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ด้วยความเข้มข้น 25% (W/V) เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงกว่า จึงส่งผลให้ส่วนของ Epididymis เกิดความเสียหายมากกว่า เมื่อตรวจจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิต พบว่ามีแมว 1 ตัว (16.67%) ในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) มีจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตลดลงเรื่อยๆ จนจบการทดลอง ซึ่งแตกต่างจากตัวอื่นๆในกลุ่มที่มีจำนวนอสุจิมีชีวิตเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 โดยสาเหตุอาจเกิดจาก Seminiferous tubule ที่เกิดการเสื่อมไปไม่มีการซ่อมแซมตัวเองกลับมา จึงทำให้ตัวอสุจิที่มีชีวิตยังคงลดลงต่อไปจนจบการทดลอง ในทางตรงกันข้ามพบว่าแมว 1 ตัว (16.67%) ในกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50% (W/V) มีจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 หลังฉีด ซึ่งแตกต่างจากตัวอื่นๆในกลุ่มที่มีจำนวนอสุจิมีชีวิตลดลงเรื่อยๆ จนครบ 2 เดือน ซึ่งน่าจะเกิดจากสาเหตุที่ว่า Seminiferous tubule ที่เกิดการเสื่อมไปบางส่วนมีการซ่อมแซมตัวเองกลับมา จึงทำให้มีจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นมา แต่ทั้งสองข้อมูลที่พบเป็นเพียงส่วนน้อยของแมวทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม จึงสรุปได้ว่าแมวก่อนที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V) สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อคุณภาพน้ำเชื้อและมีผลระดับฮอร์โมน Testosterone ได้ แต่ต้องใช้ระยะเวลาในการสร้างความเสียหายนานกว่าที่ระดับความเข้มข้น 50% (W/V) และอาจพบการซ่อมแซมตัวเองของเนื้อเยื่ออณฑะซึ่งทำให้คุณภาพน้ำเชื้อกลับมาเพิ่มสูงขึ้นได้ จึงทำให้สัตว์ไม่เป็นหมัน จากการศึกษาที่ผ่านมา (Jana and Samanta, 2011) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอณฑะแมว ทำให้เกิดการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวเข้าสู่ Seminiferous tubule และ interstitial spaces ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่ออณฑะแล้ว

ปลดปล่อย Chemotactic factors ออกมาเป็นจำนวนมาก ส่วน Factor อื่นๆ ที่ถูกเรียกเข้ามาเป็นจำนวนมากภายในเนื้อเยื่ออวัยวะเช่นเดียวกันก็คืออนุมูลอิสระ ซึ่งการสร้างอนุมูลอิสระภายในอวัยวะส่งผลให้ระดับ testosterone ลดลง แคลเซียมคลอไรด์ ถือเป็นสารเคมีสำคัญที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระภายในเนื้อเยื่อของอวัยวะ โดยอนุมูลอิสระจะไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ทั้งหมดและไขมันด้วยกระบวนการ Lipid peroxidation สาเหตุที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระภายในอวัยวะนั้นจึงน่าจะเกิดจากการแทรกตัวเข้ามาของเม็ดเลือดขาว จึงสันนิษฐานได้ว่าความเสียหายของเนื้อเยื่ออวัยวะในการทดลองน่าจะมาจากการเกิดอนุมูลอิสระภายในอวัยวะ ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการสร้างตัวสุจิและการสร้างฮอร์โมน Testosterone ในปัจจุบัน วิธีการทำหมันถาวรในแมวที่นิยมมากที่สุดก็คือการผ่าตัดทำหมัน แต่ปัจจุบันมีทางเลือกในการทำหมันถาวรรูปแบบอื่นที่ไม่ต้องอาศัยการผ่าตัด ซึ่งส่งผลให้ระดับ Testosterone ลดลงด้วย ข้อดีในการทำหมันด้วยการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ก็คือมีราคาถูก สัตว์ไม่ต้องวางยาสลบ และใช้เวลาในการทำหมันต่อตัวน้อย ทำหมันสัตว์ได้จำนวนมากภายในครั้งเดียว ส่วนข้อเสียของวิธีดังกล่าวคือ ใช้ระยะเวลาออกฤทธิ์นานประมาณ 2 สัปดาห์ และทำให้สัตว์เกิดการอักเสบที่อวัยวะหลังฉีดสารเคมี การฉีดแคลเซียมคลอไรด์เข้าอวัยวะเพียงครั้งเดียวเพื่อทำหมันในแมวที่ความเข้มข้น 25% (W/V) ยังไม่สามารถทำให้สัตว์เป็นหมันได้ เนื่องจากเซลล์ที่เสื่อมไปอาจมีการซ่อมแซมตัวเองกลับมา ทำให้ยังคงมีการสร้างตัวสุจิและฮอร์โมน testosterone ได้ ซึ่งแตกต่างจากระดับความเข้มข้นที่ 50% (W/V) ที่สร้างความเสียหายต่อเนื้อเยื่ออวัยวะและคุณภาพน้ำเชื้อได้มากกว่าโดยใช้ระยะเวลาสั้นกว่า จึงสรุปได้ว่าแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50% (W/V) จึงมีประสิทธิภาพในการทำหมันมากกว่าแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25% (W/V)

เอกสารอ้างอิง

- Jana, K., Samanta, P.K. and Ghosh, D. 2002. Dose dependent response to an intratesticular injection of calcium chloride for induction of chemosterilization in adult albino rats. *Vet. Res. Commun.* 26: 651-673.
- Jana, K., Ghosh, D. and Samanta, P.K. 2005. Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for non-surgical sterilization of male goats (*Capra hircus*): a dose dependent study. *Anim. Reprod. Sci.* 86: 89-108.
- Jana, K. and Samanta, P. K. 2006. Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for non-surgical sterilization in adult albino rats. *Contraception.* 73: 289-300.
- Jana, K. and Samanta, P.K. 2007. Sterilization of male stray dogs with a single intratesticular injection of calcium chloride: a dose dependent study. *Contraception.* 75: 390-400.
- Jana, K. and Samanta, P.K. 2011. Clinical evaluation of non-surgical sterilization of male cat with single intra-testicular injection of Calcium chloride. *BMC Vet. Res.* 7: 39.

Oliveira, E. C. S., Moura, M. R., Silva, V. A., Peixoto, C. A., Saraiva, K. L. A., Cavalcanti, M. J., Douglas, R. H. and Marques, A. P. 2007. Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs. *Theriogenology*. 68: 137-145.

การศึกษาวิธีการย้อมสีพยาธิใบไม้ *Prosthogonimus pellucidus* ที่ผ่านการเก็บรักษา
ใน 10% buffer formalin เพื่อทำสไลด์ถาวร

กฤษฎา ขำพูล*

*ผู้รับผิดชอบบทความ: กฤษฎา ขำพูล (e-mail address: kggrisada@hotmail.com)

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

[บทนำ] *Prosthogonimus pellucidus* เป็นพยาธิใบไม้ที่ตรวจพบได้ใน bursa of fabricius oviduct และ ลำไส้ใหญ่ ของไก่ เป็ด และนกป่า สัตว์เหล่านี้มักพบว่าเป็นตัวอมโรคให้สัตว์ชนิดอื่น ซึ่งจะก่อความเสียหายให้กับฟาร์ม สัตว์ปีกและด้านสาธารณสุขอีกด้วย ตัวพยาธิที่ตรวจพบจากสิ่งส่งตรวจมักจะถูกนำไปใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาลักษณะโครงสร้างให้นักศึกษาสัตวแพทย์ ในการศึกษาตัวพยาธิ นั้นต้องศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์ และข้อจำเป็นของการใช้ตัวพยาธิสดกับ ตัวพยาธิใน permanent slide ก็คือระยะเวลาที่ต้องใช้ในการเพ่งสังเกตนั่นเอง

[วิธีดำเนินการวิจัย] วิธีการนี้ค่อนข้างง่าย สภาพพยาธิ *P. pellucidus* ที่ถูก fix ไว้ใน 10 % buffer formalin solution ควรสะอาดและแบน จากนั้นตัวพยาธิจะถูกแช่ใน 70% ethanol ก่อนที่จะถูกย้อมด้วยสีที่หนึ่ง Semichon's acetic acid carmine 1 % นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นตัวพยาธิจะถูกย้อมด้วยสีที่สอง Fast green FCF 0.04% นาน 5 วินาที และสุดท้ายตัวพยาธิจะถูก mount ด้วยสารละลาย permount และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์

[ผลการวิจัย] สิ่งที่ต้องการในการย้อมสีคือความแตกต่างขององค์ประกอบภายในเนื้อเยื่อ จากงานวิจัยพบว่าการติดสีของตัวพยาธิ ที่อวัยวะภายใน testes และ ovary ติดสีแดงอมม่วง intestinal caeca uterus และ vitelline glands ติดสีแดงอมน้ำตาลของสี Semichon's acetic acid carmine แต่ skin จะติดสีเขียวของสี Fast green FCF ได้อย่างชัดเจน

[วิจารณ์] การใช้พยาธิในแผ่นสไลด์ถาวรเพื่อการศึกษาโครงสร้างภายในจึงเหมาะสม กว่าการศึกษาจากพยาธิตัวสด เพราะสะดวก รวดเร็ว และชัดเจนมากกว่า นอกจากนั้นอายุการใช้งานของตัวพยาธิยังยาวนานอีกด้วย การปรับปรุงวิธีการย้อมสีนี้ก็เพื่อให้วิธีการมันง่าย รวดเร็วประหยัด และไม่ต้องใช้ความชำนาญมาก ซึ่งเหมาะสำหรับนักปริสิตมือใหม่และนักศึกษาในสายงานวิทยาศาสตร์การสัตวแพทย์ที่ต้องการย้อมสีพยาธิชนิดนี้

เอกสารอ้างอิง

1. อาคม สังข์วรานนท์. 2541. ปาราสิตวิทยาทางสัตวแพทย์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 412 หน้า.

**A modified method of permanently stained slide for the fixed *Prosthogonimus pellucidus*
in 10% buffer formalin**

Grisada Khumpool*

*Corresponding author: Grisada Khumpool (e-mail address: kgrisada@hotmail.com)

Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

Abstract

[Introduction] *Prosthogonimus pellucidus* occurs in the bursa of fabricius, oviduct and posterior intestine of fowl, ducks and wild birds that consider as potential reservoir hosts for many parasitic diseases that may affect seriously both farmed avian and the public health. After the avian were identified by postmortem, the specimens will be suitable for morphological study of veterinary students. When using a microscope the difference between a fresh fluke and a permanent slide is the length of time it is going to be used.

[Materials and Methods] This method is basically, the fixed *P. pellucidus* in the 10% buffer formalin solution should be clean and flattened. The fluke was fixed in 70% ethanol before staining by the first dye Semichon's acetic acid carmine 1% for 1 h. After that, the fluke was stained again by the second dye Fast green FCF 0.04% for 5 sec. Finally, that was mounted by permount solution and left in room temperature for one weeks.

[Results] Staining is needed to give a contrast between the different components of the tissues. The *P. pellucidus* was stained by two dyes. The results present that a color of the internal organs: testes and ovary were violet red but the intestinal caeca, uterus and vitelline glands were violet brown from Semichon's acetic acid carmine. Moreover, the external surface such as skin was green from Fast green FCF.

[Discussion] A permanent slide is one that is meant to be kept and used for the long time. The method is simple, fast, inexpensive, and can be used by untrained personnel. It can also be used by trained parasitologists who need to stain the fluke for veterinary science.

Reference

1. อาคม สังข์วรานนท์. 2541. ปราสิดวิทยาทางสัตวแพทย์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 412 หน้า.

การวัดผลของการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ต่อการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp.

ในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็ก

จำลอง มิตรชาวไทย^{1,*} กมลชนก ศรีเอียง¹ ภัทรพงศ์ จันทร์เจริญ² รัชกฤษ เลิศภัทรโกมล¹

ทัศนีย์ ตรีรัตน์อภิวาน¹ และ ดวงจิต คณิงเพียร¹

*ผู้รับผิดชอบบทความ : จำลอง มิตรชาวไทย (e-mail address: jmitthaiohai@yahoo.com)

¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

²สำนักงานสัตวแพทย์สาธารณสุข สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

[บทนำ]ปัจจุบันโรคฆ่าไก่ขนาดเล็กในประเทศไทยมีจำนวนมาก ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโรงฆ่าเหล่านี้ใช้เพื่อการบริโภคภายในประเทศ ซึ่งเนื้อไก่ที่ได้มาจากโรงฆ่าไก่ขนาดเล็กมีโอกาสการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ก่อนเข้าสู่การแปรรูปเนื่องจากมีข้อจำกัดทางด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ สิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ และงบประมาณ การลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ทำได้โดยการปรับปรุงด้วยการจัดการทางด้านสุขศาสตร์ (1) การตรวจหาการปรากฏของเชื้อ *Salmonella* spp. โดยไม่ได้วัดระดับการปนเปื้อนมีผลทำให้การวัดประสิทธิผลของการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ทำได้ลำบาก รวมทั้งนำผลการศึกษาไปใช้อธิบายให้กับผู้เกี่ยวข้องได้ยากลำบาก ดังนั้นการลดปัญหานี้ การวัดเชิงปริมาณโดยใช้แบบจำลองทางระบาดวิทยามาเป็นเครื่องมือวัด (2) น่าจะเป็นประโยชน์ และเป็นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้

[วิธีดำเนินการวิจัย]การศึกษานี้ทำในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็ก (กำลังการผลิต = 200-250 ตัว/วัน) ทำการสังเกตขั้นตอนการทำงานและขั้นตอนการผลิตตั้งแต่การนำไก่เข้าสู่กระบวนการฆ่าจนถึงขั้นตอนสุดท้าย การประเมินความเสี่ยงที่อาจมีผลทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ทำโดยการสังเกตและการตรวจวัดปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ที่จุดต่างๆ ของกระบวนการฆ่าไก่ โดยเน้นตรวจวัดการ

ปนเปื้อนใน cloaca บนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่ที่ถอนขนแล้ว และซากไก่สุดท้ายพร้อมจำหน่าย จากนั้นลดปัจจัยเสี่ยงที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในโรงฆ่าไก่ โดยการปรับปรุงทางด้านสุขศาสตร์ จากนั้นทำการตรวจวัดการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ซ้ำในจุดเดิมเหมือนกับการตรวจวัดก่อนการปรับปรุง วัดผลสัมฤทธิ์ของการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ในการลดการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ภายหลังการปรับปรุง โดยการวิเคราะห์ทางสถิติหาความแตกต่างของสัดส่วนการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ในแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างก่อนและหลังปรับปรุงด้วยวิธี Chi's square สำหรับการวัดประสิทธิผลเชิงปริมาณของการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ ทำโดยใช้แบบจำลอง logistic regression โดยแยกวิเคราะห์ในแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างจำนวน 4 จุด (ตารางที่ 1) โดยใช้ผลการตรวจวัดเชื้อก่อนการปรับปรุงเป็นค่าอ้างอิง การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม SPSS

[ผลการวิจัย]ผลของการศึกษาในครั้งนี้แสดงดังตารางที่ 1 ภายหลังจากการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติโดย Chi square บ่งชี้ว่า การปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ใน cloaca ไม่ได้ลดลงหลังการปรับปรุง ในขณะที่การปนเปื้อนเชื้อบนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่ที่ถอนขนแล้ว และซากไก่สุดท้ายพร้อมจำหน่าย ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่า

Odd ratio (OR) ของการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ก่อนการปรับปรุงเปรียบเทียบกับหลังการปรับปรุง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของการปนเปื้อนเชื้อใน cloaca content แต่การปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ในโรงฆ่าไก่สามารถลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. บนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่ที่ถอนขนแล้ว และซากไก่สุดท้ายพร้อมจำหน่ายที่ระดับ 4.21 (1/0.238), 7.67 (1/0.130) และ 91.00 (1/0.011) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบก่อนปรับปรุงกับหลังปรับปรุง

[วิจารณ์]เชื้อ *Salmonella* spp. ที่พบใน Cloaca ของไก่มีการสะสมหรือต้นกำเนิดมาจากฟาร์มเป็นหลักซึ่งซากที่จะลดปริมาณเชื้อ แต่การลดการปนเปื้อนเชื้อข้ามตัวไก่โดยการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ทำได้ง่าย ซึ่งการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์นี้มีจุดประสงค์เพื่อลดปริมาณเชื้อในสิ่งแวดล้อมและการรั่วไหลของเชื้อออกมา ระบบทางเดินอาหารของไก่ ด้วยเหตุผลนี้สามารถอธิบายการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ลดลงบนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่ที่ถอนขนแล้ว และซากไก่สุดท้ายพร้อมจำหน่ายภายหลังการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ โดยการทำความสะอาดพื้นคอกขังไก่ การล้างทำความสะอาดซากไก่และอุปกรณ์ที่ใช้ และการปรับเปลี่ยนเส้นทางของกระบวนการผลิต (slaughter-line) รวมทั้งการล้างซากไก่ด้วยน้ำ

ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ (3) แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่าง คือ 1) บนตัวไก่ที่มีชีวิตมาจากการปนเปื้อนเชื้อที่คอกขังไก่ 2) ซากไก่ที่ถอนขนแล้วมาจากขนและเครื่องถอนขน และ 3) ซากไก่สุดท้ายพร้อมจำหน่าย ซึ่งโดยหลักการแล้วหากเรียงลำดับความยากในการลดการปนเปื้อนเชื้อจากมากไปน้อยสามารถเรียงลำดับได้จากข้อ 1) 2) และ 3) โดยมีความสอดคล้องกับค่า OR ที่วัดได้จากแบบจำลอง ดังนั้นการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Chi square และ logistic regression ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน แต่การวิเคราะห์ด้วย logistic regression ทำให้ได้ข้อมูลเชิงปริมาณที่มากกว่าและนำผลมาเปรียบเทียบได้มากกว่า

กิตติกรรมประกาศ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (รหัสนโครงการ RDG5520031)

เอกสารอ้างอิง

1. Mitchaothai, J., et al. 2013. The 4th Proc Meat Sci Tech. 19 July 2013: 75-80.
2. Berends, B.R., et al. 1996. Int J Food Microbiol. 30: 27-36.
3. Tsola, E., et al. 2008. Food Control. 19: 423 – 431.

จุดที่เก็บตัวอย่าง	ก่อนการปรับปรุง	หลังการปรับปรุง	β	OR	95% CI	P-value
Cloaca	41% (16/39)	35% (14/40)	-0.256	0.774	0.311 – 1.924	0.581
บนตัวไก่มีชีวิต	55% (22/40)	23% (9/40)**	-1.437	0.238	0.090 – 0.626	0.004
ซากไก่หลังถอนขน	58% (23/40)	15% (6/40)***	-2.037	0.130	0.045 – 0.381	<0.0001
ซากไก่พร้อมจำหน่าย	70% (28/40)	3% (1/40)***	-4.511	0.011	0.001 – 0.089	<0.0001

ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์โดย Chi square และ logistic regression

P<0.01 และ *P<0.001 ความแตกต่างทางสถิติของสัดส่วนการพบเชื้อ *Salmonella* spp. ระหว่างก่อนและหลังการปรับปรุง ที่ระดับ P<0.01 และ P<0.001 ตามลำดับ, OR = Exp (β) = Odd ratio

Measurement for impact of updating hygiene management on *Salmonella* spp. contamination in a small scale chicken slaughterhouse

Jamlong Mitchaothai^{1,*}, Kamonchanok Srieang¹, Pattarapong Chancharoen²,
Rachakris Lertpatarakomol¹, Tassanee Trairatapiwan¹ and Doungjit Kanungpean¹

*Corresponding author: Jamlong Mitchaothai (e-mail address: jmitchoathai@yahoo.com)

¹ Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

² Office of Veterinary Public Health, Department of Health, Bangkok

Abstract

[Introduction] In Thailand, there are many small scale chicken slaughterhouses, which usually produced chicken meat for Thai consumers. These slaughterhouses were expected high contamination of *Salmonella* spp. as constraint of facilities, equipments and budget. Reducing risks of *Salmonella* spp. contamination on chicken carcasses would be done by improving hygiene management in the slaughterhouse (1). Detecting the presence of *Salmonella* spp. without quantity is hardly to determine efficacy of updating the slaughterhouse and also difficult to explain or communicate to involved people. To solve this problem, quantitative measurement by the use of epidemiological model would be useful tools (2) and was the aim of this study.

[Materials and Methods] A small scale chicken slaughterhouse (capacity = 200 – 250 chickens/day) was used for the current study. The regular procedure and practice involved all slaughtering processes were observed, from before entering to end of the slaughter-line. Some possible risk factors for *Salmonella* spp. contamination were evaluated by observation and detection (bacterial culture) of *Salmonella* spp. in several points of the slaughter-line, especially in cloaca, on chicken body, de-feathering

chicken carcasses and finished chicken carcasses. Then, the proposed risk factors were adopted for updating hygiene management to lower contamination of *Salmonella* spp. in the slaughterhouse and the contamination of *Salmonella* spp. was repeatedly measured at the same points of those prior to updating. Proportion of positive results of *Salmonella* spp. detection was calculated for before and after the updating. The Chi square used to detect the difference of positive proportion of *Salmonella* spp. between before and after the updating. To quantify the impact of the updating, the authors used logistic regression model. The model was used for four separate analyses (Table 1) by using the before updating as reference values. All statistical analyses were performed by the use of SPSS.

[Results] The results of the current study have been shown in the Table 1. After updating the slaughterhouse, the results of Chi square analysis indicated that the contamination of *Salmonella* spp. in cloaca was not decreased, while that on live chicken body, de-feathering carcasses and finished carcasses were reduced significantly. Odd ratios (OR) for detecting *Salmonella* spp. before updating compared with after updating showed no presence of the

updating impact on *Salmonella* spp. content in cloaca. However, the updating hygiene management could reduce risk for contamination of *Salmonella* spp. on live chicken bodies, de-feathering carcasses and finished carcasses at the level of 4.21 (1/0.238), 7.67 (1/0.130) and 91.00 (1/0.011) times, respectively when comparing between before and after updating.

[Discussion] *Salmonella* spp. was found in the cloaca of chicken would be mainly originated from chicken farm and rather difficult to reduce it, but easier to lower cross contamination with other chickens by hygiene management. This would lead to the fact that updating the slaughterhouse was done by improving hygiene management to reduce bacteria load from environment and decrease leakage from gastrointestinal tract. These reasons could also explain the results found at live chicken body, de-feathering carcasses and finished carcasses, which were expected that there were main effect of cleaning pen, chicken carcass & equipment washing and adjusting slaughter-line & chicken carcass washing, respectively in accordance with the

earlier report (3). The main sources of *Salmonella* spp. contamination would be 1. live chicken bodies; contaminated pen, 2. de-feathering carcasses; feather and plucking machine and 3. finished carcasses; fecal content. Logically, the difficulty to reduce contamination would be ranged from high to low as the order of the message in 1., 2. and 3. as mentioned earlier. This ordering was in agreed with value of the OR obtained from the modeling. Hence, the statistical analysis by the use of Chi square analysis and logistic regression modeling had similar direction of the results, but logistic regression modeling gave more information and comparable.

Acknowledgement

Thailand Research Fund (Project ID: RDG5520031)

References

1. Mitchaothai J., et al. 2013. The 4th Proc Meat Sci Tech. 19 July 2013: 75-80.
2. Berends, B.R., et al. 1996. Int J Food Microbiol. 30: 27-36.
3. Tsola, E., et al. 2008. Food Control. 19: 423 – 431.

Table 1. Results of Chi square and logistic regression analysis

Sampling point	Before updating	After updating	β	OR	95% CI	P-value
Cloaca	41% (16/39)	35% (14/40)	-0.256	0.774	0.311 – 1.924	0.581
Live chicken body	55% (22/40)	23% (9/40)**	-1.437	0.238	0.090 – 0.626	0.004
De-feathering carcass	58% (23/40)	15% (6/40)***	-2.037	0.130	0.045 – 0.381	<0.0001
Finished chicken carcass	70% (28/40)	3% (1/40)***	-4.511	0.011	0.001 – 0.089	<0.0001

P<0.01 and *P<0.001 Significant difference between before and after the updating for positive proportion of *Salmonella* spp. at P<0.01 and P<0.001, respectively. OR = Exp (β) = Odd ratio

การวัดประสิทธิผลของการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็ก

กมลชนก ศรีเอียง^{1,*} จำลอง มิตรชาวไทย¹ ภัทรพงศ์ จันทร์เจริญ² รัชกฤษ เลิศภัทรโกมล¹

ทัศนีย์ ตรีรัตน์อภิวัน¹ และ ดวงจิต คงนึ่งเพียร

*ผู้รับผิดชอบบทความ : กมลชนก ศรีเอียง (e-mail address: mameaw_miss_u@hotmail.com)

¹ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

² สำนักงานสัตวแพทย์สาธารณสุข สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

[บทนำ] โรงฆ่าไก่ขนาดเล็กมีเป็นจำนวนมากในประเทศไทย โดยผลิตเนื้อไก่เพื่อการบริโภคภายในประเทศ โรงฆ่าไก่ขนาดเล็กมีโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนแบคทีเรียได้สูง เนื่องจากมีข้อจำกัดของขนาดโรงฆ่าเองและความพร้อมของอุปกรณ์-เครื่องมือต่างๆ จากรายงานก่อนหน้านี้ (1) รายงานว่าการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็กช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (total aerobic bacteria; TAB) ระหว่างกระบวนการฆ่าได้ แต่ไม่ได้วัดประสิทธิผลของการลดปริมาณแบคทีเรีย ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงต้องการศึกษาและวัดประสิทธิผลของการลดลงของปริมาณแบคทีเรีย

[วิธีดำเนินการวิจัย] การศึกษานี้ทำในโรงฆ่าไก่ขนาดเล็ก (กำลังการผลิต = 200-250 ตัว/วัน) โดยทำการสังเกตขั้นตอนการทำงานและขั้นตอนการผลิตตั้งแต่การนำไก่เข้าสู่กระบวนการฆ่าจนถึงขั้นตอนสุดท้าย การประเมินความเสี่ยงที่อาจมีผลทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อ TAB ทำโดยการสังเกตและการตรวจวัดปริมาณเชื้อ TAB (CFU/cm²) ที่จุดต่างๆ ของกระบวนการฆ่าไก่ โดยเน้นตรวจวัดการปนเปื้อนใน cloaca บนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่หลังถอนขน และซากไก่พร้อมจำหน่าย จากนั้นลดปัจจัยเสี่ยงที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อ TAB ในโรงฆ่าไก่ โดยการปรับปรุงทางด้านสุขศาสตร์ จากนั้นทำการ

ตรวจวัดการปนเปื้อนเชื้อ TAB ซ้ำในจุดเดิมเหมือนกันกับการตรวจวัดก่อนการปรับปรุง วัดผลสัมฤทธิ์ของการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ในการลดการปนเปื้อนเชื้อ TAB ภายหลังการปรับปรุง โดยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย independent student's *t*-test และวัดประสิทธิผลเชิงปริมาณของการปรับปรุงโรงฆ่าไก่โดยใช้แบบ linear regression ซึ่งแยกวิเคราะห์ในแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างจำนวน 4 จุด (ตารางที่ 1) โดยใช้ผลการตรวจวัดเชื้อก่อนการปรับปรุงเป็นค่าอ้างอิง การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม SPSS

[ผลการวิจัย] ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 1 ภายหลังการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ พบว่าเชื้อ TAB ที่พบบริเวณตัวไก่มีชีวิต ซากไก่หลังถอนขน และซากไก่พร้อมจำหน่าย มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$, $P \leq 0.001$ และ $P \leq 0.001$ ตามลำดับ ยกเว้นปริมาณเชื้อใน cloaca ผลจากการวิเคราะห์ด้วย linear regression ให้ผลไปในทิศทางเดียวกับการวิเคราะห์ด้วย independent student's *t*-test โดยให้ผลออกมาว่าปริมาณ TAB ที่บริเวณจุดเก็บตัวอย่างเดียวกัน จากค่า standardized coefficients (ตารางที่ 1) บ่งชี้ถึงระดับของผลกระทบจากการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ต่อปริมาณเชื้อ TAB ที่แต่ละจุดเก็บตัวอย่าง จะเห็นว่าในแต่ละจุดที่มีการเก็บตัวอย่าง โดยปริมาณของเชื้อ TAB ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติในระดับของผลกระทบร้อยละ 25.2 (-0.252), 46.4 (-0.464) และ 49.3 (-0.493) ที่บริเวณบนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่หลังถอนขน และซากไก่พร้อมจำหน่าย ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณเชื้อ TAB ภายหลังการปรับปรุงโรงฆ่าไก่มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ที่ระดับของผลกระทบร้อยละ 5.9 (0.059) ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

[วิจารณ์] การปรับปรุงทางด้านสุขศาสตร์ภายในโรงฆ่า ตลอดจนกระบวนการฆ่า ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อ TAB ภายใน cloaca ได้ เนื่องจากการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์เป็นเพียงการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่สะสมในสภาพแวดล้อม และลดการรั่วไหลของเชื้อออกมาจากระบบทางเดินอาหาร ด้วยเหตุผลข้างต้นนี้สามารถนำมาอธิบายการลดลงภายหลังการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ของปริมาณเชื้อ TAB (ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ (2)) บนตัวไก่มีชีวิต ซากไก่หลังถอนขน และซากไก่พร้อมจำหน่าย ระดับการลดลงของเชื้อ TAB สามารถเรียงจากน้อยไปมากได้เป็น บนตัวไก่ ซากไก่หลังถอนขน และซากไก่พร้อมจำหน่าย ระดับของผลกระทบที่แตกต่างกันนี้น่าจะเป็นผลมาจากการปรับปรุงทางด้านสุขศาสตร์ในโรงฆ่าไก่โดย 1) การทำความสะอาดคอกขังไก่ 2) การล้างทำความสะอาดซากไก่

และเครื่องมือที่ใช้ และ 3) การปรับเปลี่ยนเส้นทางของกระบวนการผลิต(slaughter-line) รวมทั้งการล้างซากไก่ด้วยน้ำ ซึ่งเป็นลำดับที่เรียงจากยากไปง่ายในการลดการปนเปื้อนเชื้อจากมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) 6700-2548 (3) ซึ่งได้กำหนดมาตรฐานปริมาณเชื้อ TAB ในเนื้อไก่ที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกิน $5.7 \log_{10}$ CFU/g ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณเชื้อ TAB โดยส่วนใหญ่พบว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ข้างต้น จึงประเมินระดับของผลกระทบของการปรับปรุงโรงฆ่าไก่ได้ลำบาก ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วย linear regression จึงเป็นเครื่องมือที่ช่วยวัดประสิทธิผลเชิงปริมาณของการปรับปรุงด้านสุขศาสตร์ในโรงฆ่าไก่ได้

กิตติกรรมประกาศ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (รหัสดโครงการ RDG5520031)

เอกสารอ้างอิง

1. Srieang K., et al. 2013. The 4th Proc Meat Sci Tech. 19 July 2013: 67-74.
2. Tsola, E., et al. 2008. Food Control. 19: 423 – 431.
3. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) 6700-2548

ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์โดย independent student's t-test และ linear regression

จุดที่เก็บตัวอย่าง	ก่อนการปรับปรุง ($\log_{10}$ CFU/cm ²)	หลังการปรับปรุง ($\log_{10}$ CFU/cm ²)	Standardized coefficients (beta)	95% Confidence interval	Adjusted R ²	p-value
Cloaca	4.79 ± 0.52	4.86 ± 0.63	0.059	- 0.191 to 0.325	- 0.009	0.605
บนตัวไก่	5.12 ± 0.45	4.70 ± 1.06*	- 0.252	- 0.783 to - 0.057	0.052	0.024
ซากไก่หลังถอนขน	4.02 ± 0.38	3.63 ± 0.37***	- 0.464	- 0.556 to - 0.221	0.205	<0.0001
ซากไก่พร้อมจำหน่าย	3.91 ± 0.42	3.39 ± 0.51***	- 0.493	- 0.728 to - 0.314	0.234	<0.0001

*P<0.05 and ***P<0.001 ความแตกต่างสถิติของระดับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศระหว่างก่อนและหลังการปรับปรุง ที่ระดับ P<0.05 และ P<0.001 ตามลำดับ

Measuring effectiveness of hygiene decontamination for total aerobic bacteria in a small scale chicken slaughterhouse

Kamonchanok Srieang^{1,*}, Jamlong Mitchaothai¹, Pattarapong Chancharoen²,
Rachakris Lertpatarakomol¹, Tassanee Trairatapiwan¹ and Doungjit Kanungpean¹

*Corresponding author: Kamonchanok Srieang (e-mail address: mameaw_miss_u@hotmail.com)

¹ Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Nong Chok,
Bangkok, 10530 Thailand

² Office of Veterinary Public Health, Department of Health, Bangkok, Thailand

Abstract

[Introduction] There are many small scale chicken slaughterhouses in Thailand, providing chicken meat for Thai consumers. These slaughterhouses have rather high chance of getting bacterial contamination due to the limitation of slaughterhouse capacities and facilities. The earlier study (1) has been reported that hygiene improving in a small scale can lower total aerobic bacterial contamination in slaughtering processes, but there was no measurement for the size of influence of the bacterial reduction. Thus, this study tries to measure the effect size.

[Materials and Methods] A small scale chicken slaughterhouse (capacity = 200 – 250 chickens/day) was used for this study. The regular procedure and practice involved all slaughtering processes were observed, from before entering to end of the slaughter-line. Some possible risk factors for total aerobic bacterial contamination were evaluated by observation and quantification (bacterial culture as CFU/cm²) of total aerobic bacteria at several points of the slaughter-line, mainly in cloaca, on live chicken body (LCB), de-feathering chicken carcasses (DCC) and finished chicken carcasses (FCC). Then, the proposed risk factors were adopted for

improving hygiene management to lower contamination of total aerobic bacteria in the slaughterhouse and the contamination of total aerobic bacteria was repeatedly measured at the same points of those prior to improving. Concentration of total aerobic bacteria (CFU/cm²) was compared between before and after the improving by the use of independent student's *t*-test. To quantify the influence of the improving, linear regression was applied. The linear regression was used for four separate analyses (Table 1) by using the before improving as reference values. All statistical analyses were performed by the use of SPSS.

[Results] The results of the present study have been demonstrated in the Table 1. After improving the slaughterhouse, the total aerobic bacteria concentration found at the LCB, DCC and FCC was significantly reduced ($P \leq 0.05$, $P \leq 0.001$ and $P \leq 0.001$, respectively), except for the concentration in cloaca. The results of linear regression analysis showed the same direction of statistical difference when compared with the test by independent student's *t*-test at the same sampling points. Value of standardized coefficients (Table 1) indicated the effect size

of the improving on the concentration of total aerobic bacteria at each sample point. Thus, there were significantly 25.2% (-0.252), 46.4% (-0.464) and 49.3% (-0.493) reduction of total aerobic bacteria concentration at the LCB, DCC and FCC, respectively; whereas the effect size for the improving on total aerobic bacteria concentration was very small (5.9% or 0.059) with no statistical difference.

[Discussion] Hygiene improving in the slaughterhouse throughout all slaughtering processes would not affect the concentration of total aerobic bacteria in cloaca because the hygiene improvement would reduced bacteria load from environment and lowered leakage of bacteria from gastrointestinal tract. These reasons would be used to explain lowering of total aerobic bacteria (in agreement with earlier report (2)) at the LCB, DCC and FCC after the improving. The effect size of the improving on total aerobic bacteria concentration could be ranged from small to large as at the LCB, DCC and FCC. The explanation for the different effect size would be the fact that the hygiene improving as 1)

cleaning pen, 2) chicken carcass & equipment washing, and 3) adjusting slaughter-line & chicken carcass washing would be range in the order of difficulty to reduce bacterial contamination. From the recommendation of ACFS 6700-2548 (3), the total aerobic concentration in chicken meat will be accepted at less than 5.7 log₁₀ CFU/g. The concentrations of total aerobic bacteria in this study were mainly lower than the acceptable level as mentioned earlier, resulting in difficulty for measuring impact size of the improving. Thus, linear regression analysis performed in the present study is a useful tool to quantify effectiveness of the hygiene improvement in the slaughterhouse.

Acknowledgement

Thailand Research Fund (Project ID: RDG5520031)

References

1. Srieang K., et al. 2013. The 4th Proc Meat Sci Tech. 19 July 2013: 67-74.
2. Tsola, E., et al. 2008. Food Control. 19: 423 – 431.
3. Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS) 6700-2548.

Table 1. Results of independent student's *t*-test and linear regression analysis

Sampling point	Before improving (log ₁₀ CFU/cm ²)	After improving (log ₁₀ CFU/cm ²)	Standardized coefficients (beta)	95% Confidence interval	Adjusted R ²	p-value
Cloaca	4.79 ± 0.52	4.86 ± 0.63	0.059	- 0.191 to 0.325	- 0.009	0.605
Live chicken body	5.12 ± 0.45	4.70 ± 1.06*	- 0.252	- 0.783 to - 0.057	0.052	0.024
De-feathering carcass	4.02 ± 0.38	3.63 ± 0.37***	- 0.464	- 0.556 to - 0.221	0.205	<0.0001
Finished carcass	3.91 ± 0.42	3.39 ± 0.51***	- 0.493	- 0.728 to - 0.314	0.234	<0.0001

*P<0.05 and ***P<0.001 Significant difference between before and after the improving for log₁₀ concentration of total aerobic bacteria at P<0.05 and P<0.001, respectively

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อชีวภาพต่อไวรัสโรคนิวคาสเซิล ภควดี คำพลงาม^{1*}, ศักดิ์ชัย เรือนเพชร¹, วรรณนีย์ บุญยวรรณนีย์¹, จำลอง มิตรชาว¹ไทย²

และ Kazuaki Takehara³

*ผู้รับผิดชอบบทความ: ภควดี คำพลงาม (e-mail address: pakawade@mut.ac.th)

¹ภาควิชาไวรัสและภูมิคุ้มกันวิทยา, ²ภาควิชาคลินิกสำหรับสุกร คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

³Laboratory of Animal Health, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

บทคัดย่อ

[บทนำ] ไวรัสโรคนิวคาสเซิลเป็นไวรัสที่มีความสำคัญมากและก่อความเสียหายรุนแรงในสัตว์ปีกโดยเฉพาะในสัตว์ปีกที่เลี้ยงเป็นอาหาร เช่น ไก่ อย่างไรก็ตาม ไวรัสโรคนิวคาสเซิลถูกทำลายได้ง่ายด้วย น้ำยาเคมีฆ่าเชื้อ หรือน้ำยาทำความสะอาด ซึ่งมีข้อบกพร่องบางประการ เช่น ไม่สามารถคงประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้เมื่อค่า pH หรืออุณหภูมิเปลี่ยน อีกทั้งยังมีฤทธิ์กัดกร่อน ระคายเคืองต่อสัตว์และผู้ปฏิบัติงาน ทั้งนี้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้ออาจลดลงเมื่อมีสารอินทรีย์ซึ่งพบได้เสมอในฟาร์มปศุสัตว์ โดยไปแย่งจับรบกวนการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อ ปูนขาว เป็นสารฆ่าเชื้อจากธรรมชาติที่ติดและใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่ก็สูญเสียประสิทธิภาพได้ง่ายเมื่อผสมกับน้ำหรือมีความชื้นทำให้จับเป็นก้อน ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้มากในช่วงฤดูฝน โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษาทดลองในครั้งนี้คือ เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อชีวภาพ 4 ชนิดต่อเชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิลในสภาวะต่าง ๆ กัน 3 สภาวะ

[วิธีดำเนินการวิจัย] นำไวรัสโรคนิวคาสเซิลชนิดรุนแรง มาทดสอบกับสารฆ่าเชื้อจากธรรมชาติ 4 ชนิดประกอบด้วย 1) ผงไบโอเซรามิก 2) ได้จากการเผามูลไก่ 3) ผงจากเปลือกหอยเชล 4) ปูนขาว และ 4) จีเถ้า การทดลองแบ่งออกเป็น 3 สภาวะตามวิธีของ[4] ได้แก่ สภาวะที่ 1: สารฆ่าเชื้ออยู่ในสภาวะแขวนลอย ทำสารทั้ง 4 ชนิดให้มีความเข้มข้น 1% และ 10% ในน้ำกลั่น โดยทำการทดสอบใน

microtube จากนั้นใส่เชื้อไวรัสลงไป 100 ไมโครลิตร ต่อสารแขวนลอย 900 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 ชั่วโมง และ 3 นาที จากนั้นนำ microtubes ไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที สภาวะที่ 2: สารฆ่าเชื้ออยู่ในสภาวะผง ซึ่งสารฆ่าเชื้อ 200 มิลลิกรัม ใส่ลงใน microtube จากนั้นใส่เชื้อไวรัสลงไป 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เชื้อกระจายทั่วหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 ชั่วโมง และ 3 นาที จากนั้นเติม maintenance medium 900 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที สภาวะที่ 3: สารฆ่าเชื้ออยู่ในสภาวะผสมสารอินทรีย์ ซึ่งสารฆ่าเชื้อ 300 มิลลิกรัม ใส่พร้อมกับ fetal bovine serum (FBS) ทำหน้าที่เสมือนสารอินทรีย์ที่พบในฟาร์มซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อลดลง โดยใส่ FBS ลงไปหลอดละ 50 ไมโครลิตร ลงใน microtube จากนั้นใส่เชื้อไวรัสลงไป 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เชื้อกระจายทั่วหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 ชั่วโมง และ 3 นาที จากนั้นเติม maintenance medium 850 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที หลังจากขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงแล้ว นำของเหลวจากทุกการทดลองไปไตเตรทหาความเข้มข้นของเชื้อไวรัส โดยการนำไปใส่ลงเซลล์ตัวอ่อนลูกไก่ บ่มไว้ 3 วัน แล้วคำนวณค่า TCID₅₀ ต่อหลอดทดลอง ได้ความเข้มข้นของ

ไวรัสที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารฆ่าเชื้อ
เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของไวรัส
ควบคุมบวก(positive control) คำนวณเป็นค่า
neutralizing index (NI) ซึ่งบ่งบอกถึง
ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ[2] วิธีนี้คัดแปลง
มาจาก virus neutralization test ซึ่งเป็นวิธี
พื้นฐานสำหรับทดสอบทางซีรัมในสัตว์ปีก[3]
โดยทำการทดสอบเพียงครั้งเดียว

[ผลการวิจัย] รายงานด้วยค่า neutralizing
index (NI) ดังแสดงในตารางที่ 1, 2 และ 3
ประเมินผลว่าสารฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพเมื่อค่า
 $NI \geq 2.8 \log_{10}$ [1]

ตารางที่ 1. สภาวะแขวนลอย

สารฆ่าเชื้อใน น้ำกลั่น	Neutralizing Index ($\log_{10}$)			
	20 ชั่วโมง		3 นาที	
	1%	10%	1%	10%
ไบโอเซรามิก	0	0.25	0	0
เปลือกหอยเชล	> 6.5	> 6.5	> 6.0	> 6.0
ปูนขาว	0	>5.75	0	1
ขี้เถ้า	> 6.5	> 6.5	0	> 6.0

ตารางที่ 2. สภาวะผง

สารฆ่าเชื้อ	Neutralizing Index ($\log_{10}$)	
	20 ชั่วโมง	3 นาที
ไบโอเซรามิก	1.5	1.0
เปลือกหอยเชล	>5.75	> 5.75
ปูนขาว	>5.25	> 6.5
ขี้เถ้า	> 5.75	> 5.75

ตารางที่ 3. สภาวะผสมสารอินทรีย์

สารฆ่าเชื้อผสม สารอินทรีย์	Neutralizing Index ($\log_{10}$)	
	20 ชั่วโมง	3 นาที
ไบโอเซรามิก	1.5	1.0
เปลือกหอยเชล	>5.75	> 5.75
ปูนขาว	>5.25	> 6.5
ขี้เถ้า	> 5.75	> 5.75

[วิจารณ์] การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเปลือก
หอยเชล ปูนขาว และขี้เถ้า ที่สภาวะเป็นผง แม้
จะมีหรือไม่มีสารอินทรีย์รับกวนก็ตาม

สามารถลดปริมาณเชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิลที่
จะเข้าสู่เซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 3
นาทีเป็นต้นไป นอกจากนี้แล้ว สภาวะที่เป็น
สารแขวนลอยในน้ำกลั่น มีแค่ผงจากเปลือก
หอยเชลเท่านั้นที่ยังคงประสิทธิภาพดีในทุก
ความเข้มข้นและช่วงเวลา ส่วนขี้เถ้าและปูน
ขาวนั้นมีประสิทธิภาพต่ำลงตามลำดับ
สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ว่าพื้นที่ผิว
ของสารฆ่าเชื้อชีวภาพที่ใช้จับกับไวรัสเป็นสิ่ง
สำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ
[4] แสดงให้เห็นว่าหากนำไปใช้ในบริเวณที่มี
ฝนหรือที่ชื้นอาจมีประสิทธิภาพต่ำกว่าในที่
แห้ง ทั้งนี้ผลการวิจัยยังบ่งชี้ว่าเปลือกหอยเชล
และขี้เถ้าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้
เป็นสารฆ่าเชื้อไวรัสโรคนิวคาสเซิลได้ โดย
เป็นสารที่มาจากธรรมชาติไม่มีฤทธิ์กัดกร่อน
หรือระคายเคืองต่อสัตว์และผู้ปฏิบัติงานใน
ฟาร์มสัตว์ปีก สำหรับการศึกษาในอนาคตควร
จะมีการทำซ้ำและเปรียบเทียบกับไวรัสชนิด
อื่นๆที่มีความคงทนต่อสารฆ่าเชื้อมากกว่า
ไวรัสโรคนิวคาสเซิล และทำการทดสอบใน
สภาวะแวดล้อมจริง นอกจากนี้ยังมี
โครงการวิจัยร่วมกับทางวิศวกรรมเพื่อพัฒนา
แผ่นกรองอากาศที่มีสารจากธรรมชาติใช้ดัก
จับเชื้อไวรัสในอากาศของโรงเรือนเลี้ยงสัตว์
แบบระบบปิดได้เป็นนวัตกรรมต่อไปใน

อนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Alphin, R. L., C. D. Ciaverelli, D. P. Hougantogler, K. J. Johnson, M. K. Rankin, and E. R. Benson. 2010. Avian Diseases, 54:772-776.
2. Lombardi M. E., B. S. Ladman, R. L. Alphin, and E. R. Benson 2008. Avian Diseases, 52:118-123.
3. Swayne, D., and D. King. 2003. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222: 1534-1540.
4. Takehara K, et al. 2009. Avian Disease. 53:34-38.

Study on efficacy of Bio-disinfectants against Newcastle disease virus

Pakawadee Kumpolngam^{1*}, Sakchai Ruenphet¹, Darsaniya Punyadarsaniya¹, Jamlong Mitchaothai²
and Kazuaki Takehara³

*Corresponding author: Pakawadee Kumpolngam (e-mail address: pakawadee@mut.ac.th)

¹Department of Virology and Immunology, ²Department of Clinic for Swine, Faculty of Veterinary
Medicine, Mahanakorn University of Technology

³Laboratory of Animal Health, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of
Agriculture and Technology

Abstract

[Introduction] Newcastle disease virus is a virus that causes deadly infection and significantly damage in poultry farm, mainly chicken. Fortunately, the virus is easily inactivated by organic solvents, detergents and chemicals. However, there are several drawbacks including the difficulties of maintaining the disinfection efficacy, particularly at high temperatures, variation pH or with organic materials. Slaked lime has been used widely for enhancing the bio-security in poultry farms, but slaked lime loses its anti-microorganisms activity when mix with rainfall and most disinfectants lose their activities when mix with organic materials as well. The objective of this study is to evaluate the efficacy of four bio-disinfectants within three conditions against Newcastle disease virus.

[Material and methods] Virulent Newcastle disease virus (vNDV) was treated by four types of bio-disinfectants including 1) Bioceramic powders from Japan; were prepared by sintering of chicken feces 2) Scallop-shell powder 3) Slaked lime and 4) Charcoal ash. The experiments were designed into three conditions [4]. Condition 1: *Reaction in liquid*; each bio-disinfectant

powder was made into 1% and 10% suspensions in a microtube then vNDV 100 µl was added into 900 µl of suspensions. The incubation periods for making vNDV inactivation were 20 hr and 3 min at room temperature. After that we centrifuged the microtubes at 15,000 rpm for 3 minutes. Condition 2: *Reaction in powder*; vNDV 100 µl was added into 200 mg of each bio-disinfectant powder and then mixed in a microtube. Tested tubes were incubated 20 hr and 3 min at room temperature. After incubation, 900 µl of maintenance medium (MM) was added into the tubes and centrifuged 15,000 rpm for 3 min. Condition 3: *Reaction in powder with organic material*; vNDV 100 µl and fetal bovine serum (FBS) 50 µl were added into 300 mg of each bio-disinfectants and mixed in a microtube. In this condition, we used FBS as an organic material which were normally found in the field environment. Tested tubes were incubated 20 hr and 3 min at room temperature. After incubation, 850 µl of MM was added into the microtubes and subsequently centrifuged. After centrifugation, the remaining viruses in supernatant from all conditions were titrated by inoculated into chicken embryo fibroblast

cell. Virus titer was calculated by TCID₅₀/ml and took it to find the neutralizing index (NI) [2] that expresses the inactivated ability of four bio-disinfectants. This method was a modification of the classical avian serologic virus neutralization test [3]. All the studies were done once

[Results] The results were reported as neutralizing index (NI) showed in the Table 1, 2 and 3. Inactivation of viruses was considered effective when $NI \geq 2.8 \log_{10}$ [1]

Table 1. Condition 1: *Reaction in liquid.*

Bio-disinfectants	Neutralizing Index ($\log_{10}$)			
	20 hr.		3 min.	
	1%	10%	1%	10%
Bioceramic	0	0.25	0	0
Scallop-shell	> 6.5	> 6.5	> 6.0	> 6.0
Slaked lime	0	>5.75	0	1
Charcoal ash	> 6.5	> 6.5	0	> 6.0

Table 2. Condition 2: *Reaction in powder.*

Bio-disinfectants	Neutralizing Index ($\log_{10}$)	
	20 hr.	3 min.
Bioceramic powder	1.5	1.0
Scallop-shell powder	>5.75	> 5.75
Slaked lime	>5.25	> 6.5
Charcoal ash	> 5.75	> 5.75

Table 3. Condition 3: *Reaction in powder with organic material.*

Bio-disinfectants with FBS	Neutralizing Index ($\log_{10}$)	
	20 hr.	3 min.
Bioceramic powder	1.5	1.0
Scallop-shell powder	>5.75	> 5.75
Slaked lime	>5.25	> 6.5
Charcoal ash	> 5.75	> 5.75

[Discussion] This study suggests that Scallop-shell powder, Slaked lime and Charcoal ash

have an efficacy to inactivate virulent NDV in powder condition with or without organic material within 3 min. In liquid condition, only Scallop-shell powder is still effective but Slaked lime and Charcoal ash may be reduced antiviral activity by rainfall. These results correspond with previous study which indicates that the bio-disinfectants surfaces encounters with virus are important to express antiviral activity [4]. Thus, Scallop-shell powder and Charcoal ash are byproduct from natural substance which may be alternative disinfectants to use in the poultry farm. For further study, it should be repeated and compared with others non-enveloped viruses which are more resistant to disinfectant than NDV. In addition, each bio-disinfectants should be kept out door for evaluate the toleration in Thailand environment. Moreover, in the future, we may establish engineering coordination to develop bioantiviral powder in evaporating filter as an innovation.

Reference

1. Alphin, R. L., C. D. Ciaverelli, D. P. Hougentogler, K. J. Johnson, M. K. Rankin, and E. R. Benson. 2010. Avian Diseases. 54:772-776.
2. Lombardi M. E., B. S. Ladman, R. L. Alphin, and E. R. Benson 2008. Avian Diseases. 52:118-123.
3. Swayne, D., and D. King. 2003. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222: 1534-1540.
4. Takehara K, et al. 2009. Avian Disease. 53:34-38.

ประสิทธิภาพของมะรุมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ PCNA ในเนื้อเยื่อเหงือกและตับของปลาตะเพียน

สุนิษา สิริมงคลวรกุล^{1*}, วรรณีย์ จีระอังกูรสกุล², ทวีวัลย์ ตันตติย³, นรินทร์ ปรีชวิญญูภักดี⁴, ปิยะ โคสสัย²

ผู้รับผิดชอบบทความ: สุนิษา สิริมงคลวรกุล (e-mail address: sirikul_sunii@hotmail.com)

¹ภาควิชากายวิภาคศาสตร์, คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

²ภาควิชาพยาธิชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัย มหิดล

³คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัย มหิดล, วิทยาเขต ศาลายา

⁴คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัย ศิลปากร, วิทยาเขต เพชรบุรี

บทคัดย่อ

[บทนำ]ปัจจุบันการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติในการลดพิษจากสิ่งแวดล้อมได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น มะรุมสมุนไพรหนึ่งซึ่งมีประสิทธิภาพสูง จากการรายงานพบว่ามะรุมมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย ทั้งฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ ป้องกันสารพิษที่ทำอันตรายต่อตับและมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง ศึกษาพบว่าปลาตะเพียนที่ได้รับอาหารเสริมใบมะรุมก่อนได้รับสารตะกั่วเกิดพบว่ามีขนาดเจ็บของเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อตับลดลง ประสิทธิภาพในการป้องกันพิษจากสารตะกั่วซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิด oxidative stress อาจเกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระในใบมะรุม

[วิธีดำเนินการวิจัย]การศึกษาได้แบ่งปลาเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มได้รับอาหารเสริมใบมะรุมในปริมาณที่ต่างกันคือ 0, 20 และ 60 มก/ก เป็นเวลา 28 วัน จากนั้นปลาทั้งหมดได้รับตะกั่วปริมาณ 93.8 มก/ล เป็นเวลา 24 ชม (50% ของ LC₅₀ ที่ 24 ชม) ทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระและการกระจายตัวของ PCNA โปรตีนในเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อตับ

[ผลการวิจัย]การศึกษาพบว่าปลาตะเพียนที่ได้รับตะกั่วมีการลดลงของเอนไซม์ catalase

(CAT), reduced glutathione (GSH), glutathione reductase (GR), และ glutathione peroxidase (GPx) อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ปลาตะเพียนที่ได้รับอาหารเสริมใบมะรุมก่อนได้รับสารตะกั่วสามารถป้องกันการสูญเสียเอนไซม์เหล่านี้ในเซลล์ตับ นอกจากนี้ยังพบว่า PCNA โปรตีนในเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อตับมีการแสดงออกลดลง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการให้อาหารเสริมใบมะรุมมีส่วนช่วยในการป้องกันพิษของสารตะกั่วในเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อตับในปลา ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอาหารเสริมมะรุมมีประสิทธิภาพในการป้องกันเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อตับจากพิษจากสารตะกั่ว อีกทั้งยังลดการเพิ่มจำนวนของเซลล์หลังได้รับสารตะกั่ว

[วิจารณ์]การศึกษานี้พบว่าการให้อาหารเสริมใบมะรุมก่อนได้รับสารตะกั่วสามารถลดขนาดเจ็บของเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อตับ ขณะเดียวกันก็ช่วยเพิ่มปริมาณเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อตับทั้ง CAT, GSH, GR, and GPx การเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระภายในเนื้อเยื่อตับอาจเป็นผลเนื่องจากส่วนประกอบของสารนี้ในใบมะรุม นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมใบมะรุมก่อนได้รับสารตะกั่วมีประสิทธิภาพใน

การลดการแสดงออกของ PCNA โปรตีนทั้งในเนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการให้อาหารเสริมใบมะรุมสามารถป้องกันความเสียหายแก่ปลาเนื่องจากสารตะกั่ว

เอกสารอ้างอิง

1. Pritchard M, Mkandawire T, Edmondson A, O'Neill JG, Kululanga G. 2009. Potential of using plant extracts for purification of shallow well water in Malawi. Phys Chem Earth Pt A/B/C. 34:799-805.
2. Sirimongkolvorakul S, Tansatit T, Preyavichyapugdee N, Kosai P, Jiraungkoorskul K, Jiraungkoorskul W. 2012. Efficiency of *Moringa oleifera* dietary supplement reducing lead toxicity in *Puntius altus*. J Med Plant Res. 6: 187-194.
3. Sirimongkolvorakul S, Jiraungkoorskul W., Tansatit T, Preyavichyapugdee N, Kosai P, K Uakulwarawat. 2013. Influence of *Moringa oleifera* on histopathological changes due to lead-toxicity in red-tail tinfoil barb, *Puntius altus*. Fresenius Environ. Bull. 22:1946-1950.

Effects of *Moringa oleifera* on antioxidant defenses and PCNA labelled in gill and liver of *Puntius altus*

Sunisa Sirimongkolvorakul^{1*}, Wannee Jiraungkoorskul², Tawewan Tansatit³,
Narin Preyavichyapugdee⁴, Piya Kosai²

*Corresponding author. Sunisa Sirimongkolvorakul (e-mail: sirikul_sunii@hotmail.com)

Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

²Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University

³Faculty of Veterinary Medicine, Mahidol University, Salaya Campus

⁴Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Petchaburi IT Campus

Abstract

[Introduction] Utilizing natural materials from plants for reducing toxicity of environmental metal contaminants has gained increasing attention. Among all the plant materials that have been tested, *Moringa oleifera* has been shown to be one of the most effective [1]. It has been shown that *M. oleifera* displays various health benefits including anti-inflammation, anti-hepatotoxic, and antitumor. Herein, we demonstrated that pre-treatment with *M. oleifera* diet to the fish reduced the damages in the gill and liver. These protective effects of *M. oleifera* are most likely mediated through antioxidant properties of the extracts that are able to protect the cells from oxidative stress induced by lead.

[Materials and methods] Fishes were treated for 28 days with and without *M. oleifera* supplement diets; 0, 20 and 60 mg g⁻¹ of fish food, respectively. Then, all fish were exposed to 93.8 mg L⁻¹ of Pb(NO₃)₂ for another 24 hr. Gills and liver were determined

antioxidant enzymes activities and proliferating cell nuclear antigen (PCNA, marker for cell proliferation) distributions.

[Results] Exposure of fish to lead significantly decreases catalase (CAT), reduced glutathione (GSH), glutathione reductase (GR), and glutathione peroxidase (GPx) activities. Noticeably, pre-treatment with *M. oleifera*-supplemented diets before lead exposure can prevent the fish from losing hepatic antioxidant enzyme activities due to lead toxicity. In addition, decreased of PCNA expression induced by lead was detected in pre-treated *M. oleifera* diets. These results suggested that pre-treated *M. oleifera* diets could protect gill and liver damages as well as decreased proliferative cells upon lead exposure.

[Discussion] In this study we found that pre-treatment of *P. altus* with *M. oleifera* before lead exposure was able to reduce the severity of hepatic injuries and increases in antioxidant activities such as the activities of CAT, GSH, GR, and GPx. This finding suggests that the activities of these endogenous antioxidant enzymes are enhanced due to the role of exogenous antioxidant constituents that contain in *M. oleifera* supplementation. In addition, we found that pre-treatment with *M. oleifera* diets effectively decrease numbers of cell proliferation of gills and liver cells in fish exposed to lead possibly by protecting the cells from oxidative stress that can lead to increase cell proliferation. Overall, these results suggest that pre-treatment with *M. oleifera* supplemented diet is able to protect the fish against damages from lead exposure [2,3].

References

1. Pritchard M, Mkandawire T, Edmondson A, O'Neill JG, Kululanga G. 2009. Potential of using plant extracts for purification of shallow well water in Malawi. *Phys Chem Earth Pt A/B/C*. 34:799-805.
2. Sirimongkolvorakul S, Tansatit T, Preyavichyapugdee N, Kosai P, Jiraungkoorskul K, Jiraungkoorskul W. 2012. Efficiency of *Moringa oleifera* dietary supplement reducing lead toxicity in *Puntius altus*. *J Med Plant Res*. 6: 187-194.
3. Sirimongkolvorakul S, Jiraungkoorskul W., Tansatit T, Preyavichyapugdee N, Kosai P, K Uakulwarawat. 2013. Influence of *Moringa oleifera* on histopathological changes due to lead-toxicity in red-tail tinfoil barb, *Puntius altus*. *Fresenius Environ. Bull*. 22:1946-1950.

การประยุกต์ใช้ Rothera's reaction เพื่อตรวจหาคีโตนบอดีส์ ในปัสสาวะโค

สุทธินัย บุญให้, มงคล ชวนิช, อนุสรณ์ จำแสนชื่น และ ธนสิทธิ์ สอนภู*

*ผู้รับผิดชอบบทความ: ธนสิทธิ์ สอนภู (e-mail address: tsornphu@hotmail.com)

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร,

บทคัดย่อ

[บทนำ] : Ketosis เป็นภาวะที่สามารถโน้มนำไปสู่ความเสียหายทางเศรษฐกิจและสุขภาพของวัวได้ การตรวจหาคีโตนบอดีส์ในปัสสาวะจะช่วยให้สามารถทำการแก้ไขภาวะนี้ได้ง่ายและรวดเร็ว มีอุปกรณ์ทางการค้าที่ใช้ตรวจหาได้หลายอย่าง ที่นิยมใช้ เช่น Ketostix®, Wancheng URS-1®, AccuBiotech® จุดประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อนำปฏิกิริยา Rothera's reaction มาใช้ทดสอบหาคีโตนบอดีส์ในปัสสาวะและนำมาประยุกต์ใช้ทดแทนอุปกรณ์ที่ราคาแพงเพื่อให้ได้ผลที่ใกล้เคียงกัน

[อุปกรณ์และวิธีการ] นำผง Disodium hydrogen phosphate 2 กรัม, Glycine 2.5 กรัม, Lactose 1 กรัม และ Sodium nitroprusside 0.4 กรัม มาผสมให้เข้ากันในโถรงบดยาแล้วนำส่วนผสมที่ได้มาทดสอบกับ Acetoacetic acid ที่ความเข้มข้น 0 mg/dl, 5 mg/dl, 15 mg/dl, 40 mg/dl, 80 mg/dl, 160 mg/dl โดยใช้ผงที่ผสมกันเรียบร้อยแล้ว 0.2 กรัมและ Acetoacetic acid 0.2 ml ทำปฏิกิริยากันบนกระจกสไลด์สังเกตสีและบันทึกผลที่เกิดขึ้นภายใน 15 วินาที และนำสีที่ได้มาสร้างเป็นแผ่นเทียบสีโดยถ่ายภาพจากสไลด์แล้วนำมาพิมพ์เป็นแผ่นเทียบสีสำหรับอ่านผล จากนั้นนำไปใช้เทียบสีในตรวจปัสสาวะโค 47 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดทดสอบนี้

[ผลการทดลอง]

- 1 .Acetoacetic acid ทำปฏิกิริยากับ sodium nitroprusside ให้สีชมพู ถึง ม่วง บนกระจกสไลด์และความเข้มข้นของสีจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น acetoacetic acid
2. ผลการตรวจปัสสาวะโค จำนวน 47 ตัวอย่าง พบปัสสาวะโคที่มีปริมาณ acetoacetic acid 0, 5, 15, 40, 80 และ ≥ 160 mg มีจำนวน 2, 41, 0, 0, 2, 2 ตัวอย่างตามลำดับ

สรุปผลการทดลอง : วิธีการตรวจโดยใช้ปฏิกิริยา Rothera's reaction นี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณของ Acetoacetic acid ในน้ำปัสสาวะโดยประมาณได้

[วิจารณ์ผลการทดลอง] วิธีการนี้สามารถตรวจหา Acetoacetic acid ซึ่งเป็นคีโตนบอดีส์ได้โดยประมาณเท่านั้น มีข้อดีคือสามารถช่วยให้การวินิจฉัยโรคได้เร็วขึ้น, สามารถเตรียมสารเคมีได้ง่าย และราคาถูกกว่า test kit ที่มีขายในท้องตลาด ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือผู้อ่านผลและระยะเวลาที่อ่านจะต้องทำอย่างรวดเร็วภายใน 15 วินาที

เอกสารอ้างอิง

- 1.Palandurkar, K. and Basak, A. 2010. Development of a solid phase reagent for the detection of ketone bodies. *J Clin Digan Res.* 4 : 2139-2143

คำสำคัญ: โค, คีโตนบอดีส์, ปฏิกิริยาโรเทร่า

Application of Simple Rothera's Reaction for Detection Ketone Body in Cow Urine

Suttinee Boonhai, Mongkol Chawanich, Anusorn Jasangcheun and **Tanasid Sornphu***

*Corresponding author.: **Tanasid Sornphu** (e-mail address: tsornphu@hotmail.com)

Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

Abstract

[Introduction] Ketosis is an economic loss and causes unhealthy in dairy cow. The early detection of ketone body leads to successful treatment and increases product. There are many methods to detect ketone bodies such as Ketostix®, Wancheng URS-1®, AccuBiotech®. The aim of this study was to develop the ketone body's detection kit of ketone body based on Rothera's reaction use in conjunction with or replaced the expensive test kits.

[Materials and Methods] Prepared test powder by mixed and ground 2 grams of disodium hydrogen phosphate, 2.5 grams of glycine, 1 gram of lactose and 0.4 grams of sodium nitroprusside together. Each 0.2 grams of test powder was reacted with 0.2 ml of acetoacetic acid in concentration 5 mg/dl, 10 mg/dl, 40mg/dl, 80 mg/dl and 160 mg/dl on glass slide. The end color reaction was recorded within 15 seconds. A color interpretation chart was made from the recorded color reaction of each concentration of acetoacetic acid. This ketone body detection method based on rothera's reaction was the applied on forty seven cow urine samples.

[Results]

1. The color reaction of acetoacetic acid and sodium nitroprusside is pink to deep purple, depends on the concentration of acetoacetic acid.
2. Two, 41, 0, 0, 2, and 2 urine samples were acetoacetic acid in concentration 0, 5, 15, 40, 80 and ≥ 160 mg/dl, respectively.

Conclusion: : This applied Rothera's reaction method could be used to detect the approximated concentration of acetoacetic acid in cow's urine.

[Discussion] This method was applied for detection approximately concentration of acetoacetic acid in urine. The tester has to read the result color in 15 seconds. The advantage of this method was simple and cheaper than the commercial method.

Reference

1. Palandurkar, K. and Basak, A. 2010. Development of a solid phase reagent for the detection of ketone bodies. *J Clin Digan Res.* 4 : 2139-2143

Key words: Cow, Ketone body, Rothera's reaction

โรค Ovine pulmonary adenomatosis ในแกะ: รายงานทางคลินิกและพยาธิวิทยา

ทนงศักดิ์ มะम्म^{1*} และ มงคล ชวนิช²

¹ผู้รับผิดชอบบทความ: ทนงศักดิ์ มะम्म (e-mail address: thanonsa@mut.ac.th)

²หน่วยพยาธิวิทยา ศูนย์บริการชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

³คลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง โรงพยาบาลเพื่อการสอนด้านสัตว์ใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

[บทนำ] โรค Ovine pulmonary adenomatosis (OPA) หรือ Jaagsiekte เกิดจากการติดเชื้อ Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV) โรคนี้เป็นโรคติดต่อในระบบทางเดินหายใจที่สำคัญของแกะ มีระยะฟักตัวของโรคนานถึง 7 เดือน โรคนี้มีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1969 ที่ประเทศแอฟริกาใต้ สำหรับในประเทศไทยพบรายงานโรคนี้บ่อย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อรายงานลักษณะทางคลินิกและทางพยาธิวิทยาของการเกิดโรค Ovine pulmonary adenomatosis ในแกะ ณ ฟาร์มแห่งหนึ่งในจังหวัดสระบุรี

[วิธีดำเนินการวิจัย] ประวัติสัตว์ แกะเพศผู้ อายุประมาณ 2 ปี พันธุ์ คอร์เปอร์ นำเข้ามาจากแอฟริกาใต้ตั้งแต่เดือน มีนาคม 2556 โดยมีการกักโรค 1 เดือน ก่อนนำเข้าฟาร์มในจังหวัดสระบุรีในเดือน เมษายน 2556 ขณะอยู่ที่ฟาร์มไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆเป็นเวลา 4 เดือน ต่อมาจึงเริ่มแสดงอาการป่วยประมาณ 2 สัปดาห์ โดยพบอาการหอบหายใจ และเริ่มผอมลงเรื่อยๆ จึงนำตัวมารับรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอนด้านสัตว์ใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ในเดือนสิงหาคม 2556 การตรวจสัตว์ทางคลินิกและรังสีวิทยา ได้ทำการตรวจสัตว์ทางคลินิก รวมถึงการตรวจทาง

รังสีวิทยาบริเวณช่องอกเพื่อหาสาเหตุของอาการระบบทางเดินหายใจ รวมถึงได้ทำการรักษาเบื้องต้น แต่สัตว์ไม่ตอบสนองต่อการรักษาและเสียชีวิตในเวลาต่อมา การชันสูตรซาก ได้ทำการชันสูตรซากเพื่อตรวจหารอยโรค และทำการเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการจุลพยาธิวิทยา การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ตัวอย่างอวัยวะจากการชันสูตรซากที่สำคัญ ได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต และต่อมน้ำเหลือง ถูกเก็บโดยการแช่ใน 10% buffered formalin และส่งห้องปฏิบัติการจุลพยาธิวิทยาเพื่อทำสไลด์เนื้อเยื่อสำหรับตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

[ผลการวิจัย] ผลการตรวจทางคลินิกและรังสีวิทยา พบอาการซึมเล็กน้อย ความอยากอาหารลดลง หายใจเร็ว ตื่น บางครั้งอาเจียน หายใจ ไม่มีไข้ พบอาการไอแบบมีเสมหะเป็นครั้งคราว เสียงปอดเป็น crackle sound และเมื่อเคาะช่องอกบริเวณ cranioventral จะเป็นเสียง dull sound เมื่อยกส่วนท้ายลำตัวให้สูงขึ้น พบของเหลวไหลออกทางรูจมูก ผลการตรวจทางรังสีวิทยินิจฉัย พบเนื้อปอดหนาตัวขึ้นบริเวณ cranial lobes วินิจฉัยว่าเกิดภาวะปอดบวมน้ำ (pulmonary edema) ผลการชันสูตรซาก พบปอดมีขนาดใหญ่ และน้ำหนักมากขึ้น พบของเหลวที่มีลักษณะเป็นฟองพร้อมเมือกปน

หนองไหลออกมาจากหลอดลม ส่วนอวัยวะภายในอื่นๆไม่พบรอยโรคที่เด่นชัด ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา พบการเพิ่มจำนวนของ bronchiolar และ alveolar epithelium เป็นหย่อม ขนาดแตกต่างกัน กระจายทั่วเนื้อปอด ร่วมกับการเกิด pulmonary edema และพบ activated alveolar macrophages และ neutrophils จำนวนมากใน alveoli สรุปผลการวินิจฉัย จากประวัติ การตรวจทางคลินิก และรังสีวิทยา การชันสูตรซาก และผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา สรุปได้ว่าแกะป่วยด้วยโรค Ovine pulmonary adenomatosis (OPA)

[วิจารณ์] โรค Ovine pulmonary adenomatosis หรือ OPA เป็นโรคติดต่อที่สำคัญในแกะ โดยหากโรคเกิดรุนแรง แกะป่วย มักตายใน 2 สัปดาห์ แต่หากโรคไม่รุนแรง แกะสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานหลายเดือน ลักษณะทางคลินิกที่บ่งชี้โรคสำหรับแกะในรายงานนี้ได้แก่ อาการหายใจลำบาก ชีดยอดหายใจ และมีของเหลวไหลออกทางรูจมูก การวินิจฉัยยืนยันโรคทำได้โดยการตรวจเนื้อเยื่อปอดทางจุลพยาธิวิทยา ในประเทศไทย จิรา คงครอง และคณะรายงานโรคนี้เป็นครั้งแรกในปี 2537 ต่อมา พบการรายงานที่จังหวัดราชบุรี ในปี 2554 สำหรับครั้งนี้พบการเกิดโรคที่จังหวัดสระบุรี การติดต่อของโรคสันนิษฐานว่าเกิดจากการสัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งในระบบทางเดิน

หายใจ เป็นสำคัญ แม้ว่าจะนำแกะตัวนี้ เข้ามาจากประเทศที่มีการเกิดโรคนี้ แต่ก็ผ่านมาตรการกักกันโรค มาก่อนเข้าฟาร์มนานถึง 1 เดือน และไม่พบว่ามีอาการผิดปกติ จากนั้นจึงมีโอกาสสัมผัสกับสัตว์ในฟาร์มประมาณ 4 เดือน ก่อนแสดงอาการป่วย จากข้อมูลข้างต้น อาจสันนิษฐานที่มาของโรคได้ 2 กรณี คือ สัตว์อาจป่วยแบบไม่แสดงอาการมาตั้งแต่ นำเข้าจากต่างประเทศ หรือ อาจเกิดการติดเชื้อข้ามจากสัตว์ที่เลี้ยงอยู่เดิมในฟาร์ม อย่างไรก็ตามต้องทำการเก็บข้อมูลและสำรวจปัญหาเพิ่มเติมว่าที่มาของโรคเกิดจากแหล่งใด เพื่อวางแผนการป้องกันโรคได้ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป ในรายงานนี้ได้แสดงถึงลักษณะทางคลินิกและพยาธิวิทยาของโรค Ovine pulmonary adenomatosis ในแกะ ในเขตพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลทางระบาดวิทยาได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. OIE.2008.OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.7.10 . pp. 1031-1035.
2. Thongkamkoon P. et al. 2011.Thai-NIAH eJournal 6(3): 62-72

คำสำคัญ ovine pulmonary adenomatosis แกะ พยาธิวิทยา

Ovine Pulmonary Adenomatosis in a Sheep: A Clinico-pathological Report

Thanongsak Mamom^{1*} and Mongkol Chawanit²

* *Corresponding author : Thanongsak Mamom (e-mail address: thanonsa@mut.ac.th)*

¹Pathology Section, Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center (MVDC), Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology

²Ruminant Clinic, Large Animal Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology

*

Abstract

[Introduction] Ovine pulmonary adenomatosis (OPA) or Jaagsiekte is one of the important respiratory diseases in sheep caused by Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV). It was firstly reported in South Africa in 1969. The incubation period of this disease is about seven months. The occurrence of this disease in Thailand is rarely reported. The aim of this study is to report the clinico-pathological characteristic of Ovine pulmonary adenomatosis in sheep from a farm in Saraburi province, Thailand

[Materials and Methods] *Animal history:* A two-year-old male Dorper sheep was imported from South Africa in March 2013. The sheep was quarantined for one month before entering the farm in Saraburi province in April 2013. The animal did not reveal any detectable clinical signs as long as four months. The clinical sign of tachypnea and progressive emaciation developed just two weeks before transferring the animal to Large Animal Veterinary Teaching Hospital, Mahanakorn University of Technology in August 2013. *Clinical and radiological*

examination: Clinical and radiological examination was performed to find out the cause of respiratory signs. Symptomatic treatments were given but did not succeed and finally, the animal died. *Necropsy:* Necropsy was performed to find out the cause of clinical signs. Tissue samples from main organs such as heart, lung, liver, spleen, kidney and lymph nodes were collected and fixed in 10% buffered formalin for histopathological evaluation.

[Results] *Clinical and Radiological examination results:* The animal showed no fever. The main clinical signs were depression, decrease appetite, tachypnea and occasional productive cough. Pulmonary auscultation generally revealed crackle sound and dull sound at cranioventral part after percussion. A certain amount of fluid came out from the nostrils when lifting distal body part of the sheep. Diagnostic radiological imaging showed parenchymal thickening of cranial lung lobes interpreted as pulmonary edema. *Necropsy findings:* Necropsy examination revealed moderately increased in

lung size and weight with oozing of frothy exudate occasionally mixed with mucous and pus from bronchial lumen. Other organs showed non remarkable macroscopic lesion.

Histopathological findings: Various degrees of multifocal proliferation of bronchiolar and alveolar epithelium mixed with accumulation of a large number of activated alveolar macrophages and neutrophils were microscopically detected throughout the lung.

Conclusive diagnosis: Ovine pulmonary adenomatosis (OPA) was diagnosed according to animal history, clinical and radiological results, necropsy findings and the characteristic histopathological lesions of the lung.

[Discussion] Ovine pulmonary adenomatosis (OPA) is one of the important infectious diseases in sheep. In severe cases, the affected animals usually died within two weeks, but may extend to months in mild cases. The characteristic clinical signs of OPA in sheep are dyspnea and head-tilted breathing with watery fluid from nostrils. Confirmative diagnosis is easily done by lung histopathology. OPA was firstly reported in Thailand by Jira Kongkrong and colleagues in 1994. There was another report in sheep in Ratchaburi province in 2011. In this study, the affected animal was from a sheep farm in Saraburi province. Generally, the disease is transmitted via contact with secretion from respiratory system of affected animals.

Although the sheep in this study was imported from the country where OPA is prevalence, the animal was able to pass one-month quarantine measure without any detectable clinical sign. The first characteristic respiratory sign was observed after four months of contact with other sheep in the farm. These information leads to speculation about disease transmission that, there might be at least two possible sources of disease transmission, either the sheep was subclinically infected before importing or the disease was horizontally transmitted from infected sheep in the farm. More investigation should be performed for further suitable measure of disease control and prevention in the future. In this study, we reported the clinico-pathological characteristic of Ovine pulmonary adenomatosis in sheep from a farm from central region of Thailand. This information might benefit the epidemiological investigation of this disease in this country in the future.

References

1. OIE.2008.OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.7.10 . pp. 1031-1035.
2. Thongkamkoon P. et al. 2011.Thai-NIAH eJournal 6(3): 62-72

Keywords: ovine pulmonary adenomatosis
sheep pathology

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดระหว่าง CIDR กับ Medroxyprogesterone Acetate ในแกะภายหลังคลอดลูก

ชัยวัฒน์ ชุ่มช่วง¹ สรรเพชญ์ โสภณ² จตุพร กระจายศรี^{3*} วรรณวิภา สุทธิไกร⁴

^{*}ผู้รับผิดชอบบทความ: จตุพร กระจายศรี (e-mail address:jatuporn@mut.ac.th)

¹โรงพยาบาลเพื่อการสอนด้านสัตวใหญ่ ²สาขาวิชาพื้นฐานวิชาชีพทางสัตวแพทย์ ³คลินิกสำหรับสัตวศาสตร์ โภชนาวิทยา แอนโดรวิทยา และการผสมเทียมของสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดระหว่างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P₄) ในรูป CIDR กับเมดร็อกซ์โปรเจสเตอโรน อะซิเตท (Medroxyprogesterone acetate, MAP) ในแกะหลังคลอดลูก โดยคัดเลือกแม่แกะ 18 ตัว หลังคลอดลูกมาแล้ว 30-50 วัน อายุ 2-5 ปี แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 9 ตัว กลุ่มที่ 1 สอดฮอร์โมน progesterone 0.3 g (CIDR) ไว้ในช่องคลอดนาน 7 วัน กลุ่มที่ 2 สอดฮอร์โมน MAP 60 mg ในรูปฟองน้ำ (sponge) ไว้ในช่องคลอดนาน 7 วัน จากนั้นแกะทั้ง 2 กลุ่ม ถูกฉีดฮอร์โมน PMSG ขนาด 250 IU และ PGF_{2α} ขนาด 125 µg ทันทีหลังจากถอดฮอร์โมน ทำการตรวจระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดจากแกะกลุ่มที่ 1 จำนวน 6 ตัว และกลุ่มที่ 2 จำนวน 5 ตัว โดยการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากแกะทั้ง 2 กลุ่ม ทั้งหมด 11 ครั้ง/ตัว คือ 15 นาที ก่อนสอดฮอร์โมน ต่อด้วย 15 นาที หลังสอดฮอร์โมน และ 24, 72, 120, 168 ชั่วโมง หลังจากสอดฮอร์โมน ตามด้วย 15 นาทีหลังถอดฮอร์โมน และ 24, 48, 72, 96 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน ทำการสังเกตอาการเป็นสัดของแม่แกะทุกๆ 6 ชั่วโมง หลังจากถอดฮอร์โมน แม่แกะที่เป็นสัด จะถูกผสมเทียมตัวละจำนวน 2 ครั้ง คือที่ 12 และ 24 ชั่วโมง หลังจากแม่แกะเริ่มแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก และทำการตรวจการตั้งท้องโดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ ที่ 40 วันหลังจากการผสมเทียมครั้งที่ 2

ผลการทดลองพบว่า แกะในกลุ่มที่ 1 ถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR+PMSG+PGF_{2α} เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 เหนี่ยวนำด้วย MAP+PMSG+PGF_{2α} มีประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ดีมากไม่ต่างกัน (อัตราการเป็นสัดคือ 100 และ 88.89% ตามลำดับ) และระยะเวลาการเป็นสัด กับอัตราการผสมติดตั้งท้อง ไม่แตกต่างกัน ส่วนระยะเวลาเริ่มเป็นสัดหลังจากถอดฮอร์โมน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05) โดยแกะกลุ่มที่ 1 เริ่มแสดงอาการเป็นสัดได้เร็วกว่ากลุ่มที่ 2 (44±6.00 และ 54±5.5 ชั่วโมง ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดของทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน CIDR และ sponge ที่ลดลงจนมีค่า < 0.5 ng/ml ซึ่งสรุปได้ว่าการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย progesterone (CIDR) หรือ MAP (sponge) ร่วมกับฮอร์โมน PMSG และ PGF_{2α} มีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ดีมากไม่ต่างกัน ซึ่งทั้ง 2 วิธี สามารถนำมาใช้ร่วมกับการผสมเทียม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผสมพันธุ์ ในแม่แกะหลังคลอดลูกได้

คำสำคัญ: การเหนี่ยวนำการเป็นสัด CIDR เมดร็อกซ์โปรเจสเตอโรน อะซิเตท แกะหลังคลอด

Comparison of Estrus Synchronization Efficiency between CIDR and Medroxyprogesterone Acetate in Postpartum Ewes

Chaiwat Chumchoung¹ Sunphet Sophon² **Jatuporn Kajaysri^{3*}** Wanvipa Suthikrai⁴

**Corresponding author: Jatuporn Kajaysri (e-mail address: jatuporn@mut.ac.th)*

¹Large Animal Teaching Hospital, ²Branch of Veterinary Science Subject, ³Clinic for Obstetrics and Gynecology Andrology and Artificial Insemination of Domestic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

Abstract

The objective of this study was to compare estrus synchronization efficiency between progesterone (P_4) in form of CIDR and medroxyprogesterone acetate (MAP) in form of sponge in postpartum sheep. Eighteen ewes, 30-50 days postpartum, aged 2-5 yrs. were equally divided to two groups. The ewes in Group 1 (n=9) were treated with an impregnated CIDR (progesterone 0.3 g) for 7 days and Group 2 (n=9) were treated with an impregnated sponge (MAP 60 mg) for 7 days. The ewes from both groups were injected with 250 IU PMSG and 125 μ g PGF $_{2\alpha}$ at the time of CIDR withdrawal. Immediately after hormone device removals, blood collections were performed in 6 ewes from Group 1 and 5 ewes from Group 2 for blood circulation P_4 analysis (11 times/ewe). The blood collection schedules for each ewe were 15 min before, 15 min after and 1, 3, 5 and 7 days after device insertions, and 15 min and 1, 2, 3 and 4 days after device withdrawal. Estrus detections were done for all ewes in every 6 hr. interval after device removals. Each estrus ewe was 2 times artificially inseminated at 12 and 24 hr. after onset of estrus. Pregnancy detection was performed at 40 days after second AI by ultrasonography.

The results showed that the ewes in Group 1 (CIDR+PMSG+PGF $_{2\alpha}$ treatment) were as effectively synchronized as in Group 2 (MAP +PMSG+PGF $_{2\alpha}$ treatment). The estrus rates after synchronization of ewes in both Groups were 100 and 88.89% respectively. Duration of estrus and pregnancy rates at 40 days were not significantly different between both groups. However, the onset of estrus after devices removal in Group 1 (44 $\pm$ 6.00 hr.) was significantly shorter than that of Group 2 (54 $\pm$ 5.5 hr.) (P <0.05). It was according to the blood circulation P_4 concentration levels of both groups which were <0.5 ng/ml at 24 and 48 hr. after CIDR and sponge withdrawals respectively. This study could conclude that the estrus synchronizations by P_4 (CIDR) or MAP (sponge), with combination of PMSG and PGF $_{2\alpha}$, were equally good efficient.

Keywords: estrus synchronization, CIDR, Medroxyprogesterone acetate, postpartum ewe

บทนำ

แกะเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่นิยมเลี้ยงกันมากขึ้นในประเทศไทย จากสถิติในปี 2554 มีจำนวนแกะทั้งหมด 51,735 ตัว มีการเลี้ยงเพิ่มมากขึ้นจากปี 2553 มี 8,596 ตัว คิดเป็น 19.93% ซึ่งพบการเลี้ยงในทุกๆ ภาค แต่พบว่ามีการเลี้ยงกันมากที่สุดในภาคใต้ (สรุปข้อมูลและสถิติจำนวนแกะและเกษตรกรผู้เลี้ยง ปี 2554 กรมปศุสัตว์) ข้อจำกัดในการเลี้ยงแกะของเกษตรกรคือ จำนวนพ่อพันธุ์คุณภาพดีมีจำนวนไม่เพียงพอต่อความต้องการ ปัญหาโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ เลือดชิด และการกลับสัดหลังคลอดนานกว่าปกติ ซึ่งปัญหาดังกล่าวสามารถทำให้ลดลงได้ด้วยการเหนี่ยวนำการเป็นสัด ร่วมกับการผสมเทียม (Kusina et al., 2000; Hashemi et al., 2006) อุปกรณ์ชนิด controlled internal drug release หรือ CIDR คือ แท่งซิลิโคนที่ถูกเคลือบด้วย ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน นิยมใช้สอดเข้าไปในช่องคลอดของ โคหรือแพะ เพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดและทำการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาที่แน่นอนได้ (fixed time artificial insemination) (จตุพร, 2549) ส่วนฮอร์โมน Medroxyprogesterone acetate (MAP) ใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในรูปแท่งฟองน้ำ (sponge) สอดช่องคลอดให้ แพะ และแกะ (Wildeus, 2000; Romano et al., 2000; Romano, 2002) ทั้งฮอร์โมน progesterone ในรูปแบบ CIDR และ MAP ในรูปแบบ sponge อาจเรียกอีกชื่อว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progestagen hormone) ถูกสอดไว้ในช่องคลอดเพื่อยืกระยะ luteal phase ให้ยาวนาน ทำให้ต่อมได้สมองหยูดการหลังหรือสร้าง gonadotropin hormone และรังไข่หยูดการทำงานชั่วคราว เมื่อนำฮอร์โมนดังกล่าวออก ทำให้ต่อมได้สมองเร่งผลิต gonadotropin hormone ทันที เป็นผลให้ฟอลลิเคิลมีการพัฒนาเต็มที่และผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจนออกมามาก ทำให้แกะแสดงอาการเป็นสัด (บุญเสริม, 2547; จตุพร, 2549) ส่วนระยะเวลาในการสอดฮอร์โมน progestagen เข้าในช่องคลอดสามารถทำได้ตั้งแต่ 9-19 วัน โดยมักใช้ร่วมกับฮอร์โมน pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) (Wildeus, 2000) ซึ่ง PMSG จะไปช่วยกระตุ้นให้ follicle เจริญขึ้นมาได้ดีและเพิ่มประสิทธิภาพในการตกไข่อีกด้วย (Greyling and Van der Nest, 2000; Motlomelo et al., 2002) นอกจากนี้พบว่า ถ้ามีการสอด CIDR หรือ sponge ไว้ในช่องคลอดในระยะเวลาสั้น ความเข้มข้นของ progesterone ในกระแสเลือดจะสูงขึ้นในสองวันแรกที่สอด หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลงตลอดระยะเวลาที่สอด (Husein et al., 1998; Husein and Kridli, 2002; Yavuzer, 2005; Amer and Hazzaa, 2009) และพบว่าหากสอดฮอร์โมน progestagen ไว้ยาวนานเกินไป ระดับปริมาณฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดจะลดลงจนไม่เพียงพอที่รักษาระดับจนทำให้ต่อมได้สมองหยูดการหลังหรือสร้าง gonadotropin hormone ได้หลังจากถอดฮอร์โมนแล้วแกะจึงไม่แสดงอาการเป็นสัดพร้อมๆ กัน (Gordon, 1975; Amer and Hazzaa, 2009) การใช้ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน เอฟทูอัลฟา (PGF2 α) ฉีดร่วมด้วยในวันที่ถอดฮอร์โมน จะสามารถช่วยทำให้ระยะเวลาการสอดฮอร์โมน progestagen ลดลงได้เหลือ 5-11 วัน เนื่องจากฮอร์โมน PGF2 α สามารถสลาย Corpus luteum ที่ค้างอยู่บนรังไข่ ทำให้ไม่มีฮอร์โมน progesterone มารบกวนการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ (Wildeus, 2000; Pierson et al., 2001, 2003)

จุดประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัด และการตั้งท้องหลังจากผสมเทียมระหว่าง CIDR กับ Medroxyprogesterone acetate ในแกะหลังคลอดลูก

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกแม่แกะ 18 ตัว หลังคลอดลูกมาแล้ว 30-50 วัน ด้วยวิธีการสุ่ม (simple randomization) จากฟาร์มใน ต.คลองอุดมชลจร อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา เป็นแกะสายพันธุ์ผสมระหว่างพันธุ์ซานตาอีนเนสและพันธุ์คอร์เปอร์ อายุ 2-5 ปี เคยคลอดลูกมาแล้ว 1-5 ครั้ง มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่มีโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ ถูกจัดการเลี้ยงดู และให้อาหารที่เหมือนกัน ในฟาร์มเดียวกัน บนโรงเรือนยกสูง มีการระบายอากาศได้ดี เลี้ยงอาหารข้นสูตร 16% โปรตีน และต้นกระถินสับ กับกากเอทานอล เข้า-เย็น ให้น้ำและแร่ธาตุก่อนกินตลอดเวลา โดยมีการถ่ายพยาธิและตัดแต่งกีบทุกๆ 3-4 เดือน

แบ่งแม่แกะออกเป็น 2 กลุ่ม จำนวนเท่ากันคือกลุ่มละ 9 ตัว กลุ่มที่ 1 สอดฮอร์โมน progesterone 0.3 g (CIDR-G, EAZI-BREED™, CIDR Sheep and Goat Device, Pharmacia & Upjohn, NSW) ไว้ในช่องคลอดเป็นเวลา 7 วัน กลุ่มที่ 2 สอดฮอร์โมน Medroxyprogesterone acetate (MAP) 60 mg (Sincrogest Esponjas™, Laboratorios Ovejero, Spain) ในรูปแบบ sponge ไว้ในช่องคลอดเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นแกะทั้ง 2 กลุ่ม ถูกฉีดฮอร์โมน PMSG ขนาด 250 IU (Folligon™, Intervet, Netherlands) และ PGF2α ขนาด 125 µg (Cloprostenol, Estrumate™, Intervet, Netherlands) เข้ากล้ามเนื้อทันที หลังจากถอดฮอร์โมน progestagen

ทำการตรวจหาระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือด โดยสุ่มเก็บตัวอย่างมาจากกลุ่มที่ 1 จำนวน 6 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ 2 จำนวน 5 ตัวอย่าง ซึ่งเจาะเก็บเลือด 10 มล./ตัว ใส่ในหลอดป้องกันการแข็งตัวของเลือดที่มีส่วนผสมของ heparin โดยการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากแกะทั้ง 2 กลุ่ม ทำการเจาะเก็บทั้งหมด 11 ครั้ง/ตัว คือ 15 นาที ก่อนสอดฮอร์โมน ค่อยด้วย 15 นาที หลังสอดฮอร์โมน และ 1, 3, 5 และ 7 วัน หลังจากสอดฮอร์โมน ตามด้วย 15 นาทีหลังถอดฮอร์โมน และ 1, 2, 3 และ 4 วัน หลังถอดฮอร์โมน ตัวอย่างเลือดที่เก็บมาได้นำมาปั่นแยกพลาสมาทันทีและนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C รอจนกว่าจะมีการนำส่งตรวจระดับฮอร์โมน progesterone ด้วยวิธี Radioimmunoassay (RIA) ในห้องปฏิบัติการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยถ้าพบว่าระดับฮอร์โมน progesterone อยู่ในช่วงที่แกะเป็นสัดจะมีระดับที่ต่ำกว่า 0.5 ng/ml (Cunningham et al., 1975; Thibier et al., 1981; Husein and Kridli, 2002)

ทำการสังเกตการเป็นสัดของแม่แกะ โดยใช้แกะเพศผู้ (Teaser) ที่มีความกำหนัด (libido) แต่ไม่สามารถผสมพันธุ์ตามธรรมชาติได้เพราะห่อหุ้มองคชาติไว้ ช่วยในการตรวจการเป็นสัดทุกๆ 6 ชั่วโมง หลังจากถอดฮอร์โมน และตรวจการเป็นสัดไปจนกว่าแกะจะไม่แสดงอาการเป็นสัด โดยอาการเป็นสัดถูกจำกัดความจากการทดลองในครั้งนี้คือ แม่แกะยืนนิ่งและยอมให้ตัวผู้ขึ้นขี่ (standing heat) ทำการจดบันทึกเวลาที่แสดงอาการเป็นสัดครั้งแรกหลังจากถอดฮอร์โมน (estrous onset) และระยะเวลาการเป็นสัด (estrus duration) แม่แกะที่ถูกตรวจพบอาการเป็นสัด จะถูกคัดออกมาและถูกทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีจำนวนอสุจิประมาณ 150-200 ล้านตัว ในหลอดบรรจุขนาด 0.25 มล และมีอสุจิที่มีชีวิตหลังจากการละลาย ไม่ต่ำกว่า 40% โดยผสมเทียมแม่แกะที่เป็นสัดทุกตัว ตัวละจำนวน 2 ครั้ง คือที่ 12 และ 24 ชั่วโมง หลังจากแม่แกะเริ่มแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก (12 and 24 hrs. after estrus onset) และทำการตรวจการตั้งท้องโดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ (Mindray; Version DP-6600 Vet, Mindray Medical International Limited, Shenzhen, China) ที่ 40 วันหลังผสมเทียมครั้งที่ 2

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอัตราการเป็นสัด อัตราการตั้งท้อง ด้วยวิธี Chi-square test ส่วนระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดที่ครั้งที่ 8=24 ชั่วโมง ครั้งที่ 9=48 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน เวลาที่แสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก และระยะเวลาการเป็นสัด ระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม หลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัด วิเคราะห์โดยใช้ Independent student t-test ซึ่งในการวิเคราะห์ค่าทางสถิติทั้ง 2 วิธี ใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($P\text{-value} \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรมจาก SPSS software (SPSS version 10.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, USA)

ผลการทดลอง

ผลการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-G ร่วมกับฮอร์โมน PMSG และ PGF2 α เปรียบเทียบกับกลุ่มที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน Medroxyprogesterone acetate (MAP) ร่วมกับ PMSG และ PGF2 α พบว่าระยะเวลาในการเริ่มเป็นสัดหลังจากถอดฮอร์โมน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยกลุ่มที่ 1 และ 2 พบอาการเริ่มเป็นสัดเฉลี่ยที่ 44 ± 6.00 ชั่วโมง และ 54 ± 5.5 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการเป็นสัดพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลุ่มที่ 1 และ 2 พบระยะเวลาการเป็นสัดเฉลี่ย 22 ± 5.20 ชั่วโมง และ 19.5 ± 5.32 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนอัตราการเป็นสัด และอัตราการตั้งท้องของและทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 แสดงเวลาในการเริ่มเป็นสัด และระยะเวลาในการเป็นสัด หลังจากถอดฮอร์โมน โปรเจสเตอเจน

กลุ่มการทดลอง	eEstrus onset (ชั่วโมง)				eEstrus duration (ชั่วโมง)			
	เฉลี่ย	SD	ต่ำสุด	สูงสุด	เฉลี่ย	SD	ต่ำสุด	สูงสุด
1. CIDR-G+PMSG+PGF2 α	44 ^a	6.00	30	48	22 ^c	5.20	12	30
2. MAP+PMSG+PGF2 α	54 ^b	5.55	48	60	19.5 ^c	5.32	12	24
เฉลี่ย	49	5.76	39	54	20.75	5.26	12	27

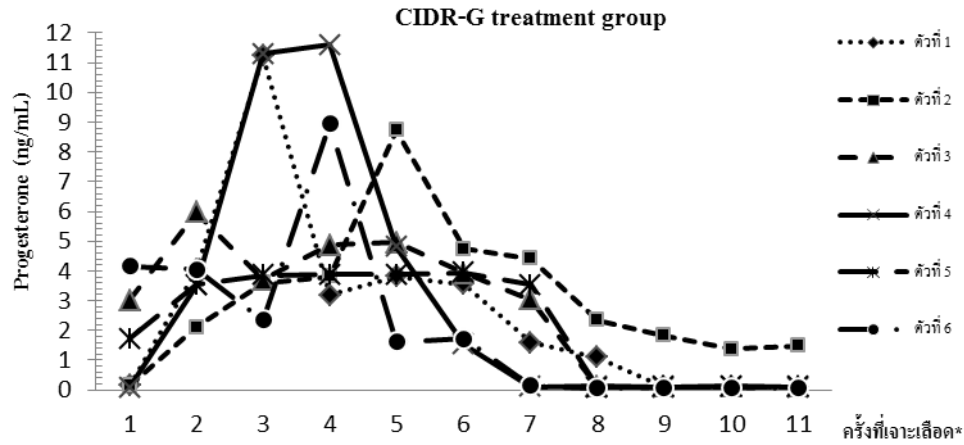
สัญลักษณ์ ^{a, b, c} ที่ต่างกันอยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการเป็นสัด และอัตราการตั้งท้อง ของและทั้ง 2 กลุ่มหลังถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัด และผสมเทียม

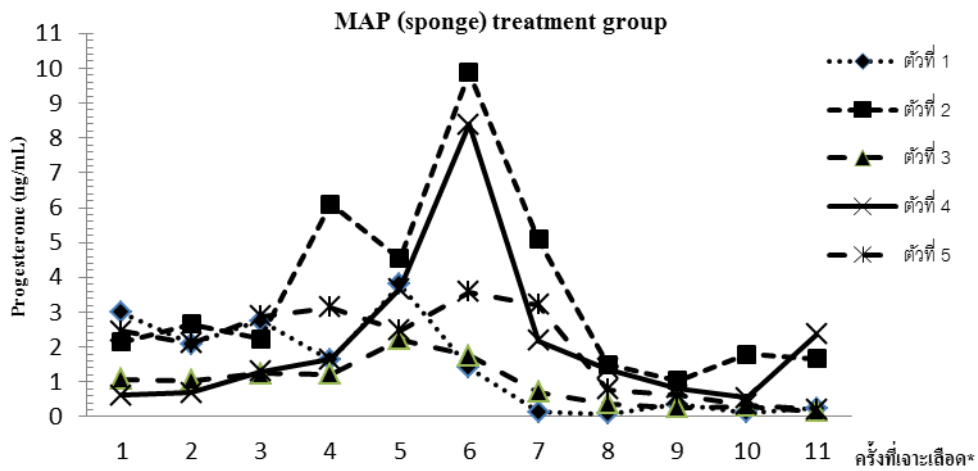
กลุ่มการทดลอง	อัตราการเป็นสัด	อัตราการตั้งท้อง ที่ 40 วัน
1. CIDR-G+PMSG+PGF2 α	100 % (9/9) ^a	11.11% (1/9) ^b
2. MAP+PMSG+PGF2 α	88.89% (8/9) ^a	0% (0/9) ^b
ค่าเฉลี่ย	94.45% (17/18)	5.56(1/18)

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

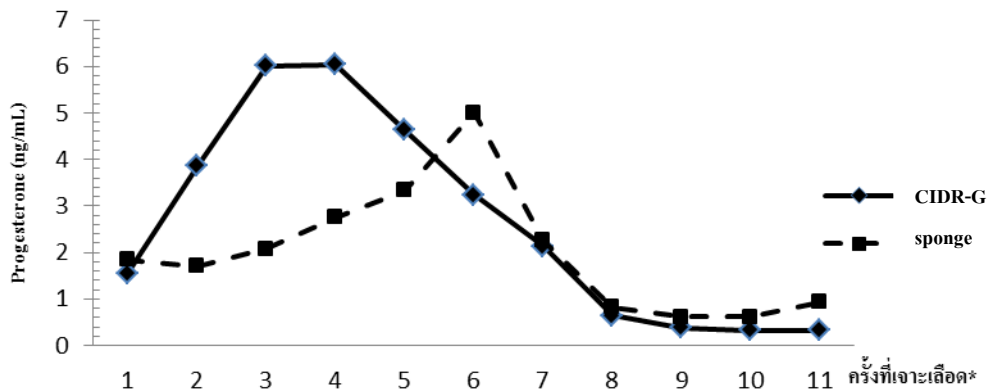
ระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดของแต่ละตัวและค่าเฉลี่ยจากกลุ่มที่ 1 (CIDR-G treatment) และ 2 (MAP treatment) จำนวน 11 ครั้ง/กลุ่ม แสดงในภาพที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดที่ครั้งที่ 8=24 ชั่วโมง ครั้งที่ 9=48 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน ของและจากทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าต่ำมาก (< 0.5 ng/ml) และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 1 แสดงระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดก่อนสอด และหลังถอด CIDR-G ในช่องคลอดแกะ



ภาพที่ 2 แสดงระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดก่อนสอด และหลังถอด MAP (sponge) ในช่องคลอดแกะ



ภาพที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดก่อนสอด และหลังถอด CIDR-G และ MAP (sponge)
*ครั้งที่เจาะเลือด ครั้งที่ 1=15 นาที ก่อนสอดฮอร์โมน ครั้งที่ 2=15 นาที หลังสอดฮอร์โมน ครั้งที่ 3=24 ครั้งที่ 4=72 ครั้งที่ 5=120 ครั้งที่ 6=168 ชั่วโมง หลังจากสอดฮอร์โมน ครั้งที่ 7=15 นาทีหลังถอดฮอร์โมน ครั้งที่ 8=24 ครั้งที่ 9=48 ครั้งที่ 10=72 ครั้งที่ 11=96 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-G ร่วมกับฮอร์โมน PMSG และ PGF2 α เปรียบเทียบกับกลุ่มที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน MAP ร่วมกับ PMSG และ PGF2 α พบว่า ทั้ง 2 กลุ่มมีประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ดีมากไม่ต่างกัน และระยะเวลาการเป็นสัด กับอัตราการผสมติดตั้งท้อง ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Romano (2004) ส่วนระยะเวลาในการเริ่มเป็นสัดหลังจากถอดฮอร์โมน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยแกละกลุ่มที่ 1 เริ่มแสดงอาการเป็นสัดได้เร็วกว่ากลุ่มที่ 2 อาจเนื่องมาจาก CIDR จะค่อยๆ ปลดฮอร์โมนออกมา และพบว่าครั้งที่ 6 ของการเจาะเลือด ก่อนที่จะทำการถอดฮอร์โมน (ภาพที่ 3) ระดับ progesterone ในกลุ่มที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR มีแนวโน้มในระดับที่ต่ำกว่า กลุ่มที่ถอดฮอร์โมน MAP ดังนั้นเวลาถอดฮอร์โมนออกจากตัวสัตว์ระดับ progesterone ในกระแสเลือดของแกละกลุ่มที่ 1 จึงลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ต่อมใต้สมองสร้าง gonadotropin hormone และกระตุ้นให้ follicle บนรังไข่มีการเจริญได้เร็วกว่า แม่แกละจึงแสดงอาการเป็นสัดได้เร็วกว่ากลุ่มที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในแพะของ (Kajaysri and Thammakarn, 2012) แต่ถึงอย่างไรก็ตามระยะเวลาในการเริ่มเป็นสัดก็ไม่ได้มีผลต่อ ระยะเวลาการเป็นสัด และอัตราการผสมติดตั้งท้อง ของแกละทั้ง 2 กลุ่ม จากการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าแม่แกละในกลุ่มที่ 1 และ 2 ตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำ และแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดที่ชัดเจนภายใน 48 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน ซึ่งสอดคล้องกับค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดของทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง ที่เวลา 24 (เจาะเก็บเลือดครั้งที่ 8) และ 48 (เจาะเก็บเลือดครั้งที่ 9) ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมน CIDR และ sponge ที่ลดลงจนมีค่า < 0.5 ng/ml (ภาพที่ 3) แสดงว่าแม่แกละเหล่านั้นอยู่ในช่วงเวลาที่เริ่มเป็นสัด (estrus period) (Cunningham et al., 1975; Thibier et al., 1981; Husein and Kridli, 2002) ซึ่งการที่ฮอร์โมน progestagen ในรูป CIDR หรือ sponge มีประสิทธิภาพสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดในแม่แกละหลังคลอดได้ดีเพราะว่า ฮอร์โมนที่ใช้สอดช่องคลอดแม่แกละนี้ ทำให้ระดับ progesterone ในกระแสเลือดเริ่มเพิ่มมากขึ้น ทำให้ต่อมใต้สมองหยุดการหลั่งหรือสร้าง gonadotropin hormone เป็นผลให้รังไข่หยุดการทำงานชั่วคราว และเมื่อนำฮอร์โมนดังกล่าวออกจึงทำให้ระดับฮอร์โมน progesterone ในกระแสเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว ต่อมาต่อมจึงกลับมาทำงานและเร่งการผลิต gonadotropin hormone ทันที เป็นผลให้รังไข่มีการทำงาน และผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจน ออกมามาก ทำให้แกละแสดงอาการเป็นสัด (บุญเสริม, 2547; จตุพร, 2549)

ส่วนระยะเวลาการสอดฮอร์โมนที่ 7 วันในการทดลองนี้ จากผลการทดลองสามารถทำให้แม่แกละจากทั้ง 2 กลุ่มแสดงอาการเป็นสัดได้ดีหลังจากถอดฮอร์โมน อาจเป็นเพราะมีการใช้ฮอร์โมน PMSG และ PGF2 α ร่วมด้วยโดยฮอร์โมนทั้ง 2 นี้ช่วยเสริมและทำให้แกละเป็นสัดได้พร้อมกันจำนวนมาก และแสดงอาการเป็นสัดที่ชัดเจน (Greyling and Van der Nest, 2000; Motlomelo et al., 2002) ซึ่งการสอดฮอร์โมน progestagen ไว้ในช่องคลอดแกละเป็นเวลานานๆ แต่ยังสามารถมีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ดีกว่าหรือเท่าๆ กับการสอดฮอร์โมนไว้นาน ย่อมทำให้เกิดผลที่ดีกว่า เพราะว่เกษตรกรไม่ต้องใช้เวลานานในการจัดการระบบสืบพันธุ์เพื่อการผสมเทียมได้อย่างเหมาะสม และอาจสามารถลดค่าใช้จ่ายในการจัดการโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในแม่แกละหลังคลอดได้อีกทั้งสามารถลดความเสี่ยงการติดเชื้อภายในช่องคลอด อันเนื่องมาจากการปนเปื้อน ปริมาณเมือก (vaginal discharge) ที่มีสาเหตุมาจากผลของการสอดฮอร์โมนในช่องคลอดไว้เป็นเวลานานได้ (Amer

and Hazzaa, 2009; Kajaysri and Thammakarn, 2012) สำหรับอัตราการผสมติดตั้งท้องในแม่แกะทั้ง 2 กลุ่ม ที่ถูกทดลองในครั้งนี้ พบว่ามีอัตราค่อนข้างต่ำมากนั้น ผู้วิจัยไม่ทราบเหตุผลที่แน่ชัด แต่อัตราการผสมติดหลังการผสมเทียม มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น คุณภาพน้ำเชื้อ เทคนิคการผสมเทียม การตกไข่ การจัดการเลี้ยง สภาพแวดล้อม อุณหภูมิภายในโรงเรือน และสภาวะการเลี้ยงลูก หรือให้นมของแม่สัตว์ ขณะนั้น จตุพร (2549) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ามีปัจจัยต่างๆ เหล่านี้เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้อัตราการผสมติดตั้งท้องในแม่แกะทั้ง 2 กลุ่ม นี้ต่ำ แต่ด้วยข้อจำกัดในการหาตัวอย่างสัตว์ทดลองในครั้งนี้ เนื่องจากยังไม่ค่อยมีการเลี้ยงแกะกันอย่างกว้างขวางในประเทศไทย จึงทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถหาตัวอย่างสัตว์ทดลองได้มากพอ และไม่สามารถกำจัดปัจจัยที่อาจเป็นปัญาส่งผลต่อการวิจัยได้ทั้งหมด ดังนั้นถ้ามีจำนวนสัตว์ทดลองเพิ่มขึ้น และมีการคัดเลือกสัตว์ทดลองได้อย่างเหมาะสม ผู้วิจัยคิดว่า อัตราการผสมติดตั้งท้องนี้น่าจะมีค่าสูงขึ้นได้ โดยสรุปการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน progesterone ในรูป CIDR หรือด้วย MAP ในรูป sponge ร่วมกับฮอร์โมน PMSG และ PGF_{2α} มีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ดีมากไม่ต่างกันทั้ง 2 วิธี ซึ่งทั้ง 2 วิธี สามารถนำมาใช้ร่วมกับการผสมเทียม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผสมพันธุ์ ในแม่แกะหลังคลอดลูกได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ว.อุดมทรัพย์ฟาร์ม ต.คลองอุดมชลจร อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา ที่สนับสนุนพันธุ์แกะ อ.น.สพ.ดร. จำลอง มิตรชาวไทย ที่ช่วยวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

จตุพร กระจ่ายศรี. 2549. การคลอดลูก และการคลอดยากในแม่โค. สุนัขศาสตร์ เชนเวชวิทยาในโคเพศเมีย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร. กรุงเทพมหานคร. หน้า 385.

บุญเสริม ชีวะอิสระกุล. 2547. การผลิตและผลผลิตจากแกะ. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สรุปข้อมูลและสถิติจำนวนแกะและเกษตรกรผู้เลี้ยง ปี 2554. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Amer, H.A. and Hazzaa, A.M. 2009. The effect of different progesterone protocols on the reproductive efficiency of ewes during the non-breeding season. *Vet. Arhiv.* 79: 19-30.

Cunningham, N.F., Symons, A.M. and Saba, N. 1975. Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrous cycle. *J. Reprod. Fert.* 45: 177-180.

Greyling, J.P.C. and Van der Nest, M. 2000. Synchronization of oestrus in goats: Does effect of progestagen. *Small Rumin. Res.* 36: 201-207.

Gordon, I. 1975. The use of progestagens in sheep bred by natural and artificial insemination. *Anim. Biol. Biochem. Biophys.* 15: 303.

- Hashemi, M., Safdarian, M. and Kafi, M. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Rumin. Res.* 65: 279-283.
- Husein, M.Q., Bailey, M.T., Ababneh, M.M., Romano, J.E., Crabo, B.G. and Wheaton, J.E. 1998. Transcervical artificial insemination of ewes out-of season using frozen thawed semen and effect of equine chorionic gonadotropin on pregnancy rate. *Theriogenology*. 49: 997-1005.
- Husein, M.Q. and Kridli, R.T. 2002. Reproductive responses of Awassi ewes treated with either naturally occurring progesterone or synthetic progestagen. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 9: 1257-1262.
- Kajaysri, J. and Thammakarn, C. 2012. Estrus synchronization using intravaginal medroxyprogesterone acetate (MAP), MAP plus prostaglandin $F_{2\alpha}$, controlled internal drug release (CIDR) or CIDR plus prostaglandin $F_{2\alpha}$ in Saanen dairy goats in Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 46: 71-79.
- Kusina, N.T., Tarwirei, F., Hamudikuwanda, H., Agumba, G. and Mukwena, J. 2000. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF $_{2\alpha}$, and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. *Theriogenology*. 53:1567-1580.
- Motlomelo, K.C., Greyling, J.P.C. and Schwalbach, L.M.J. 2002. Synchronisation of oestrus in goat: The use of different progestagen treatments. *Small Rumin. Res.* 45: 45-49.
- Pierson, J.T., Baldassarre, H., Keefer, C.L. and Downey, B.R. 2001. Seasonal variation in preovulatory events associated with synchronization of estrus in dwarf goats. *Theriogenology* 56: 759-769.
- Pierson, J.T., Baldassarre, H., Keefer, C.L. and Downey, B.R. 2003. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. *Theriogenology* 60: 397-406.
- Romano, J.E. 2002. Does in proestrus-estrus hasten estrus onset in does estrus synchronized during breeding season. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 77: 329-334.
- Romano, J.E. 2004. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Rumin. Res.* 55: 15-19.
- Romano, J.E., Crabo, B.G. and Christians, C.J. 2000. Effect of sterile service on estrus duration, fertility and prolificacy in artificial inseminated dairy goats. *Theriogenology* 53: 1345-1353.

Thibier, M., Pothelet, D., Jeanguyot, N. and Montigny, G. 1981. Estrus behavior, progesterone in peripheral plasma and milk in dairy goats at onset of breeding season. *J. Dairy Sci.* 64: 513–519.

Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 77:1-14.

Yavuzer, Ü. 2005. The possibilities of twice yearly lambing of Awassi sheep ewes without using hormones in an organic animal production system. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 29: 27-30.

การตรวจความมีชีวิตของเซลล์เยื่อปิวในระบบทางเดินหายใจของสุกรที่เตรียมจาก Precision cut lung slice (PCLS) ด้วยวิธี Live-dead staining

พรรณนีย์ บุญยพรรณนีย์^{1*} บุษราคัม ชูปวา² ศักดิ์ชัย เรือนเพชร¹ ภกวดิ คำพลงาม¹

*ผู้รับผิดชอบบทความ :พรรณนีย์ บุญยพรรณนีย์ (e-mail address: darsaniya_p@yahoo.de)

¹ภาควิชาไวรัสวิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร,

²นักศึกษาคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

[บทนำ] Precision cut lung slice (PCLS) ในสุกรเป็นระบบเซลล์เพาะเลี้ยงปฐมภูมิ (Primary cell culture) ที่สามารถนำมาใช้ในการศึกษาทางไวรัสวิทยา¹, พืชวิทยา², เกษตวิทยา² และสรีรวิทยา³ โดยเป็นการใช้ระบบ *Ex vivo* ที่มีความใกล้เคียงกับระบบ *In vivo* มากที่สุดวิธีหนึ่ง วิธีตรวจหาความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) PCLS มีความสำคัญต่อผลของการศึกษาในด้านต่างๆ เช่น การศึกษาทางไวรัสวิทยาซึ่งเชื้อไวรัสจำเป็นต้องอาศัยเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้นในการเพิ่มจำนวน การศึกษาในครั้งนี้ใช้วิธีการย้อมสี Live-dead staining ซึ่งสามารถแสดงถึงเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายของเซลล์เยื่อปิวทางเดินหายใจของสุกร และเมื่อนำมาหาความมีชีวิตของ PCLS ในช่วงอายุหลังการเตรียมที่ต่างกัน ทำให้สามารถทราบระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ PCLS ในการทดลอง

[วิธีดำเนินการวิจัย] PCLS ความหนา 250 μ m เตรียมจากปอดสุกรพันธุ์ผสมอายุ 3 เดือน จำนวน 4 ตัว โดยหาความมีชีวิตของเซลล์ด้วยการย้อมด้วยสี LIVE/ DEAD[®] Viability/

Cytotoxicity assay ที่ประกอบด้วย Calcein AM (Calcein acetoxymethyl ester) และ EthD-1 (Ethidium homodimer) เพื่อหาเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงหลังการเตรียมเนื้อเยื่อ PCLS เป็นเวลา 21 วัน ซึ่งวิธีนี้ทำให้ทราบความสมบูรณ์ของเซลล์เยื่อปิวทางเดินหายใจในส่วน bronchus และ bronchiole และนำมาตรวจสอบการติดสีด้วยกล้อง confocal microscope โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะย้อมติดสีเขียว และเซลล์ที่ตายจะย้อมติดสีแดง

[ผลการวิจัย] เซลล์ที่มีชีวิตจะย้อมติดสีเขียวของ Calcein AM ใน cytoplasm และเซลล์ที่ตายแล้วจะย้อมติดสีแดงของ EthD-1 ในนิวเคลียส PCLS ในวันแรกหลังจากเตรียมพบการกระจายตัวของสีย้อมสีเขียวมากกว่าสีแดงในเซลล์เยื่อปิว และภายใน 21 วันหลังการเตรียมพบการกระจายตัวของสีย้อมสีแดงในสัดส่วนที่เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ

[วิจารณ์] ในวันแรกของการเตรียมเซลล์พบเซลล์มีชีวิตมีจำนวนมากที่สุดและค่อยๆลดจำนวนลง ในขณะที่เซลล์ตายค่อยๆเพิ่มจำนวน

มากขึ้น โดยวันที่ 14 หลังการเตรียมยังสามารถพบเซลล์มีชีวิตเป็นจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่า PCLS ยังอยู่ในสภาพเหมาะสมที่สามารถนำไปดำเนินการทดลองต่างๆ ได้ แต่ต้องจำกัดระยะเวลาการทดลองไม่ให้ยาวนานเกินกว่า 21 วัน เนื่องจากในวันที่ 21 พบว่าเซลล์ที่มีชีวิตลดจำนวนลงอย่างมาก ในอนาคตควรศึกษาความมีชีวิตของเซลล์ช่วงอายุ วันที่ 14 ถึงวันที่ 21 หลังการเตรียม PCLS เพื่อหาระยะเวลาานานที่สุดที่ PCLS สามารถมีชีวิตอยู่ได้ ควบคู่ไป

กับการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับ apoptosis และ necrosis ของเซลล์เยื่อผิวของ PCLS

เอกสารอ้างอิง

1. Goris K, et al. 2008. J. Virol 83(4): 1962-1968
2. Henjakovic M, et al. 2008. ToxicSci 106(2): 444-453.
3. Morin JP, et al. 2013. Xenobiotica 43(1): 63-72

Viability of Porcine Airway Epithelial cells with Live/dead staining assay

Darsaniya Punyadarsaniya^{1*} Bussarakam Chuppava² Sakchai Ruenphet¹ Pakawadee Kumpolngam¹

**Corresponding author : Darsaniya Punyadarsaniya (e-mail address: darsaniya_p@yahoo.de)*

¹Virology and Immunology Department, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of technology

²Student of Veterinary Medicine faculty, Mahanakorn University of technology

Abstract

[Introduction] The porcine precision-cut lung slices (PCLS) is a primary cell culture system which is proved to be an efficient method to do an experiment for virological¹, toxicological², pharmacological² and physiological³ approaches. PCLS are an efficient *ex vivo* maintaining functions one of the most similar to *in vivo*. To determine the viability of the PCLS, the results of the study are important in various fields such as the viruses which require only living cells to proliferate. The live/dead staining assay represents cell viability and cell death of respiratory epithelial cells.

Determination of the viability of cells in different ages, leads to know the appropriate time to use the PCLS in the experiment.

[Materials and Methods] PCLS of about 250 µm thickness were prepared from the lungs of four 3 months old crossbred pigs. The viability of the cells was determined by using a Live/Dead[®] viability/cytotoxicity assay consist of Calcein AM (Calcein acetoxymethyl ester) and EthD-1 (Ethidium homodimer). PCLS were applied a staining to examined live and dead cells. This method indicated the integrity of epithelial cells lining

the bronchus and bronchiole. The staining was observed under a confocal microscope.

[Results] The live cells were stained with green color in the cytoplasm. The dead cells were stained with red color in the cell nuclei. The distribution of the live cells of PCLS on the first day after preparation was higher than the dead cells. Within 21 days the distribution of dead cells proportion was increased.

[Discussion] The vitality of PCLS on the first day after cell preparation found the most living cells and gradually decreased. The numbers of dead cells were gradually increased. At the day 14 after the preparation the large number of living cells was found thus PCLS is still in appropriate condition and the PCLS can be performed in various experiments but the duration of the experiment should be limited within 21 days post preparation because of the living cells will decreased dramatically in the day 21 after preparation. In the future, the further study of cell viability in the age range between days 14 to 21 after preparation should be conducted to find the maximum period of cell viability after the PCLS preparation. It would be interesting to investigate together with other

parameters such as the detection of apoptosis
and necrosis factors.

References

1. Goris K, et al. 2008. J. Virol 83(4): 1962-1968.
2. Henjakovic M, et al. 2008. Toxic Sci 106(2): 444-453.
3. Morin JP, et al. 2013. Xenobiotica 43(1): 63-72.

การพัฒนาวีธีจำแนก *Staphylococcal cassette chromosome mec* ชนิดที่ 1-10
โดยตรวจหากลุ่มยีน *mec* และกลุ่มยีน *ccr* โดยวิธี multiplex PCR และ simple PCR

วลัยพร ตนพิทักษ์*

*ผู้รับผิดชอบบทความ: วลัยพร ตนพิทักษ์ (e-mail address: walaipor@mut.ac.th)

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

Abstract

[บทนำ]

แบคทีเรีย *Staphylococcus* ที่ก่อต่อยาเมธิซิลลินพบในคนและสัตว์มากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งการศึกษาการระบาดของแบคทีเรียกลุ่มนี้ควรตรวจหาชนิดของ *Staphylococcal cassette chromosome (SCC) mec* ในปัจจุบัน *SCC mec* มีทั้งหมด 11 ชนิด โดยจำแนกจากกลุ่มยีน *mec* และกลุ่มยีน *ccr* อย่างไรก็ตามวิธีที่มีการพัฒนาขึ้นส่วนใหญ่สามารถจำแนกได้เพียงชนิดที่ 1-5 เท่านั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อพัฒนาการจำแนกชนิดของ *SCC mec* ให้ครอบคลุมได้หลายชนิดมากขึ้น

[อุปกรณ์และวิธีการ]

Staphylococcus aureus สายพันธุ์มาตรฐานที่มี *SCC mec* ชนิดที่ 1-10 ได้แก่สายพันธุ์ NCTC10442, N315, 85/2082, 81/108, WIS, HDE288, JCSC6082, C10682, JCSC6943 และ JCSC6945 ตามลำดับ ปฏิกริยาหลูโซโพลีเมอร์เรสแบบ multiplex ปฏิกริยาที่ 1 สำหรับตรวจหากลุ่มยีน *ccr* ประกอบด้วยไพรเมอร์ $\alpha 1$ ความเข้มข้น 0.2 μM และไพรเมอร์ $\alpha A1$, $\alpha A2$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, βc , $\alpha 4.2$, $\beta 4.2$, γR และ γF ดังมีรายละเอียดของลำดับนิวคลีโอไทด์ใน Kondo et al.(2007) รวมทั้ง *ccrB6F* (5'-TGTTTTGGGAGCACTTTGTTGTTGC-3') อย่างละ 0.1 μM ปฏิกริยาหลูโซโพลีเมอร์เรสแบบ multiplex ปฏิกริยาที่ 2 สำหรับตรวจหา

กลุ่มยีน *mec* นั้นมีส่วนประกอบดังรายละเอียดในรายงานของ Kondo et al. (2007) ปฏิกริยาหลูโซโพลีเมอร์เรสแบบง่ายเพื่อตรวจหา *mec classC1* ประกอบด้วย MgCl_2 ที่ความเข้มข้น 1.5 mM dNTPs ที่ความเข้มข้น 0.2 mM ไพร์เมอร์ *mecC1-F* (5'-TGGCCAATTCCACATTGTTTCGGT-3') และ *mecC1-R* (5'-CGTGCATTGATGCAGAGGGACA-3') ความเข้มข้นอย่างละ 0.5 μM โดยมีขั้นตอนของการปฏิกริยาหลูโซโพลีเมอร์เรสดังนี้ ขั้นตอน initial denaturation ที่ 94°C 2 นาที ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอจำนวน 30 รอบ โดยมีขั้นตอน denaturation ที่ 94°C นาน 2 นาที ขั้นตอน annealing ที่ 57°C นาน 1 นาที และขั้นตอน extension ที่ 72°C นาน 2 นาที และขั้นตอนสุดท้าย final elongation ที่ 72°C นาน 2 นาที

[ผลการทดลอง]

ปฏิกริยาหลูโซโพลีเมอร์เรส multiplex ปฏิกริยาที่ 1 สำหรับตรวจหากลุ่มยีน *ccr* นั้นสามารถตรวจพบยีน *ccrA₁B₁*, *ccrA₂B₂*, *ccrA₃B₃*, *ccrA₄B₄*, *ccrC₁*, *ccrA₅B₆* และยีน *mecA* ที่มีขนาดของนิวคลีโอไทด์ 695, 937, 1791, 1287, 518, 1573 และ 286 คู่เบสตามลำดับ ปฏิกริยาหลูโซโพลีเมอร์เรสแบบ multiplex ปฏิกริยาที่ 2 สำหรับตรวจหา *mec* ตรวจพบยีน *mec classA* มีนิวคลีโอไทด์

ขนาด 1797 และ 1963 คู่เบส สำหรับ *mec* classB และ *mec* classC2 มีขนาดนิวคลีโอไทด์ ที่ 2872 และ 804 คู่เบส ตามลำดับ สำหรับ ปฏิกริยา PCR แบบง่ายที่ใช้ในการตรวจหา *mec* classC1 นั้น พบว่าให้ผลผลิตนิวคลีโอ ไทด์ขนาด 2020 คู่เบสใน SCC *mec*TypeVII และ 1069 คู่เบสใน SCC *mec*TypeX ดังแสดง ในตารางที่ 1

[วิจารณ์ผลการทดลอง]

ปฏิกริยาถูกโซ่โพลิเมอร์เรสที่พัฒนาขึ้นในการ ทดลองนี้สามารถจำแนกชนิด SCC*mec*ได้ ตั้งแต่ชนิดที่ 1-10 ซึ่งครอบคลุมได้มากกว่า รายงานอื่นๆ ที่มีอยู่ แม้ว่าจำเป็นต้องใช้ ปฏิกริยาถูกโซ่โพลิเมอร์เรสทั้งสั้น 3 ปฏิกริยา ร่วมกัน แต่จะมีประโยชน์มากในการจำแนก ชนิดของ SCC*mec* ที่อาจพบได้ไม่บ่อย และใน ประเทศที่ยังมีการรายงานชนิดของ SCC*mec* น้อยเพื่อศึกษาการระบาดของ *Staphylococcus* ที่ คือต่อยาเมธิซิลลิน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณ ลัก ษ ณ์ ค ณ ะ เท ก นี ค การ แพ ทย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย ศาสตราจารย์ Teruyo Ito มหาวิทยาลัยชูเทนโด ประเทศญี่ปุ่น ผู้ช่วยศาสตราจารย์ Kunyan Zhang ศูนย์การดื้อยา มหาวิทยาลัยคาลการี ประเทศแคนาดา และศาสตราจารย์ Herminia de Lencastre มหาวิทยาลัยลิสบาวประเทศ โปรตุเกส ที่สนับสนุนแบบที่เรีย *Staphylococcus* สายพันธุ์มาตรฐาน ซึ่งมี SCC*mec* type ชนิดต่างๆ และขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครที่สนับสนุน งานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. IWG SCC, 2009. Antimicrob Agents and Chemother. 53(12): 4961-4967.
2. Kondo, Y., et al. 2007. Antimicrob Agents Chemother 51(1):206-274.
3. Zhang, K., et al. 2009. Antimicrob Agents Chemother 53(2):531-540.
4. Oliveira, D.C., et al. 2006. Antimicrob Agents and Chemother. 50(10): 3457-3459.

ตารางที่ 1 แสดงผลผลิตจากปฏิกริยาถูกโซ่โพลิเมอร์เรสของ SCC*mec* ชนิดต่างๆ

SCC <i>mec</i> Type	Strain	Multiplex PCR 1 (bps)	Multiplex PCR 2 (bps)	Simple PCR (bps)
I	NCTC10422	695, 286	2872	-
II	N315	937, 286	1963	-
III	85/2082	1791, 518, 286	1797	-
IV	81/108	937, 286	2827	-
V	WIS	518, 286	804	-
VI	HDE288	1287, 286	2827	-
VII	JCSC6082	518, 286	-	2020
VIII	C10682	1287, 286	1968	-
IX	JCSC6943	695, 286	804	-
X	JCSC6945	1573, 286	-	1069

Development of Staphylococcal cassette chromosome *mec* Assay of Type I to X based on the *mec*- and the *ccr*-gene complexes by two multiplex PCRs and one simple PCR

Walaiporn Tonpitak^{*}

^{*}Corresponding author: WalaipornTonpitak (e-mail address: walaipor@mut.ac.th)

Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

Abstract

[Introduction]

Methicillin resistant Staphylococci have increased in humans and animals medicine. Epidemiology of methicillin resistant staphylococcal could be investigated by identification of Staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec* Type. Up-to-date SCC*mec* types have been classified as Type I to XI based on the *mec*- and the *ccr*-gene complexes. However, almost developed methods could identify only Type I to V. The aim of this study was to develop the SCC *mec* typing by PCR method, which covers the most SCC*mec* type reported in the present.

[Materials and Methods]

The *Staphylococcus aureus* references strains of SCC*mec* Type I to X used in this study are NCTC10442, N315, 85/2082, 81/108, WIS, HDE288, JCSC6082, C10682, JCSC6943 and JCSC6945, respectively. Multiplex PCR-1 for identification of the *ccr* gene complexes and the *mecA* gene containing 0.2 μ M of primers α 1 and 0.1 μ M of each primer α 1, α 2, α 3, β c, α 4.2, β 4.2, γ R and γ Fas described in Kondo et al. (2007) including *ccrB*6F (5'-TGTTTGGGAGCAC

TTTGTTGTTGC-3') were performed.

Multiplex PCR-2 as described by Kondo et al. (2007) was performed to identify the *mec* gene complexes. The one simple PCR containing 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs, 0.5 μ M of each primer *mec*C1-F (5'-TGGCCAATCCACATTGTTTCGGT-3') and *mec*C1-R (5'-CGTGCCATTGATG CAGAGGGACA-3') was used to identify the *mec* classC1. The PCR condition was initial denaturation step at 94°C 2 min, 30 cycles of denaturation (94°C 2 min), annealing (57°C 1 min), extension (72°C 2 min) and final elongation step at 72°C 2 min.

[Results]

The amplifications of the *ccr* gene complexes in multiplex PCR-1 were 695, 937, 1791, 1287, 518, 1573 and 286 bps for the *ccrA*₁*B*₁, *ccrA*₂*B*₂, *ccrA*₃*B*₃, *ccrA*₄*B*₄, *ccrC*₁, *ccrA*₁*B*₆ and the *mecA* gene respectively. The amplifications of multiplex PCR-2 were 1797 and 1963 for the *mec* classA, 2872 and 804 bps for the *mec* classB and C2, respectively. The amplifications of the *mec* classC1 in simple PCR were 2020 and 1069 bps for SCC *mec*TypeVII and TypeX, respectively (Table 1).

[Discussion]

The PCR method developed in this study, could be classified the SCCmec Type I to X and covered almost SCCmec type reported in the present. Although this method had to be performed in 3 PCRs, but it was useful for the study of epidemiology of methicillin resistant Staphylococci and also identification of unusual SCCmec type in the country, which has not many reports about the SCCmec type.

Acknowledgments

The author thank Associate Prof. Dr. Aroonlug Lulitanond, Faculty of Associated Medical Sciences, KhonKaen University, Thailand; Prof. Dr. Teruyo Ito, Jutendo University, Japan; Associate Prof. Dr. Kunyan Zhang, Center for Antimicrobial resistance,

University of Calgary, Canada and Prof. Dr. Herminia de Lencastre, Instituto de TecnologiaQuimica e Biologica, Universidade Nova de Lisboa, Portugal for kindly providing the *Staphylococcus* reference strains habouring SCCmec type. This study was supported by Mahanakorn University of Technology.

Reference

1. IWG SCC, 2009. Antimicrob Agents and Chemother. 53(12): 4961-4967.
2. Kondo Y, *et al.* 2007. Antimicrob Agents Chemother 51(1):260–274.
3. Zhang K, *et al.* 2009. Antimicrob Agents Chemother 53(2):531-540.
4. Oliveira DC, *et al.* 2006. Antimicrob Agents and Chemother. 50(10): 3457-3459.

Table 1. The expected PCR products of SCCmec Type I to X from each PCR

SCCmec Type	Strain	Multiplex PCR-1 (bps)	Multiplex PCR-2 (bps)	Simple PCR (bps)
I	NCTC10422	695, 286	2872	-
II	N315	937, 286	1963	-
III	85/2082	1791, 518, 286	1797	-
IV	MRSA108	937, 286	2827	-
V	WIS	518, 286	804	-
VI	HDE288	1287, 286	2827	-
VII	JCSC6082	518, 286	-	2020
VIII	C10682	1287, 286	1968	-
IX	JCSC6943	695, 286	804	-
X	JCSC6945	1573, 286	-	1069

การใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์โมเลกุลในการจำแนกปูในสกุล *Scylla* โดยใช้ยีนไมโทคอนเดรีย

สองเมือง สุวรรณรัตน์¹ คานัย แสงทอง² ประดิษฐ์ แสงทอง^{1*}

*ผู้รับผิดชอบบทความ: ประดิษฐ์ แสงทอง (e-mail address: jscipds@ku.ac.th)

¹ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

²สาขาวิชาสัตวบาลและพื้นฐานวิชาชีพ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

บทคัดย่อ

การจำแนกชนิดของปูทะเล (genus *Scylla*) ในธรรมชาติและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากปูนั้นมีส่วนช่วยในการจัดการด้านชีววิทยาของปูทะเล รวมถึงในเรื่องความปลอดภัยของผู้บริโภคในกรณีที่มีการปนเปื้อนของเนื้อปูทะเลในอาหาร หรือการติดฉลากสินค้าไม่ถูกต้อง ในการศึกษาครั้งนี้มีการพัฒนาไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับปูในวงศ์ Portunidae และไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปูทะเลในสกุล *Scylla* ซึ่งไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับปูทะเลในสกุล *Scylla* นั้นสามารถใช้จำแนกปูในสกุล *Scylla* ทั้ง 4 ชนิดออกจากปูชนิดอื่นๆ ในวงศ์ Portunidae ได้ โดยผลผลิตของปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับปูในวงศ์ Portunidae จะแสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 731 คู่เบสและผลผลิตของปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับปูทะเลในสกุล *Scylla* จะแสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 241 คู่เบส ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดของปูทะเลศึกษาชีววิทยาของปูทะเลและความปลอดภัยทางด้านอาหารของผู้บริโภค

[บทนำ] ปูทะเลในสกุล *Scylla* หรือ Mud crab (Keenan and Blackshaw, 1999; Shelley, C. and Lovatelli, A. 2011) จัดอยู่ในวงศ์ Portunidae ประกอบไปด้วย 4 ชนิด คือ *S. serrata* (Forsk., 1775) *S. olivacea* (Herbst, 1976) *S. tranquebarica* (Fabricius, 1798) และ *S. paramamosian* (Estampador, 1949) (Keenan, et al., 1998) (Shelley, C. and Lovatelli, A. 2011) โดยปูทั้ง 4 ชนิดมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในตลาดการค้าสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก (FAO, 2012) ในการที่จะควบคุมการใช้ปูทะเลในธรรมชาติโดยต้องทำความเข้าใจในด้านพฤกษศาสตร์ประชากร และการจัดการลูกปูรวมทั้งการจัดการด้านผลิตภัณฑ์ที่ทำจากปูทะเลซึ่งมีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคในกรณีที่แพ้อาหารจากผลิตภัณฑ์ปูทะเลหรือจากผลิตภัณฑ์ของปูชนิดอื่นในวงศ์ Portunidae โดยการจำแนกชนิดของปูทะเลออกจากปูชนิดอื่นๆ ในวงศ์ Portunidae ได้นั้นก็จะสามารถช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ ในการที่จะจำแนกชนิดของปูทะเลให้ได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำนั้น สามารถที่จะนำเทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลมาใช้ได้โดยเฉพาะการตรวจสอบโดยใช้ปฏิกิริยาพีซีอาร์ ซึ่งใน

การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ จากยีนไมโทคอนเดรียเพื่อใช้ปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยไพรเมอร์คู่ที่ 1 จำเพาะสำหรับปูในวงศ์ Portunidae และคู่ที่ 2 จำเพาะสำหรับปูในสกุล *Scylla* ซึ่งผลจากการทดลองจะสามารถแยกปูในสกุล *Scylla* ออกจากปูชนิดอื่นๆ ในวงศ์ Portunidae ได้

[วิธีดำเนินการวิจัย] สกัดดีเอ็นเอของปูในวงศ์ Portunidae จากกล้ามเนื้อขาเดินคู่ที่ 1 และคู่ที่ 2 โดยใช้ชุดสกัด Genomic DNA Mini Kit (Favorgen, Taiwan) เพื่อนำมาใช้เป็นต้นแบบในการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ 2 ครั้ง โดยในครั้งแรกจะใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปูในวงศ์ Portunidae (Port_SLF1/Port_SLR1) ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ 1 รอบที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ตามด้วย 35 รอบของ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 52 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และตามด้วย 1 รอบที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที การเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ครั้งที่ 2 จะใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปูในสกุล *Scylla* (ScySpec_H1/PortSLR_uL1) ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ 1 รอบที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ตามด้วย 35 รอบของ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 46 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และตามด้วย 1 รอบที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จากนั้นนำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ทั้ง 2 ครั้งมาทำการตรวจสอบขนาด

[ผลการวิจัย] แลบดีเอ็นเอที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ถูกเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปูในวงศ์ Portunidae มีขนาด 731 คู่เบส และแลบดีเอ็นเอที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ถูกเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปูในสกุล *Scylla* มีขนาด 241 คู่เบส

[วิจารณ์] ผลการทดลองพบว่าไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปูในสกุล *Scylla* ออกจากปูในวงศ์ Portunidae ได้ ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญที่สามารถนำไปใช้ในการจัดการประชากรของปูทะเลในสกุล *Scylla* ทั้งในด้านการจัดการปูในธรรมชาติและในเรื่องความปลอดภัยของอาหาร

เอกสารอ้างอิง

1. Keenan, C.P., Davie, P.J.F. and Mann, D.L. 1998. A revision of the genus *Scylla* De Haan, 1833 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae). *Raffles Bull. Zool.* 46: 217–245.
2. Keenan, C.P. and Blackshaw, A. 1999. Mud crab aquaculture and biology. Proceedings of an international scientific forum held in Darwin, Australia. ACIAR Proceedings. p 27.
3. Shelley, C., Lovatelli, A. 2011. Mud crab aquaculture – A practical manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 567. Rome, FAO. p 1.
4. FAO. 2012. State of the World Fisheries and Aquaculture 2012. Fisheries and Aquaculture Department, Rome. ISBN 978-92-5-107225-7. p 39.

Molecular Identification of Mud Crab Species (genus *Scylla*) using mitochondrial gene

Songmeung Suwannarat¹, Danai Sangthong², Pradit Sangthong^{1*}

*Corresponding author: Pradit Sangthong (e-mail address: fscipds@ku.ac.th)

¹Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University

²Department of Animal Husbandry and Basic Professional Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

Abstract

There is an eager desire for verification of crabs and crab products, both for regulatory of Mud crabs utilization in natural and for consumer protection. Understanding of Mud crab seed stock population and identification is a serious problem in world fishery. Molecular markers are used for the identification of species and population in crabs biology and can also used to support investigations and deter food deception. This study examines the development and application of specific primers for identification Portunidae and *Scylla* spp. The results showed that a portunid-specific primer is 731 base pairs and *Scylla*-specific primer with 241 base pair. Therefore, the uses of molecular marker used in this study were able to identify *Scylla* species which can be used as basic information in the study of crab biology and food safety.

[Introduction] The genus *Scylla*, which belongs to the family Portunidae, is comprised of four species that are commonly known as mud crab (Keenan and Blackshaw, 1999; Shelley, C. and Lovatelli, A. 2011) including the *S. serrata* (Forskal, 1775), *S.*

olivacea (Herbst, 1796), *S. tranquebarica* (Fabricius, 1798), and *S. paramamosian* (Estampador, 1949) (Keenan, *et al.*, 1998) (Shelley, C. and Lovatelli, A. 2011). Of these, several species are widely traded at the international level across its range from the FAO database (The state of world fisheries and aquaculture, 2012). Management of *Scylla* spp. ideally aims to balance the optimization of yield with the natural resources. To understand the nature of the Mud crabs in population dynamic and stock structure eventually provide to setting catch quotas in world fishery. In fishery industry, to identify of crab products is important for human health, it can represent health risks to consumers through substitution of species. Molecular technique is a very good tool for the identification of crab species. The methodology is usually based on Polymerase Chain Reaction (PCR), which targets a specific genetic marker that is able to discriminate species. Now there is limit information about *Scylla* spp. in Thailand to estimate identification, population dynamic and stock structure. In this study, we used

Scylla-specific primer from mitochondrial DNA (mtDNA) to establish the genetic differentiation between the portunidae and to help resolve fraud food to consumers.

[Materials and Methods] Total genomic DNA from portunid crabs were extracted from muscle tissues of the first or the second walking legs using Genomic DNA Mini Kit (Favorgen, Taiwan). The PCR reaction was prepared in 0.5 ml PCR tube; portunid-specific marker (Port_SLF1/Port_SLR1) and *Scylla*-specific primer

(ScySpec_H1/PortSLR_uL1) were used. The PCR cycling profile for identify portunidae started with an initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 35 cycles of 94°C for 30 sec, 52°C for 30 sec, 72°C for 30 sec and then finalized an extension at 72°C for 1 min. The PCR cycling profile for identify *Scylla* spp. started with an initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 35 cycles of 94°C for 30 sec, 46°C for 30 sec, 72°C for 30 sec and then finalized an extension at 72°C for 1 min. The resulting PCR amplicons are then analyzed to reveal the characteristic of portunid and *Scylla* spp.

[Results] Partial sequences of the mtDNA, 731 and 241 bp in size from portunid-specific primer and *Scylla*-specific primer, respectively, of the 9 portunidae and 4 *Scylla* spp. were studied. The results showed that, portunid universal primer was amplified all of portunidae and *Scylla*-specific primer was amplified only *Scylla* spp.

[Discussion] Our results indicated that the portunid-specific primer and *Scylla*-specific

primer were identified crabs from this family and were separated *Scylla* spp. out of other crabs. This information is necessary for developing an efficient sustainable management plan to reduce the exploitation of this species living in this area and to maintain genetic variations of this species in the long run. In addition, the need for accurate product labeling to generate consumer confidence in any initiative designed to promote good fisheries management is obvious.

References

1. Keenan, C.P., Davie, P.J.F. and Mann, D.L. 1998. A revision of the genus *Scylla* De Haan, 1833 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae). Raffles Bull. Zool. 46: 217–245.
2. Keenan, C.P. and Blackshaw, A. 1999. Mud crab aquaculture and biology. Proceedings of an international scientific forum held in Darwin, Australia. ACIAR Proceedings. p 27.
3. Shelley, C., Lovatelli, A. 2011. Mud crab aquaculture – A practical manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 567. Rome, FAO. p 1.
4. FAO. 2012. State of the World Fisheries and Aquaculture 2012. Fisheries and Aquaculture Department, Rome. ISBN 978-92-5-107225-7. p 39

ดัชนีผู้นำเสนอผลงาน

Ajjima Chansaenroj 18	Pak Rattanaudom 18	Wimonrat Toepto 18
Anusorn Jasangcheun 48	Pakawadee Kumpolngam 41, 65	Woraphong Kosaruk 11
Bussarakam Chuppava 65	Pattarapong Chancharoen 33, 37	กมลชนก เทศน้อย 17
Chaiwat Chumchoung 54	Piya Kosai 45	กมลชนก ศรีเอียง 31, 35
Danai Sangthong 73	Pradit Sangthong 73	กมลวรรณ น้อยนวล 1
Darsaniya Punyadarsaniya... 41, 65	Rachakris Lertpatarakomo 37	กรกช ลาภอารมณ 1
Doungjit Kanungpean 33, 37	Rachakris Lertpatarakomol 33	กฤษฎา ขำพูล 29
Goragod labarom 2	Roongrit Lertchanachompoo 18	จิตพร กระจายศรี 17, 53
Grisada Khumpool 30	Sakchai Ruenphet 41, 65	จำลอง มิตรชาวไทย 31, 35, 39
Jamlong Mitchaothai 33, 37, 41	Sarawut Sringam 11	ชัยวัฒน์ ชุ่มช่วง 53
Jatuporn Kajaysri 18, 54	Songmeung Suwannarat 73	ณัฐกานต์ ลิขิตอาภากุล 1
Kamonchanok Srieang 33, 37	Sukanya Phalitkul 16	ณัฐพล บางแก้ว 10
Kamonchanok Tednoi 18	Sumram Bunnajirakul 14, 16	ดวงจิต คณิงเพียร 31, 35
Kamonwan Noinual 2	Sunisa Sirimongkolvorakul 45	คานัย แสงทอง 71
Kazuaki Takehara 39, 41	Sunphet Sophon 54	ทงศักดิ์ มะยม 17, 49
Mongkol Chawanich 48	Suttinee Boonhai 48	ทรรศนีย์ บุญขจรทรรศนีย์ 39, 63
Mongkol Chawanit 51	Tanasid Sornphu 48	ทวีวัลย์ ดัฒสิดิษฐ์ 43
Mongkol Prongchareon 2	Tassanee Trairatapiwan 33, 37	ทัศนีย์ ตรีชัยรัตน์อภิวัน 31, 35
Narin Preyavichyapugdee 45	Tawewan Tansatit 45	ธนสิทธิ์ สอนภู 47
Nutcharnart Tipmongkolsilp 14	Thanongsak Mamom 18, 51	นรินทร์ ปรีชวิญญูศักดิ์ 43
Nuttakarn Likarpakul 2	Walaiporn Tonpitak 69	นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์ 12
Nuttapon Bangkaew 11	Wannee Jiraungkoorskul 45	บุษราคัม ฟูปวา 63

ประดิษฐ์ แสงทอง.....	71	รุ่งฤทธิ์ เลิศชนะชมภู.....	17	สองเมือง สุวรรณรัตน์.....	71
ปิยะ โคสัช.....	43	วรพงศ์ โกษารักษ์.....	10	สำราญ บรรณจิรกุล.....	12, 15
ภควดี คำพลงาม.....	39, 63	วรรณิษฐ์ จีรธังกูรสกุล.....	43	สุกัญญา พลิตกุล.....	15
ภัค รัตนอุดม.....	17	วลัยพร ตนพิทักษ์.....	67	สุทธินิษฐ์ บุญให้.....	47
ภัทรพงศ์ จันทร์เจริญ.....	31, 35	วิมลรัตน์ เดิบโด.....	17	สุนิษา ศิริมงคลวรกุล.....	43
มงคล ขวณิช.....	47, 49	ศักดิ์ชัย เรือนเพชร.....	39, 63	อนุสรณ์ จำแสนชื่น.....	47
มงคล ไปรุ่งเจริญ.....	1	สรรเพชญ โสภณ.....	53	อัจจิมา จันทแสนโรจน์.....	17
รัชกฤษ เลิศภัทร โกมล.....	31, 35	สราวุธ ศรีงาม.....	10		

รายนามผู้สนับสนุนการจัดประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 7 ประจำปี 2556

ผู้สนับสนุนหลัก

1. บริษัท อินเทอร์เน็ต (ประเทศไทย) จำกัด
2. บริษัท โนวาร์ตีส (ประเทศไทย) จำกัด
3. บริษัท โซเอทิส (ประเทศไทย) จำกัด
4. รักษีสัตว์คลินิก

ผู้สนับสนุนรอง

1. บริษัท ไปเออร์ไทย จำกัด
2. บริษัท บี เอ็น ซุปฟี่เรีย มาร์เก็ตติ้ง จำกัด
3. บริษัท เมิร์จคอมพาเนียน (ประเทศไทย) จำกัด
4. บริษัท เจเอฟแอดวานเมด จำกัด
5. บริษัท เวท อะกริเทค จำกัด ร่วมกับ บริษัท เวอร์แบค (ประเทศไทย) จำกัด
6. บริษัท เอ็น พี อินเตอร์เทรด จำกัด



MSD

Animal Health



NOVARTIS

zoetis



**Merge
Companion**



Virbac
ANIMAL HEALTH



NP INTERTRADE CO., LTD.