

THE 8th MUT VETERINARY ANNUAL CONFERENCE 2014

BY
FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE
MAHANAKORN
UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



ประมวลเรื่อง

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ ๘ ประจำปี ๒๕๕๗

“สัตวแพทย์เฉพาะทาง :
สู่การยกระดับวิชาชีพ
กับความต้องการในสังคมไทย?”

วันที่ ๑๔-๑๕ พฤศจิกายน ๒๕๕๗

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ประมวลเรื่อง

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ครั้งที่ ๘ ประจำปี ๒๕๕๗

เรื่อง

สัตวแพทย์เฉพาะทาง:
สู่การยกระดับวิชาชีพ
กับความต้องการในสังคมไทย?

โดย

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

วันที่ ๑๔ – ๑๕ พฤศจิกายน ๒๕๕๗

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๘ ประจำปี ๒๕๕๗

Proceedings of the 8th MUT Veterinary Annual Conference 2014

ISBN: 978-974-8242-91-0

จำนวนหน้า 46 หน้า

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ ๘ ประจำปี ๒๕๕๗

เรื่อง สัตวแพทย์เฉพาะทาง: สูการยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?

วันที่ ๑๔-๑๕ พฤศจิกายน ๒๕๕๗

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

จัดโดย คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

พิมพ์ครั้งที่ 1 1 (พ.ศ.2557)

จำนวน 100 เล่ม

Proceedings of

The 8th MUT Veterinary

Annual Conference 2014

Veterinary Specialties

Establishment:

Professional Requirement

versus

Society Expectation?

by

Faculty of Veterinary Medicine

Mahanakorn University of Technology

November 14th-15th, 2014

สารจากอธิการบดี

การศึกษาทางด้านสัตวแพทย์ โดยการก้าวขึ้นไปเป็นสัตวแพทย์เฉพาะทางนั้น เป็นการศึกษาที่สามารถยกระดับมาตรฐานวิชาชีพและมีประโยชน์ต่อสังคมไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสังคมขณะนี้ที่เปิดกว้างไปสู่ประชาคมอาเซียน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครคิดว่าการมีสัตวแพทย์ที่มีความพร้อมในเรื่องเฉพาะทางเป็นเรื่องสำคัญ มหาวิทยาลัยฯ มีความเชื่อมั่นในศักยภาพของสัตวแพทย์ในประเทศไทย ซึ่งหากสัตวแพทย์เหล่านั้นได้รับการฝึกสอน ได้รับการบ่มเพาะที่ดี ผมเชื่อว่าสัตวแพทย์ไทยจะไม่เป็นรองใครในโลก ผมเชื่อว่าเรามีสัตวแพทย์ อุปกรณ์และครู-อาจารย์ ที่มีความพร้อม และที่สำคัญที่สุดก็คือ อยากที่จะสร้างฝันของสัตวแพทย์ในการที่จะเป็นสัตวแพทย์เฉพาะทางทั้งหลายให้กลายเป็นความจริงให้ได้

จากศักยภาพของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ที่ได้จัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์มาอย่างต่อเนื่องทุกปี ทางมหาวิทยาลัยฯ มีความมั่นใจว่า ในการจัดการประชุมวิชาการสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557 ในวันที่ 14-15 พฤศจิกายน 2557 ในหัวข้อ “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: สู่การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?” นั้น จะเป็นการจัดประชุมวิชาการที่ดีเยี่ยม โดยได้รับความร่วมมือจากบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญ ทางด้านต่างๆ ทำให้การประชุมวิชาการในครั้งนี้ได้รับการตอบรับ และเป็นที่ยอมรับอย่างดีจากนายสัตวแพทย์ นักวิชาการ นักวิจัย ตลอดจนนิสิตนักศึกษาที่กำลังมองหาโอกาสในการก้าวไปเป็นสัตวแพทย์เฉพาะทางเพื่อยกระดับวิชาชีพสัตวแพทย์ให้มีความเจริญก้าวหน้ายิ่งขึ้นไป

กระผมเชื่อว่าผลที่ได้รับจากการประชุมวิชาการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ ในครั้งนี้จะช่วยกระตุ้นให้มีการพัฒนาทางด้านวิชาชีพสัตวแพทย์สู่การเป็นสัตวแพทย์เฉพาะทางมากขึ้น อันจะเป็นประโยชน์ทั้งต่อนายสัตวแพทย์ นักวิชาการ นักวิจัย องค์กรที่เกี่ยวข้อง สังคม และประเทศชาติในที่สุด



(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเจตน์ จันทพงษ์)

อธิการบดีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

สารจากคณบดี

เนื่องจากปัจจุบัน สภาพสังคม ครอบครัว และเศรษฐกิจที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ประชาชนหันมาสนใจเลี้ยงสัตว์ไว้เป็นเพื่อนมากขึ้น โดยการเลี้ยงมีการเอาใจใส่และให้ความสำคัญเกี่ยวกับเรื่องสุขภาพของสัตว์เลี้ยงอย่างมาก ซึ่งทางคณะสัตวแพทยศาสตร์เห็นว่า ในระหว่างนี้เทคโนโลยีและความรู้ในการรักษาสัตว์เลี้ยงได้ก้าวหน้าไปเป็นอย่างมาก การมีสัตวแพทย์เฉพาะทางเพื่อยกระดับวิชาชีพจึงมีความจำเป็น เพื่อให้ตอบสนองต่อความต้องการของตลาดงานด้านสัตวแพทย์ผู้รักษาสัตว์เลี้ยง และเพื่อให้เป็นมาตรฐานของวิชาชีพต่อไป

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร จึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการเตรียมความพร้อมของสัตวแพทย์เพื่อตอบสนองต่อความต้องการทางด้านสัตวแพทย์เฉพาะทางในสังคมไทย ทางคณะฯ จึงได้จัดจัดการประชุมวิชาการสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557 ในวันที่ 14-15 พฤศจิกายน 2557 ในหัวข้อ “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: ผู้การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?” เพื่อเป็นการเตรียมสัตวแพทย์ให้มีความพร้อมในการที่จะเป็นสัตวแพทย์เฉพาะทางในอนาคต และเพื่อยกระดับวิชาชีพพร้อมทั้งตอบสนองต่อความต้องการของสังคมไทย ในการประชุมวิชาการครั้งนี้ ทางคณะฯ ได้รับเกียรติจากผู้ทรงคุณวุฒิหลายภาคส่วนเข้าร่วมเสวนา บรรยายทางวิชาการ และนำเสนอผลงานวิจัย ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการและวิชาชีพสัตวแพทย์ในประเทศไทยเป็นอย่างมาก

ทางคณะฯ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าทุกอย่างก้าวหน้าทางด้านการพัฒนาทางด้านสัตวแพทย์ซึ่งเกิดจากการประชุมวิชาการฯ จะสามารถตอบสนองต่อความต้องการของสังคมไทย ในการเป็นแนวทางให้สัตวแพทย์มีความรู้ความสามารถเพิ่มขึ้นจนสามารถปฏิบัติงานได้จริง และสามารถยกระดับมาตรฐานวิชาชีพให้เป็นสัตวแพทย์เฉพาะทางให้ได้ในที่สุด

สุดท้ายขอขอบคุณ ท่านอธิการบดี และท่านผู้บริหารมหาวิทยาลัยฯ ที่ให้เกียรติมาร่วมงาน ขอคุณวิทยาการ ผู้ทรงคุณวุฒิ บริษัทเอกชนต่างๆ ที่สนับสนุนการจัดงานครั้งนี้ และขอบคุณผู้เข้าร่วมสัมมนาทุกท่านมา ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง



(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.จตุพร กระจ่ายศรี)

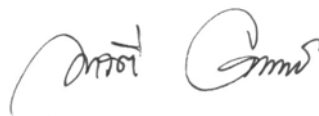
คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

สารจากประธานคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการฯ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครได้ผลักดันให้มีการพัฒนามาตรฐานวิชาชีพสัตวแพทย์อย่างต่อเนื่อง หนึ่งในงานสำคัญที่เป็นกลไกในการขยายองค์ความรู้ทางด้านวิชาชีพสัตวแพทย์นั้นก็คือการจัดประชุมวิชาการ ซึ่งในปีพ.ศ. 2557 เป็นวาระที่การจัดงาน “การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8” เรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: ผู้การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?” ได้จัดให้มีขึ้นภายใต้ความร่วมมือกันของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร และสมาคมศิษย์เก่าคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

การจัดงาน “การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8” ได้นำรูปแบบการจัดงานที่มีความหลากหลาย ทั้งส่วนของการประชุม การนำเสนอผลงานทางวิชาการและการจัดแสดงนิทรรศการ ในภาคการประชุมนั้น ได้เสนอขอบข่ายของการประชุมในหัวข้อที่เป็นที่สนใจอยู่ในปัจจุบัน ทั้งนี้ได้มุ่งเน้นไปในส่วนของสัตว์เลี้ยงขนาดเล็กและสัตว์เลี้ยงชนิดพิเศษ ซึ่งได้คัดเลือกหัวข้อการประชุมให้ตรงตามความต้องการของผู้ร่วมงานและการนำไปใช้ประโยชน์ให้มากขึ้นด้วย ในภาคการนำเสนอผลงานทางวิชาการได้รับการตอบรับจากนักวิชาการในการเข้าร่วมนำเสนอผลงานเป็นอย่างดี จากทั้งผู้ประกอบการวิชาชีพสัตวแพทย์และนักวิชาการอื่นๆ ในสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพอีกด้วย

ในนามของคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการฯ ขอขอบคุณผู้ที่ให้การสนับสนุนให้การจัดงาน “การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8” ประสบความสำเร็จ อันเป็นอีกหนึ่งงานหนึ่งของความภาคภูมิใจของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ในการผลักดันให้เกิดการสร้างสังคมแห่งการเรียนรู้ให้เกิดขึ้นอย่างเต็มภาคภูมิ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจากการประชุมฯ ในครั้งนี้จะเป็นการต่อยอดองค์ความรู้และเพิ่มศักยภาพของสัตวแพทย์ไทยให้เป็นที่ประจักษ์ต่อไป



(อาจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.อริตี อินทรพัถร์)

ประธานคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557

คำนำ

ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557 ฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวมข้อมูลทางวิชาการที่มีการนำเสนอ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ในวันที่ 14-15 พฤศจิกายน 2557 ในหัวข้อ “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: สู่การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?” ข้อมูลทางวิชาการในแต่ละหัวข้อของวิทยากรผู้บรรยายหรือนำเสนอผลงานเป็นการจัดเตรียม และอยู่ในความรับผิดชอบของผู้แต่งหัวข้อนั้นโดยตรง ทางกรรมการฝ่ายวิชาการเป็นผู้ตรวจสอบรูปแบบ เสนอแนะเพื่อการปรับปรุง และรวบรวมเพื่อจัดทำเป็นหนังสือขึ้น หากแต่ระยะเวลาในการจัดเตรียมมีจำกัด จึงอาจมีข้อบกพร่องซึ่งตรวจพบภายหลังได้ ทางคณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย อย่างไรก็ตามผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า หนังสือ “ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557” ฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจติดตามข้อมูลทางวิชาการด้านสัตวแพทยศาสตร์

คณะผู้จัดทำ

พฤศจิกายน 2557

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557
 เรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: สู่การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?”
 วันที่ 14-15 พฤศจิกายน 2557

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

วันศุกร์ ที่ 14 พฤศจิกายน 2557

เวลา	ห้องบรรยาย A (R306)	ห้องบรรยาย B (R305)	ห้องบรรยาย C (R301)
08.15-09.00	ลงทะเบียน		
09.00-09.30	พิธีเปิดงานประชุม		
09.30-10.30	เสวนาเรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: สู่การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?” วิทยากร 1.ตัวแทนจากสัตวแพทยสภา (ผศ.น.สพ.ดร.เฉลิมพล เล็กเจริญสุข) 2.ตัวแทนจากสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์		
10.30-11.00	พักรับประทานอาหารว่าง และการนำเสนอผลงานโปสเตอร์		
11.00-12.00	เรื่อง “Chronic Recurrent Cystitis” วิทยากร ผศ.น.สพ.ดร.เฉลิมพล เล็กเจริญสุข	เรื่อง “ แพรีตติก: ทำความรู้จัก-รักษาได้ ” วิทยากร น.สพ.ณัฐ กายสอน	Oral Presentation I
12.00-13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน และการนำเสนอผลงานโปสเตอร์		
13.00-14.00	เรื่อง “Feline Bartonellosis, What Is It And How To Cope With It” วิทยากร อ.สพ.ญ.ดร.สุกัลยา อัศรัสกร	เรื่อง “10 อันดับลูกนกเก็บตกและการดูแลรักษา” วิทยากร น.สพ.เบญจพล หล่อสัญญาลักษณ์	Oral Presentation II
14.00-14.30	พักรับประทานอาหารว่าง และการนำเสนอผลงานโปสเตอร์		
14.30-15.30	เรื่อง “Common Parasitic Skin Disease” วิทยากร อ.น.สพ.ดร.ชัยยศ ธารรัตน์	เรื่อง “เทคนิคการทำหมันกระต่าย” วิทยากร อ.น.สพ.เชาวพันธ์ ยืนหาญมิ่งมงคล	Oral Presentation III
15.30-16.30	เรื่อง “Cognitive Dysfunction Syndrome” วิทยากร อ.น.สพ.ศิริกาน สุวรรณวิทย์	-	
16.30-17.00	พิธีมอบรางวัลโปสเตอร์ดีเด่นและการนำเสนอผลงานด้วยวาจาดีเด่น		
17.00-17.45	กิจกรรมพิเศษเก่า การบรรยาย เรื่อง “SME Vet. Clinic: กุ้อย่างไรให้ประสบความสำเร็จ” โดยวิทยากรจากศูนย์ฝึกอบรมธนาคารกสิกรไทย (คุณธเนศ นวนุรักษ์)		

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557

เรื่อง “สัตวแพทย์เฉพาะทาง: สู่การยกระดับวิชาชีพกับความต้องการในสังคมไทย?”

วันที่ 14-15 พฤศจิกายน 2557

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

วันเสาร์ ที่ 15 พฤศจิกายน 2557

เวลา	ห้องบรรยาย A (R305)	ห้องปฏิบัติการ A (โรงพยาบาลเพื่อการสอนด้านสัตว์เล็ก)	ห้องปฏิบัติการ B (R205 และ R206)
08.30-09.00	ลงทะเบียน		
09.00-10.15	เรื่อง “มาเป็นหมอสัตว์พื้นแทะกันเถอะ” วิทยากร น.สพ.เชาวพันธ์ ยืนหาญมิ่งมงคล และคณะ	-	-
10.15-10.45	พักรับประทานอาหารว่าง		
10.45-12.00	เรื่อง “Common Cytological Diagnosis in Small Animals: Practice Tips” วิทยากร รศ.น.สพ.เกรียงศักดิ์ ไพรรค์ริญกิจ และคณะ	-	-
12.00-13.00	พักรับประทานอาหารกลางวัน		
13.00-15.00	-	อบรมเชิงปฏิบัติการ “มาเป็นหมอสัตว์พื้นแทะกันเถอะ” (Sec A) วิทยากร น.สพ.เชาวพันธ์ ยืนหาญมิ่งมงคล และคณะ	อบรมเชิงปฏิบัติการ “Common Cytological Diagnosis in Small Animals: Practice Tips” (Sec B) วิทยากร รศ.น.สพ.เกรียงศักดิ์ ไพรรค์ริญกิจ และคณะ
15.15-15.30	พักรับประทานอาหารว่าง		
15.30-17.30	-	อบรมเชิงปฏิบัติการ “มาเป็นหมอสัตว์พื้นแทะกันเถอะ” (Sec B) วิทยากร น.สพ.เชาวพันธ์ ยืนหาญมิ่งมงคล และคณะ	อบรมเชิงปฏิบัติการ “Common Cytological Diagnosis in Small Animals: Practice Tips” (Sec A) วิทยากร รศ.น.สพ.เกรียงศักดิ์ ไพรรค์ริญกิจ และคณะ
17.30-17.45	พิธีปิดการประชุม		



รายชื่อคณะกรรมการจัดงานประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ ๘ ประจำปี ๒๕๕๗

ที่ปรึกษา

๑. รศ.น.สพ.ดร.จตุพร กระจายศรี
๒. ผศ.น.สพ.ดร.ทองศักดิ์ มะมม

ประธานจัดงานประชุมวิชาการ

- อ.สพ.ญ.ดร.อภิรดี อินทรพัทตร์

ประธานกรรมการฝ่ายวิชาการ

- อ.สพ.ญ.ดร.คานัย แสงทอง

กรรมการฝ่ายวิชาการ

กรรมการจากภายในคณะฯ

- ๑) ผศ.น.สพ.ดร.ทองศักดิ์ มะมม
- ๒) ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิรกุล
- ๓) ผศ.สพ.ญ.ดร.อารยา สืบข้าเพชร
- ๔) ผศ.สพ.ญ.ดร.วัลย์พร ดนพิทักษ์
- ๕) อ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย
- ๖) อ.น.สพ.ดร.มงคล ชวนนิช
- ๗) อ.น.สพ.ดร.สมยศ อิ่มอารมณ
- ๘) อ.ดร.สรพรเพชญ์ โสภณ
- ๙) อ.น.สพ.ดร.วิษณุ วรรณแสง
- ๑๐) อ.สพ.ญ.ดร.พรรณนิการ ชัยชนะศักดิ์
- ๑๑) อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์วิภา โสถิพันธ์
- ๑๒) อ.น.สพ.วีระพันธ์ นกแก้ว
- ๑๓) อ.ดร.วิรัช อังศิริจินดา
- ๑๔) อ.สพ.ญ.ดร.ฐิตารีย์ เลาหรัชตานินทร์
- ๑๕) อ.น.สพ.เกียรติชัย วัฒนมงคล
- ๑๖) อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
- ๑๗) อ.มนตรี แสงลาภเจริญกิจ

กรรมการจากภายนอกคณะฯ

- ๑) ผศ.ดร.ประภา นันทารัตน์
- คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประธานกรรมการฝ่ายดำเนินการประชุมและปฏิคม

- อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์วิภา โสถิพันธ์

กรรมการฝ่ายดำเนินการประชุมและปฏิคม

- ๑) อ.สพ.ญ.ดร.อภิรดี อินทรพัทตร์
- ๒) ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิรกุล
- ๓) อ.น.สพ.ดร.พรชัย ครอบสวัสดิ์กุล
- ๔) อ.สพ.ญ.ดร.สุกัญญา ผลิตกุล
- ๕) อ.ดร.สุนิษา ศิริมงคลวรกุล
- ๖) อ.เอกราช ทองแดง
- ๗) อ.น.สพ.สิทธิชน รัตนจันทร์
- ๘) อ.สพ.ญ.กรกมล ปติฐพร
- ๙) อ.สพ.ญ.รัชฎาพร ไชยคุณ
- ๑๐) อ.น.สพ.ปฎิภาณ ใจเป็ง

ประธานกรรมการฝ่ายลงทะเบียนและการเงิน

- ผศ.สพ.ญ.ดร.จิตรบรรจง ทุมพงษ์

กรรมการจากภายในคณะฯ

- ๑) อ.จุฬาภา สอนกลิ่น
- ๒) อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
- ๓) อ.น.สพ.สิทธิชน รัตนจันทร์
- ๔) สพ.ญ.วัชรวิทย์ สุรมิตร
- ๕) สพ.ญ.เบญญา เบญจศรีรักษ์
- ๖) สพ.ญ.สิริภรณ์ ต้นทอง
- ๗) สพ.ญ.อรอุมา คงวิชานนท์
- ๘) สพ.ญ.วิษุตา ตั้งนิมิตดี
- ๙) นางสาวเนาวรัตน์ งามเมือง
- ๑๐) นางสาวกนกกานต์ แก้วทะเล
- ๑๑) นางจำเนียร ประสาทนาค
- ๑๒) นางศิริจันทร์ ช่างจั่น
- ๑๓) นางสาววิจิตรา สำราญ

กรรมการจากภายนอกคณะฯ

- ๑) พรรณธิดา ประสงค์แย้ม
สำนักบัญชีและการเงิน
- ๒) คุณสุวรรี เทียงทัศน์
สำนักฝึกอบรมและพัฒนาทรัพยากรบุคคล
- ๓) คุณจิตติมา ทวีมา
สำนักฝึกอบรมและพัฒนาทรัพยากรบุคคล
- ๔) คุณสุพรรณิ สงขะสะโรช
สำนักฝึกอบรมและพัฒนาทรัพยากรบุคคล
- ๕) คุณพจนกร เลานภากุล
สำนักฝึกอบรมและพัฒนาทรัพยากรบุคคล
- ๖) คุณวิภาดา อับดุลสลาม
สำนักฝึกอบรมและพัฒนาทรัพยากรบุคคล

ประธานกรรมการฝ่ายรายได้

อ.น.สพ.ดร.เจษฎา รุ่งภูประติษฐ์

กรรมการฝ่ายรายได้

- ๑) อ.น.สพ.สมจินต์ สุทธิกาญจน์
- ๒) อ.สพ.ญ.ปิ่นกาญจน์ จันทวงศ์
- ๓) น.สพ.นัฐชัย สุรรุจิ
- ๔) อ.น.สพ.พีรทัศน์ จิตต์วิวัฒน์
- ๕) อ.สพ.ญ.ธนิกานต์ สุวรรณโชติ
- ๖) อ.สพ.ญ.ชาธิณี โสภารัตน์
- ๗) อ.สพ.ญ.ธนวัน มังคละพฤกษ์
- ๘) น.สพ.คณิษฐ์ มาลาญา
- ๙) น.สพ.พชร ศรีประสาท
- ๑๐) นางสาวเนาวรัตน์ งามเมือง
- ๑๑) นางสาวกนกกานต์ แก้วทะเล

ประธานกรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

อ.น.สพ.ดร.ศักดิ์ชัย เรือนเพชร

กรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

กรรมการจากภายในคณะฯ

- ๑) อ.สพ.ญ.ปิ่นกาญจน์ จันทวงศ์
- ๒) อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
- ๓) อ.น.สพ.ชัยวัฒน์ ชุ่มช่วง
- ๔) อ.น.สพ.อนุสรณ์ จำแนกชื่น
- ๕) นางนิตยา ดีเสมอ
- ๖) นางสาวศิริรัตน์ พิมพ์วาปี

กรรมการจากภายนอกคณะฯ

- ๑) น.สพ.อนุวัฒน์ วัฒนนเรศราษฎร์
นายกสมาคมศิษย์เก่าคณะสัตวแพทยศาสตร์ มทม.

ประธานกรรมการฝ่ายสถานที่และระบบ

อ.น.สพ.ศุภรัช ภูมิวิทย์พงศ์

กรรมการฝ่ายสถานที่และระบบ

- ๑) อ.สพ.ญ.ดร.ดวงจิต คณิงเพียร
- ๒) อ.น.สพ.ดร.กฤษฎา ขำพูล
- ๓) อ.สพ.ญ.ดร.อุมาพร รุ่งฤกษ์ฤทธิ์
- ๔) อ.น.สพ.ชนัด ญาณประภาศิริ
- ๕) อ.สพ.ญ.จิตรา สนิสุวิงษ์
- ๖) อ.สพ.ญ.อัจฉิมา จันทรแสนโรจน์
- ๗) อ.น.สพ.พัฒนพร ถาวรพัฒน์พงศ์
- ๘) น.สพ.ณัฐพงษ์ จิตยารักษ์
- ๙) อ.สพ.ญ.ชรินทร์ จันทรสวัสดิ์
- ๑๐) นางสาวนัยนา คะเด
- ๑๑) นางนิตยา ดีเสมอ
- ๑๒) นายจักรพงศ์ วิริยะพงศ์
- ๑๓) นางจำเนียร ประสาทนาถ
- ๑๔) นางพัชรี กองเป็ง
- ๑๕) นางสาวณัจฉรียา คณะสา
- ๑๖) นางสาวนารีรัตน์ ทองอ่อน
- ๑๗) นางศิริจันทร์ ช่างจัน
- ๑๘) นายนิติศักดิ์ เวชสาร
- ๑๙) นางสาววิจิตรา สำราญ
- ๒๐) นายณรงค์ชัย สังประพน
- ๒๑) นายฟาริส ชื่นภักดี
- ๒๒) นายชวลิต พ่วงรอด
- ๒๓) นางสาวกิตติมา ล้อเจริญรุ่งโรจน์

ประธานกรรมการฝ่ายบริการอาหารและสวัสดิการ

อ.สพ.ญ.ปณิดา ล้อมวงษ์

กรรมการฝ่ายบริการอาหารและสวัสดิการ

- ๑) อ.น.สพ.ดร.ธนสิทธิ์ สอนภู
- ๒) อ.สพ.ญ.ดร.ดวงใจ เจริญรักษ์วงศ์
- ๓) อ.สพ.ญ.ดร.ทรงศนีย์ บุญทรศนีย์
- ๔) อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
- ๕) อ.น.สพ.ณัฐวุฒิ คณาติยานนท์
- ๖) อ.สพ.ญ.สุทธีณี บุญให้
- ๗) นางสาวสุวรรณีโล สະນີລະ
- ๘) นายสามารถ สุวรรณเคน
- ๙) นางสาวสุนิสา สุชาติธรรม
- ๑๐) นางสาวณัจฉรียา คณะสา

ประธานกรรมการฝ่ายเลขานุการและประสานงาน

อ.สพ.ญ.อัครารารณ โลหะวนิชย์

กรรมการฝ่ายเลขานุการและประสานงาน

- ๑) อ.สพ.ญ.ภควดี คำพลงาม



รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557

1. รศ.น.สพ.เกรียงศักดิ์ ไพโรหิรัญกิจ
2. ผศ.น.สพ.ดร.เฉลิมพล เล็กเจริญสุข
3. ผศ.สพ.ญ.วลาสีห์ มูลอามาตย์
4. อ.น.สพ.ดร.ชัยยศ ธารรัตน์
5. อ.สพ.ญ.ดร.สุกัลยา อัครัสกร
6. อ.น.สพ.เชาวพันธ์ ยินหาญมิ่งมงคล
7. อ.น.สพ.ศิราภรณ์ สุวรรณวิทย์
8. น.สพ.ณัฐ ภายสอน
9. น.สพ.เบญจพล หล่อสัญญาลักษณ์



รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ พิจารณาผลงานวิจัย บทความทางวิชาการ และโปสเตอร์

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ 8 ประจำปี 2557

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิจากหน่วยงานภายนอก

1. ผศ.น.สพ.ดร.พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน
2. ผศ.น.สพ.ดร.วิศณุ บุญญาวิวัฒน์
3. ผศ.น.สพ.ดร.บุรินทร์ นิมสุมรรณ

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิจากหน่วยงานภายใน

1. ผศ.สพ.ญ.ดร.วัลย์พร ตนพิทักษ์
2. ผศ.สพ.ญ.ดร.จิตรบรรจง ทุมพงษ์
3. ผศ.สพ.ญ.ดร.อารยา สืบขำเพชร
4. อ.สพ.ญ.ธัชฎาพร ไชยคุณมาร์คว
5. อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์ศิระ โสติพิพันธุ์
6. อ.สพ.ญ.ดร.พรรณนิการ ชัยชนะศักดิ์
7. อ.น.สพ.ดร.วิษณุ วรรณแสง
8. อ.จุฬารักษ์ สอนกลิ่น

สารบัญ

สารจากอธิการบดี	I
สารจากคณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์	II
สารจากประธานกรรมการจัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์	III
กำหนดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์	VII
รายชื่อคณะกรรมการจัดงานประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์	IX
รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ	XI
รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาผลงานวิจัย บทความวิชาการ และโปสเตอร์	XII

Oral presentation

O-01 Vector-borne diseases: Global multidisciplinary strategies applied to operation and research	1
---	---

Adisak Bhumiratana, Apiradee Intarapuk, Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp, Wuthichai Kaewwaen, Pannamas Maneekan and Surachart Koyadun

O-02 Application of landscape ecology and epidemiology to assessing potential transmission of filariasis	3
--	---

Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp, Adisak Bhumiratana, Suntorn Pimnon, Apiradee Intarapuk and Wuthichai Kaewwaen

O-03 <i>Mansonia</i> mosquitoes parasitized by water mites in Narathiwat province, Southern Thailand ..	6
---	---

Suntorn Pimnon, Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp, Apiradee Intarapuk and Adisak Bhumiratana

O-04 Study of the optimal conditions for estrogen receptors alpha and progesterone receptors detection in buffalo uterus (<i>Bubalus bubalis</i>) by immunohistochemistry technique	8
---	---

Saithan Polnok, Krittika Wannapake, Supaporn Boonnual, Phailin Kawijai, Kittika Chaimongkol, Warongchanok Hanrin, Wilawan Srinak, Paradee Hattapanit, Pongsiwa Sotthibandhu, Siriwat Suadsong and Thuchadaporn Chaikhun-Marcou

O-05 เปรียบเทียบการใช้ PMSG และ PGF _{2α} ที่ระยะเวลาแตกต่างในโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัด ในแพะด้วย CIDR-G	11
--	----

ชัชวาล ปานสาย และ สรรเพชญ์ โสภณ

Poster presentation

P-01 การศึกษาวิธีการย้อมสีพยาธิใบไม้ในกระเพาะรูเมน	13
--	----

กฤษฎา ขำพูล

P-02 Survival of vancomycin-resistant <i>Enterococci</i> (VRE) using ultraviolet radiation, temperatures, various disinfectants and antibiotics	15
---	----

Wisanu Wanasawaeng and Wattana Somsit

P-03	การศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากสุนัขที่เป็นหูส่วนนอกอักเสบที่มาทำการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	
	Study of Antimicrobial Susceptibilities of Bacteria Isolated from Otitis Externa in Dogs Were Admitted in Training Animal Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Thailand.....	17
	พิทยา ภากิรมย์ ประพันธ์ แก่นจำปา ไพโรจน์ วงศ์หทัยไพศาล น้ำฟ้า เฟื่องบุญ ปรีชากร พันธุ์พิเศษ มนูญ จุมศิลา และ อนิสรา สิงห์แม่ง ⁴	
P-05	ภาวะการบวมน้ำรอบเส้นเลือด milk vein ผลเนื่องจากการรักษาเต้านมอักเสบโดยการปิดเต้าด้วย 20% acriflavin: รายงานสัตว์ป่วย	22
	สุทธิชัย บุญให้ มงคล ขวณิช ธนสิทธิ์ สอนนุกู และ สมยศ อัมอรมณ	
P-06	A Case Report of Chondroid Chordoma in the Tail of a Ferret	24
	Hassadin Boonsriroj, Chun-Ho Park, Thanongsak Mamom, Pinkarn Chantawong and Suvarin Pavasutthipaisit	
P-07	Specificity and sensitivity of COX1 primers for species identification: Implement a non invasive sampling methods	26
	Danai Sangthong, Weerapun Nokkaew and Pradit Sangthong	
P-08	Multiplex PCR assay for Identification of <i>Portunus</i> species using mitochondrial gene region.....	28
	Danai Sangthong, Songmeung Suwannarat and Pradit Sangthong	
P-09	Molecular phylogeny of <i>Elephas</i>, <i>Loxodonta</i> and <i>Mammuthus</i> (Elephantidae) based on mitochondrial control region: Implications for conservation and forensic.....	30
	Danai Sangthong, Weerapun Nokkaew and Pradit Sangthong	
P-10	Development of Multiplex PCR Assay for the Identification and Differentiation of <i>Episesarma mederi</i> and other crab species	32
	Danai Sangthong, Chonlakran Auychinda and Pradit Sangthong	
P-11	Molecular cloning of the partial chicken infectious anemia viral DNA fragment	34
	Wisanu Wanasawaeng, Nunthawan Wongchitwong and Niwat Chansiripornchai	
P-12	Congenital Anomalies Accompanied with Anasarca in Five Neonatal Bulldogs: A Case Report.....	36
	Thanongsak Mamom	
P-13	Comparison between Live/Dead Staining and WST-1 Cell Proliferation Assay to Assess Viability of Porcine Airway Ciliated Epithelial cells.....	38
	DarsaniyaPunyadarsaniya, Bussarakam Chuppava, Sakchai Ruenphet and Pakawadee Kumpolngam	
P-14	รายงานสัตว์ป่วย: ภาวะไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจในลูกแมว	40
	สมจินต์ สุทธิกาญจน์ และ เจษฎา รุ่งภูประดิษฐ์	

P-15 Butterfly Pea Flower Extract as a Dye on Dog Vaginal Smear Staining.....42

Araya Suebkhampet, Pongsiwa Sotthibandhu and Ajjima Chansaenroj

P-16 การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์เพื่อเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน hsp 70.1 ที่ตำแหน่ง AP2 box region.....44

อนุสรณ์ จำแสนชื่น ประดิษฐ์ แสงทอง และ ดาเนียล แสงทอง

**Vector-borne diseases: Global multidisciplinary strategies applied to
operation and research**

Adisak Bhumiratana^{1*}, Apiradee Intarapuk², Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp³

Wuthichai Kaewwaen⁴, Pannamas Maneekan⁵ and Surachart Koyadun⁶

¹Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Public Health, Mahidol University, 420/1 Rajvithi Road, Rajthwee, Bangkok 10400, Thailand, ²Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, 140 Cheum-Sampan Road, Nong-Chok, Bangkok 10530, Thailand, ³Department of Fundamentals of Public Health, Faculty of Public Health, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand, ⁴Department of Geoinformatics, Faculty of Geoinformatics, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand, ⁵Department of Tropical Hygiene, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand, ⁶Ministry of Public Health, Department of Disease Control, The 11th Regional Office of Disease Prevention and Control, Nakhon Si Thammarat 80000, Thailand

***Corresponding author: Adisak Bhumiratana** (adisak.bhu@mahidol.ac.th)

The emergence/reemergence and spread of the most important vector-borne diseases (VBD) such as dengue, malaria, filariasis, typanosomiasis, leishmaniasis, and scrub typhus in endemic countries in tropical and subtropical regions of the world have been epidemiologically linked with the multifactors underlying human settlement/resettlement and activities, health behaviors, non-human reservoirs, animal behaviors, land use/land cover changes, vector population dynamic, vector behaviors, insecticide resistance in vectors, agri-environmental climatic conditions, climate changes, and pathogens' population adaptations. Among these plausible factors, human-induced changes can lead not only to the landscape ecology and epidemiology changes of the VBD but also to the consequences of the implementation of currently available surveillance tools and prevention/control strategies at both national and sub-national levels in the endemic countries, and internationally within the affected countries. This also

offers the challenges that the operational and research endeavors need to scrutinize epidemiological landscape changes over spaces and time periods.

The questions to be addressed include what are the links that vulnerable people acquire the infection over space and time despite the fact that the coverage of prevention/control strategies is household-level implemented; why the risk of VBD needs to be logically analyzed to stratify transmission control area; how we could determine the scope of very large infographic data relating to human, pathogen, vector, and environment; and how we could comprehend a detailed and accurate graphic presentation of the relative parameter sets that regulate the VBD. To solve these problems, a global multidisciplinary strategy based radically on the landscape ecology (disease ecotope and the infection pocket), epidemiology (disease transmission patterns and risk factors), entomology (vector population dynamic and susceptibility to the infection or

insecticides), and molecular evolution (population genetic structure of pathogen and vector) of the VBD can be applied to or used in the operational and research endeavors that allow policy makers, scientists, and public health professional

to leverage data/information needed for surveillance, prevention, and control.

Keywords: vector-borne diseases, landscape ecology, epidemiological changes

Application of landscape ecology and epidemiology to assessing potential transmission of filariasis

Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp^{1*}, Adisak Bhumiratana², Suntorn Pimnon²,
Apiradee Intarapuk³ and Wuthichai Kaewwaen⁴

¹Department of Fundamentals of Public Health, Faculty of Public Health, Burapha University,
Chonburi 20131,Thailand; ²Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Public Health,
Mahidol University, 420/1 Rajvithi Road, Rajthewee, Bangkok 10400,Thailand;

³Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology,
140 Cheum-Sampan Road, Nong-Chok, Bangkok 10530,Thailand; ⁴Department of Geoinformatics,
Faculty of Geoinformatics, Burapha University, Chonburi 20131,Thailand

***Corresponding author: Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp (prapa@buu.ac.th)**

Abstract

[Introduction] Filariasis is one of the mosquito-borne diseases affecting humans and domestic animals. The only lymphatic filariasis causes public health problems in Thailand and Southeast Asia.¹ Brugian filariasis caused by *Brugia malayi* is a zoonotic disease in that domestic animals such as cat and dog are non-human reservoirs. *Brugia pahangi* and *Dirofilaria* spp. also thrives in these natural reservoir hosts. The circulation of filarial parasites in humans and non-human reservoirs does not always permit effective surveillance and xenomonitoring of the filarial infection in filariasis vectors in certain transmission areas or risk areas. Thachana District of Surathani Province in SouthernThailand is a transmission area that had received mass drug administration during 2008 to 2011 from the National Control Program. In this study, we have attempted to apply tools for use in landscape ecology (i.e., determining disease ecotopes) and epidemiology (i.e., determining the prevalence and distribution of filarial infection) of filariasis in this

transmission area in the dry season of 2014. Thus, the filarial infections in filariasis vectors were monitored among 4 different disease ecotopes.

[Materials and Methods] Ecotope-based entomological surveillance (EES)² was used in determining disease ecotopes (I to IV) based on the abundance and distribution of filariasis vectors on difference in land use/land cover patterns, altitudes, and the vector population replacement within a catchment area of 1.5 km² in Phrasong sub-district, Thachana district, Surattani Province. Among four disease ecotopes, human landing catches were used in indoors/outdoors collection (18:00-21:00 h) of filariasis vectors belonging to genera *Mansonia*, *Culex*, *Aedes*, and *Armigeres*³⁻⁵ although the prevalence and distribution of the filarial infections in filariasis vectors and domestic animals remain unknown. All mosquitoes initially examined by taxonomic identification were individually dissected under stereomicroscopy. Descriptive statistics were used in assessing the positivity of

the filarial infections whether L1, L2, or L3. Species identification of larvae that are positive will be verified by PCR.

[Results] It was clear to note that disease ecotopes I to III exhibited the abundance and distribution of 4 various filariasis vectors; of these, *Ar. subalbatus* distributed widely to all disease ecotopes, whereas *Mansonia* spp. was sessile to the disease ecotope IV. Also, *Ar. subalbatus* was found in disease ecotopes I to III, but not IV, carried the filarial infections, showing the infection rates of 1 to 2.5% (Table 1). However, the intensity of filarial infections was not shown for single disease ecotopes.

[Discussion] Based on determining disease ecotopes of filariasis vectors confined within 1.5 km², our findings demonstrated that the magnitude and distribution of filariasis vectors carrying filarial infections (L1/L2/L3) were related to geographically defined ecotopes that are covered with rubber plantations and mixed oil palms and orchards on 60-70 meters above sea level. Ecotopes I to III exhibited the magnitude of the filarial infections carried by *Ar. subalbatus*⁵ but not *Mansonia*, *Culex*, and *Aedes* vectors. Ecotope IV proximal to the disturbed peat swamp forest exhibited moderate infestation level for the *Mansonia* but very low infestation level for the *Armigeres*, whereas *Mansonia* did not carry any filarial infections, showing the zero ground of the infection prevalence. This suggests the vector population replacement occurred in disease ecotopes I to III as *Ar. subalbatus* plays

more important role as a vector of zoonotic filariasis.⁵ Nonetheless, the further investigation of the relative disease ecotopes is needed to determine the extent to which the potential transmission of filariasis including *B. malayi* and *B. pahangi* is regulated by the vector population replacement, season variations, animal reservoirs, human settlements and activities, and land use/land cover changes.

References

1. Bhumiratana A, Intarapuk A, Koyadun S, Maneekan P, Sorosjinda-Nunthawarasilp P. Current bancroftian filariasis elimination on Thailand-Myanmar border: Public health challenges toward postgenomic MDA evaluation. *ISRN Trop Med*, 2013; 2013: 857935.
2. Sorosjinda-Nunthawarasilp P, Bhumiratana A. Ecotope-based entomological surveillance and molecular xenomonitoring of multidrug resistant malaria parasites in *Anopheles* vectors. *Interdiscip Perspect Infect Dis*, 2014; 2014: 969531.
3. Apiwathnasorn C, Samung Y, Prommongkol S, Asavanich A, Komalamisara N, McCall P. Bionomics studies of *Mansonia* mosquitoes inhabiting the peat swamp forest. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2006; 37(2): 272-278.
4. Entomological survey in "Phru Nam Dum" Surathani, Thailand. *J Vector-borne Dis*, 2008; 7(1): 1-7.
5. Muslim A, Fong MY, Mahmud R, Lau YL, Sivanandam S. *Armigeres subalbatus* incriminated as a vector of zoonotic *Brugia pahangi* filariasis in suburban Kuala Lumpur, Peninsular Malaysia. *Parasit Vectors*, 2013; 6: 219.

Keywords: Filariasis, Ecotope-based entomological surveillance, Landscape ecology, Epidemiology

Table 1 Prevalence and distribution of filarial infections in filariasis vectors among four disease ecotopes^a

Disease ecotope	<i>Mansonia</i>		<i>Culex</i>		<i>Aedes</i>		<i>Armigeres</i>	
	Total no.	No. positive (%)	Total no.	No. positive (%)	Total no.	No. positive (%)	Total no.	No. positive (%)
I	0	0	27	0	1	0	133	2 (1.5)
II	2	0	0	0	7	0	175	2 (1.1)
III	0	0	30	0	8	0	40	1 (2.5)
IV	34	0	6	0	0	0	5	0

^aData were obtained from 3 consecutive days of mosquito collection using human landing catches in single disease ecotopes.

***Mansonia* mosquitoes parasitized by water mites in Narathiwat province,
Southern Thailand**

Suntorn Pimnon^{1*}, Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp²,
Apiradee Intarapuk³ and Adisak Bhumiratana¹

¹Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Public Health, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand; ²Department of Fundamentals of Public Health, Faculty of Public Health, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand; ³Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, 140 Cheum-Sampan Road, Nong-Chok, Bangkok 10530, Thailand

*Corresponding author: Suntorn Pimnon (suntorn.pim@mahidol.ac.th)

Abstract

[Introduction] Water mites such as larval *Arrenurus* spp. can affect both survival and reproduction of mosquito hosts belonging to Family Culicidae (Insecta: Diptera).¹ For example, filariasis vectors belonging two genera *Coquillettidia* and *Mansonia* are parasitized by *Arrenurus danbyensis* and, consequently, they had a significant effect on the mosquito's egg production or they have been eliminated by heavy infestations of water mites. The impact of parasitism on the filariasis vector populations has never been observed.

This study was to determine the abundance and distribution of water mites that parasitized *Mansonia* spp. mosquitoes endogenous to "Toh Daeng" peat swamp forest in Tak Bai district, Narathiwat province, Southern Thailand.

[Materials and Methods] Ecotope-based entomological surveillance (EES)² was used to collect adult mosquitoes of *Mansonia* spp. that infest filariasis ecotopes in "Toh Daeng" peat swamp forest in Tak Bai district, Narathiwat province during the dry season in 2014. The adult mosquito samples were collected both indoors and outdoors by

using human landing catches between 18:00 and 21:00 h. Then, the mosquitoes were individually examined for the taxonomic identification under stereomicroscopy as well as the presence of larval water mites. In this study morphologic characteristics of larva water mite are not taxonomically identified for the species. The abundance and distribution of water mites found on any *Mansonia* mosquitoes were recorded based on the infestation at head, thorax and abdomen.

[Results] A total of 372 adult *Mansonia* mosquitoes found in this study included 192 *Ma. uniformis*, 173 *Ma. bonneae*, 5 *Ma. annulata*, one *Ma. dives*, and one *Ma. indiana*. Of these, only two major taxa including 19 (9.9%) *Ma. uniformis* and 8 (4.6%) *Ma. bonneae* were parasitized by larval water mites. On the other hand, a total number of 61 water mites infested these taxa were observed; 50 (82.0% infestation) mites on *Ma. uniformis* and 11 (18.0% infestation) on *Ma. bonneae*, as shown in Table 1. Parasitism of both *Ma. uniformis* and *Ma. bonneae* was mostly found on the thorax (Figure 1). No water mite was found on

the proboscis or head part of these mosquitoes.

[Discussion] However, larval water mite that are preference to *Mansonia* vectors remain unclear. *Ma.uniformis* and *Ma.bonneae* were likely to show the infestation of larval water mites in this study. The Difference is the infestation level of water mites; the infestation on *Ma.uniformis* was greater than that of *Ma.bonneae*. This might suggest specific host preference of parasitism occurring in *Ma. uniformis* taxa. The significance of the high infestation in *Ma. uniformis* is needed for further investigation whether it has the effect on changes in the population or community structure or it

exhibits the role in biological control of filariasis vectors in the study area.^{3,4}

References

1. Smith BP, McIver SB. The impact of *Arrenurus danbyensis* Mullen (Acari: Prostigmata; Arrenuridae) on a population of *Coquillettidia perturbans* (Walker) (Diptera: Culicidae). Canadian J Zool 1984; 62: 1121-1134.
2. Sorosjinda-Nunthawarasilp P, Bhumiratana A. Interdiscip Perspect Infect Dis, 2014; 2014: 969531.
3. Rajendran R, Prasad RS. J Biosci, 1992; 17: 35-40.
4. Apiwathnason C. et al., 2006. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006; 37: 278-282.

Keywords: *Mansonia uniformis*, *Mansonia bonneae*, water mites, infestation.

Table 1 Infestation of larval water mites on *Ma. uniformis* and *Ma. bonneae*

Time ^a	No. of mites on <i>Ma. uniformis</i> (n=19)				No. of mites on <i>Ma. bonneae</i> (n=8)			
	Head	Thorax	Abdomen	Total	Head	Thorax	Abdomen	Total
1 h	0	4	2	6	0	3	0	3
2 h	0	21	4	25	0	7	0	7
3 h	0	14	5	19	0	1	0	1
Total	0	39	11	50	0	11	0	11

^aPeak density of *Mansonia* spp.

Figure1 Infestation of larval water mites on *Ma.uniformis* (A) and *Ma.bonneae* (B).

(A) *Ma.uniformis*



(B) *Ma.bonneae*



Study of the optimal conditions for estrogen receptors alpha and progesterone receptors detection in buffalo uterus (*Bubalus bubalis*) by immunohistochemistry technique

Saithan Polnok¹, Krittika Wannapake¹, Supaporn Boonnual¹, Phailin Kawijai¹,
Kittika Chaimongkol¹, Warongchanok Hanrin¹, Wilawan Srinak¹, Paradee Hattapanit¹,
Pongsiwa Sotthibandhu², Siriwat Suadsong³ and Thuchadaporn Chaikhun-Marcou^{4*}

¹The 6th year student, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok, 10530, Thailand; ²Pre-Clinical Veterinary Science Department, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok, 10530, Thailand; ³Department of Obstetrics, Gynecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand; ⁴Obstetric Gynecology and Animal Reproduction Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok, 10530, Thailand

*Corresponding author: Thuchadaporn Chaikhun-Marcou (thuchadaporn@hotmail.com)

Abstract

[Introduction] Sex steroid hormones such as estrogen and progesterone have been found positive and negative feedback control to reproductive function via the hypothalamic- pituitary-gonadal axis, especially hypothalamic kisspeptin and GnRH releasing in many mammals [1-4]. Immunohistochemistry technique has been used for detection of the specific antigens in tissue sections by taking advantage of the fact that specific antibodies bind to specific antigens in biological tissues [5]. The aim of this study was to find the optimal conditions for the detection of estrogen receptors alpha (ER α) and progesterone receptors (PR) using the immunohistochemistry technique in buffalo uterus samples.

[Materials and Methods] The experiment was conducted in the 4 micron paraffin sections of buffalo uteri. The samples were prepared for immunohistochemistry, using a rat anti-human ER α (H222) monoclonal antibody (Santa Cruz catalog number sc-93452, TX, USA), a mouse

anti-chicken PR (Alpha PR6) monoclonal antibody (Thermo Scientific catalog number MA1-411, IL, USA). For the antigen retrieval process, the tissue sections were subjected to a water bath (70 °C for 10 minutes) and autoclaved (121 °C for 10 minutes) with different dilutions of the specific antibody (1:250, 1:500, 1:1000 for ER α and PR). In the final step, 3, 3'-diaminobenzidine (DAB, Dako, Glostrup, Denmark), a chromogen, was added to visualize bound enzyme (brown color) on the observed samples for 5 min. The intensity of each antibody immunoreactions and the clarify of background were microscopically observed for judging the optimal condition. Positive controls for antibody and tissue specificity were prepared using ewe POA and ARC hypothalamic nuclei paraffin sections. Negative controls for antibody specificity were conducted using PBS instead of a primary antibody application and 10% normal horse serum

was applied for non-specific binding blocking of primary antibody.

[Results] Our study found the optimal conditions for antigen retrieval and the dilution of specific primary monoclonal antibody for ER α and PR to be the same: autoclaving at 121 °C for 10 minutes with a dilution of 1:250. Both ER α and PR immunoreactions were detected in the nuclei of the smooth muscle fibers in myometrium. In addition, they were found in the epithelial cells, uterine glands and a few connective tissue cells in endometrium (Fig 1). The PR immunoreactions was graded as intense level with very clear background (Fig 2) while the ER α immunoreactions was graded as moderate level with a darker background (Fig 3).

[Discussion] This study provides useful basic information for the immunohistochemical technique which will be applied for our future study on the role of sex steroid hormones in buffalo reproduction by double-labeling immunofluorescence technique on

paraffin sections of buffalo hypothalamus.

Acknowledgements

This research was sponsored by Thailand Research Fund. Thank you for laboratory facilities support from the Histopathological Laboratory, the Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok, Thailand.

Selected references

1. Chaikhun et al., 2013. Thai J Vet Med. 42(1): 81-85.
2. Estrada et al., 2006. J Neuroendocrinol. 18: 806-809.
3. Franceschini et al., 2006. Neurosci Lett. 401: 225-230.
4. Gottsch et al., 2004. Endocrinology. 145, 4073- 4077
5. Ramos-Vara, 2005. Vet Pathol. 42: 405-426

Keywords: estrogen receptor alpha, progesterone receptor, buffalo, immunohistochemistry

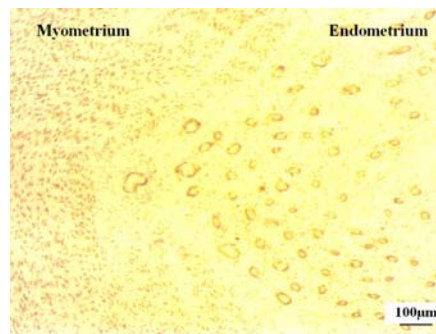


Figure 1 The PR immunoreactions distribute in myometrium and endometrium of buffalo uterus (Low magnification).

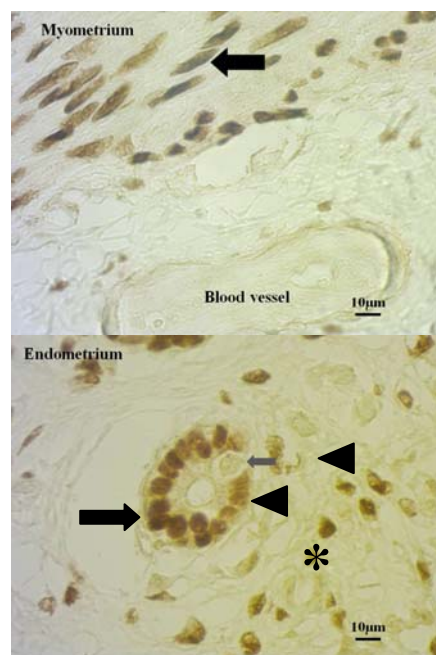


Figure 2 The PR immunoreactions intensely expresses in the nucleus of the smooth muscle cells (upper picture, arrow) and the uterine glands (arrow) and some fibrous cells (asterisk) but does not appear in some cells (arrow head; lower picture).

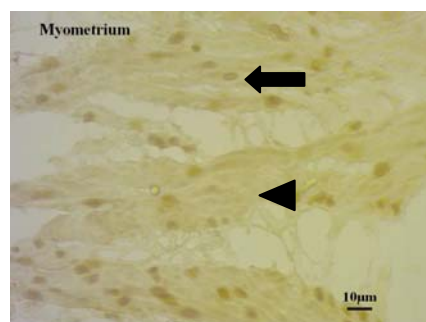


Figure 3 The ERα immunoreactions moderately appear in the nucleus of the smooth muscle cells (arrow) with moderated clear background (arrow head).

เปรียบเทียบการใช้ PMSG และ PGF_{2α} ที่ระยะเวลาแตกต่างในโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะด้วย CIDR-G

ชัชวาล ปานสวย* และ สรรเพชญ์ โสภณ

บัณฑิตศึกษาศาสาเทคโนโลยีชีวภาพสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*ผู้รับผิดชอบบทความ: ชัชวาล ปานสวย (kew_125@hotmail.com)

บทคัดย่อ

[บทนำ] การเหนี่ยวนำการเป็นสัดเป็นเทคโนโลยีช่วยสืบพันธุ์ในรูปแบบหนึ่ง การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนสังเคราะห์เป็นรูปแบบหนึ่งของการเหนี่ยวนำ โดยทำให้ระยะลูเตียลขยายเวลาออกไป ซึ่งทำได้โดยใช้โปรเจสเตอโรนหลายชนิด เช่น melengestrol acetate (MGA) โดยการเสริมในอาหารพบว่า ผลการตอบสนองต่อการเป็นสัดไม่ดีอัตราสมมติต่ำ และมีผลตกค้าง (2)รูปแบบฟองน้ำ (vaginal sponges) สอดเข้าช่องคลอด เช่น fluorogestone acetate (FGA) และ medroxyprogesterone acetate (MAP) controlled internal drug release (CIDR) เป็นโปรเจสเตอโรนเคลือบบนซิลิโคนซึ่งในปัจจุบันพบว่านิยมใช้เพิ่มขึ้นเนื่องจากใช้ง่าย การปลดปล่อยฮอร์โมนมีความสม่ำเสมอ (1)ในการศึกษานี้จึงได้ทำการเปรียบเทียบการใช้ PMSG และ PGF_{2α} ที่ระยะเวลาแตกต่างในโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะด้วย CIDR-G

[อุปกรณ์และวิธีการทดลอง]

สัตว์ทดลอง การทดลองนี้ใช้แพะลูกผสมที่เลี้ยงที่คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ทั้งหมด 36 ตัว เป็นแพะลูกผสมพันธุ์แองโกลนูเบีย บอร์ และซาแนน ซึ่งการทดลองนี้มีปัจจัย 2 อย่างคือ การใช้ฮอร์โมนและอายุของแพะ เป็นแพะสาว 18 ตัว อายุระหว่าง 8 เดือน ถึง 24 เดือน และแพะนาง 18 ตัว หลังคลอด 40 วัน ถึง 336 วันเลี้ยงด้วยการให้อาหารข้น (โปรตีนประมาณ 16%) ประมาณ 200 และ 300 กรัมต่อตัวต่อวัน และข้าวโพดหมักวันละประมาณ

1.5 กิโลกรัมวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็นมีก้อนแร่ธาตุให้แพะเลียกินและมีน้ำดื่มตลอดเวลา

การทดลอง แบ่งแพะสาวแพะนางออกเป็นสองกลุ่มโดยกลุ่มที่ 1 สอด CIDR-G (Eazi-BREED[®], Zoetis) ไว้ในช่องคลอดนาน 9 วัน และฉีดฮอร์โมน PMSG (Folligon[®] INTERVET) (แพะสาวใช้ 200 IU แพะนางใช้ 300 IU) และ PGF_{2α} (Estrumate[®] INTERVET 300 IU) เข้ากล้ามเนื้อ 2 วันก่อนถอด CIDR-G และกลุ่มที่ 2 สอด CIDR-G ไว้ในช่องคลอดนาน 9 วัน และฉีดฮอร์โมน PMSG และ PGF_{2α} ในวันที่ถอด CIDR-G ทำการสังเกตอาการเป็นสัดของแพะ และใช้แพะเพศผู้เต็มวัยช่วยในการตรวจอาการเป็นสัด

[ผลการวิจัย] จากการทดลองครั้งนี้โปรแกรมที่ 1 การฉีด PMSG และ PGF_{2α} ก่อนถอด CIDR-G 48 ชั่วโมง ให้ผลการเป็นสัดเร็วกว่า โปรแกรมที่ 2 ที่ฉีด PMSG และ PGF_{2α} ในวันที่ถอด CIDR-G ทำให้แพะได้รับการผสมเร็วกว่าในกลุ่มแพะนางส่วนแพะสาวจะแสดงอาการเป็นสัดช้ากว่าแพะนางแต่ในแพะนางที่ฉีดฮอร์โมนทั้งสองก่อนถอด CIDR-G 48 ชั่วโมง จะเป็นสัดเร็วกว่าฉีดฮอร์โมนทั้งสองพร้อมถอด CIDR-G รายละเอียดดังตารางที่ 1

[วิจารณ์] ผลจากการทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะทั้ง 2 โปรแกรมถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่แนวโน้มการเป็นสัดในแม่แพะจะเริ่มเป็นสัดเร็วกว่าและช่วงระยะเวลาการเป็นสัดแคบกว่า (15-24 และ 16-43 ชั่วโมง) หลังถอด

CIDR-G ชั่วโมงผสมแคบกว่า (22-44 และ 24-50 ชั่วโมง) หลังถอด CIDR-G จากการศึกษาชี้แนะได้ว่า การฉีด PMSG และ PGF_{2α} ก่อนถอด CIDR-G 48 ชั่วโมง น่าจะเป็นโปรแกรมที่เหมาะสมที่จะใช้ในแม่แพะมากกว่าใช้ในแพะสาว

เอกสารอ้างอิง

1. Romano, J.E. 2004. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the

breeding season in Nubian goats. Small Ruminant Research 55:15-19.

2. Martinez, M.F. et al. 2002. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. Theriogenology 57(3):1049-1059.

คำสำคัญ: goat, synchronization, CIDR-G, PMSG, PGF_{2α}

ตารางที่ 1 แสดงระยะเวลาการเปรียบเทียบอาการเป็นสัด ระหว่างแพะสาว กับแพะนาง ในระยะเวลาต่างๆ

Program	N	Estrus after removal CIDR (hours) (Mean ± SD ,Range)	Breeding (hours) (Mean ± SD ,Range)	Finish estrus (hours) (Mean ± SD,Range)
แพะสาว				
injection PMSG + PGF _{2α} 48 hours before removal CIDR-G	9	30.56 ±15.56 17 - 60	48.33 ±15.60 24 - 77	67.25 ±17.36 48 - 97
injection PMSG + PGF _{2α} removal CIDR-G	9	30.56 ±10.48 18 - 50	40.78 ±8.00 24 - 51	93.89 ±44.07 55 - 182
แพะนาง				
injection PMSG + PGF _{2α} 48 hours before removal CIDR-G	9	18.89 ±3.22 15 - 24	33.88 ±9.99 22 - 44	51.44 ±8.20 47 - 72
injection PMSG + PGF _{2α} removal CIDR-G	9	27.89 ±10.12 16 - 43	38.33 ±9.67 24 - 50	75.56 ±19.70 47 - 120

การศึกษาวิธีการย้อมสีพยาธิใบไม้ในกระเพาะรูเมน

กฤษฎา ขำพูล^{1*}

¹มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร 140 ถ.เชื่อมสัมพันธ์ หนองจอก กทม. 10530

*ผู้รับผิดชอบบทความ: กฤษฎา ขำพูล (grisada@mut.ac.th)

บทคัดย่อ

[บทนำ] *Fischoederius cobboldi* เป็นพยาธิใบไม้ที่ตรวจพบได้ในกระเพาะ รูเมน และเรติครัม ของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ทำให้สัตว์ขาดสารอาหารจากการแย่งกินสารอาหารจากตัวพยาธิที่เกาะติดฝังแน่นบนผนังกระเพาะอาหาร ซึ่งจะก่อความเสียหายให้กับฟาร์มสัตว์เคี้ยวเอื้องด้านคุณภาพของผลผลิตด้านเนื้อและนมจากสัตว์ หลังจากการตรวจชันสูตรโรคตัวพยาธิที่ตรวจพบจากสิ่งส่งตรวจมักจะถูกนำไปใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาการแยกชนิดพยาธิ (classification) ให้นักศึกษาสัตวแพทย์ ซึ่งในการศึกษาแยกชนิดพยาธิดังกล่าวต้องสังเกตลักษณะอวัยวะภายในของตัวพยาธิผ่านกล้องจุลทรรศน์ และข้อจำเป็นของการใช้ตัวพยาธิสดกับ ตัวพยาธิใน permanent slide ก็คือระยะเวลาที่ต้องใช้ ความชัดเจนในการเพ่งสังเกตนั่นเอง โดยทั่วไปแล้วการทำสไลด์ดังกล่าวจะทำให้ได้ในกรณีที่ตัวพยาธิที่เก็บมาจากตัวสัตว์นั้นต้องยังไม่ได้ผ่านการเก็บรักษาโดยน้ำยาป้องกันการเสื่อมสภาพมาก่อน ต้องใช้ระยะเวลาในการบีบให้แบนเป็นเวลาอันยาวนาน เพราะตัวพยาธิมีขนาดความหนาค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับตัวพยาธิชนิดอื่น ซึ่งการทดลองครั้งนี้ได้ลดจำนวนวนสารเคมีและขั้นตอนของการย้อมพยาธิลงโดยจากเดิมที่ต้องแช่ตัวพยาธิสดใน 0.9 % ของน้ำเกลือก่อนทำการบีบให้แบน และหลังจากนั้นต้อง fix ในน้ำยาเฉพาะคือ alcohol-formal-acetic (AFA) fixative หรือ Gilson's fluid หรือ Bouin solution อีกครั้งหนึ่งด้วย โดยยึดหลักการไว้และพยายามใช้อุปกรณ์และสารเคมีพื้นฐานที่มีใช้กันอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการทั่วไปเพื่อลดต้นทุนการทำ

แต่สามารถใช้เพื่อการเรียนการสอน นักศึกษาสัตวแพทย์ได้สมบูรณ์

[วิธีดำเนินการวิจัย] วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ง่ายเพราะรู้ระยะเวลาในการย้อมแน่นอน โดยขั้นแรกตัวพยาธิจำนวน 10 ตัว ที่เก็บจากกระเพาะรูเมนของโค สภาพตัวพยาธิ *F. cobboldi* ที่ถูก fix ไว้ใน 10 % buffer formalin solution นาน 7 วัน ควรสะอาดและแบน จากนั้นตัวพยาธิจะถูกแช่ใน 70% ethanol ก่อนที่จะถูกย้อมด้วยสีที่หนึ่ง Semichon's acetic acid carmine 1 % pH 1.8 นาน 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นตัวพยาธิจะถูกย้อมด้วยสีที่สอง Fast green FCF 0.04% pH 6.4 นาน 2 วินาที แช่ตัวพยาธิอีกครั้งหนึ่งใน 70%, 85%, 95% และ 100% ethanol ตามลำดับความเข้มข้นๆ ละ 30 นาที นำไปแช่ใน absolute ethanol ที่ผสมกับ Bioclear อัตราส่วน 1:1 นาน 5 นาที จากนั้นแช่ใน Bioclear 100% นาน 5 นาที mount ด้วยน้ำยา Permount แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที แล้วใช้หนังสือมัด หลังจากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแห้งเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์

[ผลการวิจัย] สิ่งที่ต้องการในการย้อมสีตัวพยาธิแต่ละครั้งคือความแตกต่างในการติดสีของอวัยวะภายในตัวพยาธิจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า testes, ovary, intestinal caeca, uterus, oral sucker, ventral sucker, ventral pouch และ vitelline glands จะติดสีแดงอมน้ำตาล ซึ่งลักษณะการติดสีดังกล่าวได้มาจากสีของ Semichon's acetic acid carmine ซึ่งแต่

skin จะติดสีเขียวซึ่งได้มาจาก สี Fast green FCF นั้นเอง

[วิจารณ์] การใช้พยาธิในแผ่นสไลด์ถาวร เพื่อการศึกษาโครงสร้างภายในจึงเหมาะสมกว่าการศึกษาจากพยาธิตัวสด เพราะสะดวก รวดเร็ว และมีความชัดเจนมากกว่าสะดวกในการเก็บรักษานอกจากนี้อายุการใช้งานยังยาวนานอีกด้วย การปรับปรุงวิธีการย้อมสีนี้ก็เพื่อให้วิธีการย้อมสีง่ายขึ้น รวดเร็ว ประหยัด และไม่ต้องใช้ความชำนาญของผู้ย้อมมาก ใช้อุปกรณ์สารเคมีพื้นฐานที่หาซื้อง่าย ซึ่งเหมาะสำหรับนักปริสติดมือใหม่และนักศึกษาในสายงานวิทยาศาสตร์การสัตวแพทย์ที่ต้องการย้อมสีพยาธิชนิดนี้และในปัจจุบันพยาธิ ชนิดนี้ยังไม่มีรายงานว่ามีกรย้อมเพื่อทำวิจัยหรือใช้ในการเรียนการสอนมาก่อนเพราะมีขนาดลำตัวที่หนาที่สุดในกลุ่มพยาธิด้วยกันทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการบีบให้คงสภาพแบนถึง 7 วัน และนอกจากนั้นการย้อมสีพยาธิใบไม้ทั่วไปมักย้อมสี Semichon's acetic acid carmine เพียงสีเดียวไม่นิยมย้อมสีที่สองคือสี Fast green FCF ซึ่งต้องใช้ความชำนาญสูง การติดสี Semichon's acetic acid ของวิธีที่ได้ปรับปรุงขึ้นมานี้ยังได้ผลของการติดสีไม่แตกต่างกับการศึกษารูปร่างลักษณะของอวัยวะของพยาธิใบไม้ตับ

Opisthorchis viverrini (4) และสอดคล้องกับการย้อมพยาธิใบไม้ในตับอ่อน *E. pancreaticum* (3) แต่การทดลองครั้งนี้ก็มีข้อควรระวังคือหลังจากทำการศึกษพบว่า ลักษณะรูปร่างและการติดสีของ testes จะติดสีไม่สม่ำเสมอ อันเนื่องมาจากระยะเวลาการบีบให้แบนเป็นเวลายาวนานส่งผลให้ตำแหน่งของ ovary ที่ปกติแล้วจะอยู่ระหว่าง testes ทั้งสองใบจะถูกเบียดออกมาให้อยู่ในตำแหน่งหลัง testis ลูกที่สองได้

เอกสารอ้างอิง

1. อาคม สังข์วรานนท์.2541.ปาราสิตวิทยาทางสัตวแพทย์.สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.412 หน้า.
2. <http://www.pirun.ku.ac.th/~fscislr/w.m.%20fluke.htm>.
3. Jiraungkoorskul, W., Sahaphong, S., Tansatit,T., Kangwanrangsan, N. และ Pipatshukiat, S.2005.Eurytrema pancreaticum: The in vitro effect of praziquantel and triclabendazole on the adult fluke.Exper. Parasit.111:172-177.
4. Wannaprapo, S., Tesana, S., Arunyanat, C., Kanla, P. and Chaijaroonkhanarak, W. .2008. Morphological Features of the Testes of the Adult Liver Fluke, *Opisthorchis viverrini*. Srinagarind Med J. 23(4): 346-352.

คำสำคัญ: การย้อมสี พยาธิใบไม้ กระเพาะรูเมน สัตว์เคี้ยวเอื้อง

Survival of vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE) using ultraviolet radiation, temperatures, various disinfectants and antibiotics

Wisanu Wanasawaeng^{1*} and Wattana Somsit²

¹Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology, 10530, Thailand

²Bizwell marketing, 35/379 Moo 2, Muang Samut Sakhon 74000, Thailand

* Corresponding author: Wisanu Wanasawaeng (wpuy@hotmail.com)

Abstract

[Introduction] Vancomycin resistant enterococci (VRE) are enterococci bacteria that have developed resistance to many antibiotics, especially vancomycin. VRE have emerged as a major cause of hospital-acquired infection. In 1998, The Thai chicken meat export to Japan was severely impacted by the outbreaks of VRE in Japanese hospitalized patients. Since, the outbreak was related to the Thai chicken meat. VRE can convey in various operations of the whole chicken meat production chain. Study of the inactivation of VRE has never been reported before. Therefore, different methods to eliminate this pathogen were evaluated. This study evaluated the efficacy of heat, ultraviolet radiation, and various kinds of disinfectants including a combination of glutaraldehyde and quaternary ammonium compound, quaternary ammonium compound alone and iodine for inactivation of VRE. In addition, survival of VRE in low temperature was also determined.

[Materials and Methods] Five cultures of *Enterococcus faecalis* were isolated from feces, chick paper pad tray liners and bioswab from chicken house and used in this study. The minimal inhibitory

concentration (MIC) against vancomycin was higher than 256 ug/ml. For heat inactivation, 100 cells of bacteria in 10 ml of TSB broth were incubated at 60, 70 and 80 °C. Each sample was taken at the time of 10, 15 and 30 min. Survival of VRE in low temperature was determined by keeping the bacterial culture in feces and chicken meat at 4°C for 1, 7, 14 and 28 days. The inoculum was taken from the suspension using the loop and transfer to TSB broth for incubation at 37 °C for 48 hrs. Visual turbidity of TSB was observed. For radiation treatment, the bacterial cultures in BHI (Brain Heart Infusion) agar were performed 10-fold dilution and exposed to UV lamp at wavelength 253.7 nm (Germicidal lamp GL T8 36W, Philips) for 2 min. The distance between the lamp and bacterial culture plate was 1 m. Then, the plates were incubated for 24-48 hrs and determined the CFU count. Interpretation was evaluated by comparison between negative and positive control plates. If the number of bacterial colonies in positive plates were higher than negative control at least 80%, the treatment was evaluated as efficacy. Different kinds of disinfectant were also evaluated including a combination of 0.05% w/v

glutaraldehyde and 0.05% w/v alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride, 0.05% w/v alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride alone and 0.05% w/v iodine. The contact time was conducted at 5, 10 and 15 min. The inoculum was taken from the suspension using the loop and transfer to TSB broth for incubation at 37 °C for 48 hrs. Visual turbidity of TSB was observed.

[Results] The results suggest that VRE survived in feces and chicken meat for 28 days at 4 °C. For heat inactivation, temperature at 80 °C for 5 min completely killed all VRE. For bactericidal effect of UV light, the study showed up to 96 percent reduction in bacterial count after 2 min exposure. All disinfectants in this study including a combination of 10% w/v glutaraldehyde and 10% w/v alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride, 10% w/v alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride alone and 10% w/v iodine at 1:200 concentration completely kill the bacteria at 5, 10 and 15 min.

[Discussion] Vancomycin is the last-line antibiotic against drug resistant Gram's positive bacteria, especially for the treatment of severe infections with multidrug resistant enterococci. *Enterococcus* species are bacteria colonizing in intestines of humans, mammals and birds without serious harm to the host (1). The colonization of VRE in the human gastrointestinal tract is associated with the consumption of meat and entered the economy via the food

chain (2). This study revealed that chicken meat kept at cold temperature, 4 °C could be survived for a long time, longer than 28 days. Heat is an important tool for cooking and also inactivation of the pathogens in the further processing plant. From our results, heat inactivation at 70 °C might not be enough to eliminate the VRE. The appropriate temperature to kill all bacteria might be higher than 80 °C. UV lamp usually installed in the microbiological laboratory room to prevent cross contamination. The inactivation mechanisms of UV light are not well understood (3). The present indicates that VRE could be easily eliminated with UV light within 2 min. In addition, all common disinfectants using in the livestock production could destroy VRE easily. This information might benefit for the laboratories and livestock farms to prevent VRE in the production cycle.

References

1. Yamanaka, H et al. 2014. Identification and characterization of vancomycin-resistant enterococcus species frequently isolated from laboratory mice. *Exp. Anim.* 63(3): 297-304.
2. Schouten, MA et al. 1997. VRE and meat. *Lancet.* 349: 1258.
3. Gayan, E et al., 2012. Inactivation of *Salmonella enterica* by UV-C light alone and in combination with mild temperature. 78(23): 8353-8361.

Keywords: Vancomycin-resistant enterococci, disinfectant, ultraviolet radiation

การศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากสุนัขที่เป็นหูส่วนนอก
อักเสบที่มาทำการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
**Study of Antimicrobial Susceptibilities of Bacteria Isolated from Otitis Externa in Dogs
Were Admitted in Training Animal Hospital, Faculty of Veterinary Medicine,
Khon Kaen University, Thailand**

พิทยา ภาภิรมย์^{1*} ประพันธ์ แก่นจำปา¹ ไพโรจน์ วงศ์ทัยไพศาล² น้ำฟ้า เฟื่องบุญ³ ปรีชากร
พันธุ์วิเศษ⁴ มนูญ จุมศิลา⁴ และ อนิสรา สิงห์แมง⁴

¹ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

² ภาควิชาเภสัชและพิษวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

³ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

⁴ นักศึกษาชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

*ผู้รับผิดชอบบทความ: พิตยา ภาภิรมย์ (ppitta@kku.ac.th)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียที่แยกได้จากสุนัขที่เป็นโรคหูส่วนนอกอักเสบที่มาทำการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือน มีนาคม 2554 – สิงหาคม 2554 จำนวน 70 ตัว ทำการเพาะและแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 49 isolates แบ่งเป็น *Staphylococcus coagulase positive* 43 isolates และ *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) จำนวน 6 isolates ทำการทดสอบยาต้านจุลชีพทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ Penicillin G (P), Cephalexin (CL), Gentamicin (CN), Sulfamethoxazole-Trimethoprim (SXT) และ Erythromycin (E) โดยมีเชื้อ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923 เป็นเชื้อควบคุม ผลการทดสอบพบว่า *Staphylococcus coagulase positive* มีความไวต่อยา CN, CL, P, E และ SXT คิดเป็นร้อยละ 88.37, 88.37, 86.05, 62.49 และ 55.81 ตามลำดับ ส่วน *P. aeruginosa* มีความไวต่อยา CN เพียงชนิดเดียว คิดเป็นร้อยละ 100

คำสำคัญ: แบคทีเรีย, ยาต้านจุลชีพ, หูส่วนนอกอักเสบ

Abstract

The objective of this study was to investigate antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from otitis externa in dogs were admitted in training animal hospital, faculty of veterinary medicine, Khon Kaen university, Thailand between March 2011 – August 2011. The samples were cultured and isolated all 49 isolates. There were 43 isolates of *Staphylococcus coagulase positive* and 6 isolates were *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) and sensitivity drug test to 5 antimicrobial drugs such as Penicillin G (P), Cephalixin (CL), Gentamicin (CN), Sulfamethoxazole-Trimethoprim (SXT) and Erythromycin (E). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923 used as control microorganism. The result showed *Staphylococcus coagulase positive* susceptibility to CN, CL, P, E and SXT at 88.37, 88.37, 86.05, 62.49 and 55.81 % respectively. Whereas *P. aeruginosa* was 100% susceptibility only to CN.

Keywords : Bacteria, Antibiotic, Otitis externa

บทนำ

โรคช่องหูอักเสบในสุนัข (Canine Otitis) เป็นโรคที่พบบ่อยและเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งในสุนัข การเกิดโรคช่องหูอักเสบมีด้วยกันหลายสาเหตุ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียต่างๆ ปัจจุบันพบว่ายาต้านจุลชีพที่นำมาใช้นั้นมีแนวโน้มเกิดการดื้อยามากขึ้น (Turkyilmaz, 2006) สาเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีการพัฒนาต่อการดื้อยาที่ใช้รักษามากขึ้นเนื่องมาจากการสร้างเอนไซม์ beta-lactamase หรือการถ่ายทอดพลาสมิดที่นำยีนการดื้อยาจากเชื้อหนึ่งไปยังอีกเชื้อหนึ่ง นอกจากนี้ยาปฏิชีวนะบางกลุ่ม เช่น aminoglycosides ก็ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียลดลงเนื่องจากบริเวณที่ติดเชื้อเกิดหนองมีสภาพเป็นกรดมาก ทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของยาต่อการฆ่าเชื้อลดลง ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงให้ความสนใจศึกษาต่อการใช้อย่างเหมาะสมของเชื้อแบคทีเรียให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งปัจจุบันในประเทศไทยการรักษาโรคผิวหนังติดเชื้อและช่องหูอักเสบจากแบคทีเรียในสุนัขและแมวนิยมใช้ยาในกลุ่ม Cephalosporin กันมาก แต่มักไม่ได้มีการพิจารณาถึงประสิทธิภาพและความเหมาะสมในการเลือกจ่ายยาโดยการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพก่อนทำการรักษากันอย่างแท้จริงเพื่อให้ทราบผลว่าเชื้อแบคทีเรียมีความไวหรือดื้อต่อยาที่ใช้รักษาหรือไม่ ผลที่ตามมาคืออาจก่อให้เกิดการดื้อต่อยาต้านจุลชีพและถ่ายทอดลักษณะการดื้อยาไปยังแบคทีเรียชนิดอื่นๆ รวมทั้งมนุษย์ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อจากสุนัขที่เป็นช่องหูอักเสบ (otitis) ที่มาทำการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ จากนั้นมาเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดคือ Blood agar และ McConkey agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ทำการเลือกเอาโคโลนีบริสุทธิ์ไปทำการ subculture เพื่อเพิ่มจำนวน นำไปทำการย้อมด้วยสีแกรมและทดสอบทางชีวเคมี และนำเชื้อที่แยกได้ส่วนหนึ่งไปเพาะเลี้ยงใน Brain Heart Infusion (BHI) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี disk diffusion method (Bauer et al., 1966) โดยยาทดสอบทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ Penicillin G, Cephalixin, Gentamicin, Sulfamethoxazole-Trimethoprim และ Erythromycin

ผลการทดลอง

ผลการทดลองเชื้อแบคทีเรียของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 49 isolates พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดมีความไวต่อ Gentamicin 89.80% มีความกึ่งไว 4.08% และมีการดื้อยา 6.12% Cephalixin มีความไว 77.55% ไม่มีความกึ่งไวและมีการดื้อยา 22.45% Penicillin G มีความไว 75.51% ไม่มีความกึ่งไวและมีการดื้อยา 24.49% Erythromycin มีความไว 55.10% มีความกึ่งไว 4.08% และมีการดื้อยา 40.82% Sulfamethoxazole-Trimethoprim มีความไว 48.98% มีความกึ่งไว 4.08% และมีการดื้อยา 46.94% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงความไวเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 49 isolates ต่อยาต้านจุลชีพ

Antimicrobial drugs	Results		
	Susceptible n (%)	Intermediate n (%)	Resistant n (%)
Gentamicin	44 (89.80)	2 (4.08)	3 (6.12)
Cephalixin	38 (77.55)	0 (0)	11 (22.45)
Penicillin G	37 (75.51)	0 (0)	12 (24.49)
Erythromycin	27 (55.10)	2 (4.08)	20 (40.82)
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	24 (48.98)	2 (4.08)	23 (46.94)

ผลการทดลองเชื้อ *Staphylococcus coagulase positive* จำนวน 43 isolates มีความไวต่อ Gentamicin 88.37% มีความกึ่งไว 4.65% และมีการดื้อยา 6.98% Cephalixin มีความไว 88.37% ไม่มีความกึ่งไวและมีการดื้อยา 11.63% Penicillin G มีความไว 86.05% ไม่มีความกึ่งไวและมีการดื้อยา 13.95% Erythromycin มีความไว 62.79% มีความกึ่งไว 4.65% และมีการดื้อยา 32.56% และ Sulfamethoxazole-Trimethoprim มีความไว 55.81% มีความกึ่งไว 4.65% และมีการดื้อยา 39.54% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงความไวของเชื้อ *Staphylococcus coagulase positive* จำนวน 43 isolates ต่อยาต้านจุลชีพ

Antimicrobial drugs	Results		
	Susceptible n (%)	Intermediate n (%)	Resistant n (%)
Gentamicin	38 (88.37)	2 (4.65)	3 (6.98)
Cephalixin	38 (88.37)	0 (0)	5 (11.63)
Penicillin G	37 (86.05)	0 (0)	6 (13.95)
Erythromycin	27 (62.79)	2 (4.65)	14 (32.56)
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	24 (55.81)	2 (4.65)	17 (39.54)

ผลการทดลองเชื้อ *P. aeruginosa* จำนวน 6 isolates มีความไวต่อ Gentamicin 100% ไม่มีความกึ่งไวและไม่มีการดื้อยา ส่วน Cephalixin, Penicillin G, Erythromycin และ

Sulfamethoxazole-Trimethoprim ไม่มีความไวและไม่มีความกึ่งไวและมีการดื้อยา 100% ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงความไวของยาต้านจุลชีพที่มีผลต่อเชื้อ *P. aeruginosa* จำนวน 6 isolates

Antimicrobial drugs	Results		
	Susceptible n (%)	Intermediate n (%)	Resistant n (%)
Gentamicin	6 (100)	0 (0)	0 (0)
Cephalexin	0 (0)	0 (0)	6 (100)
Penicillin G	0 (0)	0 (0)	6 (100)
Erythromycin	0 (0)	0 (0)	6 (100)
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	0 (0)	0 (0)	6 (100)

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการเก็บตัวอย่างในครั้งนี้พบเชื้อก่อโรคที่สำคัญอยู่สองชนิดได้แก่ *Staphylococcus coagulase positive* และ *P. aeruginosa* อย่างไรก็ตามอาจมีเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถก่อให้เกิดโรคของหูส่วนนอกอีกเสบได้ เช่น *Ornithomycosis* และ *Smegma* (2528) ได้ทำการแยกเชื้อที่ทำให้เกิดโรคของหูส่วนนอกอีกเสบ พบเชื้อดังนี้ คือ *P. aeruginosa* 37.93%, *S. aureus* 37.93%, *Proteus* spp. 12-16%, *Streptococcus* spp. 6.89%, *Escherichia coli* 3.44% และ *Corynebacterium bovis* 1.72% นอกจากนี้ Roland and Stroma (2002) ได้เพาะเชื้อจากช่องหูอีกเสบส่วนนอก พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของช่องหูส่วนนอกอีกเสบ คือ *P. aeruginosa* 38%, *Staphylococcus epidermidis* 9.1%, *S. aureus* 7.8%, *Microbacterium otitidis* 6.6%, *Microbacterium alconae* 2.9%, *Staphylococcus caprae* 2.6%, *Staphylococcus auricularis* 2.0%, *Enterococcus faecalis* 1.9%, *Enterobacter cloacae* 1.6%, *Staphylococcus capitis* subsp. *Ureolyticus* 1.4% and *Staphylococcus haemolyticus* 1.3% อรรณและคณะฯ (2528) ได้ทำการทดสอบความไวยาและพบว่า *S. aureus* มีความไวต่อ Gentamicin 100% และ Lilenbaum et al. (2000) ได้ทำการทดสอบความไวยาต่อเชื้อ *S. aureus* พบว่าได้ผลสอดคล้องกัน คือ Gentamicin 84.1% และ Penicillin G 61.3% ส่วน เชื้อแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* ที่ทำการทดสอบครั้งนี้ พบว่า มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Gentamicin ทุก isolate (100%) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Hariharan et al. (2006) ที่ทดสอบความไวยาของเชื้อ *P. aeruginosa* และพบว่ามีความไวต่อ Gentamicin 85% สอดคล้องกับงานวิจัยของ Turkyilmaz (2008) ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* มีความไวต่อ Gentamicin 75% จากผลการศึกษาทดลองในครั้งนี้อาจนำไปเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางเพื่อรักษาโรคของหูส่วนนอกอีกเสบที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus coagulase positive* และ *P. aeruginosa* ในสุนัขบริเวณเขตพื้นที่จังหวัดขอนแก่นและใกล้เคียง อย่างไรก็ตามเนื่องจากการเกิดโรคติดเชื้อในช่องหูมีด้วยกันหลายชนิด จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโรงพยาบาลสัตว์ ห้องปฏิบัติการภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่าง และทำการศึกษาทดลองในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- อรรรรณ นวีภาพ และ สมภพ นวีภาพ. 2528. เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบของสุนัข และผลของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ 12 ชนิด. *เวชสารสัตวแพทย์*. 15(2):113-128.
- Bauer, A. W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 36:493-496.
- Hariharan H., Coles M., Poole D., Lund L. and Page R. 2006. Update on Antimicrobial Susceptibilities of Bacterial Isolates from Canine and Feline Otitis Externa. *Can Vet J.* 47: 253-255.
- Lilenbaum W., Veras M., Blum E. and Souza G.N. 2000. Antimicrobial Susceptibility of Staphylococci Isolated from Otitis Externa in Dogs. *Let. Appl Microbiol.* 31(1): 42-45.
- Roland P.S. and Stroman D.W. 2002. Microbiology of Acute Otitis Externa. *Laryngoscope*.112(7): 1166-1177.
- Turkyilmaz S. 2008. Antibiotic Susceptibility Patterns of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Dogs with Otitis Externa. *Turk. J. Vet Anim. Sci.* 32(1): 37-42.

ภาวะการบวมน้ำรอบเส้นเลือด milk vein ผลเนื่องจากการรักษาเต้านมอักเสบ

โดยการปิดเต้าด้วย 20% acriflavin: รายงานสัตว์ป่วย

สุทธิณี บุญให้¹ มงคล ขวณิช¹ ธนสิทธิ์ สอนภู¹ และ สมยศ อิ่มอารมณ¹

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*ผู้รับผิดชอบบทความ: สุทธิณี บุญให้ (suttee.b@gmail.com)

บทคัดย่อ

[บทนำ] เต้านมแพะปกติมี 2 เต้าวางตัวอยู่ใน Inguinal region โดยมีแขนงเส้นเลือดดำที่แตกลงมาจาก external pudendal vein ในเต้านมแต่ละข้างจะมีเส้นเลือด Cranial และ Caudal lateral sinus vein รับเลือดออกมาจากเต้านมแล้วส่งต่อเลือดไปทางด้านหน้าเข้าสู่ superficial cranial epigastric vein ต่อไป (2) เส้นเลือดนี้อาจจะเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า subcutaneous abdominal vein หรือ milk vein เมื่อเส้นเลือดเส้นนี้กลับเข้ามาถึงบริเวณ Sternal region จะกลับเข้าสู่ของอกด้านในเรียกจุดนี้ว่า milk well (1)

ปัญหาประการหนึ่งของผู้เลี้ยงแพะนมคือปัญหาเต้านมอักเสบ ซึ่งเป็นโรคที่พบได้บ่อยและยังพบการกลับมาเป็นได้อีกหลังจากได้รับการรักษาไปแล้ว เมื่อการรักษาโดยวิธีทางอายุรกรรมไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร การปิดเต้าจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาเต้านมอักเสบที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา หรือในกรณีที่เป็นเต้านมอักเสบเรื้อรังการปิดเต้าสามารถทำได้ด้วยการฉีดสารกลุ่ม caustic agents เช่น silver nitrate, formalin, chlorhexidine, copper sulfate หรือ acriflavin solution เข้าภายในเต้านมเพื่อเหนียวน้ำให้เกิดการอักเสบและทำให้เต้านมฝ่อลีบหลังจากฉีดสารข้างต้นอาจพบการอักเสบบวมและการบวมน้ำของเต้านมได้ภายใน 1-2 วัน (3)

[รายงานสัตว์ป่วย] แพะนมพันธุ์ผสมเพศเมีย อายุประมาณ 2 ปี มีประวัติเป็นเต้านมขวาอักเสบเรื้อรัง สาเหตุจากนมตีบแคบ ทำให้รีดนมไม่ออก มีปริมาณนมค้างเต้ามาก จึงเป็นผลให้เกิดปัญหาเต้านมอักเสบ ทำการ

รักษาเบื้องต้นโดยการขยายรูนมหลายครั้ง แต่ยังไม่พบภาวะเต้านมอักเสบกลับมาเป็นซ้ำ จึงรักษาโดยการปิดเต้านมด้วยการฉีดสารละลาย 20% acriflavin เข้าเต้านมจำนวน 100 ml. ภายหลังการฉีดประมาณ 15 นาทีแพะบัสสาวะออกมามีสีเหลืองเข้ม ผิดปกติ 1 ครั้ง และสีกลับมาเป็นปกติในครั้งต่อมา

หลังการฉีดสาร 20% acriflavin เข้าเต้านม 2 วัน พบว่าเต้านมบวมขยายขนาดขึ้น และเกิดบวมน้ำ นอกจากนั้นยังพบการบวมน้ำรอบเส้นเลือด right superficial cranial epigastric vein บริเวณข้างลำตัวตามแนวของเส้นเลือดดำดังกล่าวไปจนถึง Milk well ส่วนอาการทางคลินิกอื่นไม่พบความผิดปกติเพื่อแก้ปัญหาการบวมน้ำตามแนวเส้นเลือดนี้แพะได้รับการรักษาโดยการให้ toltenamic acid ขนาด 4 mg/kg และ amoxicillin ขนาด 15 mg/kg เข้ากล้ามเนื้อ และให้ lactalcox® (ampicillin 75 mg และ cloxacilin 200 mg) เข้าเต้านม ประคบเย็นบริเวณเต้านม และประคบอุ่นบริเวณแนวเส้นเลือดที่บวมน้ำ หลังจากทำการรักษา 2 วัน การบวมน้ำเริ่มลดลง และหายเป็นปกติ

[วิจารณ์ผล] การบวมน้ำของ superficial cranial epigastric vein มักเกิดร่วมกับการเกิดภาวะบวมน้ำของเต้านมในระยะเวลาใกล้เคียง โดยพบว่าช่วงใกล้คลอดของโคที่มีภาวะนี้ จะมีความดันในหลอดเลือดดำ superficial cranial epigastric vein และ external jugular vein ที่สูงขึ้น (4) รวมทั้งเกิดภาวะ thrombophlebitis ขึ้นเนื่องจากผลแทรกซ้อนของการเจาะเลือดหรือการฉีดยา

ผ่านทางเส้นเลือดนี้ในกรณีศึกษาที่พบว่าการบวมน้ำอาจเกิดจากการอักเสบของหลอดเลือดโดยการรั่วไหลของ 20% acriflavin ซึ่งสังเกตได้จากสีเหลืองเข้มเหลืองเขียวของปัสสาวะที่แพะได้ขับถ่ายออกมาหลังจากทำการสอดเต้านมด้วย 20% acriflavin ซึ่งเป็นสีเดียวกับสารละลายที่ใช้โดยที่การปัสสาวะครั้งก่อนหน้าการรักษาและการปัสสาวะครั้งต่อๆมาไม่พบลักษณะที่ผิดปกติดังกล่าวอีก สมมติฐานของการรั่วไหลของสารละลายจึงน่าจะเกิดจากการฉีกขาดของหลอดเลือดดำภายในเต้านมร่วมกับการมีแรงดันในเต้านมสูงกว่าแรงดันในหลอดเลือดดำ ทำให้สารละลายบางส่วนรั่วไหลเข้าสู่เส้นเลือด โดย 20% acriflavin เป็นสารละลายที่มีฤทธิ์ระคายเคืองเป็นสาเหตุของการเกิดการอักเสบและการบวมน้ำของเนื้อเยื่อรอบๆ หลอดเลือด superficial cranial epigastric vein

[สรุปผล] สาร 20% Acriflavin ที่ฉีดเข้าเต้านมได้รั่วไหลเข้าสู่เส้นเลือด Right superficial cranial epigastric vein (ผ่านเข้ามาทางแขนงของ Cranial และ Caudal lateraj

sinus vein) มีผลให้เส้นเลือดอักเสบและของเหลวแพร่ออกมานอกเส้นเลือด ทำให้เกิด Subcutaneous edema ตามแนวของเส้นเลือด

เอกสารอ้างอิง

1. Dyce, K.M., Sack, W.O. and Wensing, C.J.G. 2010. Textbook of veterinary anatomy. 4th ed. Saunders. Missouri. pp. 721-727
2. Habermehl, K.-H. 1986. Skin and cutaneous organ. The anatomy of the domestic animals Vol. 3. Nickel, R. Schummer, A. and Seiferle, E. Verlag Paul Parey. Berlin. pp. 441-555.
3. Gorge, L.W., Drivers, T.J., Ducharme, N. and Welcome, F.L. 2008. Diseases of teats and udder. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle. Drivers, T.J. and Peek, S.F. Saunders Elsevier. Missouri. pp. 327-394.
4. Vestweber J.G., Al-Ani F.K. 1985 Venous blood pressure relative to the development of bovine udder edema. Am J Vet Res. Jan;46(1): pp. 157-159.

คำสำคัญ: แพะ เต้านมอักเสบ การปิดเต้า milk vein acriflavin

A Case Report of Chondroid Chordoma in the Tail of a Ferret

Hassadin Boonsriroj^{1,3}, Chun-Ho Park³, Thanongsak Mamom¹

Pinkarn Chantawong² and Suvarin Pavasutthipaisit^{1*}

¹Department of Veterinary Pathology, ²Department of Clinic for Small Domestic Animal and Radiology,
Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology,
140 Cheum-Sampan Rd., Nong Chok, Bangkok 10530 Thailand

³Laboratory of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine, Kitasato University,
23-35-1 Higashi, Towada city, Aomori 034-8628, Japan

*Corresponding author: Suvarin Pavasutthipaisit (suvarin@mut.ac.th)

Abstract

[Introduction] Chordoma is an uncommon benign neoplasm originated from remnants of the notochord tissue (1). In human medicine, based on clinicopathologic and immunohistochemical studies these tumors divided in three subtypes: 1) "classic or conventional" chordoma, 2) "chondroid" chordoma, and 3) chordoma with a malignant spindle cell component. These tumors have been reported in human being and domestic animals such as dogs cats, and ferrets. Microscopically, the tumor cells are typically arranged in concentrically with lobules of vacuolated polygonal cells, known as physaliferous cells, surrounded by mucinous extracellular matrix. Immunohistochemically, most of human chondroid and nonchondroid chordomas are positive for vimentin, cytokeratin AE1/AE3, epithelial membrane antigen (EMA), S-100 protein and neuron specific enolase (NSE). In this study, we present an uncommon case of coccygeal chondroid chordoma in a ferret with detailed histopathological and immunohistochemical findings.

[Materials and Methods] A 3-year-old, intact, female ferret (*Mustela putorius furo*) was presented with a mass on the tip of the tail of 4 months in duration. There was no previous medical and surgical history. The tail mass was surgically removed and fixed

in 10% buffered formalin and decalcified. The mass was 1.5x2.5x1.0 cm in size and solid and firm with a smooth surface. The cut surface was lobulated, glistening, grayish-white in color, and lack of any necrosis or hemorrhage. The mass was embedded in paraffin wax and sectioned. Tissue section was stained with hematoxylin and eosin (HE), Alcian blue (pH 2.5), and for immunohistochemistry. The following antibodies were used: vimentin (Nichirei Biosciences, Tokyo, Japan), S-100 protein (Nichirei), neuron-specific enolase (NSE, Nichirei), cytokeratin (CK) AE1/AE3 (DAKO Japan, Kyoto, Japan), epithelial membrane antigen (EMA) EMA Ab-2 (Thermo scientific, USA), and Adipophilin (AP125, Progen biotechnik, Germany). Each antibody was visualized using 3-3'-diaminobenzidine (DAB, DAKO, Japan), and slides were counter stained with hematoxylin.

[Results] Histological examination demonstrated that this tumor was well circumscribed and encapsulated within the dermis. The tumor was divided into poorly defined lobules, which were separated by fibrous tissues. The tumor was consisted of medium to large-sized adipocyte-like vacuolated polygonal cells (physaliferous cells) arranged in closely packed sheets dispersed in abundant cartilaginous

extracellular matrix, which were stained positively with Alcian blue. Immunohistochemical examination revealed that most of the neoplastic cells stained positively for antibodies against vimentin, S-100 protein, cytokeratin AE1/AE3 and NSE, but negative for adipophilin, and EMA.

[Discussion] The primary region of chordoma in human is sacrococcygeal region. The chordoma occur in rat and human with male predominate 3:1 and 2:1 male:female ratio, respectively. Conversely in ferrets occurs with a 1:2 male:female ratio (1). In previous reports showed us in ferrets and dogs predominate in female. The metastases of chordoma in rat and human have been reported whereas no evidence of ferrets, mink and dogs with recurrence or metastases for at least 10 months after surgical removed. The chordoma in ferret usually found approximately in 2.5-4 years of age. Though the cutaneous metastases may develop in aged ferrets approximately in 6-7 years of age (2). The conventional chordoma were observed as a lobular architecture with cohesive sheets, cords or nest-like growth patterns with intracytoplasmic vacuolation whereas chondroid chordoma consist of dissociated cohesive sheets with intracellular and extracellular vacuolation (3). The chordoma in human and rat may consist of cartilaginous formation where as in ferret and mink usually found cartilaginous and osseous formation. Immunohistochemical staining was used to differentiate a chordoma from chordosarcoma. In contrast

chordoma also have dual expression of vimentin and cytokeratin whereas chordosarcoma does not express cytokeratin. Vimentin expression indicated mesenchymal cells origin and cytokeratin AE1/AE3 against to epithelial cells. The Alcian blue stained for confirmation of cartilaginous component. This case have a strongly dual cytoplasmic expression of vimentin and cytokeratin AE1/AE3, and positive staining with S-100 protein and neuron-specific enolase to indicating cell stromal interaction, mitotic figure ranged from 0-1 mitosis/HPF similar to the earlier reports (1). The lack of adipophilin expression was used to differentiate a chordoma from liposarcoma and sebaceous carcinoma. As previously reported only human conventional chordomas is expected to express EMA. Hence, the histological features and immunohistochemistry findings of this present case like other ferret chordoma reports. Summary, chordoma in ferrets would be a good animal model for chordoma in human due to a similar component structure especially in chordoma with chondroid characterization.

References

1. Dunn, D.G. et al. 1991. Vet Pathol 28: 467–473.
2. Munday, J.S. et al. 2004. J Vet Diagn Invest 16: 454–458.
3. Brooks, J.J. et al. 1987. Acta Neuropathol 72: 229–235.

Keywords: ferret, chondroid chordoma, physaliferous cells, immunohistochemistry

Specificity and sensitivity of COX1 primers for species identification:

Implement a non invasive sampling methods

Danai Sangthong¹, Weerapun Nokkaew² and Pradit Sangthong^{3*}

¹Department of Animal Husbandry and Basic Professional Sciences,

²Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine,

Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

³Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

***Corresponding author: Pradit Sangthong** (fscipds@ku.ac.th)

Abstract

[Introduction] Noninvasive sampling method without the need to capture or even observe on target animals usually provides answers of elusive questions for conservation biology and behavioral ecology that never been done before using conventional methods. The widely employed methods of noninvasive sampling included photographic and genetic sampling methods. The photographic method were applied for estimating animal numbers which successfully employed on several big cat species (1), but it still presented serious disadvantages including requirement of large number of camera traps, scarcity of skilled personnel and susceptibility of cameras to theft and destruction by both humans and animals. In contrast, noninvasive method via amplifying specific DNA target sequences from animal specimens by the polymerase chain reaction (PCR) using DNA extraction from hairs, feces, urine, feathers and skins have recently adopted by the number of authors (2). Although, noninvasive genetic sampling could provide valid information of species diversity, genetic polymorphism and species interaction of target animals,

serious disadvantages of the methods involved either low DNA quantity, low quality or poor extract quality (3). Whatever, this attractive method has never been applied to wildlife studies in Thailand. In this study, we designed and optimized PCR condition of universal primers for amplifications of *Cytochrome oxidase subunit 1* (COX1) in animal mitochondrial genomes. Amplicon length and PCR condition were intentionally optimized for fecal DNA from predator species (the family *Felidae*, *Ursidae* and *Canidae*) to be DNA template in further study. Certainly, its amplicons were also further applied to DNA sequencing with both conventional and next-generation sequencing which will deliver exceptional information for predator-prey interaction, carnivore and herbivore species diversity and density. In order to avoid those limitations of noninvasive genetic method and to maintain ability of species identification, a pair of universal PCR primer was designed to amplify a short PCR target sequences of COX1 region that showed high degree of sequence variation.

[Materials and Methods] Full length of COX1 sequences including 85, 134 and 706 sequences of the family *Felidae*, *Ursidae*, *Canidae* and *Bovidae*, respectively, were obtained from GenBank. Multiple alignments were performed using ClustalW 2.0. DNA polymorphisms including π , θ and segregation site of sliding windows (250 sites of window length/ 25 sites per step) were determined by DnaSP v.5.10. A pair of PCR primer was designed based on available conserved sites for universal primers, which could amplify the high variable region to maintain the ability of species identification of COX1 gene. The COX1 universal primer pair was used to amplify the target fragment from 21 animal species of both predator and prey. The limit of detection of primer was tested using serial dilution of genomic DNA of *Sus scrofa domestica*, *Gallus gallus domestica* and *Bos indicus* in the range of 1×10^{-7} – 100 ng/ul.

[Results] The new COX1 universal primer pair that PPI-ForH1 and PPI-RevL1 (Predator-Prey Identification Forward and Reverse primers) was designed to amplify COX1 gene at position 351-600, highly variable region. The primer could amplify the targeted sequences of 21 species, including *B. indicus*, *B. javanicus*, *Bubalus bubalis*, *Capra hircus*, *Ovis aries*, *Equus ferus*, *B. gaurus*, *Elephas maximus*, *Cervus timorensis*, *Lepus curpaeums*, *Canis lupus*, *C. aureus*, *Felis catus*, *S. scrofa domestica*, *Macaca fascicularis* and

Crocodylus siamensis, *G. Gallus domestica*, *Anas platyrhynchos domestica*, *Anser cygnoides*, *Columba livia* and *Coturnix japonica*. Additionally, the PPI-ForH1/PPI-RevL1 showed high sensitivity that could amplify using 0.01 ng/ul DNA template concentrations of *S. scrofa domestica*, *G. gallus domestica* and *B. indicus*.

[Discussion] The primer PPI-ForH1 and PPI-RevL1 targeted on COX1 of mitochondrial genome for species identification using clone base sequencing or next generation sequencing. This is highly effective procedure to avoid allelic dropout errors and amplification artifacts of nuclear markers. Interestingly, the sensitivity of PPI-ForH1 and PPI-RevL1 is exceptionally high that could produce the amplicons using DNA template's concentration being as lower 0.01 ng/ul. Therefore, this primer pair is appropriate to amplify target DNA fragment from fecal DNA that low DNA quantity and quality.

References

1. Anile, S., B. Ragni, E. Randi, F. Mattucci, F. Rovero. 2014. Wildcat population density on the Etna volcano, Italy: a comparison of density estimation methods. *J. Zool.* 293: 252-261.
2. Smith, O., J. Wang. 2014. When can noninvasive samples provide sufficient information in conservation genetics studies? *Mol. Ecol. Resour.* 14: 1011-1023.
3. Taberlet, P., L.P. Waits, G. Luikart. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends Ecol. Evol.* 14: 323-327.

Keywords: COX1, species identification

Multiplex PCR assay for Identification of *Portunus* species using mitochondrial gene region

Danai Sangthong¹, Songmeung Suwannarat² and Pradit Sangthong^{2*}

¹Department of Animal Husbandry and Basic Professional Sciences, Faculty of Veterinary
Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

²Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author: Pradit Sangthong (fscipds@ku.ac.th)

Abstract

[Introduction] Canned crab products are important components of the export trade in several of the countries. In the canned crab industry are made from many crab species. The blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) and mangrove crab (*Scylla serrata*) is the major species for canned crab meat (1). The mixed of crab meat is a problematic for Thailand canned crab meat export (2). The identification of crab species in products is important, and could relate to the health risks of consumers through substitution of crab species. Molecular technique is a excellence tool for the identification of crab species. In this study, we establish the multiplex PCR to differentiate the crab in family potunidae from other crab families to screen for the fraud food problem forconsumers.

[Materials and Methods]

Samples collection

Twelve species of Portunidae and Grapsidae crabs were collected from local fish market around the gulf of Thailand and the Andaman coastal area. These samples stored on ice before being transferred to the laboratory and kept at -20°C for further analysis.

DNA extraction

Total genomic DNA was extracted from 60 mg of raw muscle from walking leg using Genomic DNA Extraction Tissue DNA Mini Kit; (Favorgen Biotech Corp., Taiwan). Total genomic DNA was quantified using a Nanodrop 2000 spectrophotometer (Thermo scientific,USA).

Primer design

Universal Primer were designed based on the alignment of the 28S rRNA sequence of 10 species of crabs (GenBank accession no. JX398090.1; JX398089.1; JX398087.1; JX398079.1; JX398074.1; JX398081.1; JX398080.1; JX398088.1 and DQ079799.1). Primers were BO28S_UR1 and BO28S_UF1 (Table 1) that showed 303 bp of PCR amplicon.

Species-specific primers were designed based on nucleotide sequence of 16S rRNA gene from *P. pelagicus* and *P. sanguinolentus* mitochondrial genome (Table 1). The 1st primer pair, Port_SLR_UL1 and SLR_PpspH1 was used to amplify *P. pelagicus* and showed 232 bp of PCR amplicon. The 2nd primer pair, Port_SLR_UL1 and SLR_PsspH1 was used to amplify *P. sanguinolentus* and showed 189 bp of PCR amplicon.

Table 1. Primers used in this study

Primers Name	Sequence (5'-3')	Species-specific primers
BO28S_UR2	CCCAGCGCAT AACCTGGC	Universal primer
BO28S_UF2	CTTCAAAGTT CTTTTCAACTT TC	Universal primer
SLR_PpspH1	CCTTCAAAGT AAAGTTTCAT	<i>P. pelagicus</i>
SLR_PsspH1	TCTATTGTAA CCCATCTTGA C	<i>P. sanguinolentus</i>
Port_SLR_UL1	TTTAGTCTTGT CAGAGGAACC	Common reverse primer

Multiplex PCR reaction

A multiplex PCR assay for species-specific identification was performed in a total volume of 15 µl. Each 15 µl PCR reaction contained containing 1 ul of DNA template, 2.5 ul of 10X Taq buffer, 1 ul of MgCl₂ 25mM, 2.5 ul of each dNTP, 1 ul of BO28S_UR2 1 mM, 1 ul of BO28S_UF2 1 mM, 1 ul of Port_SLR_UL1 1 mM, 1 ul of SLR_PpspH1 1 mM, 1 ul of SLR_PsspH1 1 mM. The PCR cycling parameters were programmed as follows: initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec, annealing at 56°C for 30 sec, extension at 72°C for 30 sec, and final extension at 72°C for 1 min. PCR product were detected by electrophoresis at 100

V for 50 min in 1x TBE buffer and stained with ethidium bromide. PCR products were visualized with a UV transilluminator using the BloDoc-ItTM Imaging System (UVP,USA)

[Results] The result of multiplex PCR showed co-amplification of species-specific primer of *P. pelagicus* (232 bp), *P. sanguinolentus* (189 bp) and universal primer (303 bp) in the same reaction tube. These result showed that all of primer sets were added into the PCR mixrture and could be amplified corresponding specific DNA fragment in one-step PCR.

[Discussion] A coupled with species-specific primers, the multiplex PCR provides an accurate and quick method for identification of Portunidae without the need for extensive phenotypic tests.

References

1. Howgate, P. 1984. The processing crab meat for canning. Part 1. INFOFISH Marketing Digest, 4: 48-50.
2. Klinbunga, S., Thamniemdee, N., Yuvanatemiya, V., Khetpu, K., Khamnamtong, B and Menasveta, V. 2010. Species identification of the blue swimming crab *Portunus pelagicus* in Thai waters using mtDNA and RAPD-derived SCAR markers. Aquaculture. 308: S39–S46.

Keywords: multiplex PCR, *Portunus* spp.

Molecular phylogeny of *Elephas*, *Loxodonta* and *Mammuthus* (Elephantidae) based on mitochondrial control region: Implications for conservation and forensic

Danai Sangthong¹, Weerapun Nokkaew² and Pradit Sangthong^{3*}

¹Department of Animal Husbandry and Basic Professional Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

²Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

³Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author: Pradit Sangthong (fscipds@ku.ac.th)

Abstract

[Introduction] Ivory trade in its native and product forms is a major threat on extant elephant species, Asian elephants (*Elephas maximus*) and African elephants (*Loxodonta africana* and *L. cyclotis*). Recently, all elephant species are listed in CITES (Convention on International Trade in endangered species of wild fauna and flora) Appendix I and II that trade in their specimens is permitted in exceptional and controlled circumstances. However, ivory trafficking was often seized in Far East and South-East Asia. Although species identification could precisely indicate origin of ivory, the method is still ongoing problems. The *cytochrome b* and mitochondrial control region (mtCR) have applied to species identification of the elephants. However, potential of species identification using those segments were validated with a very limit number of specimens, especially those of *E. maximus*, i.e. 8, 14 and 360 specimens of *E. maximus*, *L. cyclotis* and *L. africana*, respectively (4), 6 ivory evidences (4) and 2 ivory idols (2). In this study, discriminant power at species level and higher taxonomic levels of Thai

Elephants (*E. maximus*) mtCR were determined.

[Materials and Methods] Blood samples were collected from 20 Thai elephants, *E. maximus*, which were domesticated at Nakhon Sri Thammarat province of Thailand. Total genomic DNA was extracted using QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Germany). Full length segments of *E. maximus* mtCR were amplified using Emax_crH1 and Emax_crL1 primers. Amplicons were purified and sequenced of 5' segment with Emax_crH1. Additionally, 120 mtCR sequences including 50, 50, 18 and 2 of *Loxodonta africana*, *L. cyclotis*, *Mammuthus primigenius* and *M. columbi*, respectively, were obtained from GenBank database. Alignment of 140 elephant mtCR was performed with ClustalW 2.0. The best-fit substitution model was determined by Akaike information criterion (AIC) using jModelTest. Phylogenetic inferences were performed by maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI). Robustness of ML tree was tested by bootstrap method with 1000 replications.

[Results] PCR products up to 600 bp in length of elephant mtCR fragments from Nakhon Sri Thammarat were amplified and sequenced. The TrN+I+G substitution model was selected as best-fit substitution model. Topologies of ML and BI trees clearly presented 3 clades of elephants including clades of the genus *Mammuthus*, *Loxodonta* and *Elephas*. However, monophyletic relationship at species level could not identify neither of *L. africana* nor *L. cyclotis* based on the mtCR sequences. In contrast, distinguished evolutionary lineages within *Elephas* were obviously presented with strong statistical supports. Moreover, topologies of ML and BI trees also indicated that closed evolutionary relationship between the genus *Elephas* and *Mammuthus* i.e. sister genera of the family *Elephantidae*.

[Discussion] Species identification and origin of specimens or evidences are required for elephant conservation and law enforcement. Molecular approaches to those information are widely applied using several methods and data types (1) i.e. nuclear DNA markers including *BGN*, *CHRNA1*, *GBA*, *PHKA2*, and *PLP* genes (3), *cytochrome b* gene (4) and mtCR region (2). The phylogenetic trees of mtCR sequences showed the potential of elephant species identification, which were directly implied to elephant origins i.e. Asia or Africa. The results of this study suggested that mtCR sequences should be considered as species-specific marker of the family *Elephantidae*. However, laboratory protocols must be

further optimized to ensure the specificity, sensitivity and accuracy of the test.

References

1. Alacs, E.A., A. Georges, N.N. FitzSimmons, J. Robertson. 2010. DNA detective: a review of molecular approaches to wildlife forensics. *Forensic Sci. Med. Pathol.* 6: 180-194.
2. Gupta, S.K., K. Thangaraj, L. Singh. 2011. Identification of the Source of Ivory Idol by DNA Analysis. *J. Forensic Sci.* 56: 1343-1356.
3. Ishida, Y., Y. Demeke, et al., 2011. Distinguishing Forest and Savanna African Elephants Using Short Nuclear DNA Sequences. *J. Hered.* 102: 610-616.
4. Lee, Eun-jung, Yang-han Lee, et al. 2013. The identification of elephant ivory evidences of illegal trade with mitochondrial *cytochrome b* gene and hypervariable D-loop region. *J. Forensic Leg. Med.* 20: 174-178.

Keywords: Molecular phylogeny, *Elephas*, *Loxodonta*, *Mammuthus*

Development of Multiplex PCR Assay for the Identification and Differentiation of

Episesarma mederi and other crab species

Danai Sangthong¹, Chonlakran Auychinda² and Pradit Sangthong^{2*}

¹Department of Animal Husbandry and Basic Professional Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

²Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author: Pradit Sangthong (fscipds@ku.ac.th)

Abstract

[Introduction] *Episesarma mederi*, Thai vinegar crab is a grapsoid crab belonging to subfamily Sesarminae in the family Grapsidae. In all stages of growth, they are similar to crabs in subfamily Grapsinae and in larva stage, they are similar to other crab species that live in the same habitat such as blue swimming crabs and mud crabs. This species generally lives in mangroves and forested muddy habitats in southern China and various parts of Southeast Asia. *E. mederi* is an important fishery product usually sold fresh or pickled in vinegar for protein source in human food (1). In Thailand, *E. mederi* is generally preserved with salt or fish sauce for an ingredient of many Thai food, including papaya salad and pickled crab salad. They are overexploitation of *E. mederi* in Thailand, Tiensoongrassamee, 2009 revealed that over 18,000 tons is annually consumed in Thailand (2). This situation is needed to manage by make arrangements for detail information in genetics characters. In this study, multiplex PCR is a genetics tool that use to identify *E. mederi* from other crabs. Multiplex PCR would be able to simultaneously amplify more than one locus and capable of screening mixed of

DNA template in the same reaction. This technique is a fast and convenient technique for clinical and the research laboratory. Therefore, this study attempt to develop species-specific marker for *E. mederi* by using multiplex PCR tool for differentiation *E. mederi* from other crabs.

[Materials and Methods]

DNA Extraction

Genomic DNA was extracted from the 25 mg fresh muscle of each crab using a Genomic DNA Mini Kit (Tissue); (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan). Total genomic DNA was quantified using a NanoDrop2000 spectrophotometer (Thermo Scientific, USA)

Primer design

The sequence of mitochondrial DNA *cytochrome b* gene from 3 crab species composed of *E. merderi*, *E. versicolor* and *E. singaporense* (unpublished data) were aligned using CLUSTAL W 2.0 for designed species-specific primers of *E. mederi* were composed of EpiCb_EMSpecH1 and EpiCb_UL1 as a forward and reverse primer, respectively. The universal primer were design from conserve region on 28S rRNA gene in nuclear genome of all crab species were composed Bo28S_UF2 and Bo28S_UR2

as a forward and reverse primer, respectively.

Multiplex PCR

Multiplex PCR was performed in a total volume of 15 µl. Each 15 µl PCR reaction contained 10 ng. of DNA template, 1 µl of 10x PCR buffer, 0.16 µM of each dNTP, 1.7 mM of MgCl₂, 0.7 µM of each primer, 1 U of Taq DNA polymerase (recombinant) (Fermental, Lithuania). Thermocycling started with an initial denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 sec, annealing at 54 °C for 30 sec, and extension at 72°C for 30 sec. The final extension step was performed at 72°C for 1 min. PCR product were detected by electrophoresis on a 1.8% agarose gel at 100 V for 40 min in TBE buffer and stained with ethidium bromide (0.5 µg/ml). PCR products were visualized with a UV transilluminator using the BloDoc-ItTM Imaging System (UVP,USA)

Specificity and Size variation Test

The combination of species-specific and universal primers was tested with 12 crab species were composed of *E. merderi*, *E. versicolor*, *E. singaporense*, *Charybdis ferriatus*, *C. natator*, *Portunus gladiator*, *P. pelagicus*, *P. sanguinoletus*, *Scylla olivacea*, *S. paramamosain*, *S.*

transquebarica and *S. serrata* to validate the specificity.

[Results] The universal primers of multiplex PCR can be amplified 300 bp fragment in all of 12 crab species and species-specific primers of *E. merderi* showed specifically 376 bp fragment in only *E. merderi*

[Discussion] In this study, a multiplex PCR was successfully developed to identify *E. merderi*. The many advantages of multiplex PCR were less time consuming and can be applied to use as identification tool for other crab species.

References

1. Carpenter, K.E. and V.H. Niem. 1998. FAO species identification guide for fishery purpose: the living marine resources of the western central pacific volume 2: cephalopods, crustaceans, holothurians and shark. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
2. Tiensongrassamee, B. 2009. Grapsid crab, Critical, Accompany with aquaculture, Takecare mangrove, solve and development community forest. The Thailand Research Fund (TRF), Bangkok.

Keywords: multiplex PCR, *Episesarma meder*

Molecular cloning of the partial chicken infectious anemia viral DNA fragment

Wisanu Wanasawaeng^{1*}, Nunthawan Wongchitwong² and Niwat Chansiripornchai²

¹Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, 10530,

Thailand. ²Avian Health Research Unit, Faculty of Veterinary Science,

Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

*Corresponding author: Wisanu Wanasawaeng (wpuy@hotmail.com)

Abstract

[Introduction] Chicken infectious anemia (CIA) made the significant economic losses across the chicken industries worldwide (1). Chicken infectious anemia virus (CIAV) causes immunosuppressive disease characterized by severe anemia, hemorrhages, leading to mortality, increased susceptibility to secondary infections, and decreased responsiveness to vaccines (2). The virus has a small non-enveloped virus containing a circular single-stranded DNA genome of 2.3 kb (3), containing three open reading frames for the viral proteins VP1, VP2 and VP3 (4). These three ORFs partially overlapped each other. In present, nucleic acid-based detection using PCR became one of the most diagnostic tools for poultry diagnostics because the rapid and sensitive of the test. The developed Real-time PCR was a rapid and reliable quantitative technique for CIAV DNA molecules compared with conventional PCR (4). The propagation of CIAV usually requires MDCC-MSB1 lymphoblastoid cell lines, which may not be available in general routine laboratories. Positive DNA control is necessary reagent to verify and validate the procedures; therefore the objective of

this study is to prepare the positive DNA control using molecular cloning of partial CIAV DNA fragments.

[Materials and Methods] DNA was extracted by DNA extraction kit (Invitrogen, USA) from homogenized chicken organs that showed clinical signs of CIA. Then, the DNA was kept in -20 °C until used. The extracted DNA was amplified using CAV-VP3 and CAV4 primers for complete VP3 and partial of VP2 and VP1 (2). The PCR amplification was carried out according to Chansiripornchai et al. (2012). For DNA cloning, DNA fragment of CIAV was cloned by CloneJETTMPCR Cloning Kit with blunt-end cloning protocol (Fermentas, USA) consisted of various steps according the manufacturer's instruction including; ligation with pJET1.2 blunt cloning vectors, transformation to the One-shot® TOP 10 Competent cells (Invitrogen, USA) and selection of the clones on LB agar mixed with 100 mg/ml of ampicillin. The recombinant clones were checked by nested PCR (6) and verified by conventional PCR as described above. Before checking by PCR, plasmid extraction was performed. In this study, the DNA yield was compared by two techniques of plasmid extractions including high copy number

and low copy number protocol using plasmid extraction kit, HiYield™ Plasmid Mini Kit (RBCBioscience, Taiwan). The amount of DNA was examined by Nanodrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA).

[Results] In this study, CIAV fragment recombinant plasmid was extracted and determined the DNA yield. The low copy number protocol gave the DNA content higher than the high copy number protocol as 108.06 and 20.3 ng/μl, respectively. In addition, the DNA band of electrophoresis gel of the low copy number protocol was remarkably thicker than the high copy number (Figure 1).

[Discussion] These cloning DNA could be practically used as positive control in PCR laboratories for a quantitative real-time PCR instead of cultivation of live virus in cell lines. In addition, this cloning DNA may be an appropriate sample submitting for DNA sequencing and uses for further studies such as protein expression.

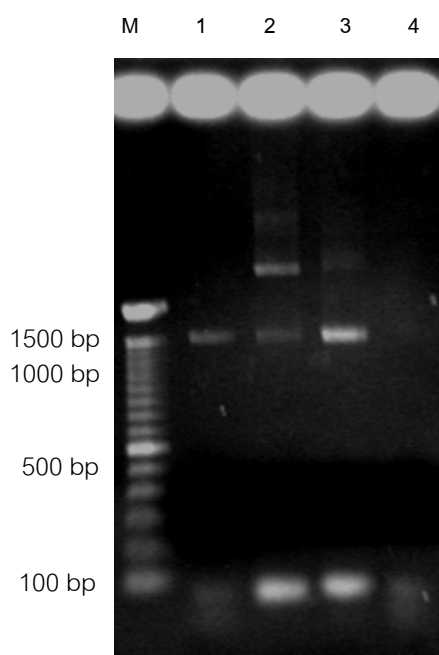


Figure1: Examination of recombinant clones by conventional PCR with amplicons size of 1,500 bp. Lane M= TrackIt™ 100 bp DNA Ladder (Invitrogen. USA); Lane1=Whole virus; Lane2=CIAV fragment recombinant plasmid extracted with the high copy number protocol; Lane 3 = CIAV fragment recombinant plasmid extracted with the low copy number protocol; Lane 4 = negative control, double distilled water.

References

1. Lee MS, et al. 2009. Process Biochemistry. 44:390–395.
2. Soiné C, 1993. Avian Dis. 37: 467-476.
3. Noteborn MHM, et al. 1991. J. Virol. 65(6): 3131-3139.
4. Kaffashi A, et al. 2008. Avian Pathol. 37(1): 109-114.
5. Chansiripornchai N, et al. 2012. Thai J. Vet. Med. 42(4): 533-536.
6. Cardona C, 2000. Avian Dis. 44: 661-667.

Acknowledgements: This work was supported by the Thai Research Fund (TRF) and Office of Higher Education Commission 2010–2012, MRG 5380058.

Keywords: chickens, chicken infectious anemia virus, molecular cloning, real-time PCR

Congenital Anomalies Accompanied with Anasarca in Five Neonatal Bulldogs:

A Case Report

Thanongsak Mamom^{1*}

¹Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology, 140 Cheum-Sampan Rd., Nong Chok, Bangkok 10530 Thailand

***Corresponding author: Thanongsak Mamom** (thanonsa@mut.ac.th)

Abstract

[Introduction] Anasarca is a condition characterized by widespread accumulation of fluid in intercellular tissue especially skin and in coelomic cavities such as thorax and abdominal cavity. The pathomechanism of anasarca is variable, but mainly concerning with cardiovascular and hemolymphatic systems. In dog, fetal and neonatal anasarca (also called water puppies, Walrus puppies) is commonly reported especially in a certain breeds such as Bulldog, Boston terriers, and other flat headed dogs. Most bitches delivered puppies or fetuses with anasarca had dystocia and required cesarean for saving life. Most puppies responded partially to supportive treatment, such as using diuretic drugs, and mostly died. Many pathogenesis were used in the attempt to explain the disease occurrence, but rarely of them had performed morphologic investigation.

The aim of this study was to perform macroscopic and microscopic investigation of five neonatal Bulldog carcasses with anasarca delivered from the same bitch.

[Materials and Methods] Five neonatal Bulldog carcasses born from the same dam were submitted to Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center for

investigation. Necropsy and macroscopic examination was performed. Selected organs such as liver, spleen, kidney and lung were collected and routinely processed for microscopic examination.

[Results] *Macroscopic examination results:* All carcasses revealed generalized subcutaneous edema (anasarca) and accumulation of serosanguineous fluid in abdominal cavity (hydroperitoneum), thoracic cavity (hydrothorax) and pericardial sac (hydropericardium). Palatoschisis (cleft palate) is observed in three carcasses. Two carcasses showed small sized lungs. Two livers were whitish-brown discoloration especially at the periphery of hepatic lobes. Small kidneys were seen in one carcass. Most brains were liquefied. No cardiac anomalies or lesion was detected. *Microscopic examination results:* The livers showed multifocal areas of calcification. Hypoplasia of pulmonary tissue was observed in macroscopic detected small-sized lungs. The histopathological examination of normal-sized kidneys from four carcasses revealed a large number of immature glomeruli at cortex with disorganized and incomplete renal tubular formation characteristic of renal dysplasia. The small kidneys from one carcass were

histologically diagnosed as renal hypoplasia. No significant microscopic lesion was detected in spleen. In summary, important macroscopic & microscopic findings in five neonatal Bulldog carcasses are as followings: renal dysplasia (4/5), palatoschisis (3/5), pulmonary hypoplasia and hepatic calcification (2/5) and renal hypoplasia (1/5).

[Discussion] In this study, congenital anomalies were detected in kidneys, lungs, and palates. Whether these anomalies are the cause of anasarca in these neonatal pups, is still not clear. In this study, renal dysplasia, hypoplasia and agenesis were observed accompanied with anasarca in neonatal Bulldogs. Calcification in livers was considered as metastatic calcification due to lack of tissue necrosis. Pulmonary hypoplasia seems to play no important role in the development of fluid accumulation and anasarca in some neonatal pups. However, this finding might interfere with normal pulmonary inflation after birth, and thus leads to asphyxia and die due to anoxia shortly after birth. In sheep, it was documented that, pulmonary hypoplasia associated anasarca is genetic defect (1, 2). In Australian Dexter calf and Belted Galloway calf, pulmonary hypoplasia was observed in association with anasarca and they were considered genetic disorder (3). In dogs especially Bulldog puppy, such condition was also reported in association with anasarca, however, genetic involvement has not yet been

verified. Palatoschisis observed in some pups was also reported as the common anasarca associated anomalies (4). In Belted Galloway calf, both palatoschisis and pulmonary hypoplasia were reported that associated with anasarca (3). The study in English and Hungarian Bulldogs showed that palatoschisis was the most common co-incidence with anasarca (4). Although some congenital heart defects were reported in anasarca puppies, such defects were not observed in this study. In cattle, genetic research of anasarca found that the condition develops about halfway through the pregnancy. In this study, we reported congenital anomalies in association with anasarca in Bulldog puppies. Some anomalies such as renal dysplasia and hypoplasia are rarely documented in the literatures in association with anasarca. Unfortunately, there is no available successive treatment for puppies suffering from congenital anasarca at the moment. More intensive genetic investigation should be performed to explore the certain genetic change result to congenital anasarca in puppies.

[References]

1. Tamizharasan S, et al. 2008. Indian Vet J 85: 897-898.
2. Selvaraju M, et al. 2008. J Vet Anim Sci 39: 62-63.
3. Windsor PA, et al. 2006. Austr Vet J 84: 278-281.
4. Wydooghe E, et al. 2013 Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 82: 38-43.

Keywords: anasarca, neonatal dog, pathology, congenital

Comparison between Live/Dead Staining and WST-1 Cell Proliferation Assay to Assess

Viability of Porcine Airway Ciliated Epithelial cells

DarsaniyaPunyadarsaniya^{1*}, Bussarakam Chuppava²,

Sakchai Ruenphet¹ and Pakawadee Kumpolngam¹

¹Virology and Immunology Department, ²Student of Veterinary Medicine,
Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of technology, Bangkok, Thailand

*Corresponding author: DarsaniyaPunyadarsaniya (darsaniya_p@yahoo.de)

Abstract

[Introduction] The porcine precision-cut lung slices (PCLS) is a primary cell culture system which is proved to be an efficient *ex vivo* maintaining functions one of the most similar to *in vivo*¹ to do the experiments for virological and toxicological approaches. The results of this assay are importance in various fields such as some viruses which require only living cells to proliferate. One of the fundamental methods is a Live/Dead[®] viability/cytotoxicity assay using a dye to selectively stain in live or dead cells. Other cell viability detection methods; the CytoScan™ WST-1 Cell Proliferation Assay is asensitive, accurate and convenient method as it is performed in a single cell tissue culture well and requires no washing, harvesting or solubilization of cellsto measure cell metabolism². The aim of this study was comparison between the two methods which are used to assess viability of porcine airway ciliated epithelial cells. The Live/Dead[®] staining assay provides information about the functional status of cell by detecting intracellular esterase activity and plasma membrane integrity that represents cell viability and cell death³. Besides WST-1 Cell Proliferation assay is based on the reduction of the tetrazolium salt to formazan by cellular dehydrogenases which is being used to assess the number of metabolic activating cells.

[Materials and Methods] PCLS of about 250 µm thickness were prepared from the lungs of 3 months old crossbred pigs observed under a light microscope 4 times a week to estimate the ciliary activity. Each bronchus was virtually divided into ten segments each of which was monitored for the presence or absence of ciliary activity. Slices were selected based on 100% ciliary activity at the beginning of the experiment. PCLS were applied a Live/ Dead[®] viability/ cytotoxicity assay staining procedure to examine live and dead cells which had been stained with Calcein AM and EthD-1, respectively. The staining was observed under a confocal microscope for indicating the integrity of epithelial cells lining of the bronchus and bronchiole. Howeverthe dead cells are able to count but the thickness of PCLS might be interfere the result. In this study, the percentages of staining and ciliary activity wereevaluatedin same criteria. For WST-1 Cell Proliferation assay, PCLS were incubated with 10 µl of WST-1 reagents and added to 100 µl of cell culture medium and incubated for 1 hour at 37°C. Afterwards collect the supernatant that consist of formazan were transferred to clear 96-well plate. The results were readby using scanning multi-well spectrophotometer (ELISA plate reader, TECAN, USA.) was measured at 450 nm and absorbance obtained strongly correlates to the cell

number. The assay principle is based upon the reduction of the tetrazolium salt WST-1 was colourless substrates (pale yellow) modified to a formazan (dark blue) by mitochondrial dehydrogenases in living cells.

[Results] The percentage of the live cells distribution with green color in the cytoplasm of PCLS was higher than the dead cells with red color in the cell nuclei for longer than a week. The Formazan from WST-1 Cell Proliferation assay was adjusted amount from ELISA reader and related to the living cell that means on the first day after preparation which presence the greatest amount of formazan and gradually decreased on the following day. To compare with ciliary activity from PCLS, the results revealed that the ciliary activity or ciliostasis effect was similar to Live/Dead[®] staining assay. On the other hand, WST-1 did not see any relation with ciliary activity of the porcine airway epithelial cells from this experiment. Nevertheless the result would not conclude in quantitative data from ELISA reader, from the fact that cannot adjust cells from PCLS in the same amount, the subjective of the study was directed to qualitative result.

[Discussion] Viable cells could be measured by using any of several methods. In this study, the comparison between Live/Dead[®] viability/ cytotoxicity assay and WST-1 Cell Proliferation assay were described. Both of them are being used at the research level to dedicate the integrity of cells. They are fast and convenient from ready-to-use reagent. In previous reports Live/Dead[®] staining assay were success to dedicate the relationship of the ciliary activity of respiratory epithelial cells⁴. WST-1 Cell Proliferation assay were reported by observing viability of porcine cervical

epithelial cells⁵. This experiment revealed that there was no correlation between the result of WST-1 Cell Proliferation assay and Live/Dead[®] staining assay. The result from Live/Dead[®] staining assay were correlated with the ciliary activity that indicated the viable of ciliated epithelial cells, on the other hand, the result of WST-1 Cell Proliferation assay were not represented only the viability of ciliated epithelial cells but also shows viability status of entire slice that consist of many cell type eg. connective tissue and epithelium. Surprisingly that the result of WST-1 does not represent of ciliated epithelial cells. This may due to the lifespan of the different cell type are not identical⁶.

Because of PCLS does not present any standard method for viability test by official laboratory such as OIE, CDC. The recommended method for validating the viability of porcine airway ciliated epithelial cells from this study was Live/Dead[®] viability/ cytotoxicity assay. Future work would address to observe the viability of the porcine airway epithelial cells after infected by viruses.

References

1. Dassow C. et al., 2009. J. Respir Crit Care Med. 2009. 179: A1243.
2. Francoeur, A.-M. and Assalian, A. Microcat. 1996. Biochemica. 3: 19-25.
3. M.A. Martin-Piedra et al., 2014. Cytotherapy. 16(2): 266-277.
4. Goris K. et al., 2009. J. Virol. 83(4): 1962-1968.
5. Miessen K. et al., 2012. BMC Vet Res. 8: 31.
6. Buraimoh A.A. and Ojo S.A., 2012. Int J Appl Sci Technol. 10 (2): 123-132

Keywords: cell viability, ciliated epithelial cell, PCLS

รายงานสัตว์ป่วย : ภาวะไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจในลูกแมว

สมจินต์ สุทธิกาญจน์^{1*} และ เจษฎา รุ่งภูประดิษฐ์¹

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*ผู้รับผิดชอบบทความ: สมจินต์ สุทธิกาญจน์ (zomchin@gmail.com)

บทคัดย่อ

[บทนำ] ไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจ (peritoneopericardial diaphragmatic hernia, PPDH) เป็นความผิดปกติแต่กำเนิดที่เกิดจากการเชื่อมกันระหว่างถุงหุ้มหัวใจและเยื่อช่องท้องผ่านช่องโหว่ของกะบังลม เกิดจากความผิดปกติกระบวนการพัฒนาของตัวอ่อน (embryogenesis) ในส่วนของกะบังลมส่วนล่าง (ventral portion) จากรายงานการศึกษาในสุนัขพบไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจประมาณ 0.5% ของความผิดปกติแต่กำเนิดของหัวใจ (3) ในขณะที่จากการศึกษาในแมวพบความผิดปกติไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจ 0.062% (2) โดยพบว่าแมวพันธุ์ขนยาว โดยเฉพาะพันธุ์ Mian Coon มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดภาวะดังกล่าว (1) การวินิจฉัยไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจทำได้โดยการถ่ายภาพรังสีเอ็กซเรย์ โดยจะพบเงาของหัวใจขนาดใหญ่กว่าปกติ และรูปร่างผิดปกติ ขอบเขตของกะบังลมไม่ชัดเจน กระเพาะอาหารอยู่ผิดตำแหน่งไปทางด้านหน้า (5,7)

[อุปกรณ์และวิธีการ]

ประวัติสัตว์ป่วย: แมวเปอร์เซียเพศเมีย อายุ 2 เดือน น้ำหนัก 0.5 กิโลกรัม เข้ารับการรักษาด้วยอาการหายใจหอบเหนื่อยง่าย การตรวจร่างกายพบเสียงหัวใจเบากว่าปกติ เสียงปอดปกติ เยื่อเมือกสีชมพูซีฟอรปกติ

ผลการวินิจฉัย: ผลการถ่ายภาพรังสีเอ็กซเรย์พบ เงาขอบเขตของหัวใจใหญ่ขึ้นกว่าปกติ ไม่เห็นขอบเขตของกะบังลมส่วนล่าง

พบลักษณะโครงสร้างของลำไส้อยู่ภายในถุงหุ้มหัวใจ จึงวินิจฉัยว่าเป็นไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจ

การรักษา: ทำการรักษาโดยวิธีการศัลยกรรมแก้ไขไส้เลื่อน (herniorrhaphy) โดยเปิดผ่าบริเวณแนวกลางของช่องท้อง (ventral midline) พบรูเปิดของกะบังลมเชื่อมถุงหุ้มหัวใจ โดยมีลำไส้เล็กและบางส่วนของตับกลีบขวา เข้าไปภายในรูเปิดไส้เลื่อน ภายหลังการนำตับและลำไส้กลับสู่ช่องท้อง ทำการเย็บปิดรูเปิดของกะบังลมด้วย 2-0 polydioxanone โดย continuous suture pattern ในระหว่างการศัลยกรรมพบภาวะแทรกซ้อนคือสัตว์ป่วยความดันต่ำลงอย่างเฉียบพลัน ทำการแก้ไขโดยให้ gelofusine ขนาด 10 ml/kg ร่วมกับ dopamine ขนาด 5 ug/kg/min CRI

[ผลการรักษา] ภายหลังเสร็จสิ้นการศัลยกรรม 2 ชั่วโมง สัตว์ป่วยเสียชีวิตด้วยภาวะความดันโลหิตต่ำ และระบบการไหลเวียนโลหิตล้มเหลว

[สรุปและวิจารณ์] สาเหตุของการเสียชีวิตในสัตว์ป่วยรายนี้เนื่องจากพบภาวะแทรกซ้อนจากการวางยาสลบคือความดันโลหิตต่ำเฉียบพลัน ทำให้ระบบการไหลเวียนโลหิตล้มเหลว มีการศึกษา พบว่าในสุนัขและแมวที่เป็นไส้เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วมถุงหุ้มหัวใจ ที่เข้ารับการผ่าตัดแก้ไขมีอัตราการเสียชีวิตต่ำใน 2 สัปดาห์หลังการผ่าตัด และสัตว์ป่วยสามารถกลับมาใช้ชีวิตได้ตามปกติ ภายหลังการผ่าตัด (1) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าพบอัตราการเสียชีวิตของแมว ภายหลังการผ่าตัด 8.8%(2) และ 14%(6) และมีรายงานพบการเสียชีวิตภายหลังการ

ผ่าตัดแก้ไขโดยไม่ทราบสาเหตุในแมว 2 ตัว
(4) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าในสัตว์ป่วยที่มีอาการทางคลินิกควรได้รับการรักษาด้วยวิธีศัลยกรรม ในขณะที่สัตว์ป่วยที่ไม่มีอาการทางคลินิกอาจไม่จำเป็นต้องรักษาด้วยวิธีศัลยกรรม (2)

เอกสารอ้างอิง

1. Banz AC. 2010. Peritoneopericardial diaphragmatic hernia : a retrospective study of 31 cats and eight dogs. J Am Anim Hosp Assoc. 46(6) : 398-404.
2. Burns CG, et al. 2013. Surgical and nonsurgical treatment of peritoneopericardial diaphragmatic hernia in dogs and cats : 58 cases (1999-2008). 242(5) : 643-650.
3. Evan SM, et al. 1980. Congenital peritoneopericardial diaphragmatic hernia in the

dog and cat : A literature review and 17 additional cases. Vet Radiol. 21 : 108-116.

4. Neiger R,. 1996. Peritoneopericardial diaphragmatic hernia in cats. Compendium. 18 : 461-477.
5. Ozer K, et al. 2001. Diaphragmatic hernia in cats : 44 cases. Medycyna Wet. 63 : 1564-1567.
6. Reimer SB, et al. 2004. Long-term outcome of cats treated conservatively or surgically for peritoneopericardial diaphragmatic hernia : 66 cases (1987-2002). JAVMA. 5: 728-732.
7. Rosenstein DS, et al. 2001. Radiographic diagnosis : pericardioperitoneal diaphragmatic hernia and cholelithiasis in a dog. Vet Radiol. 42 : 308-3.

คำสำคัญ: ใส่เลื่อนกะบังลมเยื่อช่องท้องร่วม
ถุงหุ้มหัวใจ, ความผิดปกติแต่กำเนิด, แมว

Butterfly Pea Flower Extract as a Dye on Dog Vaginal Smear Staining

Araya Suebkhampet^{1*}, Pongsiwa Sothhibandhu¹ and Ajjima Chansaenroj²

¹Department of Anatomy, ²Clinic for Obstetrics Gynecology Andrology and Artificial Insemination of Domestic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

*Corresponding Author: Araya Suebkhampet (saraya@mut.ac.th)

Abstract

[Introduction] Butterfly pea (*Clitoria Ternatea* L.) or blue pea is a high-quality, protein rich legume that grows in tropical areas. It is used as a companion crop, an ornamental plant, or animal feed [1]. All parts of the plant are used in traditional medicine. The flowers are used to color food or are used as a food. The blue color of its flowers represents the existence of anthocyanins which are classified as ternatins possess potent antioxidant activity and ability to change color according to pH [2]. Nowadays, the use of natural dyes has become a matter of significant due to the increased environmental awareness and in order to avoid some hazardous synthetic dyes to human health. Thus, alternative natural dyes have been studied for their potential use in several applications. There are many studies that investigated histological staining using plant dye in diverse tissues. The aim of this study was to determine the effectiveness of the aqueous crude extract from butterfly pea flowers on dog vaginal smear staining compare with the conventional Diff-Quick stain.

[Materials and methods] Butterfly pea petals were air-dried in the shade and ground into a fine powder. The aqueous crude extract was prepared by soaking the petal powder in distilled at a ratio 1:10 and filtered with gauzes and filter paper. The filtrate was included with 5% AlCl₃ to serve as a mordant and then adjusted to pH 2.0 before staining. The methanol-fixed vaginal

smears of 3 female Pomeranians were used for the experiments. The smears were stained with the butterfly pea dye for 30 min before washing with distilled water [3]. Alternatively, some of the vaginal smears were stained with Diff-Quick stain as follow the manufacturer's instructions. Images of the stained smears were taken under an Axiolab microscope using Zenlite 2012 Vision software.

[Results] The results revealed that the nuclei and cytoplasm of the nucleated cells such as parabasal, intermediate and nucleated superficial cells were stained dull basophilic color with differences in the shading. The faint basophilic staining was also detected in the cytoplasm of the cornified superficial cells. However, the staining in red blood cells was not detected in the smears. The basophilic staining was detected in the nuclei of the nucleated cells when the smears were stained with Diff-Quick. In addition, the cytoplasmic staining of all vaginal epithelial cells revealed the various shades of basophilic staining. However, the intensity of staining with the dye extract was made lower than that of the staining with Diff-Quick stain.

[Discussion] Anthocyanins are structurally related to several potent intercalators and are known to bind to purines [4]. Both DNA and RNA can act as strong effective co-pigments for natural anthocyanins [5]. Thus, the staining detected in the nuclei of the nucleated cells in the vaginal smears may

have the same reaction. The variation of the basophilic shades on different vaginal epithelial cells might be caused by the ability of the anthocyanins in the dye extract to change the color according to the pH level. Mordants are regularly included in the dyeing protocols when natural dyes are used in order to set dyes on cell or tissue by forming a coordination complex with the dye which then attaches to the cell or tissue [6]. Changing the mordant and its percentage included in the dye extract before staining may enhance the contrast and color hue of the cells. The results suggested that using the aqueous crude extract from butterfly pea flowers as a dye could be used to differentiate the cells in dog vaginal smears. The dye extract are domestically available and easy to prepare. These may benefit for

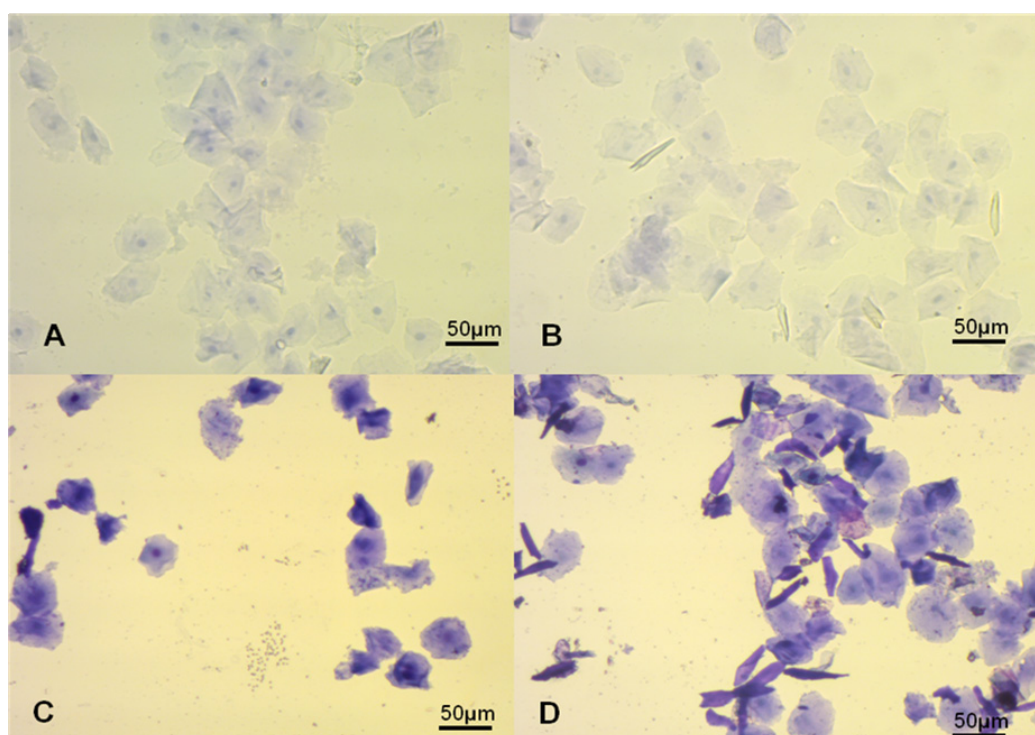
application the dye extract as an alternative stain for dog vaginal cytology examination.

Acknowledgments

The authors thank Mr. Sakkachat Pakdeechanuan for preparing the vaginal smears. This study was supported by Mahanakorn University of Technology.

References

1. Terahara N, et al. 1998. J. Nat. Prod., 61:1361-1367.
2. Morris JB. 2009. Genet. Resour. Crop Evol., 56:421-427.
3. Suebkhamphet A and Sotthibandhu P. 2012. Suranaree J. Sci. Technol. 19(1):15-19.
4. Mas T, et al. 2000. Phytochemistry, 53:679-687.
5. Mistry ,et al. 1991. J. Chem. Soc., Perkin Trans. (2) 8:1287-1296.
6. Llewellyn BD. 2005. <http://stainsfile.info/StainsFile/theory/mordant.htm>



Dog vaginal smears stained with butterfly pea flower crude extract (A, B) and Dip-Quick stain (C, D), respectively.

การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์เพื่อเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1*

ที่ตำแหน่ง AP2 box region

อนุสรณ์ จำแสนชื่น¹, ประดิษฐ์ แสงทอง² และ ดานัย แสงทอง^{1*}

¹ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

² ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

*ผู้รับผิดชอบบทความ: ดานัย แสงทอง (pdanai@mut.ac.th)

บทคัดย่อ

[บทนำ] ยีน heat shock proteins family จัดเป็นกลุ่มยีนที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการถูกทำลายของเซลล์จากความร้อน โดยมีการศึกษาพบว่าเกิดการกลายหรือการขาดหายไปของลำดับเบสที่ตำแหน่ง AP2 box region ของยีน *hsp 70.1* ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการทนความร้อนของโคลดลง และส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตโดยพบว่าโคจะให้ผลผลิตลดลงโดยมีการศึกษาในโคนมสายพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเชียน Chinese Holstein และโคนมสายพันธุ์ลูกผสมชาฮิวาล เป็นต้น[1,2,3] แต่ในโคพื้นเมืองของประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษาถึงเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในตำแหน่งดังกล่าว ทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว โดยในเบื้องต้นจะทำการทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่จะนำมาใช้เพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1* ที่ตำแหน่ง AP2 box region ในโคไทยพันธุ์พื้นเมือง

[วิธีการดำเนินการวิจัย] ทำการสกัด DNA จากตัวอย่างเลือดโคนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเชียนลูกผสม ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป (FavorPrepTM, Favorgen Biotech corporation, Taiwan) จำนวน 1 ตัวอย่าง จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของ *hsp 70.1* gene ที่ตำแหน่ง AP2 box region ด้วยวิธี Gradient PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *hsp 70.1* จำนวน 1 คู่
Forward: 5'GTCGCCAGGAAACCAGAGAC3'
Reverse: 5'GGAACACCCCTACGCAGGAG3'

[2] โดยมีองค์ประกอบในปฏิกิริยาปริมาตร 20 ไมโครลิตรเป็นดังนี้ PCR Taq-buffer ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร MgCl₂ ความเข้มข้น 5mM ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร dNTPs ความเข้มข้น 10mM ปริมาตร 0.4 ไมโครลิตร Forward primer ความเข้มข้น 10 pmol/ul ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร Reverse primer ความเข้มข้น 10 pmol/ul ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร Taq DNA polymerase ความเข้มข้น 5unit/ul ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ddH₂O ปริมาตร 12.9 ไมโครลิตร และ DNA template ปริมาตร 3.0 ไมโครลิตร ตั้งค่าโปรแกรม initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และปรับช่วงอุณหภูมิของระยะ annealing เป็นแบบ gradient ไว้ที่ 55, 55.7, 56.9, 58.8, 61.1, 63, 64.3 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วน extension ปรับอุณหภูมิไว้ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำปฏิกิริยาทั้งหมด 35 รอบ หลังจากนั้น ทำการตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 25 นาที ย้อมเจลด้วย ethidium bromide และตรวจแถบสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง UV-transilluminator จากนั้นทดลองปรับสภาพการทำงานของปฏิกิริยา โดยปรับช่วง annealing ไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่ชัดเจนที่สุดนาน 1 นาที

และปรับช่วง extension ไว้ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ส่วนค่าอื่นๆ คงสภาพไว้เหมือนเดิม ตรวจสอบผลการทำปฏิกิริยาด้วยวิธี gel electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide ตรวจสอบแถบสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง UV transilluminator หลังจากนั้น นำสภาวะการทำปฏิกิริยาดังกล่าวไปทดสอบกับตัวอย่าง DNA ของโคไทยพื้นเมือง 4 กลุ่ม ซึ่งประกอบไปด้วย โคไทยพื้นเมืองแถบภาคอีสาน โคลาน โคน และโคขาวลำพูน อย่างละ 3 ตัวอย่าง รวมเป็น 12 ตัวอย่าง ตรวจสอบผลการทำปฏิกิริยาด้วยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 25 นาที ย้อมด้วย ethidium bromide แล้วดูแถบสารพันธุกรรมภายใต้เครื่อง UV transilluminator

[ผลการทดลอง] จากการทดลองพบว่าไพรเมอร์ที่นำมาใช้สามารถเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1* ที่ตำแหน่ง AP2 box region ในโคเนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเซียน ในระยะ annealing ได้หลายช่วงอุณหภูมิ ซึ่งพบแถบสารพันธุกรรมได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 55, 55.7, 56.9, 58.8, 61.1, 63, 64.3 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ส่วนการปรับสภาพการทำปฏิกิริยา โดยปรับช่วง annealing ไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และปรับช่วง extension ไว้ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที สามารถเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1* ในโคเนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเซียนได้เช่นเดียวกัน และยังสามารถใช้เพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1* ในโคไทยพื้นเมืองทั้ง 4 กลุ่มได้อีกด้วย โดยสามารถพบแถบสารพันธุกรรมได้จากโคไทยพื้นเมืองทั้ง 12 ตัวอย่าง

[วิจารณ์ผลการทดลอง] จากผลการทดลองพบว่าไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถใช้เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1* ที่ตำแหน่ง AP2 box region ในโคเนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเซียนได้โดยสามารถลดอุณหภูมิของระยะ annealing ลงมาได้ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อีกทั้งยังสามารถลดระยะเวลาของระยะ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส ลงมาเหลือเพียง 30 วินาที ซึ่งจะทำให้การทำปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้เร็วกว่าที่เคยมีการศึกษาในโคเนมพันธุ์โฮลสไตล์ฟรีเซียนที่ผ่านมาโดยใช้อุณหภูมิ annealing อยู่ที่ 63 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และใช้อุณหภูมิ extension ที่ 72 องศาเซลเซียส นานถึง 2 นาที [1,2] ทั้งนี้ไพรเมอร์และสภาพการทำปฏิกิริยาดังกล่าวยังสามารถใช้เพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน *hsp 70.1* ที่ตำแหน่ง AP2 box region ในโคไทยพื้นเมืองทั้งสี่กลุ่มได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Deb Rajib, et al., 2013. Promoter variants at AP2 box region of Hsp70.1 affect thermal stress response and milk production traits in Frieswal cross bred cattle. Gene. 532. 230-235.
2. Schwerin, M., Sanftleben, H. and Grupe S., 2003. Genetic predisposition for productive life is associated with functional inactivation of a AP2-binding site in the promoter of the stress protein 70.1 encoding gene in cattle. Arch. Tierz., Dummerstorf. 46(2). 177-185.
3. Xiong Q. et al., 2012. Association analysis of HSP70A1A haplotypes with heat tolerance in Chinese Holstein cattle. Cell stress and chaperones. 18. 711-718.

คำสำคัญ: *hsp70.1* โคไทยพื้นเมือง ไพรเมอร์

ดัชนีผู้นำเสนอผลงาน

Adisak Bhumiratana	1, 3, 6	Surachart Koyadun	1
Ajjima Chansaenroj	42	Suvarin Pavasutthipaisit	24
Apiradee Intarapuk	1, 3, 6	Thanongsak Mamom	24, 36
Araya Suebkhamphet	42	Thuchadaporn Chaikhun-Marcou	8
Bussarakam Chuppava	38	Warongchanok Hanrin	8
Chonlakran Auychinda	32	Wattana Somsit	15
Chun-Ho Park	24	Weerapun Nokkaew	26, 30
Danai Sangthong	26, 30	Wisanu Wanasawaeng	15, 34
Danai Sangthong	28, 32	Wuthichai Kaewwaen	1, 3
DarsaniyaPunyadarsaniya	38	กฤษฎา ขำพล	13
Hassadin Boonsriroj	24	เจษฎา รุ่งภูประติษฐ์	40
Kittika Chaimongkol	8	ชัชวาล ปานสวอย	11
Krittika Wannapake	8	ดानी แสงทอง	44
Niwat Chansiripornchai	34	ธนสิทธิ์ สอนภู	22
Nunthawan Wongchitwong	34	น้ำฟ้า เฟื่องบุญ	17
Pakawadee Kumpolngam	38	ประติษฐ์ แสงทอง	44
Pannamas Maneekan	1	ประพันธ์ แก่นจำปา	17
Paradee Hattapanit	8	ปรีชากร พันธุ์วิเศษ	17
Phailin Kawijai	8	พิทยา ภาภิรมย์	17
Pinkarn Chantawong	24	ไพโรจน์ วงศ์หทัยไพศาล	17
Pongsiwa Sotthibandhu	8, 42	มงคล ชวณิช	22
Pradit Sangthong	26, 28, 30, 32	มณญ จุมศิลา	17
Prapa Sorosjinda-Nunthawarasilp ..	1, 3, 6	สมจินต์ สุทธิกาญจน์	40
Saithan Polnok	8	สมยศ อิมอรมณ	22
Sakchai Ruenphet	38	สรรเพชญ โสภณ	11
Siriwat Suadsong	8	สุทธินัย บุญให้	22
Songmeung Suwannarat	28	อนิสรา สิงห์เม่ง	17
Suntorn Pimnon	3, 6	อนุสรณ์ จำแสนชื่น	44
Supaporn Boonnual	8		

รายนามผู้สนับสนุนการจัดประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๘ ประจำปี ๒๕๕๗

ผู้สนับสนุนหลัก

1. บริษัท โซเอทิส (ประเทศไทย) จำกัด
2. บริษัท อินเทอร์เน็ต (ประเทศไทย) จำกัด
3. บริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด
4. บริษัท ที.เจ. แอนนิมัล เฮลท์ จำกัด

ผู้สนับสนุนรอง

1. บริษัท บี เอ็น ซุปพีเรียมาร์เก็ตติ้ง จำกัด
2. บริษัท เมิร์จคอมพาเนียน (ประเทศไทย) จำกัด
3. บริษัท เอ็น พี อินเทอร์เน็ต จำกัด
4. บริษัท เวท อะกริเทค จำกัด ร่วมกับ บริษัท เวอร์แบค (ประเทศไทย) จำกัด

