

THE 9th MUT VETERINARY ANNUAL CONFERENCE 2016

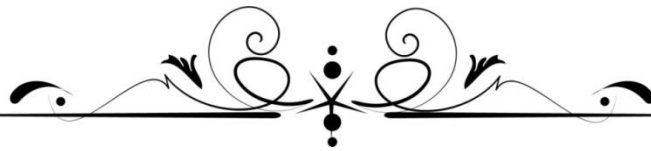


รายงานสืบเนื่องการประชุมระดับชาติ
การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

"มาตรฐานบริการด้านสุขภาพสัตว์
เส้นทางสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน"

BY
FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE
MAHANAKORN
UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

วันที่ ๑๑-๑๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๙
ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร



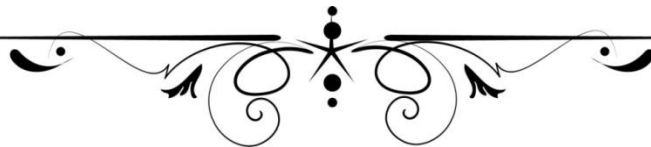
สถิตในดวงใจตราบนิจนิรันดร์

น้อมศิระกราบ

กราบแทบพระยุคลบาท

ด้วยสำนึกในพระมหากรุณาธิคุณ

เป็นล้นพ้นอันหาที่สุดมิได้



ฟ้าหม่น น้อมศิระเกล้า กรูณาธิคุณ
พระผู้ทรง คุณประเสริฐ เลิศไพศาล
คู่สวรรคาลัย นิรันดร์กาล
นบพระภูบาล ศิระกราบ พระจักริน

เรา ชาวฟ้าหม่นหมองรำไห้
รัก เทิดทูนไ้ยิ่งสนอง
ใน พระมหากรุณาธิคุณน้ำตานอง
หลวง ทรงครองสวรรคาลัยใจอาดูร

ข้าพระพุทธเจ้า

คณะสัตวแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ครั้งที่ ๙

ประจำปี ๒๕๕๙

มาตรฐานบริการด้านสุขภาพสัตว์:

เส้นทางสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน

จัดโดย

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

วันที่ ๑๑-๑๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๙

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

Proceedings of the National Conference

The 9th MUT Veterinary Annual Conference 2016

ISBN: 978-974-8242-96-5

จำนวนหน้า 80 หน้า

รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

วันที่ ๑๑-๑๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๙

ณ อาคาร R คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

จัดพิมพ์โดย คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

พิมพ์ครั้งที่ 1 1 (พ.ศ.๒๕๕๙)

จำนวน 100 เล่ม

กลอนไว้อาลัย

ผู้ประพันธ์: อ.น.สพ.ดร.ธนสิทธิ์ สอนภู

Proceedings of the National Conference

The 9th MUT Veterinary Annual Conference 2016

Animal Health Service Standards:
Path to Sustainable Development of
Veterinary Profession

Organized by

Faculty of Veterinary Medicine

Mahanakorn University of Technology

November 11th-12th, 2016

R Building, Faculty of Veterinary Medicine

Mahanakorn University of Technology

สารจากอธิการบดี



โครงการที่จะพัฒนามาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์และคลินิกรักษาสัตว์ในประเทศไทยให้เป็นมาตรฐาน พร้อมทั้งจะเข้าสู่สากล เป็นโครงการที่สำคัญยิ่ง โดยการจัดสร้างมาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์ให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล (TAHSA-Thailand Animal Hospital Standards and Accreditation) นั้น เพื่อรองรับการเปิดตลาดสู่ประชาคมอาเซียน (ASEAN Economic Community: AEC) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครคิดว่าการมีโรงพยาบาลหรือคลินิกรักษาสัตว์ที่ได้มาตรฐานเป็นเรื่องสำคัญและทางมหาวิทยาลัยฯ มีความเชื่อว่าการที่สัตวแพทย์ไทยจะจัดทำมาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์นั้นเป็นสิ่งที่สามารถเกิดขึ้นได้

จากศักยภาพของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ที่ได้จัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์มาอย่างต่อเนื่องทุกปี ทางมหาวิทยาลัยฯ มีความมั่นใจว่า ในการจัดการประชุมวิชาการสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 9 ประจำปี 2559 ในวันที่ 11-12 พฤศจิกายน 2559 ในหัวข้อ “มาตรฐานบริการด้านสุขภาพสัตว์: เส้นทางสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน” นั้น จะเป็นการจัดประชุมวิชาการที่ดีเยี่ยม โดยได้รับความร่วมมือจากบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญทางด้านต่างๆ ทำให้การประชุมวิชาการในครั้งนี้นำมาซึ่งการตอบรับ และเป็นที่ยอมรับอย่างดีจากนายสัตวแพทย์ นักวิชาการ นักวิจัย ตลอดจนนิสิต นักศึกษาที่กำลังมองหาโอกาสในการพัฒนามาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์เพื่อยกระดับวิชาชีพสัตวแพทย์ให้มีความเจริญก้าวหน้ายิ่งขึ้นไป

กระผมเชื่อว่าผลที่ได้รับจากการประชุมวิชาการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ในครั้งนี้จะช่วยกระตุ้นให้มีการพัฒนาทางด้านมาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์และจะนำไปสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน อันจะเป็นประโยชน์ทั้งต่อนายสัตวแพทย์ นักวิชาการ นักวิจัย องค์กรที่เกี่ยวข้อง สังคม และประเทศชาติในที่สุด



(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเจตน์ จันทรังษ์)
อธิการบดีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

สารจากคณบดี



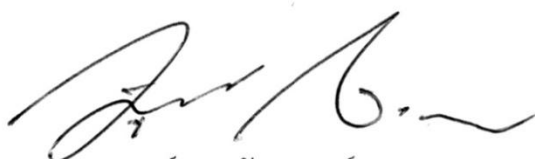
ปัจจุบันการบริการดูแลรักษาสุขภาพสัตว์โดยสัตวแพทย์ตามคลินิกและโรงพยาบาลสัตว์ได้มีการพัฒนามากขึ้น แต่เพื่อให้เกิดการบริการที่ดีและเป็นที่ยอมรับกันในระบบสากล โดยเน้นการดูแลกระบวนการเพื่อประโยชน์สูงสุดต่อสัตว์เลี้ยง พร้อมทั้งสร้างความเชื่อมั่นในคุณภาพการให้บริการของโรงพยาบาลสัตว์ในประเทศไทยให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร จึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการเตรียมความพร้อมของโรงพยาบาลสัตว์เพื่อตอบสนองต่อความต้องการทางด้านมาตรฐานที่เหมือนกัน ทางคณะฯ จึงได้จัดการประชุมวิชาการสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 9 ประจำปี 2559 ในวันที่ 11-12 พฤศจิกายน 2559 ในหัวข้อ “มาตรฐานบริการด้านสุขภาพสัตว์: เส้นทางสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน” เพื่อเป็นการเตรียมสถานประกอบการให้มีความพร้อมในการรักษาสัตว์ในอนาคต และเพื่อยกระดับมาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์พร้อมทั้งตอบสนองต่อความต้องการของสังคมไทยและสังคมอาเซียน

นอกจากนี้ ในการประชุมวิชาการครั้งนี้ ทางคณะฯ ยังได้มีการนำเสนอผลงานทางวิชาการและการเสวนาเรื่องที่เป็นประโยชน์ต่อสัตวแพทย์และผู้สนใจอีกด้วย โดยได้รับเกียรติจากผู้ทรงคุณวุฒิหลายภาคส่วนเข้าร่วมเสวนา บรรยายทางวิชาการ และนำเสนอผลงานวิจัย ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อวงการและวิชาชีพสัตวแพทย์ในประเทศไทยเป็นอย่างมาก

ทางคณะฯ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าทุกย่างก้าวแห่งการพัฒนาทางด้านสัตวแพทย์ซึ่งเกิดจากการประชุมวิชาการฯ จะสามารถตอบสนองต่อความต้องการของสังคมไทย ในการเป็นแนวทางให้สัตวแพทย์มีความรู้ในด้านมาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์ และสามารถยกระดับมาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์ให้เป็นสากลในที่สุด

สุดท้ายขอขอบคุณ ท่านอธิการบดี และท่านผู้บริหารมหาวิทยาลัยฯ ที่ให้เกียรติมาร่วมงาน ขอขอบคุณวิทยากร ผู้ทรงคุณวุฒิ บริษัทเอกชนต่างๆ ที่สนับสนุนการจัดงานครั้งนี้ และขอบคุณผู้เข้าร่วมสัมมนาทุกท่านมา ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง



(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.จตุพร กระจ่ายศรี)

คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

สารจากประธานคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการฯ



คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร มีพันธกิจมุ่งมั่นที่จะพัฒนาบุคลากรในวิชาชีพสัตวแพทย์ ให้มีคุณภาพและตอบสนองต่อสังคมยุคใหม่ อีกทั้งยังส่งเสริมการสร้างเครือข่ายความร่วมมือกับทั้งภาครัฐและเอกชน ชุมชน ภาคธุรกิจอุตสาหกรรม ทั้งในและต่างประเทศ ซึ่งหนึ่งในงานสำคัญที่เป็นกลไกในการพัฒนาองค์ความรู้ทางด้านวิชาชีพสัตวแพทย์นั้นก็คือการจัดประชุมวิชาการอย่างต่อเนื่อง และในปี พ.ศ. 2559 นี้ เป็นวาระที่การจัดงาน “การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 9 เรื่อง “มาตรฐานการบริการด้านสุขภาพสัตว์: เส้นทางสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน” ได้จัดให้มีขึ้น ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

การจัดงาน “การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 9” ได้นำรูปแบบการจัดงานที่มีความหลากหลาย ทั้งส่วนของการประชุม การนำเสนอผลงานทางวิชาการและการจัดแสดงนิทรรศการ ในภาคการประชุมนั้นได้เสนอขอบข่ายของการประชุมในหัวข้อที่เป็นที่สนใจอยู่ในปัจจุบัน ทั้งนี้ได้มุ่งเน้นไปในส่วนของสัตว์เลี้ยงขนาดเล็กและสัตว์ชนิดพิเศษ โดยในครั้งนี้ได้จัดให้มีการเสวนาในหัวข้อที่เกี่ยวข้องกับ “การประเมินมาตรฐานสถานพยาบาลสัตว์ในประเทศไทย โดย Thailand Animal Hospital Standards and Accreditation (TAHSA)” ซึ่งเป็นโครงการที่ริเริ่มโดยคณะทำงานของสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทยตั้งแต่ปี 2553 ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาคุณภาพของการให้บริการการตรวจรักษาสัตว์ให้เป็นมาตรฐานหนึ่งเดียวกัน นอกจากนี้ภายในงานยังได้คัดเลือกหัวข้อการประชุมอื่นๆ ให้ตรงตามความต้องการของผู้เข้าร่วมประชุมและการนำไปใช้ประโยชน์ให้มากขึ้น ในภาคการนำเสนอผลงานทางวิชาการได้รับการตอบรับจากนักวิชาการในการเข้าร่วมนำเสนอผลงานเป็นอย่างดี จากทั้งผู้ประกอบการวิชาชีพสัตวแพทย์และนักวิชาการอื่นๆ ในสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพอีกด้วย

ในนามของคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการฯ ขอขอบคุณผู้ที่ให้การสนับสนุน ให้การจัดงาน “การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 9” ประสบความสำเร็จ อันเป็นอีกผลงานหนึ่งของความภาคภูมิใจของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ในการผลักดันให้เกิดการสร้างสังคมแห่งการเรียนรู้ให้เกิดขึ้นอย่างเต็มภาคภูมิ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจากการประชุมฯ ในครั้งนี้จะเป็นการต่อยอดองค์ความรู้และเพิ่มศักยภาพของสัตวแพทย์ไทยให้เป็นที่ประจักษ์ต่อไป

(อ.สพ.ญ.ดร.อภรตี อินทรพัถร์)

ประธานคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 9 ประจำปี 2559

คำนำ

รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ เรื่อง การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙ ฉบับนี้ จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวมข้อมูลทางวิชาการที่น่าสนใจ ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ในวันที่ ๑๑ - ๑๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๙ ในหัวข้อ “มาตรฐานบริการด้านสุขภาพสัตว์: เส้นทางสู่การพัฒนาวิชาชีพอย่างยั่งยืน” ทางคณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานสืบเนื่องฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจที่ติดตามข้อมูลทางวิชาการด้านสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ รายงานสืบเนื่องฯ ฉบับนี้ อาจมีข้อบกพร่องซึ่งตรวจพบในภายหลัง ทางฝ่ายทะเบียนรายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ ขออภัยในข้อบกพร่องและขออภัยมา ณ ที่นี้

คณะผู้จัดทำ

ฝ่ายทะเบียนรายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ

๒๕๕๙



การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

Scientific program: วันที่ ๑๑ พฤศจิกายน ๒๕๕๙

เวลา	ห้องบรรยาย A (R306) หัวข้อบรรยาย: สัตว์เลี้ยงขนาดเล็ก	ห้องบรรยาย B (R305) หัวข้อบรรยาย: สัตว์เลี้ยงชนิดพิเศษและสัตว์ใหญ่	ห้องบรรยาย C (R301)
08.15 – 09.00 น.	ลงทะเบียน บริเวณห้องโถงอาคาร R ชั้น 1		
09.00 – 09.30 น.	พิธีเปิดการประชุม ณ อาคาร R ห้อง R306		
09.30 – 10.30 น.	เสวนาเรื่อง “มาตรฐานโรงพยาบาลสัตว์ (TAHSA)” วิทยากร: 1. อ.น.สพ.ชัยยศ ชารัตนะ 2. สพ.ญ.วรางคณา พันธุ์วานิช 3. น.สพ.วรสิทธิ์ อ่าวอุดมวณิช (ห้อง R306)		
10.30 – 11.00 น.	พักรับประทานอาหารว่าง (10.30 – 11.00 น.) และการนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ (10.30 – 11.30 น.)		
11.00 – 12.00 น.	Interpretation of Thoracic Radiography in Small Animals: Step by Step วิทยากร: อ.น.สพ.สมจินต์ สุทธิกาญจน์	การตรวจและเทคนิคการรักษา “ตา” กระต่าย วิทยากร: อ.น.สพ.ชานศ อนุศักดิ์เสถียร	Oral presentation I
12.00 – 13.00 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน		
13.00 – 14.00 น.	Therapeutic Concept in Heart Diseases วิทยากร: อ.สพ.ญ.ชนวัน มังคละพฤษ	การรักษาและการจัดการนกชนิดต่างๆ ที่พบได้ในคลินิก วิทยากร: น.สพ.เบญจพล หล่อสัญญาลักษณ์	Oral presentation II
14.00 – 14.30 น.	พักรับประทานอาหารว่าง		
14.30 – 15.30 น.	Localized Spinal Disorders: Make It Easy วิทยากร: 1. อ.น.สพ.ดร.เจษฎา รุ่งภูประดิษฐ์ 2. อ.น.สพ.นัฐชัย สุรจักษ์	สัตวแพทย์สัตว์ใหญ่ในยุคเปลี่ยนผ่านจากอดีตสู่อนาคต วิทยากร: 1. ดร.สรพรเพชญ์ โสภณ 2. น.สพ.ชัยวัฒน์ ชุ่มช่วง 3. น.สพ.ณัฐกิตติ์ โรจนวิสิษฐ์	-
15.30 – 16.00 น.	พิธีมอบรางวัลโปสเตอร์ดีเด่นและการนำเสนอผลงานด้วยวาจาดีเด่น (ห้อง R306)		
16.00 – 17.00 น.	การบรรยายพิเศษ เรื่อง “การใช้ social network กับการพัฒนารัฐกิจโรงพยาบาลสัตว์” วิทยากร: น.สพ.ชัยวัฒน์ ติพนาค (ห้อง R306)		

ลำดับการนำเสนอด้วยวาจา วันที่ ๑๑ พฤศจิกายน ๒๕๕๙

เวลา	รหัสการนำเสนอ	ชื่อผลงาน
Oral Presentation I		
11.00 – 11.15 น.	OR-01	การศึกษาวิธีประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกพิราบจากฟิล์มเลือดบาง
11.15 – 11.30 น.	OR-02	Studies on fresh charcoal ash to inactivate avian influenza virus, <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella Infantis</i> for biosecurity enhancement on chicken farms
11.30 – 11.45 น.	OR-03	Comparison of virucidal effects for the Newcastle disease virus between slaked lime and the food additive calcium hydroxide
Oral Presentation II		
13.00 – 13.15 น.	OR-04	Evaluation of two imaging techniques, X-ray and ultrasound, for diagnosis of pregnancy in river stingray (<i>Potamotrygon</i> sp.): A case report
13.15 – 13.30 น.	OR-05	Prevalence and risk factors of gastrointestinal helminth in extensive swine husbandry
13.30 – 13.45 น.	OR-06	Dengue vector abundance and the impacts of Household-Level Practices in environmental cleaning in Narathiwat, South Thailand
13.45 – 14.00 น.	OR-07	Susceptibility test of <i>Mansonia uniformis</i> in Borai District, Trat Province, Thailand

การนำเสนอด้วยโปสเตอร์ วันที่ ๑๑ พฤศจิกายน ๒๕๕๙ เวลา ๑๐.๓๐-๑๑.๓๐ น.

รหัส	ชื่อเรื่อง และ ชื่อผู้แต่ง
P-01	โรคโคลิแกรนูโลมา ในนกขุนทอง: รายงานสัตว์ป่วย ณัฐ ภัยสอน
P-02	A case report of canine systemic atherosclerosis Suvarin Pavasutthipaisit, Hassadin Boonsriroj and Kolif Malaya
P-03	Renal dysplasia as a predisposing cause of osteorenal syndrome in an African white lion (<i>Panthera leo krugeri</i>): A Case Report Thanongsak Mamom and Rattanan Phatcharakullawrawat
P-04	Pathological alterations of livers and kidneys after application of clove oil as anesthetic agent in Siamese fighting fish <i>Betta splendens</i> Waristha Angsirijinda and Kingkaew Wattanasimkit
P-05	Case report: peritoneopericardial diaphragmatic hernia in Persian cat Sireeporn Tonthong and Tanawan Mangklabruks
P-06	Canine insulinoma: a case report Somchin Sutthigran and Siriwirojn Chalee
P-07	การเปรียบเทียบการประเมินชนิดเม็ดเลือดขาวระหว่างการนับด้วยมือกับเครื่องนับอัตโนมัติ กฤษฎา ขำพูล และ สามารถ สุวรรณเคน
P-08	การตรวจระดับธาตุเหล็กและธาตุทองแดงในซีรัมแพะที่มีภาวะโลหิตจาง แบบ microcytic hypochromic anemia และ normocytic hypochromic anemia สุทธิชัย บุญให้ มงคล ขวณิช อนุสรณ์ จำแสนชื่น ธนสิทธิ์ สอนภู สมยศ อิ่มอารมณ
P-09	Effect of hyperproteinemia on exercise intolerance in fighting bulls นิติพล ศรีอ่อนรอด และ ฟาราฏอล เหมนะ
P-10	Color dilution alopecia in Lilac Chihuahua: a case report Tanawan Mangklabruks and Peeratas Chitvivatn
P-11	การสำรวจความชุกทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดสิสด้วยวิธี indirect hemagglutination test ในแพะนมที่เลี้ยงในเขตพื้นที่ หนองจอก กรุงเทพมหานคร อนุสรณ์ จำแสนชื่น มงคล ขวณิช ธนสิทธิ์ สอนภู สมยศ อิ่มอารมณ สุทธิชัย บุญให้
P-12	การสำรวจหาปรสิตในทางเดินอาหารของอัลปาก้าจากฟาร์มเอกชน ในประเทศไทย มงคล ขวณิช สุทธิชัย บุญให้ อนุสรณ์ จำแสนชื่น สมยศ อิ่มอารมณ ธนสิทธิ์ สอนภู
P-13	การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ <i>Toxoplasma gondii</i> ในโคด้วยวิธี indirect immunofluorescent antibody test และ Sabin Feldman dye test จิตรบรรจง ทุมพงษ์
P-14	โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลาตะกรับ (<i>Scatophagus argus</i>) ในอำเภอไทยตอนบน บัญชา สัมฤทธิ์ ปิยธิดา เชี่ยวสงคราม สุภาวดี มณีฉาย วีระเกียรติ ทรัพย์มี จุฬามาต ศุภพันธ์
P-15	Phylogeny of Thai native cattle based on DBY-ZFY Y-Chromosomal genes Songmeung Suwannarat, Danai Sangthong, Anusorn Jsaenchuen, Weerapun Nokkaew and Pradit Sangthong

Scientific program: วันที่ ๑๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๙

เวลา	ห้องบรรยาย R305	สถานที่ฝึกปฏิบัติการ โรงพยาบาลเพื่อการสอนด้านสัตวใหญ่ และลานสาธิต อาคาร 1			
08.30 – 09.00 น.	ลงทะเบียน				
09.00 – 10.15 น.	เรื่อง “หลักการและพื้นฐานของการฝังเข็ม” วิทยากร: น.สพ.ดร.วีระพงศ์ ตั้งจิตเจริญ และคณะ	-			
10.15 – 10.30 น.	พักรับประทานอาหารว่าง				
10.30 – 12.00 น.	เรื่อง “ศาสตร์การฝังเข็มกับการรักษาสัตว์เลี้ยง” วิทยากร: น.สพ.ดร.วีระพงศ์ ตั้งจิตเจริญ และคณะ	-			
12.00 – 13.00 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน				
		อบรมเชิงปฏิบัติการ “การฝังเข็มเพื่อการรักษาโรคในม้าและสุนัข” วิทยากร: น.สพ.ดร.วีระพงศ์ ตั้งจิตเจริญ อ.น.สพ.ธนากร พจน์ประสาธ และคณะ			
		Station 1	Station 2	Station 3	Station 4
13.00 – 13.30 น.	-	A1	A2	B1	B2
13.30 – 14.00 น.	-	A2	B1	B2	A1
14.00 – 14.30 น.	-	B1	B2	A1	A2
14.30 – 15.00 น.	-	B2	A1	A2	B1
15.00 – 15.30 น.	พักรับประทานอาหารว่าง				
15.30 – 16.00 น.	-	Final wrap up (เลือกเข้าฟังบรรยายตามความสนใจ) 1. การฝังเข็มเพื่อการรักษาโรคในม้า 2. การฝังเข็มเพื่อการรักษาโรคในสุนัข วิทยากร: น.สพ.ดร.วีระพงศ์ ตั้งจิตเจริญ และ อ.น.สพ.ธนากร พจน์ประสาธ			
16.00 – 16.15 น.	พิธีปิดการประชุม				



รายนามคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

ที่ปรึกษา

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

ประธานจัดงานประชุมวิชาการ

- อ.สพ.ญ.ดร.อภิรัตน์ อินทรพัถร์

ประธานกรรมการฝ่ายวิชาการ

- อ.สพ.ญ.ดร.ดำนัย แสงทอง

กรรมการฝ่ายวิชาการ

๑. ผศ.สพ.ญ.ดร.อารยา สืบข้าเพชร
๒. ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย
๓. ผศ.สพ.ญ.ดร.วลัยพร ดนพิทักษ์
๔. ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ บรรณจิรกุล
๕. อ.สพ.ญ.ดร.ธัญญาพร ไชยคุณ-มาร์คว
๖. อ.สพ.ญ.ดร.พรรณนิการ ชัยชนะศักดิ์
๗. อ.น.สพ.ดร.สมยศ อิมอรณณ์
๘. อ.น.สพ.ดร.มงคล ขวณิช
๙. อ.สพ.ญ.ดร.พงษ์ศิวะ โสถถิพันธุ์
๑๐. อ.น.สพ.ดร.วิชญ วรรณแสง
๑๑. อ.น.สพ.ดร.เจษฎา รุ่งภูประดิษฐ์
๑๒. อ.สพ.ญ.ดร.ฐิตารีย์ เลหาหิธตานินทร์
๑๓. อ.น.สพ.ญ.ดร.ฐิติ คณาดิยานนท์
๑๔. อ.ดร.วิรัชฐา อังศิริจินดา
๑๕. สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
๑๖. อ.น.สพ.อนุสรณ์ จำแสนชื่น
๑๗. อ.น.สพ.เกียรติชัย โรจนมงคล
๑๘. อ.สพ.ญ.ธวัน มังคละพฤกษ์
๑๙. อ.สพ.ญ.กรกมล ปดิฐพร
๒๐. อ.น.สพ.ปฎิภาณ ใจเป้ง
๒๑. อ.น.สพ.ธนาศ อนุศักดิ์เสถียร

ประธานกรรมการฝ่ายดำเนินการประชุมและปฏิคม

- อ.สพ.ญ.ดร.อุมาพร รุ่งฤกษ์ฤทธิ์

กรรมการฝ่ายดำเนินการประชุมและปฏิคม

๑. อ.น.สพ.ดร.พรชัย ครองสวัสดิ์กุล
๒. อ.น.สพ.ดร.สิทธิชน รัตนจันทร์
๓. อ.น.สพ.ดร.ธีรพล ชินกัสดาร
๔. อ.ดร.สุนิษา ศิริมงคลวรกุล
๕. อ.น.สพ.ชนัด ญาณประภาศิริ
๖. อ.ดร.ทิพวัลย์ จันทะพอง
๗. อ.สพ.ญ.พรรณธิภา บริรักษ์กุล
๘. อ.เอกธิดา ทองด้ง
๙. อ.สพ.ญ.ดร.ทรรศนีย์ บุญยทรรศนีย์
๑๐. อ.สพ.ญ.ดร.สุกัญญา ผลิตกุล
๑๑. อ.สพ.ญ.โชติกา ทิวาลัย

ประธานกรรมการฝ่ายลงทะเบียนและการเงิน

- ผศ.สพ.ญ.ดร.จิตรบรรจง ทุมพงษ์

กรรมการฝ่ายลงทะเบียนและการเงิน

๑. อ.สพ.ญ.พรรณธิภา บริรักษ์กุล
๒. อ.สพ.ญ.พิมพ์สุดา บารมีชัยธนันต์
๓. อ.สพ.ญ.สุวริน ภาวสุทธิไพศิฐ
๔. อ.ทักษิณีย์ ตรัยรัตน์อภิวิน
๕. จำเนียร ประสาทนาค
๖. พัชรีย์ กองเป้ง
๗. กาญจน์ศิริ พิมพ์วาปี
๘. ศิริจันทร์ ช่วงจัน
๙. ญัฐวดี ชัยชนะ
๑๐. สุวรรณวิไล สะนิละ

ประธานกรรมการฝ่ายรายได้

อ.น.สพ.ดร.เจษฎา รุ่งภูประดิษฐ์

กรรมการฝ่ายรายได้

๑. อ.น.สพ.สมจินต์ สุทธิกาญจน์
๒. อ.น.สพ.พีรทัศน์ จิตต์วิวัฒน์
๓. อ.น.สพ.นัฐชัย สุรรุจิ
๔. อ.น.สพ.คณิศร มาลาญา
๕. สพ.ญ.ศิริภรณ์ ต้นทอง
๖. เนาวรัตน์ งามเมือง
๗. กนกกานต์ แก้วทะเล
๘. สุริยา สายบุตร
๙. วียะลักษณ์ มั่นคง
๑๐. จตุพร ปราบราบ
๑๑. พรพรรณ นิมสมบัติ
๑๒. น.สพ.อรรถกร อัครวรินทร์
๑๓. สพ.ญ.สุวิชา จงประเสริฐ

ประธานกรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

อ.น.สพ.วีระพันธ์ นกแก้ว

กรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

๑. อ.น.สพ.ดร.ธนสิทธิ์ สอนภู
๒. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงจิต คณิงเพียร
๓. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงใจ เจริญราษฎร์วงศ์
๔. อ.สพ.ญ.สุทธินัย บุญให้
๕. อ.น.สพ.ธีรวิทย์ บัวมา
๖. อ.สพ.ญ.ปณิดา ล้อมวงษ์
๗. สุวรรณวิไล สะนิละ
๘. ณิชฌริยา คณะสา
๙. นัยนา คณะ

ประธานกรรมการฝ่ายสถานที่และระบบ

อ.น.สพ.ศุภชัย วุฒิวิทย์พงศ์

กรรมการฝ่ายสถานที่และระบบ

๑. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงจิต คณิงเพียร
๒. อ.น.สพ.ดร.ศักดิ์ชัย เรือนเพชร
๓. ฟาริส ชื่นภักดี
๔. จำเนียร ประสาทนา
๕. ศิริจันทร์ ช่วงจัน
๖. นิตศักดิ์ เวชสาร
๗. นาดยา ดีเสมอ
๘. วราภรณ์ พลเยี่ยม
๙. ณรงค์ชัย สังประพน
๑๐. ณัฏฐริยา คณะสา
๑๑. น.สพ.จักรพงศ์ วิริยะพงศ์
๑๒. กิตติพงษ์ จงบริบูรณ์
๑๓. ขวาลิต พ่วงรอด

ประธานกรรมการฝ่ายบริการอาหารและสวัสดิการ

อ.น.สพ.ธนากร พจน์ประสาท

กรรมการฝ่ายบริการอาหารและสวัสดิการ

๑. อ.น.สพ.กฤษฎา ขำพูล
๒. อ.มนตรี แสงลามเจริญ
๓. อ.สพ.ญ.ชรินทร์ จันทรสวัสดิ์
๔. อ.น.สพ.พัฒนพร ถาวรพัฒน์พงศ์
๕. น.สพ.ดิศรณ์ เสนาะสำเนียง
๖. สพ.ญ.ณัฐนรี คุณานุสนธิ์
๗. สามารถ สุวรรณเคน
๘. ภัศราพรรณ ยวนใจ
๙. กัญชลิภา แก้วสระแสน
๑๐. กิ่งกาญจน์ วงศ์ทอง

ประธานกรรมการฝ่ายเลขานุการและประสานงาน

อ.น.สพ.ดร.หัตถินทร์ บุญศรีโรจน์

กรรมการฝ่ายเลขานุการและประสานงาน

อ.จุฬารัตน์ สอนกลีน



รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

- | | |
|---------------------|-----------------|
| ๑. อ.น.สพ.ชัยยศ | ธารรัตน์นะ |
| ๒. สพ.ญ.วรางคณา | พันธุ์วานิช |
| ๓. น.สพ.วรสิทธิ์ | อ่าวอุดมวณิช |
| ๔. อ.น.สพ.สมจินต์ | สุทธิกาญจน์ |
| ๕. อ.น.สพ.ธนาศ | อนุศักดิ์เสถียร |
| ๖. อ.สพ.ญ.ธนวัน | มังคละพฤกษ์ |
| ๗. น.สพ.เบญจพล | หล่อสัญญาลักษณ์ |
| ๘. อ.น.สพ.ดร.เจษฎา | รุ่งภูประดิษฐ์ |
| ๙. อ.น.สพ.นัฐชัย | สุรรุจิ |
| ๑๐.ดร.สรรเพชญ | โสภณ |
| ๑๑.น.สพ.ชัยวัฒน์ | ชุ่มช่วง |
| ๑๒.น.สพ.ณัฐกิตติ์ | โรจนวิศิษฐ์ |
| ๑๓.น.สพ.ชัยวลัญช์ | ตุนาค |
| ๑๔.น.สพ.ดร.วีระพงศ์ | ตั้งจิตเจริญ |
| ๑๕.อ.น.สพ.ธนากร | พจน์ประสาท |



รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ

พิจารณาผลงานวิจัย บทความทางวิชาการ และโปสเตอร์

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

๑. ผศ.น.สพ.ดร.เจษฎา	จิวกานนท์
๒. ผศ.น.สพ.ดร.สาธิต	พรตระกูลพัฒน์
๓. ผศ.น.สพ.ดร.ไชยพัทธ์	ธำรงยศวิทยากุล
๔. รศ.น.สพ.ดร.วิจิตร	บรรณนารา
๕. รศ.สพ.ญ.ดร.นันทริกา	ชั้นเชื้อ
๖. ผศ.ดร.ประดิษฐ์	แสงทอง
๗. รศ.สพ.ญ.ดร.ฟ้านาน	สุขสวัสดิ์
๘. รศ.ดร.เลิศลักษณ์	เงินศิริ
๙. ผศ.ดร.สมพิศ	สามีกักดี
๑๐. ผศ.น.สพ.ดร.ศิริวัฒน์	ทรวดทรง
๑๑. อ. ส.พญ. ชันยกร	ชลาลัย
๑๒. อ.น.สพ. ชยานนท์	ชมภูแสน

ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

๑. อ.น.สพ.ดร.มงคล	ชวนิช
๒. อ.สพ.ญ.สุกัญญา	ผลิตกุล
๓. น.สพ.ดร.วิชญ์	วรรณแสง
๔. น.สพ.ดร.พรชัย	ครองสวัสดิ์กุล
๕. น.สพ.ดร.สิทธิชน	รัตนจันทร์
๖. ผศ.สพ.ญ.ดร.วลัยพร	ตนพิทักษ์
๗. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงใจ	เหรียญรักวงศ์
๘. อ.สพ.ญ.ดร.ดำนัย	แสงทอง
๙. น.สพ.ดร.ธนสิทธิ์	สอนภู
๑๐. น.สพ.ดร.ทงศักดิ์	มะมม
๑๑. อ.น.สพ.ดร.กฤษฎา	ข้าพุล
๑๒. ผศ.สพ.ญ.ดร.จิตรบรรจง	ทุมพงษ์
๑๓. อ.สพ.ญ.ทรรศนีย์	บุญยทรรศนีย์
๑๔. อ.สพ.ญ.ดร.อภิรดี	อินทรพัคตร์
๑๕. อ.สพ.ญ.ดร.ดวงจิต	คณิงเพียร
๑๖. ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง	มิตรชาวไทย
๑๗. อ.น.สพ.ดร.สมยศ	อิมอาร์มณ
๑๘. ผศ.น.สพ.ดร.สำราญ	บรรณจิรกุล
๑๙. อ.น.สพ.ดร.หัสตินทร์	บุญศรีโรจน์
๒๐. ผศ.สพ.ญ.ดร.อารยา	สืบข้าเพชร
๒๑. อ.สพ.ญ.ดร.ธัญญาพร	ไชยคุณ-มาร์คว
๒๒. อ. ส.พญ.ธนวัน	มงคละพฤษ
๒๓. อ.น.สพ.สมจินต์	สุทธิกาญจน์



กองบรรณาธิการ

การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙
คณะที่ปรึกษา

๑. รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.จตุพร กระจายศรี
๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.ทงศักดิ์ มะมม
๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย
๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.อารยา สืบข้าเพชร

หัวหน้ากองบรรณาธิการ

อาจารย์ สพ.ญ.ดร.ดำนัย แสงทอง

กองบรรณาธิการ

๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.วัลย์พร ตนพิทักษ์
(อาจารย์ประจำคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร)
๒. อาจารย์ น.สพ.ดร.สมยศ อิมอาร์มณ
(อาจารย์ประจำคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร)
๓. อาจารย์ น.สพ.ดร.มงคล ชวนิช
(อาจารย์ประจำคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร)
๔. รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.ฟ้านาน สุขสวัสดิ์
(ผู้ทรงคุณวุฒิจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น)
๕. รองศาสตราจารย์ ดร.เลิศลักษณ์ เงินศิริ
(ผู้ทรงคุณวุฒิจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
๖. รองศาสตราจารย์ ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์
(ผู้ทรงคุณวุฒิจากคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)
๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพิศ สามิภักดิ์
(ผู้ทรงคุณวุฒิจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
๘. อาจารย์ ดร.วีระเกียรติ ทรัพย์มี
(ผู้ทรงคุณวุฒิจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย)

ฝ่ายทะเบียนรายงานสืบเนื่องจากการประชุม

๑. อาจารย์ สพ.ญ.ดร.พงษ์ศิริเว โสติพันธ์
๒. อาจารย์ น.สพ.อนุสรณ์ จำแสนชื่น
๓. อาจารย์ สพ.ญ.สุวรริน ภาวสุทธิไพศิฐ

สารบัญ

สารจากอธิการบดี.....	I
สารจากคณบดี.....	II
สารจากประธานกรรมการจัดการประชุมวิชาการ.....	III
คำนำ.....	IV
กำหนดการประชุมวิชาการ.....	V
รายนามคณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการ.....	VIII
รายนามวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ.....	X
รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ พิจารณาผลงานวิจัย บทความทางวิชาการ และโปสเตอร์.....	XI
กองบรรณาธิการ.....	XII

INVITED SPEAKER

การรักษาและการจัดการนกชนิดต่างๆที่พบได้ในคลินิก (First aid in injured wild birds).....	1
Benchapol Lorsunyaluck	

ORAL PRESENTATION

OR-01 The study of total white blood cell count estimation in pigeons by using thin blood smear.....	3
กมลวัฒน์ สาแดง เกริกไกร รัตนพิบูลย์เดช ธรรมบุญ ชิตกุล กษพร กมลชัย ชัยวัฒน์ สอนกิจม้น อภิรติ อินทรพัทตร์ วีระพันธ์ นกแก้ว เกียรติชัย โรจนมงคล	
OR-02 Studies on fresh charcoal ash to inactivate avian influenza virus, <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella</i> <i>Infantis</i> for biosecurity enhancement on chicken farms	5
Kittima Lorcharoenrunroj, Kazuaki Takehara, Sakchai Ruenphet	
OR-03 Comparison of virucidal effects for the Newcastle disease virus between slaked lime and the food additive calcium hydroxide.....	13
Kornkamon Paditporn, Sakchai Ruenphet, Kazuaki Takehara	
OR-04 Comparison of two imaging techniques, X-ray and ultrasound, for diagnosis of pregnancy in river stingray (<i>Potamotrygon</i> sp.): A case report.....	19
Sumram Bunnajirakul, Sitthichin Rattanachan, Ekthida Thongdet	
OR-05 Prevalence and risk factors of gastrointestinal helminth in extensive swine husbandry.....	25
Apiradee Intarapuk, Pornthip Chompook, Orasa Suthienkul	
OR-06 Dengue vector abundance and the impacts of Household-Level Practices in environmental cleaning in Narathiwat, South Thailand.....	27
Ornanong Boonklong, Adisak Bhumiratana	
OR-07 Susceptibility test of <i>Mansonia uniformis</i> in Borai District, Trat Province, Thailand.....	29
Suntorn Pimnon, Yupin Worachat, Wanapa Ritthison and Adisak Bhumiratana	

POSTER PRESENTATION

P-01 โรคโคลิแกรนูลโลมา ในนกขุนทอง: รายงานสัตว์ป่วย.....	31
ณัฐ กายสอน	
P-02 A case report of canine systemic atherosclerosis.....	33
Suvarin Pavasutthipaisit, Hassadin Boonsriroj and Kolif Malaya	
P-03 Renal dysplasia as a predisposing cause of osteorenal syndrome in an African white Lion (<i>Panthera leo krugeri</i>): a case report.....	35
Thanongsak Mamom and Rattarin Phatcharakullawrawat	
P-04 Pathological alterations of livers and kidneys after application of clove oil as anesthetic agent in Siamese fighting fish <i>Betta splendens</i>	39
Waristha Angsirijinda and Kingkaew Wattanasirmit	
P-05 Case report: peritoneopericardial diaphragmatic hernia in Persian cat.....	49
Sireeporn Tonthong and Tanawan Mangklabruks	
P-06 Canine insulinoma: a case report.....	51
Somchin Sutthigran and Siriwirot Chalee	
P-07 การเปรียบเทียบการประเมินชนิดเม็ดเลือดขาวระหว่างการนับด้วยมือกับเครื่องนับอัตโนมัติ.....	53
กฤษฎา ขำพูล สามารถ สุวรรณเคน	
P-08 การตรวจระดับธาตุเหล็กและธาตุทองแดงในซีรัมแพะที่มีภาวะโลหิตจางแบบ microcytic hypochromic anemia และ normocytic hypochromic anemia.....	55
สุทธินัย บุญให้มงคล ขวณิช อนุสรณ์ จำแสนชื่น ธนสิทธิ์ สอนภู สมยศ อิมอารมณ	
P-09 Effect of hyperproteinemia on exercise intolerance in fighting bulls.....	57
นิติพล ศรีอ่อนรอด ฟารากูอล เหมนะ	
P-10 Color dilution alopecia in Lilac Chihuahua: a case report.....	61
Tanawan Mangklabruks and Peeratas Chitvivatn	
P-11 การสำรวจความชุกทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดสิสด้วยวิธี indirect hemagglutination test ในแพะนมที่เลี้ยงในเขตพื้นที่หนองจอก กรุงเทพมหานคร.....	63
อนุสรณ์ จำแสนชื่น มงคล ขวณิช ธนสิทธิ์ สอนภู สมยศ อิมอารมณ สุทธินัย บุญให้	

P-12 การสำรวจหาปรสิตในทางเดินอาหารของอัลปาก้าจากฟาร์มเอกชน ในประเทศไทย.....	65
มงคล ขวณิช สุทธิณีย์ บุญให้ อนุสรณ์ จำเอนชื่น สมยศ อิมอาร์มณฺ์ ธนสิทธิ์ สอนนุ่	
P-13 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ <i>Toxoplasma gondii</i> ในโคด้วยวิธี indirect immunofluorescent antibody test และ Sabin Feldman dye test.....	67
จิตรบรรจง ทุมพงษ์	
P-14 โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลาตะกรับ (<i>Scatophagus argus</i>) ในอ่าวไทยตอนบน.....	69
บัญชา สัมฤทธิ์ ปิยธิดา เชี่ยวสงคราม สุภาวดี มณีฉาย วีระเกียรติ ทรัพย์มี จุฑามาศ ศุภพันธ์	
P-15 Phylogeny of Thai native cattle based on DBY-ZFY Y-Chromosomal genes.....	77
Songmeung Suwannarat, Danai Sangthong, Anusorn Jsaenchuen, Weerapun Nokkaew and Pradit Sangthong	
ดัชนีผู้นำเสนอผลงาน.....	XIII
รายนามผู้สนับสนุนการจัดการประชุมวิชาการ.....	XIV

First Aid in Injured Wild Birds

Benchapol Lorsunyaluck

Wildbird Care, Wildlife Unit and Exotic Pet Clinic
Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital Kampaengsaen
Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

Wild birds that are brought into care have in some way failed the test of fitness in the wild. They may have suffered an injury, become ill, be exhausted or be orphaned. Trauma is probably the most common reason why birds need to be taken into care or need veterinary attention. These cases usually require veterinary assessment to see whether treatment is feasible and for this treatment to be instituted. The aim must always be to return these birds to the wild as quickly as possible.

Capturing an Injured Bird

When you have decided to help a bird you should act quickly, even injured animals can move very fast and keep out of your reach. If the bird is small or very young catch it in one hand holding it firmly but gently, letting its head poke out from between your first two fingers. For larger birds such as crows or coucals grasp them in two hands around the wings and hold the bird out in front of you. The best tactic is to throw a towel over the bird that will prevent it flapping, plus the darkness will calm it down. Transfer the bird to a suitably sized box where it can be fed and cared for properly. Gloves should definitely be worn when handling any bird of prey as the talons and beaks of these birds are very sharp.

First Aid

A rescued bird needs to be kept quiet and warm and place injured bird in a well-ventilated box. Lay absorbent kitchen paper in the box to begin with, later if the patient survives you can move it to a larger home. The most common injuries to birds are bone fractures in the wings and legs, muscle wounds and shock caused by an accident. Some superficial injuries can be cleaned with mild antiseptic.

Feeding Your Patient

Feeding orphaned and wounded birds is a messy, time-consuming but ultimately rewarding business. A lot of patience is required as small birds need to be fed, from every 15 min to every 2 hours which depends on the age, or so from dawn to dusk and no fewer than 4 times per day. If the bird is very young it will not be able to feed itself and you will have to play the role of parent and push the food into the open mouth. Most healthy young birds will instinctively gape at the sight of food and you will just need to push the food down the throat (if just dropped into the mouth the bird may have trouble swallowing). If the bird is not gaping or if you are feeding an older bird that is not taking kindly to its new foster parent then you will need to prise the beak apart gently and feed it this way, it should then begin to accept you as its new feeder. The best thing to feed a bird

with is a clean pair of blunt forceps. When the bird is full it will stop gaping. Young birds after they are fed will produce a faecal sac that should be removed. Small birds can be classified into 2 basic groups - seed eaters, and insect eaters. Weavers, munias and sparrows are mainly seed eaters and can be fed a mixture of parrot rearing food. Robins, mynahs and small owls are mostly insect eaters and a substitute food must be found. Puppy food, mynah food or mealworms can also be used. In all cases where hand-feeding food should be offered moistened and no additional water offered, as it is too easy to drown the bird.

Orphaned Birds

Many birds are thought to have been orphaned when they are spotted hopping across a lawn or sitting quietly under a bush. Most of these birds are in fact quite safe and well and in the majority of cases the parents will be nearby busily searching for food or sitting in a close tree waiting for you to go away. It is common for many birds such as sunbirds, ioras and starlings to leave the nest before they can fly. If you do spy a young bird on lawn keep an eye on it to see if the parents are nearby, if they are leave the bird alone as it is in the most capable hands with the adult birds. Only if you feel that the bird is in real danger near to main roads or any unsafe area, situation, or genuinely has lost its parents should you attempt to pick it up and lay on branch or suitable place.

Release

The primary aim is to rehabilitate and release wild birds when they are fit and able to return to the wild. This should also be the aim of anyone caring for sick and injured birds. Ideally the individual should be returned to the suitable habitat. Take your box or cage to the release point and leave it there for an hour or so before you attempt a release. Preferably release birds into an area where you can keep a discreet eye on them to check on progress once they are released. Many smaller birds will not fly too far at first and will return to where they were set free if a regular supply of food is available for them.

การศึกษาวิธีประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกพิราบจากฟิล์มเลือดบาง The Study of Total White Blood Cell Count Estimation in Pigeons by Using Thin Blood Smear

กมลวัฒน์ สาแดง¹ เกริกไกร รัตนพิบูลย์เดช¹ ธรรมบุญ ชิตกุล¹ กชพร กมลชัย¹ ชัยวัฒน์ สอนกิจมัน¹
อภิรดี อินทรพัศตร์² วีระพันธ์ นกแก้ว² เกียรติชัย โรจนมงคล^{2*}

¹นักศึกษาชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

²สาขาวิชาคลินิก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

140 ถนนเชื่อมสัมพันธ์ แขวงกระทุ่มราย เขตหนองจอก กรุงเทพฯ 10530

*ผู้รับผิดชอบบทความ: kiatchai@mut.ac.th

บทคัดย่อ

ค่าเม็ดเลือดขาวรวมในสัตว์ปีกไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม วิธีการหาค่าเม็ดเลือดขาวรวมโดยใช้ hemocytometer แม้จะเป็นวิธีพื้นฐานที่ยอมรับได้ในการตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดขาวในสัตว์ปีก แต่มีขั้นตอนยุ่งยากและใช้เวลานาน ในทางคลินิกจึงนำวิธีการประเมินหาค่าเม็ดเลือดขาวรวมจากฟิล์มเลือดบาง (thin blood smear) มาใช้ อย่างไรก็ตาม ค่าที่ได้ยังมีความแม่นยำไม่เพียงพอ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาหาโมเดลสำหรับประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกพิราบจากฟิล์มเลือดบาง โดยการเจาะเลือดจากนกพิราบ (*Columba livia*) จำนวน 50 ตัว แล้วนำไปหาค่าเม็ดเลือดขาวรวมโดยใช้ hemocytometer และทำฟิล์มเลือดบาง ตัวอย่างละ 20 แผ่น โดยแต่ละแผ่นจะนับจำนวนเม็ดเลือดขาวที่พบใน 10 fields ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40x ผลการศึกษาพบว่าค่าเม็ดเลือดขาวรวมที่ได้จาก hemocytometer และเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยที่นับได้จากฟิล์มเลือดบาง มีความสัมพันธ์ทางบวกตามสถิติในรูปของสมการเชิงเส้นตรง และโมเดลสำหรับการประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมจากฟิล์มเลือดบางที่ได้คือ $Y = 2,196.120X + 2,124.455$ ($R^2 = 0.358$, ANOVA = 555.722 และ $P < 0.0001$) โดยที่ Y คือค่าเม็ดเลือดขาวรวม และ X คือค่าเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยที่นับได้จากฟิล์มเลือดบางจำนวน 10 field ที่กำลังขยาย 40x โมเดลที่ได้นี้สามารถนำไปใช้ประเมินหาค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกพิราบได้ และสามารถนำไปพัฒนาเพื่อประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมจากฟิล์มเลือดบางในนกชนิดอื่นๆ ต่อไป

[บทนำ] การประเมินค่าโลหิตวิทยาในนกนั้นมีการบวนการเช่นเดียวกับที่ใช้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยมีการปรับปรุงขั้นตอนบางอย่างในการตรวจ [1] แต่เนื่องจากเม็ดเลือดแดงของนกมีนิวเคลียส ซึ่งเมื่อนำเลือดไปตรวจด้วยเครื่องตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ (automated cell counter) แล้ว จะทำให้ได้ค่าเม็ดเลือดขาวที่ไม่มีความแม่นยำ หองปฏิบัติการส่วนใหญ่จึงเลือกใช้ hemocytometer ในการตรวจแทน [2] แม้ว่า hemocytometer จะจัดเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับนับเม็ดเลือดขาวในนก [3] แต่มีขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลานาน [2] อีกทั้งยังใช้เลือดปริมาณมากในการเตรียม ซึ่งไม่เหมาะสมกับนกสวยงามขนาดเล็ก [4] การประเมินค่าเม็ดเลือดขาวจากฟิล์มเลือดบาง (leukocyte estimate form smear; LEFS) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวม (total white blood cell count; TWC) ในนกได้ อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ยังไม่แม่นยำพอในนก การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาโมเดล

สำหรับประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในสัตว์ปีกจากฟิล์มเลือดบาง โดยใช้นกพิราบในโมเดล

[วิธีการดำเนินการวิจัย] เจาะเลือดนกพิราบ (*Columba livia*) ที่ใช้ในการเรียนการสอน จำนวน 50 ตัว ตัวละ 0.5 มิลลิลิตร ที่ตำแหน่ง basilic หรือ cutaneous ulnar vein และเก็บในหลอดที่บรรจุสาร EDTA นำตัวอย่างเลือดนกแต่ละตัวไปนับเพื่อหาค่าเม็ดเลือดขาวรวมโดยใช้ hemocytometer ซึ่งย้อมเซลล์ด้วยสี Natt and Herrick [1] (รูปที่ 1, ซ้าย) จากนั้นทำฟิล์มเลือดบาง (thin blood smear) จำนวน 20 แผ่น แล้วย้อมด้วยสี modified Wright's stain (quick stain) [1] นับเม็ดเลือดขาวจากฟิล์มเลือดบางภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40x (รูปที่ 1, ขวา) บันทึกค่าเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยที่นับได้จาก 10 fields โดยเลือกบริเวณที่เม็ดเลือดเรียงตัวเป็นชั้นเดียว และกระจายตัวสม่ำเสมอ นำค่าเม็ดเลือดขาวที่นับได้จาก hemocytometer รวม 50 ตัวอย่าง และฟิล์มเลือดบางรวม 1,000 แผ่น มา

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ในรูปแบบการเชิงเส้นตรง (linear relationship) โดยการวิเคราะห์ด้วยสถิติ linear regression ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และสร้างเป็นโมเดลที่ใช้สำหรับประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมจากฟิล์มเลือดบางต่อไป

[ผลการวิจัย] โมเดลสำหรับการประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกพิราบจากฟิล์มเลือดบางที่ได้จากการศึกษานี้ คือ

$$Y = \beta_1 X + \beta_0$$

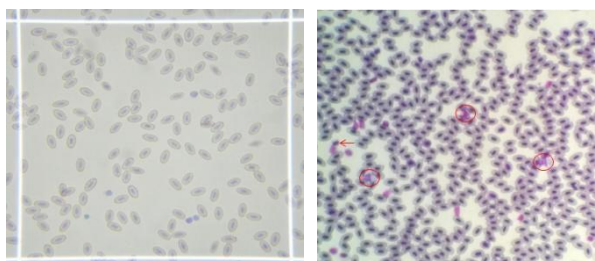
($R^2 = 0.358$, ANOVA = 555.722, $P < 0.0001$)

โดยที่ Y คือ ค่าเม็ดเลือดขาวรวมที่ประเมิน (เซลล์/ไมโครลิตร)

β_1 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ตัวแปรเม็ดเลือดขาว ซึ่งได้จากการศึกษานี้ คือ 2,196.120

X คือ ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับจากฟิล์มเลือดบางจำนวน 10 fields ที่กำลังขยาย 40x (HPF)

β_0 คือ ค่าคงที่ ซึ่งได้จากการศึกษานี้ คือ 2,124.455



รูปที่ 1. รูปซ้าย: การนับเม็ดเลือดขาวด้วยวิธี hemocytometer โดยย้อมเซลล์ด้วยสี Natt and Herrick ที่กำลังขยาย 40x; **รูปขวา:** การนับเม็ดเลือดขาวในฟิล์มเลือดบางที่กำลังขยาย 40x; เม็ดเลือดขาว (วงกลม), เกล็ดเลือด (thrombocyte) (ลูกศรชี้)

[วิจารณ์] ค่าเม็ดเลือดขาวรวมที่นับได้จาก hemocytometer มีความสัมพันธ์ทางบวกกับค่าเม็ดเลือดขาวเฉลี่ย ที่นับได้จากฟิล์มเลือดบาง ($P < 0.0001$) โดยโมเดลนี้สามารถพยากรณ์ค่าเม็ดเลือดขาวรวมได้ถูกต้อง 35.8 เปอร์เซ็นต์ ($R^2 = 0.358$) ซึ่งในทางสถิติแล้ว ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 จะแสดงว่าตัวแปรอิสระในโมเดลนั้นสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ดี [5] แต่ในทางปฏิบัติ โมเดลนี้ไม่สามารถใช้ประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกพิราบ ที่มีค่าเฉลี่ยเม็ดเลือดขาวในฟิล์มเลือดบางเป็นศูนย์ได้ ($X=0$) เมื่อเปรียบเทียบโมเดลนี้กับวิธีประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกและสัตว์เลื้อยคลานของ Fudge [2] ซึ่งใช้ค่าเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยที่นับได้จากฟิล์มเลือดบางที่กำลังขยาย 40x จำนวน 10 fields แล้วคูณด้วยค่าคงที่คือ 2,000 นั้น พบว่าค่าเม็ดเลือดขาวที่ประเมินได้จากโมเดลนี้ จะแตกต่างจากวิธีของ Fudge [2] อยู่ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสัตว์ที่มีภาวะโลหิตจาง มี

คำแนะนำให้ปรับค่าเม็ดเลือดขาวรวมที่ประเมินได้ โดยนำค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) ของสัตว์ตัวที่ตรวจมาคิดด้วย เนื่องจากค่าที่นับได้จากฟิล์มเลือดบางมีความสัมพันธ์ (relative number) กับจำนวนเม็ดเลือดแดง [2] การประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมโดยใช้วิธีนับจากฟิล์มเลือดบาง เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย และรวดเร็ว แต่ค่าที่นับได้จากฟิล์มเลือดบางอาจแตกต่างกันไป เมื่อทำการตรวจซ้ำโดยผู้ปฏิบัติงานที่ไม่ใช่คนเดิม ซึ่งทำให้ความน่าเชื่อถือของวิธีนี้ลดลงได้ ปัญหาดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการขาดประสบการณ์ของผู้ตรวจ รวมถึงคุณภาพของฟิล์มเลือดบางที่เตรียมขึ้น อย่างไรก็ตาม หากมีการฝึกฝนจนผู้ปฏิบัติงานมีความชำนาญแล้ว ความแม่นยำในการตรวจจะมากขึ้น [6] วิธีนี้สามารถนำไปใช้ประเมินสุขภาพนกพิราบเบื้องต้นทางคลินิกได้ หรือติดตามผลเมื่อมีการรักษาต่อเนื่อง โดยใช้เลือดเพียงหยดเดียว การนับเม็ดเลือดขาวในฟิล์มเลือดบางภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100x อาจช่วยให้ตรวจนับเม็ดเลือดขาวได้ง่ายขึ้น และแยกออกจากเม็ดเลือดชนิดอื่นได้ชัดเจน แต่จำเป็นต้องเพิ่มจำนวน field ที่ใช้ตรวจด้วย เพื่อเพิ่มความแม่นยำ ซึ่งค่าคงที่ต่างๆ ที่ระบุในโมเดลนั้น จะแตกต่างไปจากการศึกษานี้ โมเดลดังกล่าว ยังสามารถนำไปพัฒนาเพื่อประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวมในนกชนิดอื่นๆ ได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Campbell, T.W. 2015. Exotic animal hematology and cytology 4th ed. Wiley-Blackwell. Ames. pp. 199-205, 379-380.
2. Fudge, A.M. 2000. Laboratory medicine avian and exotic pets. W.B. Saunders. Philadelphia. pp. 6-17.
3. Haile, Y. and Chanie, M. 2014. Comparative aspects of the clinical hematology of birds: A review. British J. Poult. Sci. 3(3): 88-89.
4. Clark P, et al. 2009. Atlas of clinical avian hematology. Wiley-Blackwell. UK. pp. 1-19.
5. ชิตาเตีย มยุรีสุวรรณ. 2544. สถิติสำหรับวิศวกรรมและวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. กรุงเทพมหานคร. หน้า 317-318.
6. Lane, R. 2002. Avian Hematology. Available from: <http://www.exoticpetvet.com/vets/avianhemotology.htm>, 8 March 2016.

คำสำคัญ: การประเมินค่าเม็ดเลือดขาวรวม ฟิล์มเลือดบาง hemocytometer นกพิราบ

Studies on Fresh Charcoal Ash to Inactivate Avian Influenza Virus, *Escherichia coli* and *Salmonella* Infantis for Biosecurity Enhancement on Chicken Farms

Kittima Lorcharoenrungraj¹, Kazuaki Takehara², Sakchai Ruenphet^{3*}

¹The 2nd year master student, ³Immunology and Virology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Thailand.

² Laboratory of Animal Health, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Japan.

*Corresponding author: rsakchai@hotmail.com

บทคัดย่อ

ขี้เถ้าถ่าน (Fresh charcoal ash) เป็นวัสดุเหลือทิ้งหลังจากกระบวนการเผาไหม้ของถ่านไม้ ในการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างขี้เถ้าจากครัวเรือน เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อไวรัสและแบคทีเรียในรูปผงและสารละลาย ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีสารอินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่า ผงขี้เถ้าถ่านสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดนกได้ในสภาวะที่มีและไม่มีสารอินทรีย์ ในขณะที่สารละลายขี้เถ้าถ่านที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ในสภาวะที่ไม่มีสารอินทรีย์ สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดนกได้ภายในเวลา 30 นาทีและ 30 วินาที ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกัน ในสภาวะที่มีสารอินทรีย์พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้ภายในเวลา 2 ชั่วโมงและ 1 นาทีตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียพบว่า ในสภาวะที่ไม่มีสารอินทรีย์ สารละลายขี้เถ้าถ่านที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 5 และ 10 สามารถยับยั้งเชื้ออี โคไลได้ภายในเวลา 30 วินาที 5 วินาทีและ 5 วินาที ตามลำดับ ในขณะที่ประสิทธิภาพต่อเชื้อซัลโมเนลล่าพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อได้ภายในเวลา 5 วินาทีทุกระดับความเข้มข้น ในขณะที่สภาวะที่มีสารอินทรีย์พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออี โคไลได้ภายใน 5 นาที 5 วินาทีและ 5 วินาที ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพต่อเชื้อซัลโมเนลล่าพบว่า สามารถฆ่าเชื้อได้ภายในเวลา 3 นาที 5 วินาทีและ 5 วินาที ตามลำดับ การศึกษานี้สรุปได้ว่า ขี้เถ้าถ่านจากครัวเรือนมีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดนก เชื้ออี โคไลและเชื้อซัลโมเนลล่า ในสภาวะที่มีและไม่มีสารอินทรีย์ ซึ่งอาจนำมาประยุกต์ใช้ ในฟาร์มสัตว์ปีกเพื่อยกระดับความปลอดภัยทางชีวภาพภายในฟาร์มรวมทั้งเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ปีกรายย่อยและการเลี้ยงไก่หลังบ้านในเขตชนบทของประเทศไทย

คำสำคัญ: ขี้เถ้าถ่าน เชื้อไวรัสไข้หวัดนก เชื้ออีโคไล เชื้อซัลโมเนลล่า

Abstract

Fresh charcoal ash (FCA) is the residue powder left after the combustion of wood. In the present study, FCA was evaluated for inactivation of various pathogens such as avian influenza virus (AIV), *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Salmonella* Infantis (SI). The result demonstrated that the FCA in powder form could inactivate AIV even in the presence of organic materials. In the solution form, it was shown that the 5% and 10% FCA solution could inactivate AIV in the absence organic materials within 30 min and 30 sec, respectively, however, even in the presence of organic materials both concentration could inactivate AIV within 2 hr and 1 min, respectively. While, the 1%, 5% and 10% FCA solution could inactivate *E. coli* in the absence of organic materials within 30 sec, 5 sec and 5 sec, respectively, however, all concentration could inactive SI within 5 sec. While, in the presence of organic materials, the 1%, 5% and 10% FCA solution could inactivate *E. coli* within 5 min, 5 sec and 5 sec, respectively, and 3 min, 5 sec and 5 sec for SI, respectively. In conclusion, the FCA from household could inactivate AIV, *E. coli* and SI even in the absence and presence of organic materials and might potentially be used as an alternative material for biosecurity applying especially on and around poultry farms not only commercial chicken farms but also backyard chickens in rural area of Thailand.

Keywords: fresh charcoal ash, avian influenza, *Escherichia coli*, *Salmonella* Infantis

Introduction

Bio-security management is importing strategy that is the main protection from various pathogens (Thammakarn et al., 2014). Normally, organic solvents, detergents and disinfectants were used for microorganism inactivation however, even organic materials contamination, their efficacy is decreased (Thammakarn et al., 2014). There are several experiments to explain the alternative materials for bio-security enhancement, which not interfere even organic materials contamination. Several researchers have shown high pH material, could inactivate microorganism even in the presence of organic materials such as bioceramic powder (Thammakarn et al., 2015b), slaked lime, scallop shell powder (Thammakarn et al., 2015a), calcinated egg shell (Ota et al, 2016) and nano-sized scallop shell powder (Thammakarn et al., 2014).

Since the big outbreaks of highly pathogenic avian influenza (HPAI) especially H5N1 in several countries such as Asia, Africa and Europe in 2003, it have serious problems to commercial poultry industry especially chicken (Thammakarn et al., 2015a). In Thailand, the H5N1 epidemic was caused of severe losses to the poultry industry (Wanaratana et al., 2010). Generally, *Escherichia coli* and *Salmonella* are normal inhabitants of the intestinal tract in birds. Some pathogenic strains can cause diseases especially poultry production and economic losses such as mortality and loss of egg production (FAO, 2016). These bacteria are major public health significance especially poultry meat and eggs which are possible source of food borne disease in humans (FAO, 2016).

Charcoal ash or wood ash is waste product from restaurants and household after cooking, it has alkaline compound such as calcite (CaCO_3), lime (CaO), portlandite (Ca(OH)_2) (Demeyer et al., 2001; Naik et al., 2003). The alkalinity of charcoal ash is high, that pH was 9.3-13.5 (Demeyer et al., 2001).

The aim of the present study, was to evaluate inactivation activity of fresh charcoal ash (FCA) against various pathogens such as AIV, *E. coli* and *Salmonella*, in the presence and absence of organic materials.

Materials and methods

Sample preparation: Fresh charcoal ash (FCA) powder was prepared by burning wood-charcoal and solution sample was prepared as 1%, 5% and 10% using distilled water.

Pathogens and cell or medium: Low pathogenic avian influenza virus (LPAIV), namely A/duck/Aomori/395/04 H7N1, was propagated in 9-day-old chicken embryonic eggs. After alantoic fluid harvesting, stock viruses were aliquoted and kept at -80°C until used. Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells were used for AIV titration. *Escherichia coli* (*E. coli*) strain NBRC106373 and *Salmonella* Infantis (SI), were also used for present study. These bacteria were sub-cultured onto desoxycholate hydrogen sulfide lactose (DHL) agar and then incubated at 37°C overnight. The bacterial colony was picked up and cultivated in Luria-Bertani (LB) medium (1% Bacto Tryptone, 0.5% Bacto Yeast Extract and 1%NaCl, pH 7.4) and titrated on DHL agar (Ota et al., 2016). Both culturing bacteria were removed organic materials by centrifugation at 1,750 g for 10 min before tested.

Powder reaction: To determine virus inactivation, 200 mg of FCA powder was mixed with 100 μl of AIV in the absence of organic materials, however, even presence organic materials, 100 μl of virus was mixed with 50 μl

of FBS, and then, all mixed was added to 300 mg of FCA powder. After 3 min incubation at room temperature, the viruses were recovered with 900 μ l or 850 μ l of PBS, respectively, then centrifuged at 17,400 g for 3 min and titrated onto MDCK for recovering virus titration (Ota et al., 2016).

Liquid reaction: Four hundred and fifty microliters of each FCA solution, was mixed with 100 μ l of each pathogen, and then incubated for indicated time at room temperature. After that the solution mixer, was neutralized pH with 450 μ l of 1M Tris-HCl pH 7.2. Each sample treatment was titrated onto MDCK for AIV or DHL agar plates for bacteria. Even presence organic materials, 250 μ l of fetal bovine serum (FBS) was added to 5 ml of each FCA concentration as 5% organic materials, before tested. To confirm the neutralizing efficacy of Tris-HCl, it was added into each solution sample before virus or bacteria adding, namely 0 sec. Each treatment was tested in triplicates, and the titers were shown in mean with standard error.

Titration: Each AIV treatment, was diluted in 10-fold serial dilution using Eagle's minimum essential medium (MEM, Nissui Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan), and inoculated onto MDCK containing equal volume of MEM containing the final concentration of trypsin (Trypsin, Sigma, St.Louis, MO, U.S.A.) as 0.5 μ g/ml. All of inoculated cell plates, were incubated at 37°C in 5%CO₂ incubator and observed the cytopathic effect (CPE) twice a day for 3 days. At the end of incubation period, the hemagglutinin (HA) activity of the culture supernatant, was checked using 0.5% chicken red blood cells. The 50% tissue culture infective dose (TCID₅₀/ml) was determined by Behrens and Kärber's method (Thammakarn et al., 2014). While, each *E. coli* and SI treatment was also diluted in 10-fold serial dilution using Phosphate buffer saline (PBS) and inoculated on DHL agar for bacterial titration on 90mm petri-disk. All inoculated petri-disk were incubated at 37°C incubator for overnight, and the number of colonies was counted after 24 hr-post inoculation. The bacteria titer was calculated in colony forming units (CFU)/ml.

Inactivation analysis: The reduction factor (RF) was used for determine pathogen inactivation. The RF is calculated using the following equation: $RF = t_{pc} - t_a$; Where t_{pc} is the titer converted into an index in log₁₀ of the positive control, and t_a is the converted titer an index in log₁₀ of the recovered pathogen from treated sample. Inactivation of pathogen was considered effective when RF was greater than or equal to 3 (Lombardi et al., 2008; Takehara et al., 2010; Thammakarn et al., 2014).

Results

The pH of 1%, 5% and 10% FCA solution, were checked by pH paper strip as 12.0, 12.5 and 13.0, respectively. Table 1 shown, the FCA powder could inactivate AIV even absence and presence organic materials. The AIV, *E. coli* and SI inactivating activity of 1%, 5% and 10% FCA solution were showed in table 2 and 3. These tables indicated that the 1% solution could not inactivate AIV in presence and absence of organic materials, while 5% and 10% solution even absence organic materials, could inactivate within 30 min and 30 sec, respectively. However, even presence organic materials, could inactivate within 2 hr and 1 min, respectively. In addition, the bacterial inactivation of 1%, 5% and 10% solution, could inactivate *E. coli* even absence organic materials within 30 sec, 5 sec and 5 sec, respectively, however, all concentrations could inactive SI within 5 sec. However, even presence organic materials, could inactivate *E. coli* within 5 min, 5 sec and 5 sec, respectively, and 3 min, 5 sec and 5 sec for SI, respectively.

Table 1. The result is shown as $\text{Log}_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ (mean $\pm$ SD) of avian influenza virus inactivating activity using reaction in powder of fresh charcoal ash even absence and presence organic materials.

	$\text{Log}_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$	
	absence organic materials	presence organic materials ^{a)}
$t_{pc}^{b)}$	6.75 $\pm$ 0.25	6.42 $\pm$ 0.38
$t_a^{c)}$	2.50 $\pm$ 0.00	2.50 $\pm$ 0.00
RF ^{d)}	4.25 $\pm$ 0.25	3.92 $\pm$ 0.38

^{a)} Fetal bovine serum as 33%. ^{b)} t_{pc} is the titer converted into an index in log_{10} of the AIV control. ^{c)} t_a is the titer converted into an index in log_{10} of the recovered AIV from the treated tube. ^{d)} The reduction factor = $t_{pc} - t_a$

Table 2. The result is shown as Log₁₀ TCID₅₀/ml (mean ± SD) of avian influenza virus inactivating activity using 1%, 5% and 10% fresh charcoal ash solution even absence and presence organic materials.

	Avian influenza virus					
	absence organic materials			presence organic materials ^{a)}		
	1% ^{b)}	5%	10%	1%	5%	10%
t _{pc} ^{c)}	7.25 ±0.50	7.17 ±0.58	7.42 ±0.88	7.42 ±0.29	7.17 ±0.58	7.42 ±0.88
0 sec ^{d)}	7.00 ±0.25	6.75 ±0.43	7.50 ±0.90	7.42 ±0.58	7.17 ±0.38	7.33 ±0.72
5 sec ^{e)}	NT ^{f)}	NT	6.33 ±0.72	NT	NT	6.25 ±0.66
30 sec	NT	NT	3.42 ±0.88	NT	NT	4.75 ±0.43
1 min	NT	NT	NT	NT	NT	3.50 ±0.87
10 min	NT	5.42 ±0.14	NT	NT	NT	NT
30 min	6.67 ±0.29	4.00 ±0.50	NT	NT	5.67 ±0.72	NT
1 h	6.75 ±0.25	NT	NT	NT	5.25 ±1.09	NT
2 h	6.92 ±0.29	NT	NT	6.92 ±0.25	3.67 ±0.63	NT
3 h	NT	NT	NT	6.75 ±0.25	NT	NT
6 h	NT	NT	NT	6.33 ±0.29	NT	NT

^{a)} Fetal bovine serum was added to fresh charcoal ash solution as 5% organic materials of total volume. ^{b)} Concentration of fresh charcoal ash solution (%w/v). ^{c)} t_{pc} is the titer converted into an index in log₁₀ of the virus control. ^{d)} Added 1M Tris-HCl before virus. ^{e)} t_a is the titer converted into an index in log₁₀ of the recovered virus after indicated time of treated. ^{f)} NT: Not tested.

Table 3. The result is shown as log₁₀CFU/ml (mean ± SD) of *Escherichia coli* and *Salmonella* Infantis inactivating activity using 1%, 5% and 10% fresh charcoal ash solution even absence and presence organic materials.

	<i>Escherichia coli</i>						<i>Salmonella</i> Infantis					
	absence organic materials			presence organic materials ^{a)}			absence organic materials			presence organic materials		
	1% ^{b)}	5%	10%	1%	5%	10%	1%	5%	10%	1%	5%	10%
t _{pc} ^{d)}	8.48±0.26	7.53±1.02	7.53±1.02	8.48±0.26	8.58±0.13	8.58±0.13	8.25±0.16	8.18±0.67	8.18±0.67	8.25±0.16	8.18±0.10	8.18±0.10
0 sec ^{d)}	8.33±0.45	8.21±0.29	7.29±1.14	8.14±0.72	8.63±0.11	8.59±0.10	7.67±0.13	8.23±0.46	8.10±0.68	7.78±0.57	8.43±0.14	8.29±0.09
5 sec ^{e)}	6.51±1.54	2.60±0.00	2.60±0.00	NT	2.76±0.28	2.76±0.28	4.78±1.04	2.60±0.00	2.60±0.00	NT	2.60±0.00	2.60±0.00
30 sec	4.20±0.53	2.60±0.00	2.60±0.00	NT	2.60±0.00	2.60±0.00	4.00±0.34	2.60±0.00	2.60±0.00	NT	2.60±0.00	2.60±0.00
1 min	NT ^{f)}	NT	NT	6.85±0.71	NT	NT	NT	NT	NT	6.51±0.75	NT	NT
3 min	NT	NT	NT	5.88±0.48	NT	NT	NT	NT	NT	4.38±0.23	NT	NT
5 min	NT	NT	NT	4.92±0.43	NT	NT	NT	NT	NT	4.24±1.42	NT	NT

^{a)} Fetal bovine serum was added to Fresh charcoal ash solution as 5% organic materials of total volume. ^{b)}

Concentration of fresh charcoal ash solution (%w/v). ^{c)} t_{pc} is the titer converted into an index in log₁₀ of the bacteria control. ^{d)} Added 1M Tris-HCl before bacteria. ^{e)} t_g is the titer converted into an index in log₁₀ of the recovered bacteria after indicated time of treated. ^{f)} NT: Not tested.

Summary and Discussion

The FCA has strong alkaline that contain main inorganic material such as calcium oxide and calcium hydroxide (Demeyer et al., 2001; Naik et al., 2003). In water, calcium oxide is change the form to calcium hydroxide (Thammakarn et al., 2015a), which has ability from hydroxyl ion to damage bacterial cytoplasmic membrane, make protein denaturation by breakdown the ionic bonds and damage DNA strand (Siqueira Jr. and Lopes, 1999). The present study was showed high pH of all FCA solution which could inactivate mostly pathogens, however, when neutralized by Tris-HCl before treated, all of solution could not inactivated all of pathogens. These results suggested that high pH is importance mechanism for inactivation.

Generally, several disinfectants such as chlorine and ammonium compounds could not inactivate the bacteria and virus even contaminated with organic materials. However, the FCA could inactivate AIV, *E. coli* and SI even presence of organic materials, that related with several researchers such as calcinated egg shell powder (pH 12.7), which the main component is calcium oxide and showed virucidal ability against AIV, NDV and IBDV (Ota et al., 2016), scallop shell powder (pH 13.0) and slaked lime (pH 12.5), which have main composition is calcium hydroxide and could inactivate AIV (Thammakarn et al., 2015a).

Egg-CaO powder and nano-sized scallop shell (CaO-Nano) powder have calcium oxide, that change to calcium hydroxide, which give calcium and hydroxyl ion when dissolve in water similar with our solution. Solution of Egg-CaO at 3% concentration could inactivate AIV within 1 hr (Ota et al., 2016). But in the presence of organic materials condition, 3% Egg-CaO solution could not inactivate AIV within 1 hr (Ota et al., 2016). However, our studies use more concentration than Egg-CaO, 5%FCA solution has virucidal ability against AIV both absence and presence of organic materials within 30 min and 2 hr, respectively. Solution of CaO-Nano (pH 13.1), that have nano particle of calcium oxide could inactivate AIV, NDV both with and without organic materials within 5 sec (Thammakarn et al., 2014). This result nearly with 10% FCA solution, which could inactivate AIV within 30 sec in the absence of organic materials and 1 min in the presence of organic materials. For bactericidal inactivation, 1%FCA has ability to inactivate both *E. coli* and SI even absence and presence of organic materials, which similar with 3% Egg-CaO solution, that could inactivate both *E. coli* and SI within 3 min (Ota et al, 2016).

In conclusion, the FCA powder and solution-form could inactivate AIV, *E. coli* and SI even in the absence and presence of organic materials. The present study also indicated that both bacteria could be inactivated easier than virus using FCA solution. Thereby, FCA might be used as alternative materials, which applying to prevent spreading of poultry disease on commercial chicken farms and also backyard chickens especially developing countries including in rural area of Thailand.

Acknowledgment

Funds for this study were provided by Mahanakorn University of Technology (MUT), Thailand.

References

Demeyer, A., Voundi Nkana, J. C. and Verloo, M. G. 2001. Characteristics of wood ash and influence on soil properties and nutrient uptake: an overview. *Bioresource Technology*. 77: 287-295.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. “Bacterial infection”,
<http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/gemp/avis/poult-over/tools/0-tabl-bacterial-infections.html> (accessed Aug 6, 2016).
- Lombardi, M. E., Ladman, B. S., Alphin, R. L. and Benson, E. R. 2008. Inactivation 323 of avian influenza virus using common detergents and chemicals. *Avian Dis.* 52(1): 118-123.
- Naik,T. R., Kraus, R. N. and Kumar, R. (2003). A new source of pozzolanic material. Concrete international, December 2003, 55-62.
- Ota, M., Toyofuku, C., Thammakarn. C., Sangsriratanakul, N., Yamada, M., Nakajima, K., Kitazawa, M., Hakim, H., Alam, M. S., Shoham, D. and Takehara, K. 2016. Calcinated egg shell as a candidate of biosecurity enhancement material. *J. Vet. Med. Sci.* 78(5): 831-836.
- Siqueira Jr., J. F. and Lopes, H. P. 1999. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal.* 32: 361-369.
- Takehara, K., Yamazaki, K., Miyazaki, M., Yamada, Y., Ruenphet, S., Jahangir, A., Shoham, D., Okumura, M. and Nakamura, M. 2010. Inactivation of avian influenza virus H1N1 by photocatalyst under visible light irradiation. *Virus Res.* 151: 102–103.
- Thammakarn, C., Satoh, K., Suguro, A., Hakim, H., Ruenphet, S. and Takehara, K. 2014. Inactivation of avian influenza virus, Newcastle disease virus and goose parvovirus using solution of nano-sized scallop shell powder. *J. Vet. Med. Sci.* 76(9): 1277-1280.
- Thammakarn, C., Tsujimura, M., Satoh, K., Hasegawa, T., Tamura, M., Kawamura, A., Ishida, Y., Suguro, A., Hakim, H., Ruenphet, S. and Takehara, K. 2015. Efficacy of scallop shell powders and slaked lime for inactivating avian influenza virus under harsh conditions. *Arch. Virol.* 160(7): 2577-2581.
- Thammakarn, C., Ishida, Y., Suguro, A., Hakim, H., Nakajima, K., Kitazawa, M. and Takehara, K. 2015. Inhibition of infectious bursal disease virus transmission using bioceramic derived from chicken feces. *Virus Research.* 204: 6–12.
- Wanaratana, S., Tantilertcharoen, R., Sasipreeyajan, J. and Pakpinyo, S. 2010. The inactivation of avian influenza virus subtype H5N1 isolated from chickens in Thailand by chemical and physical treatments. *Vet Microbiol.* 140: 43–48.

Comparison of Virucidal Effects for the Newcastle Disease Virus Between Slaked Lime and the Food Additive Calcium Hydroxide

Kornkamon Paditporn¹, Sakchai Ruenphet², Kazuaki Takehara³

¹The ^{2nd} year master student, ²Immunology and Virology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Thailand

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

*Corresponding author: rsakchai@hotmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของปูนขาวและผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกรดสำหรับผสมอาหารในการยับยั้งเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล ในสถานะที่มีและไม่มีสารอินทรีย์ ในรูปแบบผงและรูปแบบสารละลายที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.17 และ 3 โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงคือเซลล์ปฐมภูมิจากตัวอ่อนไขฟัก และประเมินผลโดยการสังเกตการเกิด cytopathic effect วันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 3 วัน และทดสอบปฏิกิริยาการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงในวันที่ 3 วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อไวรัสโดยการหาค่า reduction factor ผลการศึกษาพบว่าทั้งปูนขาวและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ในรูปแบบผงสามารถฆ่าเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลทั้งในสถานะที่มีและไม่มีสารอินทรีย์ได้ในส่วนสารละลายพบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.17 และ 3 ปูนขาวในสถานะที่ไม่มีสารอินทรีย์สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้ภายในเวลา 10 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ แต่ในสถานะที่มีสารอินทรีย์สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้ภายในเวลา 60 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ ส่วนสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.17 และ 3 สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้ภายในเวลา 10 นาที เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามในสถานะที่มีสารอินทรีย์สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัสได้ภายในเวลา 30 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ จากผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าทั้งปูนขาวและผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกรดสำหรับผสมอาหารสามารถใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลได้

คำสำคัญ: ปูนขาว ผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกรดสำหรับผสมอาหาร เชื้อไวรัสนิวคาสเซิล ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อไวรัส

Abstract

The aim of the present study, was to evaluate the inactivating activity of slaked lime (SL) and food additive calcium hydroxide (FdCa(OH)₂) in the form of powder or in the form of solution as 0.17% and 3% against Newcastle disease virus in the absence or presence of organic materials using fetal bovine serum. The chicken embryo fibroblasts (CEF) cells was used for NDV titration and observed the cytopathic effect (CPE) twice a day for 3 days and confirmed by hemagglutination (HA) test at the end of incubation period. The reduction factor (RF) was used for determine NDV inactivation. The results showed that SL and FdCa(OH)₂ in powder form could inactivate NDV even in the presence of organic materials. Without organic materials, 0.17% and 3.00% SL solutions could inactivate NDV within 10 min and 5 min, respectively. However, in the presence of organic materials, they required 60 and 5 min, respectively, to inactivate NDV. Without the organic material both of 0.17% and 3.00% FdCa(OH)₂ solutions could inactivate NDV within 10 min, however, in the presence organic materials, they inactivated NDV within 30 min and 10 min, respectively. These results suggested that both samples have the main composition and/or the level of inactivating agent difference. Thus, SL and FdCa(OH)₂ could inactivated NDV.

Keywords: slake lime, food additive calcium hydroxide, Newcastle disease virus, virucidal effect

Introduction

Newcastle disease (ND) is an important disease of poultry affecting to economic loss in many countries, even in countries where ND may be considered to be controlled, an economic burden is still associated with vaccination and/or maintaining strict biosecurity measures (Alexander, 2000). The biosecurity, includes cleaning and disinfection are the best methods regularly use to reduce the microbial load and the level of pathogens, especially ND Virus (NDV) particularly in poultry farm (Gehan et al., 2009).

Several disinfectants have been applied for biosecurity enhancement at poultry farms, however most of them have disadvantages of diminished virus-activating ability in the presence of organic materials (Thammakarn et al., 2014). Several disinfectants could inactivate virus even presence organic material, such as phenol but is too expensive for general poultry house use (Bermudez and Stewart-Brown, 2008) nano-sized scallop shell powder (Thammakarn et al., 2014), scallop shell powder (Thammakarn et al., 2015), and calcinated egg shell (Ota et al., 2016).

The objective of this study was to evaluate efficacy of slake lime (SL) and food additive calcium hydroxide (FdCa(OH)_2) powder against Newcastle disease virus both in the condition of the absence and presence of organic materials.

Materials and methods

Candidate samples and sample preparation: Slaked lime (SL) (Zapco®), Homeinter supply Co., Ltd., Thailand) and food additive calcium hydroxide (FdCa(OH)_2) powder provided by Fine Co., Ltd. (Japan), were used for the present study. The suspension of each sample was prepared as 0.17% or 3% (w/v) using distilled water and then centrifuged at 3,000xg for 10 min, and the resulted supernatants were used as solution sample in the absence of organic materials. For the presence of organic material treatment, each solution sample was added fetal bovine serum (FBS) as final concentration with 5% FBS.

Virus and host cells: The virulent Newcastle disease virus (vNDV) was propagated in 9-day-old chicken embryonic eggs. The alantoic fluid was harvested and kept at -80 °C for virus stocking until used. Chicken embryo fibroblasts (CEF) cells, were prepared from 9-day-old chicken embryonic eggs and used for NDV titration.

Powder reaction: Two-hundred milligrams of each candidate sample, were mixed with 100 µl of NDV for evaluate inactivating activity for the absence of organic materials treatment, whereas the presence of organic materials treatment, 100 µl of virus was mixed with 50 µl of FBS (33% FBS) before adding to 300 mg of each candidate sample. The mixer solutions were incubated at room temperature for 3 min (Thammakarn et al., 2015) and then each solution treatment was recovered NDV by adding 900 µl or 850 µl of phosphate buffer saline (PBS), respectively and next be centrifuged at 15,000xg for 3 min. Subsequently, the resulted supernatant was titrated onto CEF cells.

Reaction in liquid: Four-hundred and fifty microliters of each candidate sample at 0.17% or 3% solution, was mixed with 100 µl of NDV, then mixer solutions were incubated for indicated time (0, 5, 10, 30 and 60 min) at room temperature and then neutralized with 450 µl of 1 M Tris-HCl pH 7.2 (Tris-HCl) for stop activities of each sample. Subsequently, each treated sample was titrated onto CEF cells. To confirm the neutralizing efficacy of 1

M Tris-HCl, each candidate sample solution was added Tris-HCl before adding NDV, namely 0 min. Each solution sample was tested in triplicates, and the titers were shown in mean with standard deviation.

Titration: NDV and each treated sample, were diluted in 10-fold serial dilution in Eagle's minimum essential medium (MEM, Capricorn Scientific GmbH, Germany), and inoculated onto CEF cells containing equal volume of MEM. All of inoculated cell plates were incubated at 37 °C in 5% CO₂ incubator and observed the cytopathic effect (CPE) twice a day for 3 days. At the end of incubation period, the hemagglutinin (HA) activity of the culture supernatant, was checked by using 1% chicken red blood cells. The 50% tissue culture infective dose (TCID₅₀/ml) was determined by Behrens and Kärber's method (Thammakarn et al., 2014).

Inactivation analysis: The reduction factor (RF) was used for determine NDV inactivation. The RF is calculated by using the following equation: $RF = t_{pc} - t_a$, where t_{pc} is the titer converted into an index in log₁₀ of the NDV control, and t_a is the converted titer of the recovered NDV from the tested sample. Inactivation of pathogen was considered effective when RF was greater than or equal to 3 (Lombardi 2008, Takehara et al., 2010, Thammakarn et al., 2014).

Results

The inactivating efficacy of SL and FdCa(OH)₂ in powder reaction, has been shown in the Table 1. Both samples could inactivate NDV both in the absence and presence of organic materials.

Table 2 has shown the reaction in liquid, all of the 0.17% SL, 0.17% FdCa(OH)₂ and 3% FdCa(OH)₂ solution in the condition of the absence of organic material, could inactivate NDV within 10 min, however the 3% SL could inactivate NDV within 5 min. In the condition of the presence of organic materials, the 0.17% of SL and FdCa(OH)₂ solution could inactivate NDV within 30 and 60 min, respectively, however the 3% of SL and FdCa(OH)₂ could inactivate within 10 min and 5 min, respectively.

In addition, all pH of 0.17% SL, 3% SL, 0.17% FdCa(OH)₂ and 3% FdCa(OH)₂ showed as 12.5 by pH paper strip test.

Table 1. Inactivating activity of slaked lime and food additive calcium hydroxide in powder reaction both in the condition of the absence and presence of organic materials, showed as Log₁₀ TCID₅₀/ml (Mean ± SD)

	Slaked lime		Food additive calcium hydroxide	
	Without FBS	33% FBS ^{a)}	Without FBS	33% FBS
t_{pc} ^{b)}	7.67±0.88	7.08±1.28	7.67±0.88	7.08±1.28
t_a ^{c)}	2.5±0.00	2.5±0.00	2.5±0.00	2.5±0.00
RF ^{d)}	5.17±0.88	4.58±1.28	5.17±0.88	4.58±1.28

^{a)} Fetal bovine serum (FBS) was mixed with virus as 33% before inoculated into each sample

^{b)} t_{pc} is the titer converted into an index in log₁₀ of the NDV control

^{c)} t_a is the titer converted into an index in log₁₀ of the recovered NDV from the tested sample

^{d)} RF is reduction factor

Table 2. The Log₁₀ TCID₅₀/ml (Mean ± SD) of Newcastle disease virus inactivated by using 0.17% and 3.00% of slaked lime and food additive calcium hydroxide solution both in the condition of the absence and presence of organic materials

	Slaked lime				Food additive calcium hydroxide			
	0.17% ^{a)}		3%		0.17%		3%	
	Without FBS	5%FBS ^{b)}	Without FBS	5%FBS	Without FBS	5%FBS	Without FBS	5%FBS
t _{pc} ^{c)}	8.63±0.52	8.63±0.52	8.40±0.38	8.40±0.38	8.13±0.43	8.25±0.47	8.13±0.43	8.13±0.43
0 min ^{d)}	8.17±0.29	8.58±0.88	8.17±0.14	7.83±0.29	8.17±0.38	8.25±0.66	8.08±0.29	8.00±0.50
5 min ^{e)}	6.25±0.35	NT ^{f)}	5.25±1.06	5.38±1.24	5.63±0.18	6.13±0.53	5.25±0.00	5.38±0.18
10 min	5.00±0.90	5.92±1.66	5.42±0.76	5.17±0.58	4.67±0.14	5.83±0.76	4.75±0.25	5.00±0.66
30 min	4.33±1.04	6.08±1.66	4.75±0.75	4.88±1.94	4.13±0.88	5.08±0.29	4.25±0.71	4.25±1.06
60 min	NT	4.67±0.14	NT	5.25±1.41	NT	4.75±0.00	NT	NT

^{a)} Concentration of slake lime (SL) and food additive calcium hydroxide (FdCa(OH)₂) solution (%w/v)

^{b)} Fetal bovine serum was added to each solution sample as 5% of total volume

^{c)} t_{pc} is the titer converted into an index in log₁₀ of the NDV control

^{d)} Added 1M Tris-HCL, Tris-HCL before NDV

^{e)} t_a is the titer converted into an index in log₁₀ of the recovered virus after indicated time

^{f)} Not tested

Discussion and Summary

The food additive calcium hydroxide (FdCa(OH)₂) is made from limestone of Japanese marine and producing high quality level by Fine Co., Ltd., Japan. The main ingredient of FdCa(OH)₂ is 97.2% Ca(OH)₂ while that of SL is 95% calcium hydroxide (Budavari, 1986). Both FdCa(OH)₂ and SL have high alkalinity (pH=12.5). The present study was indicated that SL and FdCa(OH)₂ powder, could inactivate NDV for both the condition of the absence and presence of organic materials, which harmonized with several earlier reports, such as Thammakarn et al. (2015) who reported the Scallop-shell powder and SL have high alkalinity and excellent ability to inactivate AIV.

The SL or calcium hydroxide could be dissolved in water and changed to Ca⁺⁺, and OH⁻, which are strong base or high alkalinity (National Organic Standards Board, 2002). This solution has the pH greater 9 due to the (OH)⁻ and affected to microbials, such as bacteria and viruses (Aiello, 1998). The FdCa(OH)₂ solution also could be dissolved in water and changed to Ca⁺⁺, and OH⁻ and shown strong base and high alkalinity. The results of present study indicated that at 0.17% of both SL and FdCa(OH)₂ solution to NDV inactivation, was similar except in the presence of organic materials, the FdCa(OH)₂ could inactivate better than SL. This result explained that the calcium hydroxide concentration of FdCa(OH)₂ was higher than SL, (97.2% and 95%, respectively) but the solubility of FdCa(OH)₂ is lower than SL (0.17% and 0.185%, respectively). However, at 3% solution for both

the condition of the absence and presence of organic materials, the SL could inactivate NDV better than the FdCa(OH)_2 , suggested that the SL might be contained with other inorganic materials such as magnesium, silica, iron and aluminum (National Organic Standards Board, 2002), which could synergist with calcium hydroxide for inactivation, while the FdCa(OH)_2 have a few of other inorganic materials.

Generally, the SL is cause irritation of skin, eyes and respiratory inflammation. (Clayton and Clayton, 1994) while the FdCa(OH)_2 might has less irritation and inflammation than SL because it was high quality producing and classified as food additive. The FdCa(OH)_2 is possibly more safety than SL because it is food additive grade and also alternative material applying for biosecurity especially on and around poultry farm. In conclusion, the present study showed the NDV inactivating efficacy by the use of both SL and FdCa(OH)_2 .

Acknowledgment

The authors would like to thank by Fine Co., Ltd. (Japan) for food additive calcium hydroxide powder providing in this experiment and Mahanakorn University of Technology (MUT), Thailand for funds in this experiment.

References

- Aiello, S. 1998. *The Merck Veterinary Manual*. 8th ed. Whitehouse Station. NY, USA. 2305p.
- Alexander, D.J. 2000. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. sci. tech.* Off. int. Epiz. 19(2): 443-462.
- Bermudez, A. J. and Stewart-Brown, B. 2008. Disease Prevention and Diagnosis. In: Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K. and Swayne, D.E. (eds.): *Diseases of Poultry*. 12th ed. Wiley-Blackwell. Ames, IA, USA. pp. 4-46.
- Budaveri, S. 1989. Calcium oxide. In: Budaveri, S. (ed.): *The Merck Index*. 11th ed. Merck & Co. Rahway, NJ, USA 1692p.
- Clayton, G.D. and Clayton, F.E. 1994. *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. Toxicology. 4th ed. John Wiley & Sons Inc. New York. 765p.
- Gehan, Z.M., Anwer, W., Amer, H.M., EL-Sabagh, I.M., Rezk, A. and Badawy, E.M. 2009. In vitro Efficacy Comparisons of Disinfectants Used in the Commercial Poultry Farms. *International Journal of Poultry Science*. 8(3): 237-241.
- Lombardi, M.E., Ladman, B.S., Alphin, R.L. and Benson, E.R. 2008. Inactivation of avian influenza virus using common detergents and chemicals. *Avian Dis.* 52: 118–123.
- National Organic Standards Board. 2002. United States Department of Agriculture. 14p.
- Ota, M., Yamada, M., Nakajima, K., Kitazawa, M., Hakim, H., Alam, S. M., Shoham, D. and Takehara, K. 2016. Calcinated egg shell as a candidate of biosecurity enhancement material. *J. Vet. Med. Sci.* 78(5): 831-836.
- Takehara, K., Yamazaki, K., Miyazaki, M., Yamada, Y., Ruenphet, S., Jahangir, A., Shoham, D., Okumura, M. and Nakamura, M. 2010. Inactivation of avian influenza virus H1N1 by photocatalyst under visible light irradiation. *Virus Res.* 151: 102–103.

- Thammakarn, C., Satoh, K., Suguro, A., Hakim, H., Ruenphet, S., and Takehara, K. 2014. Inactivation of Avian Influenza Virus, Newcastle Disease Virus and Goose Parvovirus Using Solution of Nano-Sized Scallop Shell Powder. *J. Vet. Med. Sci.*, 76(9): 1277-1280.
- Thammakarn, C., Tsujimura, M., Satoh, K., Hasegawa, T., Tamura, M., Ishida, Y., Suguro, A., Ruenphet, S. and Takehara, K. 2015. Efficacy of scallop shell powders and slaked lime for inactivating avian influenza virus under harsh conditions. *Archive virology*, 160(10): 2577-2581.

Comparison of Two Imaging Techniques, X-ray and Ultrasound, for Diagnosis of Pregnancy in River Stingray (*Potamotrygon* sp.) : A Case Report

Sumrarn Bunnajirakul*, Sitthichon Rattanachan and Ekthida Thongdet

Aquatic Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology, Bangkok, Thailand

*Corresponding author: sumram@mut.ac.th

Abstracts

An adult female river stingray (*Potamotrygon* sp.) with abnormal round protruding area at dorsal midline of body disk between nuchal and tail thorns, which is suspected to be appear during the late gestation, was admitted at the Veterinary teaching hospital, Mahanakorn University of Technology. In this study, X-ray imaging was performed firstly to differentiate the overall structure of the protruding area at the dorsal midline of *Potamotrygon* sp., then, ultrasound scanning was applied in order to monitor the fetus' growth and position.. The X-ray imaging technique showed general morphology of stingray and an overview of skeletal structures at craniothoracic region and pelvic region, but could not show more information of pups, while ultrasounic images showed hyperechoic area of independently movement fetus by visually documenting of fetal wing and respiratory activity. This indicates that the ultrasonographic imaging would be better for revealing more information about pups in uterine tract compared with radiographic image.

Keywords: imaging techniques, pregnancy diagnosis, river stingray

Introduction

Freshwater stingrays of the family *Potamotrygonidae* are introduced as ormanental fish in Thailand. *Potamotrygonidae* have long been popular worldwide as ornamentals in the aquarium trade in Asia (Ng et al. 2010). Several species such as *Potamotrygon motoro*, *P. orbignyi*, *Potamotrygon* sp. and *Paratrygon aiereba* are originated from South America (Shibuya et al., 2010). The reproduction of freshwater stingrays is matrotrophic viviparity with development of *trophonemata*. Biological data of reproductive system composted of sexual maturity about 2 years, gonadal maturation from 2 up to 4 months, pregnancy periods from 3 to 9 months, ovarian fecundity varied among species, uterine fecundity seemed to be slightly lower than the ovarian fecundity. The hydrologic cycle of the river basins

which they inhabit may be trigger of reproductive cycle. The possible problems during the pregnancy such as extended pregnancy and labor period could be presented when environmental has been changed. Abortion in *potamotrygonid* pregnant females was easily found when they were stress from capture. (Charvet-Almeida et al., 2005). However, the information of diagnosis method of stingray which has been using in veterinary practice is very limited. So, this information of using imaging techniques may be useful for the veterinarian practitioners to diagnose the impregnant stingray.

Case description

For this case, *potamotrygonid* stingray, two males and two females were raised together in a large concrete tank. New female stingray, originated from South America was purchased at November 2015. This

fish presented the expansion of the body in one month (suspected pregnancy) and aborted in next month later. Pregnant stingray was copulated repeatedly in March 2016. About two month, this stingray became anorexia and carried protuberant abdominal cavity. Manifestations presented in this female stingray, therefore, need to be confirmed for pregnancy before. Generally in domestic animals, developed advanced examination such as measurement of relaxin hormone levels in serum is reliable (Root Kustritz, 2005). However, blood collection in aquatic animals is stressful, thus, stingray must be restraint by raising the tail. Furthermore, adverse effect of this clinical intervention might cause severe stress in fish. Hence, in our study, radiography and ultrasonography which are noninvasive to animal were selected for diagnosis of pregnancy in this stingray.

Clinical finding

An adult female river stingray (*Potamotrygon* sp.) with abnormal round protruding area at dorsal midline of body disk between nuchal and tail thorns. This stingray was admitted at the Veterinary teaching hospital, Mahanakorn University of Technology, in order to diagnosis for pregnancy accordingly of the presenting manifestations and history described by the owner. The stingray was maintained in a plastic tank containing of freshwater with aeration supplied. Before imaging examinations were carried out, disk width (DW) of stingray were recorded as 30 cm DW. A vitality and behavior of this stingray were routinely monitored by attending veterinarians during the examination.

In this study, diagnosis of pregnancy in *Potamotrygon* sp. was performed using two different techniques. By using X-ray imaging, firstly, a half of maintained water in the tank was emptied for better exposure of animal that ventrally lied down on the tank. Thereafter, the stingray was radiographically

exposed for a short time using a portable X-ray machine (X-prime[®], Diagnoshe X-ray unit model vet-203T, POSKOM, Korea) with digital radiography by adjusting of radiation doses of 40 kV, and 4 mAs, respectively, with radiation focusing distance of approximately 75 cm. Subsequently, radiographic image of X-ray exposing area of stingray was evaluated by using X-ray imaging reading program (IM3[®], CR 35 VET win) in the computer.

To differentiate the overall structure of the protruding area at the dorsal midline of *Potamotrygon* sp., other imaging technique, the ultrasound machine (Sonoscope[®] A6) was used in this study. First of all, maintained water in the tank was emptied until the affected area was emerged. The position of stingray to be diagnosed by ultrasound was the same as X-ray imaging. During the examination, a coupling gel was applied to the affected area and then the linear transducer was located that area. The frequency of ultrasound that applied to that area was adjusted to 5-7 MHz for the optimum resolution of image (Daochai, et al., 2016). The result of ultrasound that showed on the monitor screen was recorded for later analysis and interpretation of the findings.

Treatment and outcome

The results obtained refer to the diagnosis of pregnancy in a freshwater stingray of genus *Potamotrygon* sp. by using two conventional radiographic and ultrasonographic imaging techniques. The general morphology of stingray (fig. 1 A) and an overview of skeletal structures at craniothoracic region and pelvic region were revealed by X-ray (fig. 1 B). From the radiographic image, several skeletal structures at craniothoracic region were visible as radiographic opacity including hyomandibular arch, hyomandibula, gill arch, cervicothoracic synarcual, thoracolumbar synarcual and vertebrae, pectoral girdle, and pectoral fin. In the pelvic cavity,

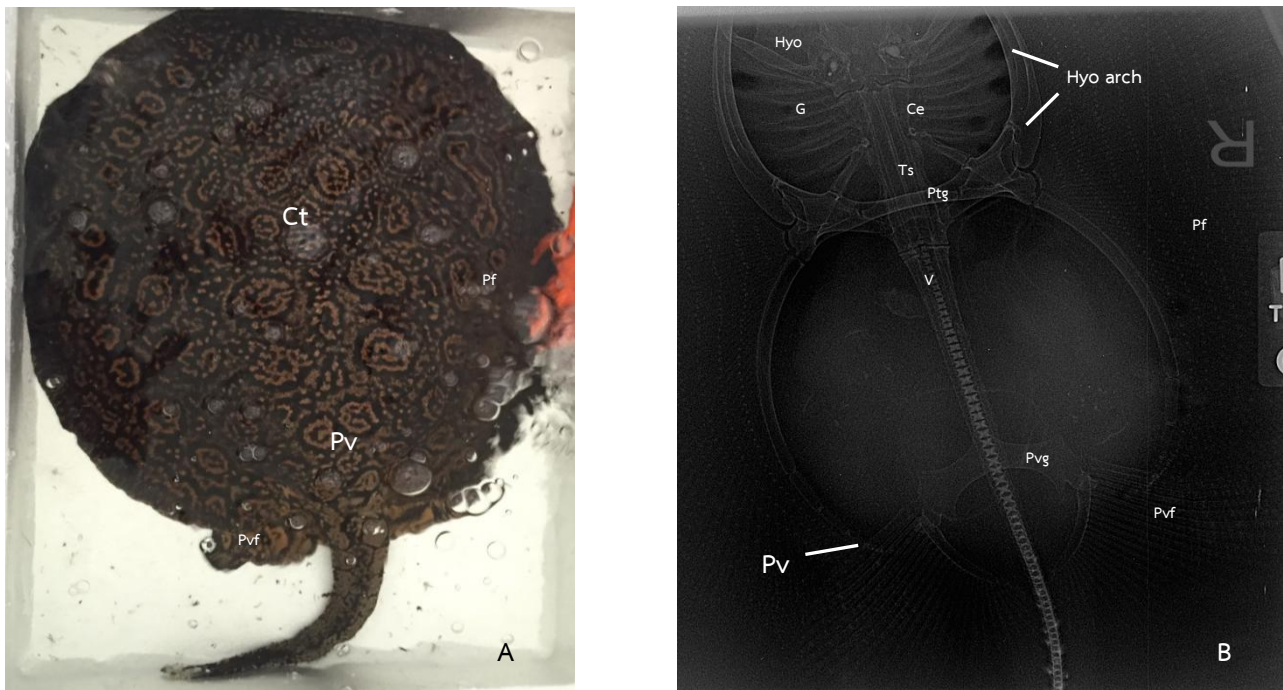


Figure 1: Dorsal view of pregnant stingray (A) and radiographic image (B). Abbreviations: Ct, craniothoracic region; Pv, pelvic region; Pf and Pvf, pectoral fin and pelvic fin; Hyo arch, hyomandibular arch; Hyo, hyomandibula; G, gill arch; Ce, cervicothoracic synarcual; Ts, thoracolumbar synarcual; Pg and Pvg, pectoral girdle and pelvic girdle; V, vertebrae.

additionally to pelvic girdle and fin were revealed, more opacity of dense mass between the vertebrae of lumbosacral region was observed (fig. 1 B).

Ultrasound was performed on pregnant stingray at lumbosacral area (dashed line, fig. 2 A) during gestational month. Hyperechoic area of independently movement fetus was confirmed in pregnant stingray by visually documenting of fetal wing

and respiratory activity. Pregnant stingray was observed carrying of approximately one to three pups (white circle, fig. 2: B and C). There appeared to be fetal tissue within their uterine horns (Fig. 2), however, physical structures such as wing or oral cavities could not be clearly identified.

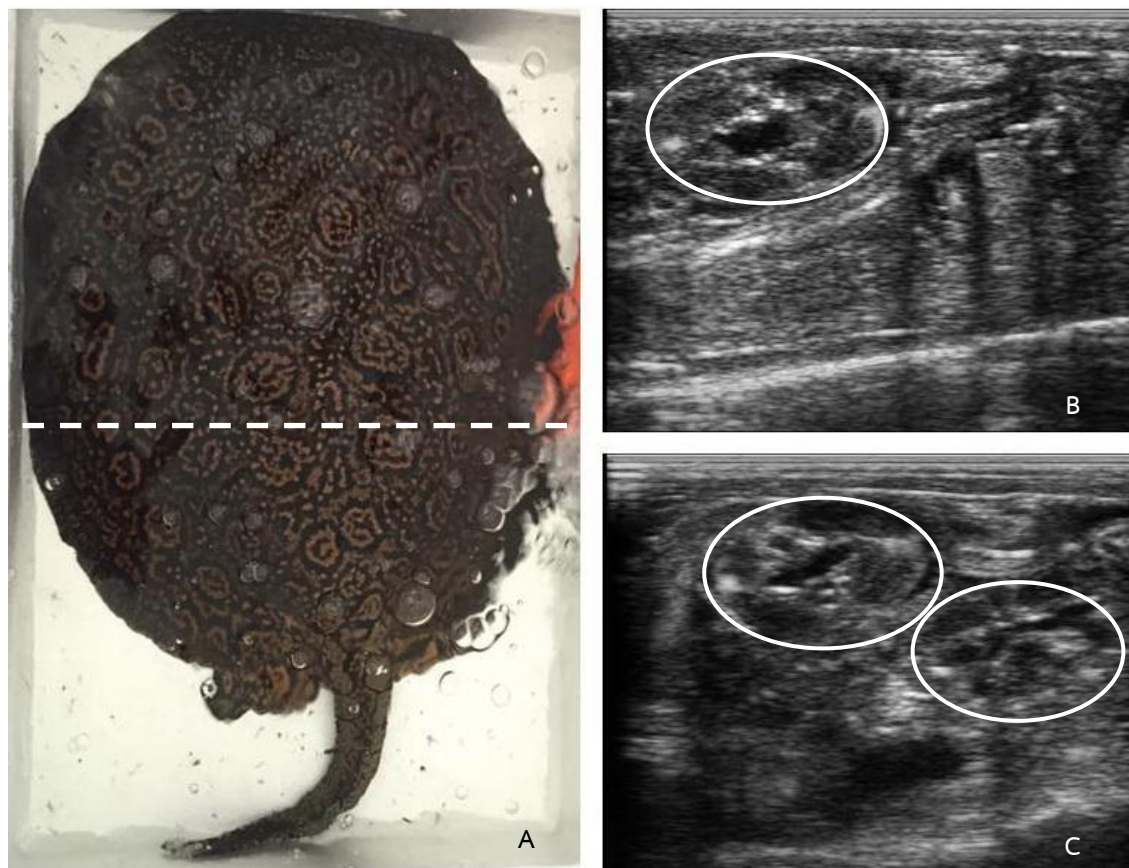


Figure 2: The posture of pregnant stingray and a plane of ultrasonographic examination (dashed line) (A). Ultrasonographic images (B and C) showed hyperechoic area of independent fetal movement (white circle).

Clinical reverent

Eventually, after about 2 weeks post physical examination, pregnant stingray gave viable 2 females pups: 10 cm DW, 1 male pup: 7.6 cm DW and aborted 1 male. Diagnosis of pregnancy in this *Potamotrygon* sp. was performed using two different techniques. The ultrasonographic images revealed more information about pups in uterine tract when they were compared with radiographic image. Calcification of skeletal structure in domestic animal begins about 44 days of gestation (Concannon *et al.*, 1989; Concannon and Rendano, 1983; Allen and Meredith, 1981; Toal et al., 1986). To achieve clear radiographic Image, mineralization of foetal skeletal must be presented, in elasmobranch, this process could be not strongly processed. Distance of radiologic exposure influences on clear imaging diagnosis. Water level and air layer

between x-ray machine and pregnant fish could reduce the intensity of X-ray beam, which possibly effect to visibility of image. In conclusion, from these two diagnosis technique, ultrasonographic technique is recommended for pregnancy diagnosis practice in freshwater stingray.

Acknowledgement

We thank Dr.Teerapol Chinkangsadan, Sittichai Srikitiwasiyanykoon, Disorn Sanorsumnieng and Nutnaree Kunanusont, attending veterinarian for their excellent technical support.

References

1. Allen, W.E. and Meredith, M.J. 1981. J Small Anim Pract. 22: 609.
2. Charvet-Almeida P, et al. 2005. J Northw Atl Fish Sci. 35: 165-171.

3. Concannon PW, et al. 1989. J Reprod Fertil Suppl. 39: 3–25.
4. Concannon, P.W. and Rendano, V. 1983. Am J Vet Res. 44: 1506–11.
5. Daochai C, et al. 2016. Thai J Vet Med Suppl. 46: 329 – 330.
6. Ng HH, et al. 2010. Biol Invasions. 12: 2385.
7. Shibuya A, et al. 2010. Neotropical Ichthyology. 8(4): 867-876.
8. Root Kustritz, M.V. 2005. Theriogenology. 64: 755–765.
9. Toal RL, et al. 1986. Vet Rad. 27: 102–8.

Prevalence and Risk factors of Gastrointestinal Helminth in Extensive Swine Husbandry

Apiradee Intarapuk^{1*} Pornthip Chompook² Orasa Suthienkul²

¹Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology, Bangkok

²Faculty of Faculty of Public Health, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathumthani

*Corresponding author: aintarapuk@hotmail.com

[Introduction] As consequence of the benefits of using developed criteria for the swine husbandry standards, the gastrointestinal helminth infections in pigs have been dramatically decreased among commercial swine farms. However an extensive farming can be defined as any swine husbandries that allowed pigs wander around a village or community and keep in small pig numbers being closely associated with the residence of the famers. Due to extensive pig farming in Thailand even around the border areas of Bangkok, there existed in some commercial swine farms or around human. The public health issues and concerns are raised to address the disease ecology and epidemiology as well as to determine the extent to which gastrointestinal helminth infections can pose the risks for human and animal health problems. The infections that possibly occurred in pigs from both intra- and inter-husbandries remain undocumented. The present study aimed to determine the prevalence and risk factors of gastrointestinal helminthes in extensive swine husbandries from the border areas of Bangkok, as well as to explore the extent of the gastrointestinal health risks and the solutions that apply for the prevention and control.

[Materials and methods] The 20 extensive swine farms at the border areas of Bangkok, which were registered to the Department of Livestock Development were surveyed. Farmers were interviewed for husbandries. Fecal samples were randomly collected from 5 to 10 grower pigs/farm with 2-7 months old. Gastrointestinal helminthic eggs and larva in fecal samples were identified by direct fecal smear and formalin-ether sedimentation methods. Risk factors were evaluated by the Logistic regression at 95% of confidential interval.

[Results] Gastrointestinal helminth infection was detected in 9 farms (45 %) or the 25 out of 124 pigs (20.1%). Single infection was found in 16 pigs (64%) and 9 pigs (36%) were co-infestation. The parasitic prevalent rates were 10.5% for *Strongyloides* spp., 9.7% for Strongyle type egg, 3.2% for *Trichuris* spp., 2.4% for *Ascaris lumbicoides* and 1.6% for *Globocephalus* spp. The significantly associated factors of helminthic infections ($P < 0.05$) included the farm problem with pig gastrointestinal disease (OR = 11.8, 95% CI of OR = 1.35 - 103.34) and using some drugs exceptional anthelmintic and antibiotic drugs within farm (OR = 128, 95% CI of OR = 6.631 - 2470.9).

The Logistic Regression Model of associated factors of gastrointestinal helminthic infestation (GHI)

$$\text{Logit (GHI)} = -5.9 + 2.5 \text{ GI problem} + 4.9 \text{ Using other drugs}$$

[Discussion] The gastrointestinal helminthic prevalence was highly presented when compared with the previously prevalent reports from standardized swine farms. Many extensive swine husbandries around the world, for example Cambodia (Schar *et al.*, 2014), India (Yadav and Tandon, 1988), China (Weng *et al.*, 2005), Turkey (Uysal *et al.*, 2009), also reported high helminth infection rate. Most of the infected helminthes were soil-transmitted parasites that their distributed factors likely related to hygiene, farm management involved in feeding, water, pen cleaning or waste management, swine fecal contamination in water or environment, or anthelmintic administration in farms.

The study showed the 2 associated factors of helminthic infestation, pig diarrhea and drug usage. In the present study higher prevalence of nematode infection was found in normal pig group than in diarrheal pig group. It probably results from either some drug or other intervention utility in diarrheal pig farms. Some drugs utility, exceptional anthelmintic and antibiotic drugs, in farm indirectly indicated poor pig's health status that they could be induced easier helminthic transmission within the farms. The results of this study can enhance the awareness of coexistence without disease of human and extensive farming and be guideline to provide a strategic planning for helminthic prevention and control.

References

1. Schar, F., Inpankaew, T., Traub, R.J., Khieu, V., Dalsgaard, A., Chimnoi, W., Chhoun, C., Sok, D., Marti, H., Muth, S. and Odermatt, P. 2014. The prevalence and diversity of intestinal parasitic infections in humans and domestic animals in a rural Cambodian village. *Parasitology*. 63: 597-603.
2. Yadav, A.K. and Tandon, V. 1988. Nematode parasite infections of domestic pigs in a sub-

tropical and high-rainfall area of India. *Vet. Parasitol.* 31: 133-139.

3. Weng, Y.B., Hu, Y.J., Li, Y., Li, B.S., Lin, R.Q., Xie, D.H., Gasser, R.B. and Zhu, X.Q. 2005. Survey of intestinal parasites in pigs from intensive farms in Guangdong Province, People's Republic of China. *Vet. Parasitol.* 127: 333-336.
4. Uysal, H.K., Boral, Ö., Metiner, K. and Ilgaz, A. 2009. Investigation of Intestinal Parasites in Pig Feces That Are also Human Pathogens. *Turkie. Parazitol. Derg.* 33(2): 218-221.

Keywords: extensive farming, gastrointestinal

helminth, prevalent of helminth infestation, risk factor

Dengue Vector Abundance and the Impacts of Household-Level Practices in Environmental Cleaning in Narathiwat, South Thailand

Ornanong Boonklong¹ Adisak Bhumiratana^{2*}

¹Department of Mathematics and Statistics, Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Muang, Nakhon Si Thammarat

²Center of Ecohealth Education and Research (CEER), Faculty of Public Health, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathumthani

*Corresponding author: adisak.bhu@mahidol.ac.th

Abstract

Using GIS-based land-use map for the urban-rural division (the relative ratio of population density adjusted to relatively *Aedes*-infested land area), we demonstrated significantly independent observations of spatio-temporal distributions of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* vectors between Muang Narathiwat district (urban setting) and neighbor districts (rural setting) of Narathiwat, Southern Thailand, based on binomial distribution of *Aedes* vectors in key water-holding containers (water storage containers, discarded receptacles, miscellaneous containers, and natural containers). The distribution of *Aedes* vectors was influenced seasonally and spatially by breeding outdoors rather than indoors in all 4 key containers. Accordingly, both urban and rural settings elicited significantly seasonal (wet vs. dry) distributions of *Ae. aegypti* larvae observed in water storage containers ($P = 0.001$ and $P = 0.002$), natural containers ($P = 0.016$ and $P = 0.015$), whereas in rural setting, the significant difference was observed in discarded receptacles ($P = 0.028$) and miscellaneous containers ($P < 0.001$). Seasonal distributions of *Ae. albopictus* larvae in any key containers in urban setting were not remarkably noticed, whereas in rural setting, the significant difference was observed in water storage containers ($P = 0.007$) and discarded receptacles ($P < 0.001$). Moreover, the distributions of percentages of container index for *Aedes*-infested households in dry season

were significantly lower than that in other wet season; $P = 0.034$ for urban setting, and $P = 0.001$ for rural setting. More significantly, the independent observations by season and study setting showed household-level practices in environmental cleaning influenced significant reduction of *Ae. aegypti* larval abundances, especially in dry season, in water storage containers and miscellaneous containers, but not in discarded receptacles, regardless of indoor or outdoor distributions. Findings suggest that the higher urban-rural gradient, the greater the risk of spatio-temporal distributions of *Aedes* infestation in those key containers in human inhabitations and surroundings.

Keywords: *Aedes aegypti*, Dengue vectors, household-level practices in environmental cleaning (PEC), Spatio-temporal distribution, water-holding containers, urban-rural gradient

Susceptibility Test of *Mansonia uniformis* in Borai District, Trat Province, Thailand

Suntorn Pimnon^{1,*}, Yupin Worachat², Wanapa Ritthison³ and Adisak Bhumiratana⁴

¹Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Public Health, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

²Vector Borne Disease Control Center 2.3 Trat, 23000, Thailand

³Office of Disease Prevention and Control 6, Chonburi 20000, Thailand

⁴Center of Ecohealth Education and Research (CEER), Faculty of Public Health, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathumthani 12121, Thailand

*Corresponding author: suntorn.pim@mahidol.ac.th

[Introduction] Mosquito species of the genus *Mansonia*, subgenus *Mansonioides*, are vectors of lymphatic filariasis in Thailand (Apiwathnasorn C.et.al., 2016). Six species in this subgenus have been shown to be natural vectors of lymphatic filariasis (WHO, 1984). The malaria transmission control area (MTA), Dan Chumphon Subdistrict, and the non-MTA, Bo Phloi Subdistrict were included in the national malaria control program. Some insecticides have been utilized for reducing mosquito vectors and they may impact on malaria vectors and the other mosquito as *Mansonia* spp. The study objectives were to survey and analyze geographical distribution of *Mansonia* mosquitoes and to determine their feeding habitat, and *Ma. uniformis* mosquitoes were testified for insecticide susceptibility.

[Materials and Methods] Some adult female mosquitoes were collected by human bait approach at both indoor and outdoor during 18:00 to 22:00 pm. The study was processed in August and November 2015. The *Ma.uniformis* mosquitoes were individually examined for the taxonomic identification under stereo microscope for insecticide susceptibility test (Pimnon S. et al., 2012). Two insecticides were used in susceptibility testing including 0.05% deltamethrin and 0.09% bifenthrin coated on insecticide-treated test papers as recommended by WHO and following standard testing procedures and exposure times (Ritthison W. et al., 2014.)

[Results] In August, the results showed that the *Ma. uniformis* mortality rate from deltamethrin and bifenthrin were 92% and 98%, respectively. As well as the mortality rate showed 92% from deltamethrin and 80.3% from bifenthrin in November. All mosquitoes had been alive in the untreated control over 24 hours holding period for all paired tests.

[Discussion] Synthetic pyrethroids are currently the insecticides of choice for malaria control in Thailand. The monitoring of bifenthrin and deltamethrin resistance has been suggested. Evaluation program knowledge of vector/pest susceptibility to pesticides, changing trends of resistance and their operational implications are basic requirements to guide pesticide use in vector-borne disease and pest control programs.

References

1. Apiwathnasorn C, et.al., 2016. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 37: 279-82.
2. Pimnon S, et al. 2012. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 46: 538-545.
3. Ritthison W, et al. 2014. J. Vector Ecol. 39(1): 32-43.
4. World Health Organization. 1984. World Health Organ Tech Rep Ser. 702: 8-12.

Keywords: susceptibility test, *Ma. uniformis*, insecticides

Table 1. Susceptibility test of *Mansonia uniformis* for Deltamethrin and Bifenthrin

Sample source collection/insecticide	Control		Test			
	Total number of each trial	No. of deaths (%) mortality)	Total number of each trial	No. of deaths mortality	Observed mortality (%)	Corrected mortality (%)
August						
Deltamethrin, 0.05%	10	0	50	46	92.0	ND
Bifenthrin, 0.09%	10	0	50	49	98.0	ND
November						
Deltamethrin, 0.05%	25	0	50	46	92.0	ND
Bifenthrin, 0.09%	25	0	61	49	80.3	ND

ND – not done.

Figure 1. Insecticide susceptibility test of *Mansonia uniformis*



โรคโคลิแกรนูโลมา ในนกขุนทอง: รายงานสัตว์ป่วย

ณัฐ กายสอน

โรงพยาบาลสัตว์เลี้ยงพรีเมียร์

*ผู้รับผิดชอบบทความ : nutguysonkoolme@gmail.com

บทนำ

โรคโคลิแกรนูโลมา (Coligranuloma หรือ Hjaree's disease พบครั้งแรกในปี 1945 (Sojka et al. 1965) มีโอกาสพบได้น้อยในนกเลี้ยง สาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* แบคทีเรียแกรมลบ ที่มีคุณสมบัติ non-acid fast non-spore forming bacillus การติดเชื้อ *E.coli* สามารถเกิดขึ้นได้ทั่วไปและพบได้ทุกช่วงอายุในสัตว์ปีก ปัจจัยการเกิดโรคมีความสัมพันธ์กับสุขอนามัยในการเลี้ยงสัตว์ โดยส่วนใหญ่มักเกิดจากการขาดการดูแลจากเจ้าของ อาการที่พบคือ โลหิตเป็นพิษ ซึม เบื่ออาหาร การเจริญเติบโตช้า ผอม ในลูกสัตว์ที่เพิ่งฟักอัตราตายสูง ซึมและพบการอักเสบของสะดือ (omphalitis) ในสัตว์ช่วงอายุอื่นๆ พบการติดเชื้อของระบบหายใจ หายใจลำบาก ร้องเสียงประหลาด ลูกตาบวม และเลนส์ตาขุ่น การติดเชื้อระบบทางเดินอาหารทำให้ช่องท้องอักเสบ ท้องร่วง อุจจาระสีเขียวปนเหลือง ทวารรวมเปื้อน การติดเชื้อที่ข้อทำให้ข้ออักเสบ (arthritis) ถ้าติดเชื้อที่ระบบสืบพันธุ์ทำให้ท่อน้ำไข่อักเสบ (salpingitis) สัตว์ไม่ยอมไข่ พบรอยโรค ของถุงหุ้มหัวใจอักเสบ (pericarditis) ผื่นขึ้นนอกหัวใจอักเสบ(epicarditis) ถุงลมอักเสบ(air sacculitis) ตับคล้ำ ลำไส้อักเสบ (enteritis) ผิวหนังอักเสบ (cellulitis) นอกจากนี้เชื้อ *E. coli* ยังทำให้เกิดโรคโคลิแกรนูโลมาพบก่อนแกรนูโลมาที่อวัยวะ ภายใน เช่น ตับ ม้าม ลำไส้ และบริเวณหัว โดยจะอยู่บริเวณใต้ผิวหนังมีลักษณะเป็น Serofibrous polyserositis ส่วนใหญ่สัตว์ที่ป่วยจะผอมแห้ง ซึม และตาย (Swayne et al., 2013)

ประวัติสัตว์ป่วย

นกขุนทอง (ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Common hill myna*) อายุ 10 ปี เจ้าของพามาด้วยอาการพบก้อนเนื้ออกบริเวณเปลือกตา ข้างขวาของนก

การรักษา

หลังจากตรวจประเมินร่างกายสัตว์และลักษณะเนื้องอก พบว่ามีก้อนเนื้อลักษณะแข็ง จึงได้วางยาเพื่อผ่าตัดก้อนเนื้องอกออก



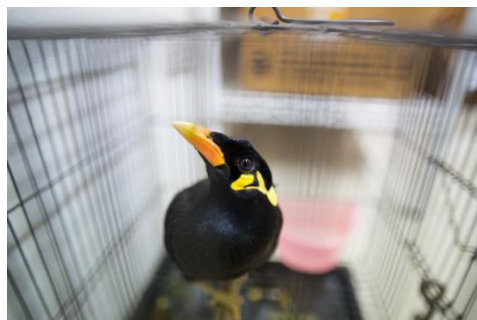
รูปที่ 1. รูปภาพขณะวางยาสลบของนกขุนทอง

การวางยาสลบ

นำสลบด้วยยา Isoflurane 5% และ Maintenance ด้วย Isoflurane 3% (รูปที่ 1) ให้ยาปฏิชีวนะด้วย Marbofloxacin (20 mg/ml) ขนาดยา 4 mg/kg เข้าทางใต้ผิวหนังต่อเนื่อง 7 วัน ให้ยาระงับความเจ็บปวดในกลุ่ม NSAID ด้วย Tolfenamic acid (40 mg/ml) ขนาดยา 4 mg/kg เข้าทางใต้ผิวหนังต่อเนื่อง 3 วัน

การผ่าตัด

จัดท่านกให้อยู่ในท่านอนตะแคง โดยให้ลำตัวทางด้านซ้ายลงบนโต๊ะผ่าตัดเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับผ่าตัด หลังผ่าตัด สัตวแพทย์ได้เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อแช่ในสารละลายฟอร์มาลิน 10% แล้วส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ณ เวทแอนด์วิทโทร เซ็นทรัลแลป แผลผ่าตัดหายดี และตัดไหมภายใน 7 วัน และไม่มีอาการแทรกซ้อน (รูปที่ 2)

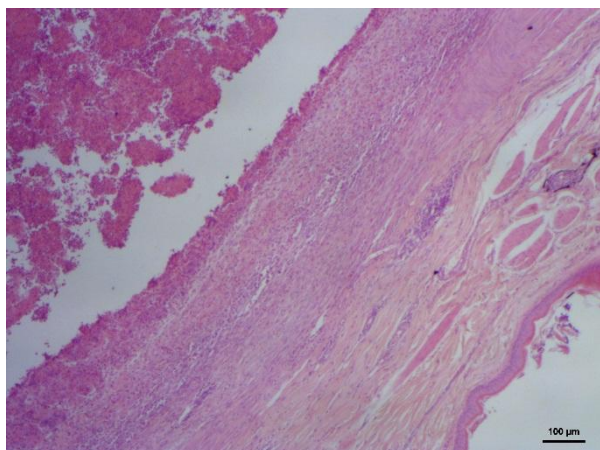


รูปที่ 2. ภาพหลังการผ่าตัดของนกขุนทอง

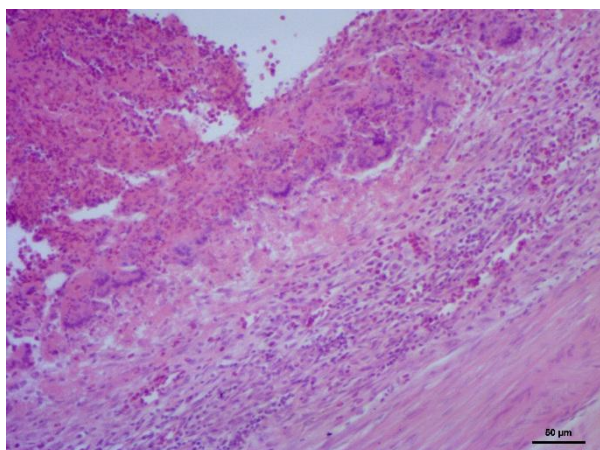
ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

ผลการตรวจชิ้นเนื้อทางจุลพยาธิวิทยาพบว่า มีลักษณะดังต่อไปนี้

- The large granuloma composed of thick fibrous tissue and inflammatory cells around the central necrotic exudates (รูปที่ 3 และ 4)
- The multinucleated giant cells present between the fibrous tissue and necrotic exudates (รูปที่ 5)



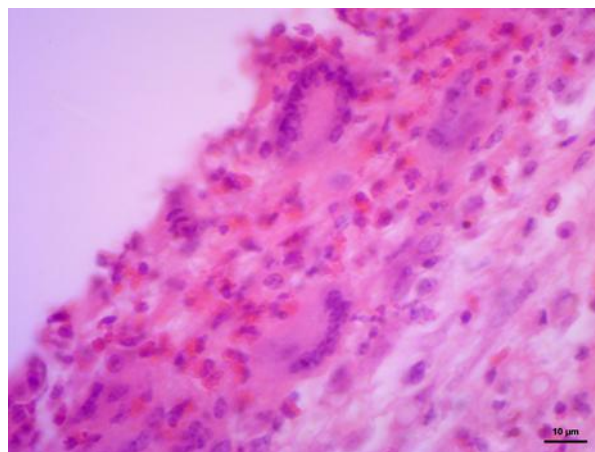
รูปที่ 3. ลักษณะจุลพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อที่ทำการผ่าตัด



รูปที่ 4. ลักษณะจุลพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อที่ทำการผ่าตัด

ความสำคัญทางคลินิก

โรคโคลิแกรนูโลมา (Coligranuloma หรือ Hjaere's disease) คือก้อนแกรนูโลมาที่เกิดจากเชื้อ *E.coli* พบได้ในนกที่โตแล้ว พบส่วนใหญ่ในเป็ด ไก่ ไก่วง การเกิดก้อนเนื้อบริเวณเปลือกตามี



รูปที่ 5. ลักษณะจุลพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อที่ทำการผ่าตัดที่สามารถพบได้ในกรณีของ Coligranuloma ที่พบได้ในนก (Swayne et al., 2008)

โอกาสพบได้น้อย อาการที่สัตว์แสดงออกคือ ซึม น้ำหนักลด โลหิตจาง เป็นหลัก โดยปกติการตรวจร่างกายสัตว์จะพบก้อนแกรนูโลมาบริเวณเยื่อぶลำไส้และตับ โดยสามารถพบได้ทั้งขนาดเล็กและใหญ่ การวินิจฉัยการติดเชื้อ *E.coli* ทำได้โดยการชักประวัติ ตรวจดูอาการและรอยโรค และการวินิจฉัยจากห้องปฏิบัติการ การวินิจฉัยแยกจาก ก้อนเนื้อและมะเร็งการรักษามีการทดสอบความไวรับต่อยาปฏิชีวนะ (Sensitivity test) ยาที่แนะนำใช้ในการรักษา คือ ยาในกลุ่ม Quinolones , Streptomycin, Ampicilin, Tetracycline และ Sulfonamides (Chauhan et al., 2007) การป้องกันและควบคุมโดยการดูแลเรื่องสุขอนามัยในการเลี้ยงสัตว์ ทำความสะอาดกรงเลี้ยง ให้อาหารและน้ำที่ใหม่และสะอาด การควบคุมเรื่องอุณหภูมิ ความชื้นและการระบายอากาศที่ดี

เอกสารอ้างอิง

1. Sojka WJ, et al. 1965. *Escherichia coli* in domestic animals and poultry. pp. 1- 158.
2. Chauhan HVS, et al. 2007. *Poultry Diseases: Diagnosis and Treatment*. pp. 29-32.
3. Swayne David E, et al. 2008. *Disease of Poultry*. 12th edition: Chapter 18. pp. 691-716.

คำสำคัญ: coligranuloma, นกขุนทอง

A Case Report of Canine Systemic Atherosclerosis

Suvarin Pavasutthipaisit^{1*}, Hassadin Boonsriroj¹ and Kolif Malaya²

¹Department of Veterinary Pathology,

²Clinic for Small Domestic Animal,

Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology,

140 Cheum-Sampan Rd., Nong Chok, Bangkok 10530 Thailand

*Corresponding author: suvarin@mut.ac.th

[Introduction] Atherosclerosis is a vascular disease defined as thickening of inner arterial walls associated with lipid deposits result to losing of vascular elasticity. The coronary atherosclerosis is the most common cause of death in human. Nevertheless this vascular disease is rarely occurs in dogs. Several reports of dog breeds risk for atherosclerosis such as Miniature Schnauzer, Labrador Retrievers, Rottweilers, Doberman Pinschers, Golden Retriever and German Shepherd [1, 2, 4, 5]. The risk of atherosclerosis in domestic carnivores has also been correlated with hypercholesterolemia results from endocrinopathies such as hypothyroidism, hyperadrenocorticism and diabetes mellitus [1]. The other conditions have been linked also include hypertension and glomerulonephropathies [2]. However, the incidence of prostatic carcinoma concurrence with systemic atherosclerosis has never been reported in dogs. Therefore, the aim of the present case study is to demonstrate the incidence of systemic atherosclerosis with hypothyroidism, glomerulonephropathy, myocardial ischemia and prostatic carcinoma in an aged intact male mixed breed dog.

[Materials and Methods] A 12-year-old, intact male Shih Tzu mixed dog carcass with previous medical history of mild anemia, chronic inflammatory leukogram, mild azotemia, abdominal pain, dysuria and enlarged prostate gland was submitted to Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center for postmortem investigation. The tissue specimens were collected and fixed in 10% neutral buffered formalin.

The collected tissues were processed then embedded in paraffin wax and sectioned with 4 micron-thickness. Tissue sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E).

[Results] At necropsy, the carcass was in mild obesity nutritional stage. In oral cavity revealed necrotizing ulcerative gingivitis. The heart presented with marked thickening of epicardial coronary arteries with yellow-white plaques. The cross section of coronary arteries was showed narrowed lumens surrounded by white yellow plaques in inner arterial walls. At left ventricle, marked thickening of mitral valve with pale yellow-white papillary muscles was found. The spleen was pale with multiple infarcts at periphery. The kidneys were presented with multiple white streaks in renal medulla and renal papillae. The gastrointestinal tract showed with segmental intestinal hemorrhage with diffuse thickening of yellow-white intestinal vessels. The prostate gland was marked enlarged with central necrosis. Mild hepatomegaly with white foci was observed. Pulmonary edema and congestion with right caudal lobe sink in formalin. Other organs were no remarkable lesions. Histopathologically, the arterial lumens were narrowed and the inner section of arterial walls were thickening by deposits of amorphous eosinophilic materials, cholesterol clefts, foamy macrophages and mineralization especially in tunica intima and some in tunica media. This evidence of arterial wall was identified in multiple organs include heart, spleen, liver, kidney, lung, thyroid gland, and prostate gland. In atrium, multifocal loss of

myocytes with amorphous eosinophilic materials replacement was observed. Loss of colloid in thyroid gland was found and only remaining compact mononuclear cells. Interstitial fibrosis, thickening of basement membrane of Bowman's capsules and calcification were detected. The prostate gland was diagnosed as prostatic carcinoma.

[Discussion] The histopathological alteration in this case showed that the atherosclerosis has been associated with myocardial necrosis suggested that reduced in blood supply lead to myocardial perfusion insufficiency which may cause tissue hypoxia [3]. In previous report suggested that atherosclerosis in human usually associated with higher serum of C-reactive protein which is an inflammatory marker, this condition was found in Miniature Schnauzer dogs which have also in high risk of atherosclerosis [4]. The marked thyroid atrophy in this case cause hypothyroidism which may lead to quickly changing in plasma lipoprotein and elevated serum cholesterol levels [2, 3]. The composition of amorphous eosinophilic materials in the tunica intima of arterial walls might be hyaline deposits which usually seen in aged human, this character also known as hyaline atherosclerosis. Moreover, in hypertensive patients with atherosclerosis usually increased more severity, generalized atherosclerosis and increased hyalinosis especially in coronary arteries [4]. The glomerulonephrosis in this case might be associated with hypertension which may increase the risk of atherosclerosis as in human [2]. The prostatic carcinoma may associated with the insufficiency of blood supply due to atherosclerosis which cause tissue hypoxia and increase the oxidative cellular damage as in human, this consequence might lead to the mutation of oncogenes [6]. In Summary, this case suggests that the systemic atherosclerosis has also

been associated as a consequence with hypothyroidism and glomerulonephropathy. The myocardial necrosis and prostatic carcinoma have been associated as resulting from atherosclerosis.

[Acknowledgements] The authors are grateful to all staffs of Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center (MVDC) and Mahanakorn University of Technology (MUT) for financial support and technical support.

References

1. Boynosky, N.A. and Stokking, L. 2014. Can Vet J. 55: 484-488.
2. Hess RS, et al. 2006. Intern J Appl Res Vet Med. 4(3): 224-231.
3. Sako T, et al. 2001. Vet Pathol. 38: 407-413.
4. Williams, KJ. 2003. Vet Pathol. 40: 695-697.
5. Wong VM, et al. 2009. Vet Clin Pathol. 38 [supplement]: E11.
6. Hager M, et al. 2006. Journal Compilation. 99: 46-48.

Keywords: atherosclerosis, dog

Renal Dysplasia as a Predisposing Cause of Osteorenal Syndrome in an African White Lion (*Panthera leo krugeri*): A Case Report

Thanongsak Mamom^{1*} and Rattarin Phatcharakullawrawat²

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

²Mild Pets Animal Hospital
169/10-11 Kheha Rom Klao Rd., Lad Krabang, Bangkok 10520 Thailand

*Corresponding author: thanonsa@mut.ac.th

[Introduction] Renal dysplasia is disorganized abnormal growth pattern of renal parenchyma due to defective interaction of ureteric bud and metanephric blastema [1]. It has been reported in young companion, food and wild life animals [2-6]. The consequences of renal dysplasia were reported in dogs as a predisposing cause of renal failure [7].

The aim of this study is to report the occurrence and clinicopathological finding of renal dysplasia in association with renal azotemia and osteorenal syndrome in a juvenile african white lion (*Panthera leo krugeri*).

[Materials and Methods] A carcass of a young african white lion (*Panthera leo krugeri*) was submitted for investigation. *Retrospective clinical data collection:* The history taking was performed and animal data including age, sex, clinical signs and previous treatment were retrospectively collected from the patient's record of the animal hospital. *Necropsy examination:* Necropsy examination was performed and necropsy findings were recorded. A certain fresh tissue samples were collected for microbiological examination. Small pieces of tissues including kidneys, liver, spleen, lung, heart, thymus, gastrointestinal tract, pancreas, adrenal glands, and abdominal fat were collected and fixed in 10% phosphate buffered formalin for histopathological study. *Histopathological examination:* Briefly, the tissues were processed

through the series of alcohols, xylene, infiltrated and embedded in paraffin, sectioned using microtome, stained with hematoxylin and eosin (HE) and mounted with Permount® and cover glass. *Data analysis:* The tissue slides were then examined under light microscope (Axiostar, Zeiss, Germany). All data from clinical and necropsy records and histopathology examination were analysed and discussed.

[Results] *Retrospective clinical data:* The animal was nine-month-old female captive african white lion (*Panthera leo krugeri*) belonging to a local animal park in Bangkok Metropolitan. It had a history of long standing increase in serum creatinine (more than 3 mg/dL) since three months of age until died. The animal accidentally had left upper hind limb fracture at the age of three months. A clinical diagnosis of ricket was made according to the low serum calcium level and thin long bone observed from the radiographic examination. Orthopedic surgery to correct long bone fracture was performed and wound dehiscence was later on observed. After several months of unsuccessful supportive and specific treatment, the animal died. *Necropsy findings:* The carcass revealed poor nutritional stage, presence of surgical wound dehiscence with secondary purulent inflammation and disseminated microabscesses throughout abdominal cavity. The kidneys were pale in cortex and medulla and the ratio of cortex to medulla

was slightly decreased. Caseous and purulent exudate was found in renal pelvis as well as in urinary bladder. The brain and bones were not examined. Other organs showed no remarkable finding. *Histopathological findings:* Severe congestion was observed in liver with cloudy swelling and dissociation of most hepatocytes. Congestions of spleen and gastrointestinal mucosa were detected. Multiple microabscesses in both sides of kidney, pancreas and abdominal fat were found. Kidney lesions characterized by dysorganization of renal tubules, small glomeruli, decrease number of glomeruli and interstitial accumulation of mesenchymal cells were seen. Calcifications were detected in skin, stomach, kidney, lung and heart. Other organs showed no significant microscopic findings. The diagnosis of bilateral renal dysplasia predisposed to renal failure and osteorenal syndrome was made.

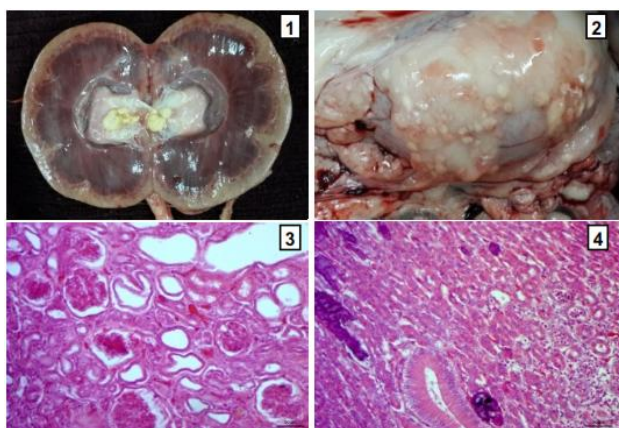


Figure 1-4. Some gross and histopathological findings from this animal. Fig. 1: Pale renal cortex, discoloration of corticomedullary junction and accumulation of cheesy material at renal pelvis. Fig. 2: Multifocal fat necrosis and steatitis at retroperitoneal fat. Fig. 3: Disorganized renal tubules with dilatation of tubular lumens, small glomeruli. Fig. 4: Metastatic calcification at gastric mucosa.

[Discussion] The predisposing cause of bone fracture in this lion cub is certainly due to ricket. Ricket is metabolic bone disease found in young animals. The common cause is due to calcium and/or vitamin D

deficiency. In this animal, nutritional cause of ricket had been suspect but the animal responded poorly following calcium supplement. Juvenile renal failure was also diagnosed clinically according to the long-standing increase in serum creatinine. Histopathological diagnosis of bilateral renal dysplasia is most likely the cause of renal azotemia/renal failure in this african white lion cub. Generally, the renal function to convert vitamin D into active form was diminished in chronic renal failure. The affected animal could not be able to maintain normal serum calcium level due to poor calcium absorption from gut mucosa give rise to decrease serum calcium level. Bone abnormalities could be observed as the result of excessive bone resorption due to secondary hyperparathyroidism. The well known pathogenesis mentioned above can be adopted to explain the osteorenal syndrome observed in this lion cub. Multiple organ calcifications found histopathologically in this animal are the main evidence of metastatic calcification as a result of increase bone resorption due to secondary hyperparathyroidism. Renal dysplasia regards as a congenital abnormality of the kidney at the time of morphogenesis. In some animals such as puppies, renal dysplasia were detected in association with others congenital anomalies i.e. cleft palate and pulmonary hypoplasia [8]. Genetic cause of these abnormalities was documented in the literatures.

In conclusion, we report in this study, the occurrence of renal dysplasia in association with renal failure and osteorenal syndrome in a juvenile african white lion (*Panthera leo krugeri*). This finding is possibly genetic related abnormality and need to be more investigated, whether the inbreeding, the common cause of anomalies reported in captive wildlife animal, could be the main cause of renal dysplasia in this white lion cub or not.

[Acknowledgements] The authors would like to give a grateful thank to all colleagues and staffs of Necropsy and Histopathology Units, Mahanakorn Veterinary Diagnostic Center (MVDC) for good help and collaboration.

References

1. Picut, C. A. and Lewis, R. M. 1987. Vet. Pathol. 24: 156-163.
2. Akihara et al. 2006. Vet. Pathol. 43: 1010-1013.
3. Ikeyama et al. 2001. J. Toxicol. Pathol. 14: 309-312.
4. Dunhan et al. 1989. Vet. Pathol. 26: 94-96.
5. Anderson et al. 1989. J. Zoo Wildlife Med. 20(2): 221-224.
6. Mamom. T. and Supkaew, N. 2010. Proceedings of the 13th Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine (AITVM) Conference. pp. 179-180.
7. Brum et al. 2008. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60(5): 1084-1088.
8. Mamom, T. 2014. Proceedings of the 8th MUT Veterinary Annual Conference. pp. 36-37.

Keywords: renal dysplasia, white lion, pathology, renal failure

Pathological Alterations of Livers and Kidneys After Application of Clove Oil as Anesthetic Agent in Siamese Fighting Fish *Betta splendens*

Waristha Angsirijinda^{1*} and Kingkaew Wattanasirmkit²

¹Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok, Thailand

²Yanawa, Bangkok, Thailand

*Corresponding author: waristha.a@hotmail.com

Abstract

The pathological alterations as the effects of clove oil in *Betta splendens* were studied. In this study, the clove oil concentration of 15 and 20 ppm were used to induce sedative effects whereas concentration of 30 and 40 ppm were applied to induce anesthetic effects. The results showed that pathological alterations of the liver demonstrate in moderated and severe degree in high dosed (30 and 40 ppm) group. The general lesions were fatty change and necrosis of hepatocytes. On the similar findings were observed in the kidney, but showed in moderated degrees. Additionally, dilatation of Bowman's space and necrosis of tubular epithelial cells were detected in most kidneys. The other pathological alterations were cellular swelling, and shrinkage of renal tubule.

On centenary with, clove oil exposed at dosed 15 and 20 ppm found less extent lesions in both liver and kidney. Only mild degree of hepatocyte swelling in some area of the liver was detected. The kidney of the fish exposed to concentrations of 20 ppm showed mild swelling of renal tubular epithelial cells, dilation of Bowman's space whereas tubular swelling was not seen in fish exposed to 15 ppm. In conclusion, little impact on the liver and kidneys was observed in this study especially after using clove oil in low doses. Thus, this study suggests that a low concentration of clove oil (15 and 20 ppm) is relatively safer for sedation in *B. splendens* due to less effect on liver and kidney. The result of this study is useful and might be an example of fish model in recognition of toxicity for anesthetic purpose by using *B. splendens*.

Key words: clove oil, *Betta splendens*, anesthesia, liver, kidney

Introduction

Clove oil is derived from the stems, leaves and buds of *Eugenia aromaticum*. This natural substance has beneficial properties such as antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammation and analgesic agents (Keene *et al.*, 1998). In traditional medicine, it has also been employed for centuries as a topical analgesic in dentistry. In North America, it is widely used as a herbicides for the control of weeds. Moreover, clove oil has recently been discovered as an effective fish anesthetic agent (Soto and Burhanuddin, 1995). The primary active ingredient of clove oil is eugenol, which comprises of 70-80% of its by weight of clove oil (Isaacs, 1983). The toxic effects of eugenol still have been reported in several animals. Manabe *et al.* (1987) reported that eugenol and related compounds produced a high affinity for plasma membrane because of their lipid solubility. Suzuki *et al.* (1985) found that eugenol induced superoxide production in neutrophils of Guinea pigs. Thompson *et al.* (1991) reported cytotoxicity effects of eugenol after exposure at concentrations of 1 mM in rat hepatocytes. Sladky *et al.* (2001) reported that high concentration of eugenol induced and caused high concentrations levels of carbon dioxide and glucose in the blood resulting in circulatory failure in Red Pacu (*Piaractus brachipomus*). The US National Toxicology Program (2000) reported that methyl eugenol, a component of clove oil, produced evidence of carcinogenicity in male mice at concentration of 3,000 ppm dietary for 103 weeks. In general, there is a relationship between dosages and toxic effect. The fish treated with higher concentrations experience more toxic effects than those treated with lower doses.

However, some tolerant fish did not demonstrate toxic effect (no-appearance effect). Therefore, several previous researchers have used histological studies to detect the toxic effects of

chemical exposure in animals in order to confirm the toxic effects that occur in their tissue. Presently, the impact of toxic effects on fish has also been reported by histopathological studies in several vital organs such as livers and kidneys. According to the liver is a target organ of toxic chemicals because it has a lot of blood supply and its function involves metabolism, biotransformation and storage of nutrients such as glycogen and lipid. In fish, the kidney performs an important function. It is a major site for clearing the blood by filtration and excretion of metabolic products. When the liver and kidneys are damaged, there is an effect on homeostasis and the survival of the organisms.

This study attempts to determine the optimum range of dosages of clove oil, in terms of safety and efficacy, by using histological examination. The concentrations which show less or no pathological lesions represent a minimal toxic or no toxic dose and that could be used for anesthetic purpose in fish species.

Materials and Methods

Fish supply and maintenance

Males fishes (*Betta splendens*) with the average weight of about 1g each were used (n=216). Each fish was placed separately in a two liter aquarium and was acclimatized for two weeks prior to the experiment. Fishes were maintained on a lighting regimen representative of the local natural environment (12L: 12D) and fed with commercial fish pellets (CP Company) twice daily at approximately 3-5% of their body weight. Tap water was filtered through carbon-resin filters, aerated, and finally used as holding water in this experiment. Fishes were fasted for 24 hours prior to the experiment.

Preparation of clove oil stock solution

Because of the incomplete solubility of clove oil in water, it will be initially dissolved in ethanol at a ratio of one part clove oil to 10 parts ethanol (Grush *et al.*, 2004). The maximum amount of ethanol used in any experiment is 400 ppm (0.04 %).

Experimental design

Our previous results revealed that, clove oil at concentrations five to 20 ppm was effective as sedative dosage whereas the concentrations of 30 to 50 ppm reached anesthetic within 48 hours. However, at five ppm, fish treated with clove oil reached sedation within eight to 48 hours, and 73% recovered to normal before 48 hours while all of fishes treated with concentration of 50 ppm reached anesthetic stage and 100% mortality rate occurred within two hours. From these reasons, the adjusted range of test concentrations in this experiment was from 10 to 40 ppm. In treatment groups, five sets of 2-L experimental aquaria were filled with five concentrations of test material to obtain concentrations of 10, 15, 20, 30 and 40 ppm, while another two aquaria were kept free of clove oil as controls. Twelve *B. splendens* were separately placed in the aquarium. After exposure times of 12, 24 and 48 hours of each group, four *B. splendens* were randomly collected for pathological study of the livers and kidneys.

Histological analysis

Histopathological analyses were performed using a light microscope and Image-Pro Express analysis software. Approximately 20 serial sections of the liver and kidney were produced from each fish for analysis. According to Zodrow *et al.* (2004) and Frías-Espericueta *et al.* (2009), the histopathological lesions were determined based on severity of changes

compared to control sections. The degree of histological damage observed in each treatment were scored according to the percentage of the total fields with histological damage found per the total observed in the four samples of each treatment (- = no tissue damage in any field on the slides, + = mild histopathological damage presented <25% of the fields on the slides, ++ = moderate damage presented >75% of the fields on the slides; and +++ = all fields of the slides displayed severe damage compared to the control sections). The experiment protocol was submitted to animal care and use committee (CU-ACUC), Protocol Review No. 1123002.

Results

Effects of clove oil on liver

Control fish

Normal hepatocytes have nuclei with disperse chromatin concentrated close to the nuclear membrane and one or more nucleoli. The nucleus of hepatocytes is generally a single, centrally located, spherical nucleus with a clear, dark nucleolus. Binuclear cells have been observed in normal liver cells. The cytoplasm of these cells is granular and vacuolated. The hepatocytes are arranged as irregular cord-like structures in histological sections, which are limited by sinusoids at basal side and canaliculi at the apical side and sinusoid at the basal part of cell (Figure.1).

Treated fish

Treated groups showed several lesions. The most common changes at sedative doses were cloudy swelling hepatocytes but the liver architecture was intact with normal capsule. The highest degeneration was found at anesthetic doses of clove oil. The shape of hepatocytes became irregular, many nuclei

exhibited shrinkage and pyknosis. The scores of liver lesions after exposure to clove oil is shown in Table 1.

In liver of exposed fish, structural alterations of hepatocytes occurred mostly around blood vessels and sinusoids. The histopathological evidence in liver of fish exposed with anesthetic doses of clove oil shown in moderated and severe degree. The general lesions were fatty change with lipid vacuole fusion and necrosis.

At anesthetic concentration of 40 ppm, the exposed liver showed cellular swelling and mild dilation of blood vessels, whereas lipid droplets accumulation and necrosis were detected in moderated degree. Cellular swelling was also occurred in hepatocytes of exposed fish of both anesthetic doses. Moreover, the pattern of lesion was found in all specimens.

Lipid droplets accumulation, a very large vacuoles were often seen in the cytoplasm and compressed the nuclei to the periphery of the hepatocytes (Figure 1E). These results indicated that fish expose to dosages of 40 ppm had more distinct vacuolated hepatocytes. Other evidence showed in a degenerative process of nuclei. There are many regions in the liver where hepatocytes had loss of cytoplasmic contents and had irregular shapes and pyknotic nuclei (necrosis) (Figure 1F). At concentration of 30 ppm, moderate degrees of hepatocyte swelling and necrosis were observed. Other alterations such as dilated sinusoid and fatty changes of hepatocytes in some areas were also detected but in mild degrees. Mild degeneration of hepatocytes exhibited in fishes at sedative doses. The general lesions of fish exposed to 15 and 20 ppm exhibited only mild cellular swelling in some area of the liver. (Figure 1 B-C). However, other lesions were absent in fish exposed to the concentration less than 10 ppm.

Effects of clove oil on kidney

Control fish

The histology of both control groups showed normal appearance of nephrons and hemopoietic tissues. The structural details of the kidney of control groups were shown in figure 2.

Experimental groups

Treated groups showed several lesions. The most common kidney changes at sedative doses were tubular swelling. Generally, the kidney architecture was intact. The highest degeneration was found at anesthetic doses of clove oil. However, fishes exposed to the concentration less than 10 ppm did not have any effects. The results of kidney alterations in *B. splendens* exposed to different concentrations of clove oil are summarized in Table 2.

The kidney of exposed fish, structural alterations occurred mostly around blood vessels. The histopathological evidence in kidney of exposed fish with anesthetic doses of clove oil were shown in moderated degrees. Most kidneys had more distinct dilatation of bowman's space and necrosis of tubular cells. Other histological alterations such as cellular swelling, and shrunken of renal tubule were also seen as shown in Figure 2 C, D, E, F.

At anesthetic concentration the fish exposed of 40 ppm, the kidney lesion showed cellular swelling with mild degrees. This lesion was also occurred on renal tubule of exposed fish from both anesthetic doses (Figure 2C). Dilatation of Bowman's space was observed in moderate degree whereas tubular necrosis was experienced in mild degree. Degeneration of Bowman's capsule and renal tubules were more distinct in this concentration. Some glomeruli appeared shrunken with congested capillaries and there was an increase space within the Bowman's capsule whereas the renal corpuscles exhibited

moderate damage (Figure 2 D). Other findings were necrotic tubular cells characterized by irregular shape and pycnotic nuclei (Table 2 and Figure 2 F). At concentration of 30 ppm, the kidney showed cellular swelling of tubular epithelium, dilatation of Bowman's space and mild tubular necrosis. Some renal tubules dilated and necrosis. The shape of renal tubules became irregular, many nuclei exhibited shrinkage and pyknosis. Reduction and occlusion in tubular lumens were observed along with reduction of tubule lumens (Figure 2 E and F). Furthermore, Glomeruli were distorted in some specimens. The congestion distortion of capillaries and enlargement of Bowman's

space were observed as shown in Table 2 and Figure 2 D. The histological evidence in kidney of exposed fishes with sedative doses from concentrations 15 and 20 ppm of clove oil exhibited few morphological changes.

The kidney of the fish exposed to concentrations 20 ppm showed cellular swelling, dilation of Bowman's space with mild degrees whereas tubular swelling was seen in mild degrees of fish exposed to 15 ppm. Moreover, effects were absent in fish exposed to the concentration less than 10 ppm as shown in table 1.

Table 1. Liver alterations in *B. splendens* exposed to different concentrations of clove oil

Liver Lesions	Clove oil concentration (ppm)						Control groups
	Anesthetic			sedative			
	40(12)	40(24)	30(24)	30(48)	20(48)	15(48)	
Swelling	+	+	++	+++	+	+	-
Dilate	+	+	+	+	-	-	-
Fatty fuse	++	+++	+	+	-	-	-
Necrosis	++	++	++	++	-	-	-

*sample size=30 individuals/dose

Score values: (-) = None, (+) = mild, (++) = moderate and (+++) = severe

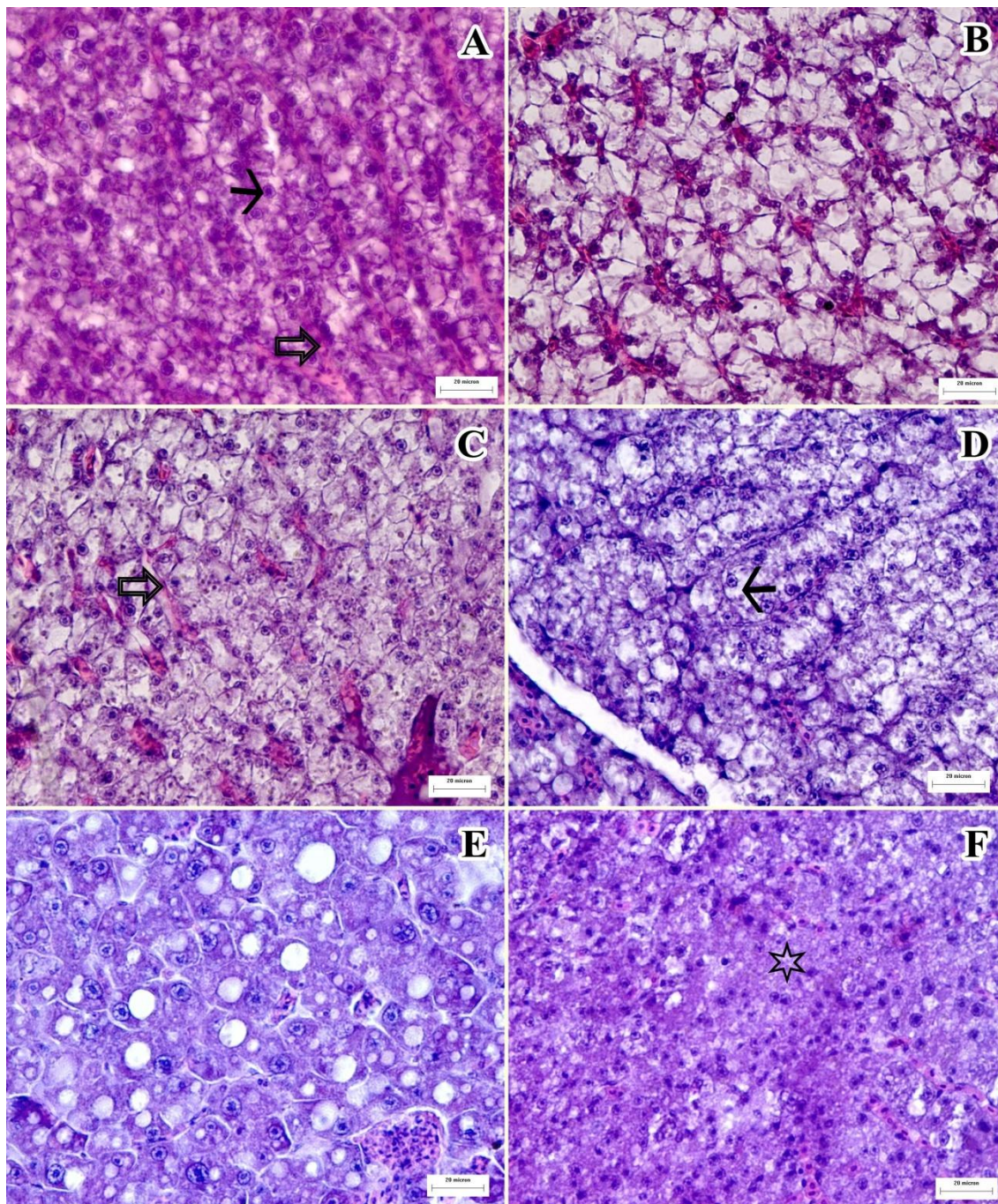


Figure 1. Micrograph of liver of *Betta splendens*. The control groups (A) and Ethanol solvent control (B) show normal structure; A) hepatocyte (black arrow), sinusoid (white arrow). The treatment groups (C-F) show pathological changes; C) Dilation of sinusoid (white arrow); D) Cellular swelling (black arrow heads); E) Fat accumulation in cytoplasm (white triangle); F) Necrosis (white star). Scale Bar 20 micron (H&E staining)

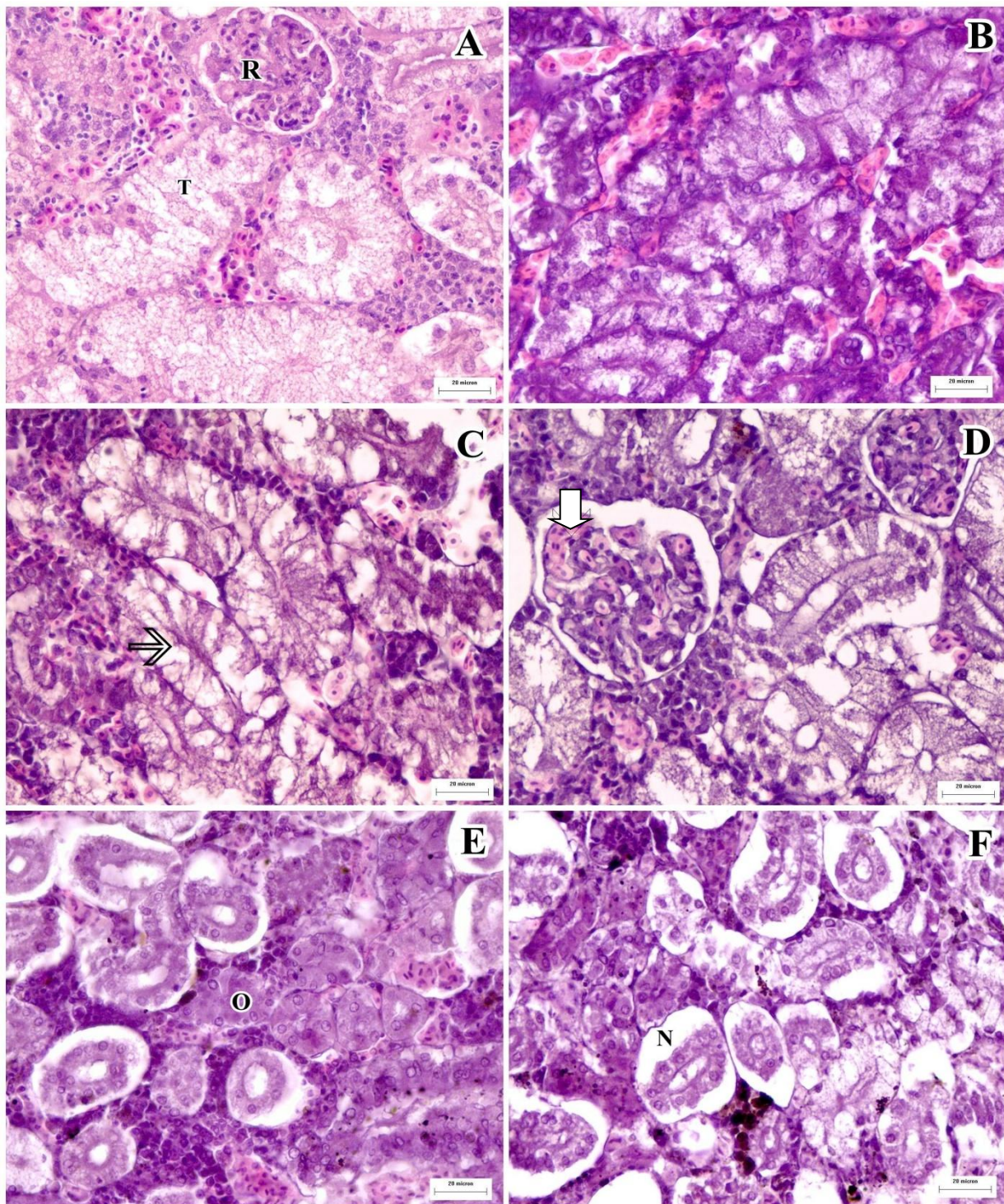


Figure 2. Micrograph of kidney of *Betta splendens* (A) The control kidney and ethanol solvent control (B) shows normal structure; renal corpuscle (R), renal tubule (T); The treatment groups (C-F) show histological changes; C) hydropic swelling (white arrow head); D) dilated capillaries in glomerulus (white arrow) ; E) occlusion of tubular lumen (O); F) narrowing of tubular lumen (N). Scale Bar 20 micron

Table 2. Kidney alterations in *B.splendens* exposed to different concentrations of clove oil

Kidney Lesions	Clove oil concentration (ppm)						
	Anesthetic					Sedative	
	40(12)	40(24)	30(24)	30(48)	20(48)	15(48)	Control groups
Swelling	+	+	+	+	+	+	-
Dilate	++	++	+	+	+	-	-
Fatty fuse	-	-	-	-	-	-	-
Necrosis	++	++	+	+	+	-	-

*sample size=30 individuals/dose

Score values: (-) = None, (+) = mild, (++) = moderate and (+++) = severe

Discussion

Previous research showed that clove oil or eugenol has an advantage as an anesthetic agent in fish (Soto and Burhanuddin, 1995; Anderson *et al.*, 1997; Keene *et al.*, 1998; Mylonas *et al.*, 2005). Some studies reported the toxic effects of clove oil or components in oil of clove (Manabe *et al.*, 1987; Suzuki *et al.*, 1985; Thompson *et al.*, 1991; Sladky *et al.*, 2001). There are few reports in toxicological studies of clove oil. This research presents the first evidence of pathological study of clove oil in fish by use *B. splendens* as an adverse effect of anesthesia.

Several previous reports have well documented in the ability of fish in cellular and tissue regeneration following injury (Goss, 1969; Oliver, 1995; Reimschuessel *et al.*, 1990, 1993; Lombarte *et al.*, 1993; Chamie and; Rokokous *et al.*, 1994; Reimschuessel, 1994).

Like other organs, the kidney's ability to repair sublethal toxic injury has been well documented in the mammals for more than a century (Podwysozki, 1885; Cuppage and Tate, 1967; Ishmael *et al.*, 1982; Reimschuessel *et al.*, 1990). Fish, especially, it retained the ability to form new nephrons as they grow

throughout their adult life (Yasatake and Wales, 1983).

Moreover, renal tubular regeneration following toxicity has been described in several fish species. Reimschuessel *et al.* (1990) reported that the nephron of gold fish (*Carassius auratus*), like that of the mammal, could regenerate the proximal tubular epithelium following toxicant induced injury. Augusto *et al.* (1996) reported on the nephrotoxicity effect of getamicin in the Nile tilapia (*Oreochromis nilotica*). The fish showed regenerative responses after exposure to the 5% and 10% metal concentrations. The present study is the first report on the impact of clove oil on the liver and kidneys of *B. splendens*. However, the results of pathological changes showed that it had little impact on the liver and kidneys because of using clove oil in low doses. Thus, this study suggests that clove oil is relatively safer in terms of impact on the liver and kidneys of this fish species. Therefore, this study recommends sedative concentrations between 15 to 10 ppm. Thus, this study suggests that a low concentration is relatively safer in terms of impacts on liver and kidney of *B. splendens*.

Acknowledgments

This study was supported by the Thai Government budget under the research program on Conservation and Utilization of Biodiversity, Center of Excellence in

Biodiversity (CE), Faculty of science, Chulalongkorn University and Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

References

- American Public Health Association (APHA). 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th ed. Washington, D.C.
- Anderson, W.G., McKinley, R.S. and Colavecchia, M.N. 1997. The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*. 17: 301-307.
- Clotfelter, E.D., Curren, L.J., and Murphy, C.E. 2006) Mate Choice and Spawning Success in the Fighting Fish *Betta splendens*: the Importance of Body Size, Display Behavior and Nest Size. *Ethology*. 12: 1170-1178.
- Cooke, S.J., Suski, C.D., Ostrand, K.G., Tufts, B.L. and Wahl, D.H. 2004 .Behavioural and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*. 239: 509-529.
- Grush, J., Noakes, D.L.G. and Moccia, R.D. 2004. The efficacy of clove oil as an Anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). *Zebrafish*. 1: 46-53.
- Harmon, T.S. 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture*. 1: 58-66.
- Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T. and Ogasawara, S. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 48: 341-351.
- Iversen, M., Eliassen, R.A. and Finstad, B. 2009 .Potential benefit of clove oil sedation on animal welfare during salmon smolt, *Salmo salar* L. transport and transfer to sea . *Aquaculture Research*. 40: 233-241.
- Jaroensutasinee, M. and Jaroensutasinee, K. 2001. Bubble nest characteristics of wild Siamese fighting fish. *Journal of Fish Biology*. 58: 1311-1319.
- Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*. 29: 89-101.
- Mylonas, C.C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I. and Polzonetti-Magni, A. 2005. Comparative efficacy and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrex*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperature. *Aquaculture*. 246: 467-481.
- Snekser, J.L., McRobert, S.P. and Clotfelter, E.D. 2006. Social partner preferences of male & female fighting fish (*Betta splendens*). *Behavioural Processes*. 72: 38-41.
- Soto, C.G. and Burhanuddin, S. 1995. Clove oil as a fish anesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*. 136: 149-152.
- Wedemeyer, G.A. 1996. Transportation and handling. In: Principles of Salmonid Culture ed. by W. Pennell and B.A. Barton. Amsterdam: Elsevier. pp. 727-758.

Case Report: Peritoneopericardial Diaphragmatic Hernia in Persian Cat.

Sireeporn Tonthong^{1*} Tanawan Manglabruks²

¹Small Animal Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology.

²Veterinary Clinical for Small Domestic Animals and Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand.

*Corresponding author: pam_siree@hotmail.com

Introduction

Peritoneopericardial diaphragmatic hernia (PPDH) is the congenital pericardial defect in cats. Persistent communication between the pericardial and peritoneal cavity allows the abdominal contents to herniate into the pericardial cavity. PPDH was very rare condition. Most cases are asymptomatic, because the abdominal organs easily slip in and out of the pericardial cavity and cause no problems. In symptomatic cat, the most common clinical signs are respiratory distress. Dyspnea is occurred because the abdominal organs in the pericardial cavity restrict the pleural space and adversely affected by breathing. Persian cat is be predisposing to the disease.

Case description

A 40-day-old male Persian cat, weight 0.4 kilogram was presented to Small Animal Teaching Hospital, Mahanakorn University of Technology with dyspnea, rapid and open mouth breathing. The history revealed that the cat was thinner than other kittens from the same litter and abdominal breathing was presented since birth. However, the symptoms seem to be getting worse while force feeding the cat.

Clinical finding

On physical examination, the cat was open mouth breathing, moderate tachypnea (respiratory rate 62 breaths/min), expiration dyspnea and dull lung sound. Muffled heart sound was presented, heart rate 202 breaths/min and dark pink mucous membrane.

Since the condition was life-threatening, oxygen therapy with oxygen mask was performed to

the cat. When clinical signs were getting better, the cat was stable and mucous membrane changed to bright pink, the radiological evaluation was done. Thoracic radiographs showed the cardiac silhouette was markedly enlargement and round shape, vertebral heart score was 15, with superimposition of gas-loop bowels along ventral cardiac margin. The trachea was displaced caudodorsally. There was loss of ventral diaphragmatic lining adjacent with cardiac silhouette. The lungs were diffuse infiltrative alveolar lung pattern at caudodorsal region. The stomach was dilation with gas and displaced to the right.

Echocardiogram showed that parts of the liver and small bowel protruded through the diaphragm into the pericardial cavity. From thoracic radiographs and echocardiogram were confirmed the disease, PPDH.

Treatment and outcome

In additional to oxygen therapy, the specific treatment for PPDH is surgery. In this case, surgically treatment was not yet performed due to the cat is too small and clinical signs are getting better after resting and oxygen therapy. However, surgery is recommended for animals with clinical signs from PPDH and should be performed as early as possible in young animals. In older animals, adhesions between the herniated organs and the pericardium may make the surgery more complicated. Further plan of this case is herniorrhaphy to correct PPDH when the cat is growing up (3-4 months of age) or any problems begin to develop. The owner needs to observe the clinical

signs such as lethargic, decrease appetite, develops vomiting or diarrhea, or any breathing problems.

Clinical reverent

PPDH is the congenital pericardial defect in cats. The radiography and ultrasonography are performed to confirm the diagnosis. The condition may be confused with pleuroperitoneal and hiatal hernia due to their proximity. Surgical is recommended for animals with clinical signs, while old animals without clinical signs can be conservative management. From the previous study, the postoperative mortality rate was 14% of cats that treated surgically corrected for PPDH. And 88% of owners of surgically treated cats were rated as very satisfied with treatment and long-term outcome. However, animals with clinical signs have the highest mortality rate due to shock and surgical and anesthetic stresses. Therefore, Animals should be stable and given supplemental oxygen during 24 hours pre-opretion. Prognosis is good following surgical correction. In conservative management, good prognosis is seen in asymptomatic cases, but the clinical signs may develop in the future.

References

1. Banz, A.C. 2010. Peritoneopericardial diaphragmatic hernia: a retrospective study of 31 cats and eight dogs. Journal of the American Animal Hospital Association. 46: 398-404.
2. Berry, C.R. 1995. Recognition of congenital heart disease in the adult dog and cat. In Bonagura, JD (Ed): Kirk's Current veterinary therapy XII. Small Animal Practice. WB Saunders. Philadelphia. pp. 833.
3. Burn CG, et al. 2013. Surgical and nonsurgical treatment of peritoneopericardial diaphragmatic hernia in dogs and cats: 58 cases (1999-2008). Journal of the American Veterinary Medical Association. 242: 643-650.

4. Evans 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.
5. Neiger, R. 1996. Peritoneopericardial diaphragmatic hernia in cats. Compendium. 18: 461-477.
6. Ozer K, et al. 2001. Diaphragmatic hernia in cats: 44 cases. Medycyna Wet. 63: 1564-1567.
7. Reimer, S.B., Kyles, A.E., Filipowicz, D.E., Gregory, C.R. 2004. Long-term outcome of cats treated conservatively or surgically for peritoneopericardial diaphragmatic hernia: 66 cases (1987-2002). J Am Vet Med Assoc. 224(5): 728-732.
8. Rosenstein DS, et al. 2001. Radiographic diagnosis: pericardioperitoneal diaphragmatic hernia and cholelithiasis in a dog. Vet. Radiol. 42: 308-310.

Keywords: cat, peritoneopericardial diaphragmatic hernia

Canine Insulinoma : A Case Report

Somchin Sutthigran^{1*} Siriwirot Chalee²

¹ Department of Clinic, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology,

² Veterinary Internship program, Faculty of veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology,
140 Cheom sampan rd, Bangkok 10530, Thailand

*Corresponding author: zomchin@gmail.com

Introduction

Insulinoma (pancreatic insulin-secreting tumor) is a tumor of pancreatic beta-cells that secrete excessive amounts of insulin, leading to severe hypoglycemia. This is a rare neoplastic disease in dog, which occurs in middle-aged to older dog without sex predilection. The predisposing breeds are Boxers, German Shepherds, Irish Setters, Standard poodles, Collies, Labrador Retrievers and fox terriers. The clinical signs include neurologic signs associated with hypoglycemia include seizures, ataxia, muscle tremors, exercise intolerance, collapse, coma and death.

Case description

A five-years-old spayed female Shih Tzu was presented to Small Animal Teaching Hospital, Mahanakorn University of Technology with unconscious and extensor rigidity with a history of seizure 2-3 times per day

Clinical finding

Physical examination revealed unconscious and extensor rigidity, pink mucous membrane, normal hydration status, normal heart and lung sounds and normal pulse quality. Blood results showed severe hypoglycemia 20 mg/dL (following administration of intravenous dextrose 50%, 1ml/kg), mild anemia (Hct 31.9%), mild azotemia (BUN 38 mg/dL). The amended insulin: glucose ratio (AIGR) was 155 (if AIGR >30 suggested insulinoma). Abdominal ultrasound found well-defined margin hypoechoic nodule (0.95x1.62 cm) on the distal right lobe of the pancreas.

Treatment and outcome

The dog was admitted in the hospital and given intravenously Acetated ringer's solution with 5% dextrose before surgery. Serum blood glucose level was measured every 2-4 hours and injected intravenously glucose 50% when hypoglycemia was detected. On surgical exploration of abdomen found a small, soft, redness nodule on the distal right lobe of the pancreas (Fig 1.). Other abdominal organs were normal in gross inspection. The partial pancreatectomy for remove pancreatic nodule was performed. Histopathological examination revealed pancreatic islet cells adenoma with atrophy of the rest pancreatic islet that diagnosed to insulinoma (Fig. 2). After the surgery, the dog was treated with prednisolone 0.25 mg/kg PO twice daily. The veterinarian advised the owner to feed the dog 6 times per a day to prevent hypoglycemia and avoid the dog excessively exercise. Sixteen days after the surgery, the dog was attended to the hospital. The owner informed the dog was well with no neurologic signs. The AIGR was tested, the result was 32. Monitoring clinical signs, blood glucose level and AIGR was done every 1 month.

Discussion

Although insulinoma is rare case and unknown etiology, this is the most commonly diagnosed islet tumors in the dog. It is important to include insulinoma as a differential diagnosis in any dog that present with persistent hypoglycemia.

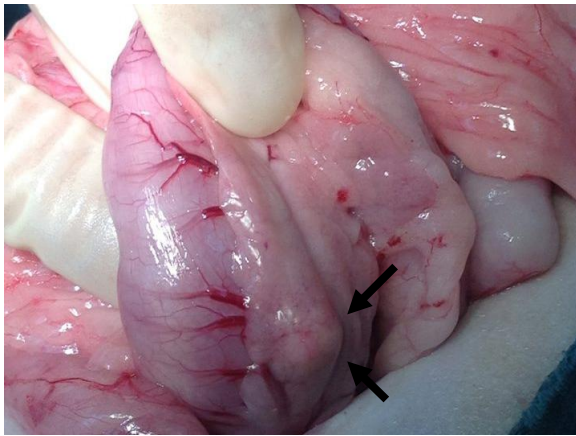


Figure 1. A small, soft and redness pancreatic nodule on distal right lobe of pancreas (black arrows)

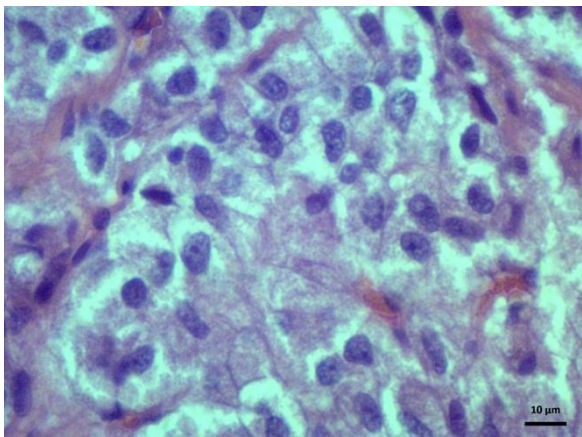


Figure 2. Pancreatic islet cells adenoma with atrophy of the rest pancreatic islet

The amended insulin:glucose ratio (AIGR) is useful if AIGR greater than 30 with hypoglycemia, the insulinoma is suspected. The surgical resection of pancreatic mass is strongly consideration. The medical management consists emergency treatment of a hypoglycemic crisis, management for post-operative and medical therapy in non-surgical cases. Corticosteroid, which inhibits insulin and stimulates gluconeogenesis, is commonly used for increasing blood glucose level. Diazoxide, which inhibits insulin secretion, has also been used. Streptozocin is a chemotherapeutic agent that used for unresectable metastasis insulinomas.

Acknowledgement

The author gratefully acknowledges of Assistant Professor Dr. Thanongsak Mamom, Dr. Jetsada Rungpupradit and Small Animal Teaching Hospital Faculty of veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology

References

1. Bell, R. Mooney, C.T. Mansfield, C.S. Jones, B.R. 2005. Treatment of insulinoma in a springer spaniel with streptozocin. *J Small Anim Pract.* 46(5): 247-50.
2. Feldman, E.C. Nelson, R.W. 2004. Beta-cell neoplasia :insulinoma. *Canine and feline endocrinology and reproduction* 3rd ed.
3. Katharine, F. L., Rodney, L.P. 2013. Tumors of the endocrine system, In: *Small Animal Clinical Oncology*, 5th ed. Eds S. J. With- row and E. G. MacEwen. W. B. Saunders. 25: 519-521.
4. Kintzer, P.P. 2004. Diagnosis and treatment of insulinoma. *BSAVA Manual of canine and feline endocrinology* (Mooney, CC.T. and Peterson, M.E. eds.), 3rd ed. pp. 200-204.
5. Madarame, H. Kayanuma, H. Shida, T. Tsuchiya, R. 2009. Retrospective study of canine insulinomas : Eight cases (2005-2008). *J Vet Med Sci.* 71(7): 905-911.
6. Polton, G.A., et al. 2007. Improved survival in a retrospective cohort of 28 dogs with insulinoma. *J Small Anim Pract.* 48: 151-156.
7. Steiner, J.M. Bruyette, D.S. 1996. Canine insulinoma. *Compend Contin Educ Vet.* 18: 13025.
8. Thompson, J.C. Jones, B.R. Hickson, P.C. 1995. The amended insulin to glucose ratio and diagnosis of insulinoma in dogs. *N Z Vet J.* 43(6): 240-243.
9. Waters, C.B., Scotter-Moncrieff, J.C. 1998. Cancer of endocrine origin. *Cancer in dogs and cats.* Morrison, W.B., ed. pp. 599-638.

Keywords: insulinoma, Amended insulin:glucose ratio, partial pancreatectomy, prednisolone, dog

การเปรียบเทียบการประเมินชนิดเม็ดเลือดขาวระหว่างการนับด้วยมือกับเครื่องนับอัตโนมัติ

กฤษฎา ขำพูล* สามารถ สุวรรณเคน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร 140 ถ. เชื่อมสัมพันธ์ หนองจอก กทม. 10530

*ผู้รับผิดชอบบทความ: kgrisada@hotmail.com

[บทนำ] ในการประเมินค่าเม็ดเลือดขาวทางห้องปฏิบัติการนั้นสามารถทำได้โดยวิธีการดังต่อไปนี้คือ การนับจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวม (total white blood cell (WBC) count), การตรวจนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวจากสเมียร์เลือด (blood smear evaluation) และ การตรวจแยกชนิดเซลล์จากไขกระดูก (bone marrow examination) การตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวมมีอยู่ 2 วิธีด้วยกันคือ การตรวจนับด้วยมือ โดยใช้ WBC diluting pipette ร่วมกับ counting chamber แล้วนับผ่านกล้องจุลทรรศน์ และอีกวิธีคือการนับด้วยเครื่องนับเซลล์เม็ดเลือดแบบอัตโนมัติ ซึ่งเม็ดเลือดขาวที่มี granule อยู่ใน cytoplasm นั้นจะประกอบไปด้วย นิวโทรฟิล (neutrophil) เบโซฟิล (basophil) และอีโอซิโนฟิล (eosinophil) ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มี cytoplasm ใสไม่มี granules คือ ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และ โมโนไซต์ (monocyte) [2] ซึ่งเป็นที่ทราบกันว่าปริมาณจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวมจะมีความแตกต่างกันได้ ขึ้นอยู่กับ ชนิดของสัตว์และโดยทั่วไปแล้วปริมาณจำนวนเม็ดเลือดขาว เมื่อตอนแรกเกิดนั้นจะมีค่าค่อนข้างสูงและจะค่อยๆ ลดลงเมื่อสัตว์มีอายุมากขึ้น [1] การทำวิจัยครั้งนี้จะมุ่งเน้นประเมินความแตกต่างระหว่างการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวด้วยมือและการใช้เครื่องตรวจนับแยกชนิดเม็ดเลือดอัตโนมัติ จากเลือดที่ส่งมาตรวจในห้องปฏิบัติการ ศูนย์บริการชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

[วิธีการดำเนินการวิจัย] ในช่วงเดือน กรกฎาคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2555 สุนัขและแมวจำนวน 107 ตัวอย่าง ที่เข้ามารับการรักษจะถูกเก็บเจาะเก็บเลือดที่โรงพยาบาลสัตว์เล็กเพื่อการเรียนการสอน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร โดยการเจาะเก็บเลือดจาก cephalic vein และนำเลือดที่ได้ใส่ลงในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดคือ heparin ซึ่งเคลือบไว้ที่ผนังของหลอดเก็บเลือดและจะถูกเขย่าให้เลือดผสมกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเกิดการแข็งตัว หลังจากนั้นเก็บหลอดเลือดไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 7 °C หลอดเลือดจะถูกเขย่าให้

เลือดภายในเข้ากันดีก่อนทำการตรวจเลือดจะถูกดูดผ่านหลอดดูดเลือด (Sip) เข้าไปในเครื่องตรวจนับแยกชนิดเม็ดเลือดอัตโนมัติรุ่น “Abacus junior vet®” หลังจากนั้นเลือดส่วนที่เหลือในหลอดจะถูกดูดขึ้นมาอีกครั้งหนึ่งโดยหลอดแก้วขนาดเล็ก (capillary tube) แล้วหยดเลือดประมาณหนึ่งหยดลงบนแผ่นสไลด์ขนาด 25.4 X 62.2 มม. เพื่อทำ thin blood smear จากนั้นทำให้สไลด์แห้งโดยอากาศ แล้วทำการคงสภาพของ blood smear โดยใช้ methanol แล้วย้อมด้วยสี Dip quick® และสุดท้ายตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา (light microscope) ด้วยกำลังขยาย 1,000 เท่า หลังจากนั้นนำค่าเปอร์เซ็นต์ที่นับได้ทั้งสองวิธีมาลบกัน เพื่อหาความแตกต่างและคำนวณเป็นค่าความแตกต่างโดยเฉลี่ย (mean) และวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้ Program R [3]

[ผลการวิจัย] จากการวิจัยพบว่าเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างในการนับด้วยเครื่องอัตโนมัติและการนับด้วยมือในส่วนของลิมโฟไซต์จะมีความแตกต่างกันโดยเฉลี่ยคือ 2.49 % ($P < 0.05$) ในส่วนของโมโนไซต์มีความแตกต่างกันเฉลี่ย 0.59 % ($P > 0.05$) และในส่วนของ granule WBC มีความแตกต่างกันเฉลี่ย 59.65 % ($P < 0.05$) ซึ่งผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวทั้งสองวิธี ในส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ และ granule WBC แต่ในส่วนของเม็ดเลือดขาวโมโนไซต์นั้นไม่มีความแตกต่างกันในเชิงสถิติ

[วิจารณ์] จากการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเครื่องตรวจอัตโนมัติในการแยกชนิดเซลล์เม็ดเลือดขาวเหล่านี้ ลักษณะความแตกต่างของความหนาแน่นเซลล์ทั้งจากของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวพวกที่มี granule WBC หรือ เม็ดเลือดขาวที่มี cytoplasm น้อยและโปร่งใสจะมีผลต่อการตรวจนับของเครื่องอัตโนมัติ เพราะถ้าเป็นเซลล์ที่มีลักษณะที่ขอบ cytoplasm กว้างแบบ โมโนไซต์ จะมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างกันค่อนข้างน้อยระหว่างการนับแยกชนิดด้วยมือ หรือเรียกว่า “Diff-มือ” กับการนับแยกชนิดด้วยเครื่องอัตโนมัติ หรือเรียกว่า “Diff-เครื่อง” และเมื่อเปรียบเทียบจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า

วิธีการนับด้วยมือจะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 20 % ถึงแม้ว่าผู้ตรวจจะมีความชำนาญมากก็ตาม แต่วิธีนี้ก็ยังคงเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปในห้องปฏิบัติการทั่วไป ส่วนวิธีการนับด้วยเครื่องอัตโนมัติจะมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 5 % แต่อาจจะมีความคลาดเคลื่อนมากกว่านี้ถ้าปริมาณเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดอยู่ในสภาวะที่มีค่าสูงหรือต่ำผิดปกติมากๆ [1] จากงานวิจัยครั้งนี้พบข้อมูลที่สำคัญคือ การตรวจนับด้วยมือในส่วนของ เม็ดเลือดขาวชนิดที่มี granule มีความแตกต่างกับการนับด้วยเครื่องมากคือ 59.65 % แต่ความแตกต่างของ ลิมโฟไซต์ และ โมโนไซต์ นั้นอยู่ในระดับค่าเฉลี่ยที่น้อยกว่า 20 % ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับข้อมูลของ เกลียว (2548) ที่ได้ถูกตีพิมพ์เผยแพร่ไว้ในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

1. เกลียว ศาลากิจ. 2548. โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 644 หน้า.
2. Hawkey, C.M. and Dennett, T. B. 1989. A colour atlas of comparative veterinary Haematology. Wolfe Publishing Ltd. Ipswich. England. 192p.
3. R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

คำสำคัญ: diff-มือ diff-เครื่อง สเมียร์เลือด

การตรวจระดับธาตุเหล็กและธาตุทองแดงในซีรัมแพะที่มีภาวะโลหิตจาง

แบบ Microcytic Hypochromic Anemia และ Normocytic Hypochromic Anemia

สุทธิณี บุญให้* มงคล ขวณิช อนุสรณ์ จำแนกชื่น ธนสิทธิ์ สอนภู สมยศ อิ่มอารมณ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร หนองจอก กรุงเทพมหานคร

*ผู้รับผิดชอบบทความ: Suttinee.b@gmail.com

[บทนำ] ภาวะโลหิตจางแบบ normocytic hypochromic anemia หรือ microcytic hypochromic anemia ในแพะมักถูกวินิจฉัยว่าสาเหตุมาจากการขาดธาตุเหล็ก [1] การขาดธาตุเหล็กส่งผลให้ระดับฮีโมโกลบินต่ำลง เมื่อนำตัวอย่างเลือดมาทำฟิล์มเลือดชนิดบางและย้อมด้วยสีกลุ่ม Romanowsky-type stain พบว่าไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงติดสีจาง การที่ระดับธาตุเหล็กในซีรัมต่ำลงอาจเกิดจากการขาดธาตุเหล็กโดยตรง เช่น มีการสูญเสียธาตุเหล็กออกไปจากร่างกายมากกว่าปกติ หรือ ความผิดปกติในกระบวนการเมตาบอลิซึมของธาตุเหล็ก

ธาตุทองแดงเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในการเมตาบอลิซึมของธาตุเหล็ก [2] โดยเป็นส่วนประกอบของโปรตีน ceruloplasmin ซึ่งทำหน้าที่ในการเปลี่ยน Ferrous (Fe^{2+}) ที่ เป็นรูปแบบของธาตุเหล็กที่สะสมในร่างกายเป็น Ferric (Fe^{3+}) [3] ที่สามารถจับกับ transferrin เพื่อขนส่งไปใช้ในการสร้างฮีโมโกลบินและสังเคราะห์ฮีโมโกลบินต่อไป ในภาวะที่ธาตุทองแดงต่ำลงทำให้ระดับ ceruloplasmin ลดลง [4] และส่งผลให้การเปลี่ยน Fe^{2+} เป็น Fe^{3+} ลดลง ซึ่งทำให้ธาตุเหล็กที่นำไปใช้ได้ลดลง และทำให้การสังเคราะห์ฮีโมโกลบินลดลง ดังนั้นในภาวะที่ขาดธาตุทองแดงจะส่งผลให้ขาดธาตุเหล็กในทางอ้อมได้ จุดประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาระดับธาตุเหล็กและธาตุทองแดงในซีรัมแพะที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะ normocytic hypochromic anemia หรือ microcytic hypochromic anemia

[วิธีการ] คัดเลือกซีรัมแพะที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลเพื่อการสอนสัตวใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ช่วงเดือนตุลาคม 2556 ถึงเดือนมกราคม 2557 ที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะ normocytic hypochromic anemia หรือ microcytic hypochromic anemia จากการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete blood count) จำนวน 4 ตัวอย่าง นำไปตรวจวิเคราะห์ระดับธาตุเหล็กและธาตุทองแดงในซีรัมด้วยวิธี atomic absorption spectrophotometer

[ผลการทดลอง] ตัวอย่างซีรัมแพะ 4 ตัวอย่างมีระดับธาตุเหล็กในซีรัมต่ำกว่าปกติเป็น 51, 59, 18, 48 $\mu g/dL$ (ค่าปกติ 100-200 $\mu g/dL$) และจาก 4 ตัวอย่างนี้มีระดับธาตุทองแดงในซีรัมต่ำกว่าปกติ 2 ตัวอย่างเป็น 5.57, 7.32 $\mu g/dL$ (ค่าปกติ 19-57 $\mu g/dL$)

[สรุปและวิจารณ์] ภาวะโลหิตจางแบบ normocytic hypochromic anemia หรือ microcytic hypochromic anemia มีสาเหตุทั้งจากการขาดธาตุเหล็กเพียงอย่างเดียวหรือมีภาวะการขาดธาตุทองแดงร่วมด้วย ดังนั้นการรักษานอกจากการให้ธาตุเหล็กเสริมแล้ว [5,6] ควรพิจารณาเสริมธาตุทองแดงร่วมด้วย มักพบว่าโลหิตจางแบบ normocytic hypochromic anemia หรือ microcytic hypochromic anemia จากการขาดธาตุเหล็กมักแสดงอาการทางคลินิกค่อนข้างเร็วกว่าภาวะโลหิตจางแบบ normocytic hypochromic anemia หรือ microcytic hypochromic anemia จากการขาดธาตุทองแดง [7] นอกจากนี้อาจพิจารณาจากอาการอื่นๆ ของภาวะการขาดธาตุทองแดงร่วมด้วย เช่น ท้องเสีย เดี๋ยวไข้ หลังแอน และพบความผิดปกติของการสร้างกระดูกและสมองส่วนหลัง [7]

เอกสารอ้างอิง

1. Smith, M.C. and Sherman, D.M. 2009. Nutrition and metabolic diseases. In: Goat medicine. 2nd edition. Wiley Blackwell. Ames. pp. 276-279.
2. Fox, P.L. 2003. The copper-iron chronicles: the story of an intimate relationship. Biometals. 16: 9-40.
3. Hellman, N.F. and Gitlin, J.D. 2002. Ceruloplasmin metabolism and function. Annu. Rev. Nutr. 22: 439-458.
4. Broderius, M., Mostad, E., Wendroth, K. and Prohaska, J.R. 2010. Levels of plasma ceruloplasmin protein are markedly lower

following dietary copper deficiency in rodents,
Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.
151: 473-479.

5. Rankins, D.L.Jr. and Pugh, D.G. 2002. Feeding and nutrition. In: Sheep and goat medicine. 2nd edition. Edited by D.C. Pugh and A.N. Baird. Elsevier Saunders. Missouri. pp. 23-25.
6. Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W. and Constable, P.D. 2007. Diseases associated with nutritional deficiencies. In: Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10th edition. Saunder Elsevier. Edinburgh. pp. 1707-1722.
7. National Research Council. 2007. Minerals. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Committee on the Nutrient Requirement of Small Ruminants. National academies press. Washington, D.C. pp. 126-132.

คำสำคัญ : แพะ โลหิตจาง เหล็ก ทองแดง

การศึกษาภาวะเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิตสูงที่มีผลต่อความอดทนในการออกกำลังกายของโคชน

Effect of Hyperproteinemia on Exercise Intolerance in Fighting Bulls

นิติพล ศรีอ่อนรอด^{1*} พาราณาส เหมณะ²

¹สาขาวิชาเวชศาสตร์คลินิกทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดนครราชสีมา

²โรงพยาบาลปศุสัตว์ ทุ่งใหญ่ นครราชสีมา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดนครราชสีมา

*ผู้รับผิดชอบบทความ: nitipon.s@mutsv.ac.th

บทคัดย่อ

โคชนเป็นสัตว์ที่ชาวบ้านและเกษตรกรทางภาคใต้ ยกให้เป็น สัตว์สายพันธุ์นักรสู้ของภาคใต้ กีฬาโคชนจึงถือเป็นอัตลักษณ์ที่โดดเด่นของภาคใต้ชนิดหนึ่ง เป็นภารกิจที่ให้ความบันเทิงเร้าใจ แก่ชาวปักษ์ใต้ในวันว่างจากการทำงาน ลักษณะของโคชนที่ดี จะมีรูปร่างสง่างาม เขา โหนก หาง เล็บ ใบหู ตา ฟัน สีขน และเสียงร้อง ถูกต้องตามตำราความนิยม เกษตรกรผู้เลี้ยงโคชน จึงจำเป็นต้องทราบถึงรายละเอียด โดยจำเป็นจะต้องสืบค้นประวัติพ่อแม่พันธุ์ ประวัติการชนชนะหรือแพ้ ในปัจจุบันกีฬาโคชนนั้นได้รับความนิยมแพร่หลายเป็นอย่างมากในหลายจังหวัดทางภาคใต้ มีเกษตรกรผู้สนใจเลี้ยงโคชน เพิ่มมากขึ้น มีฟาร์มเลี้ยงโคชนมากขึ้น ซึ่งก่อนที่จะนำโคไปชนที่สนามโคชน เกษตรกรผู้เลี้ยงโคชนมักจะนำโคของตนมาตรวจสุขภาพกับสัตวแพทย์ ก่อนทำการแข่งขันเสมอๆ จากการเก็บสำรวจข้อมูลย้อนหลัง 3 ปี พบว่าปัญหาที่เกษตรกรพาโคชนมาพบสัตวแพทย์ก็คือ เหนื่อยง่าย ไม่อดทนต่อการสู้กับโคตัวอื่น ซึ่งสอดคล้องกับภาวะเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิตสูง ร่วมกับภาวะแห้งน้ำหรือขาดน้ำในร่างกาย จากการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นพื้นฐานเพื่อใช้เป็นแนวทางในการรักษาทางคลินิก และเป็นการศึกษาพื้นฐานในการศึกษาค้นคว้าข้อมูลต่อไป

คำสำคัญ: โคชน เซรัมโปรตีน ภาวะแห้งน้ำ ความอดทนต่อการออกกำลังกาย

Abstract

The fighting bulls are such a species of fighter which agriculturists are given to animal breeds of the south of Thailand. Bull fighting is traditional sport in Southern of Thailand. The best appearance of them is smart, graceful, horn, hump, tail, hoof, ears, eyes, teeth, hair color and voice being corrected by treatise of Thailand. Now, the fighting bulls are popular so there are dramatically increasing the number of bull farm and the competition. Before the compaction, agriculturists who are owner of bull will always bring their bulls to check bull's health. In the research found the problems of bulls about fatigue, exercise intolerance which corresponds with hyperproteinemia and dehydration. From this study, it was fundamental to guide the clinical treatment and future researches.

Keywords: fighting bull, serum protein, dehydration, exercise intolerance

บทนำ

กีฬาโคชนั้น ถือเป็นอัตลักษณ์ที่โดดเด่นของภาคใต้ชนิดหนึ่ง เป็นการกีฬาที่ให้ความบันเทิงเร้าใจ แก่ชาวปักษ์ใต้ในวันว่างจากการทำงาน โคชนหรือโคชนนั้น เป็นสัตว์ที่ชาวบ้านและเกษตรกรทางภาคใต้ ยกให้เป็น สัตว์สายพันธุ์นักรู้ของภาคใต้ จากบันทึกทางประวัติศาสตร์เชื่อว่า โคชนนั้น เป็นกีฬาที่ได้รับการเผยแพร่มาจากกลุ่มคนโปรตุเกส ในสมัยของพระเจ้าเอมมานูเอล ซึ่งได้ส่งทูตเข้ามาเจริญสัมพันธไมตรีกับประเทศไทย ราวปีพุทธศักราช 2061 ซึ่งตรงกับรัชสมัยของสมเด็จพระรามาธิบดีที่ 2 แห่งกรุงศรีอยุธยา ต่อมาปรากฏว่า กีฬาโคชนหรือโคชนนั้นได้รับความนิยมในจังหวัด นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา ลักษณะที่โดดเด่นของโคชนตามธรรมชาติคือ ต้องมีความอดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น เพื่อชิงตำแหน่งผู้นำฝูง ซึ่งเป็นอีกหนึ่งอัตลักษณ์ความเป็นตัวตนของชาวปักษ์ใต้ที่แท้จริง กล่าวคือ มีท่าทีที่แข็งแกร่งดั่ง เกราะไปตรรมา มีความเชื่อมั่นในตัวเองสูง รักใคร่รักจริง กลียดใครเกลียดจริง รักหมู่คณะของตน เป็นต้น (อาคม, 2543) ลักษณะของโคชนที่ดี จะมีรูปร่างสง่างาม เขา โหนก หาง เล็บ ใบหู ตา ฟัน สีขน และเสียงร้อง ถูกต้องตามตำราความนิยม เกษตรกรผู้เลี้ยงโคชน จึงจำเป็นต้องทราบถึงรายละเอียด โดยจำเป็นจะต้องสืบค้นประวัติพ่อแม่พันธุ์ ประวัติการชนชนะหรือแพ้ หากลูกโคที่พ่อแม่มีประวัติที่ดี มีรูปร่างลักษณะตามตำราความนิยม เมื่ออายุได้ 3 ปีก็จะมีมูลค่ามากกว่า 10,000 – 100,000 บาท หากผ่านการแข่งขันชนะ ก็จะเพิ่มมูลค่าได้ถึง 1,000,000 บาท เป็นการส่งเสริมรายได้ให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคชน อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริมเศรษฐกิจทางด้านการท่องเที่ยวอีกด้วย (ณอม, 2545)

ในปัจจุบันกีฬาโคชนนั้นได้รับความนิยมแพร่หลายเป็นอย่างมากในหลายจังหวัดทางภาคใต้ มีเกษตรกรผู้สนใจเลี้ยงโคชนเพิ่มมากขึ้น มีฟาร์มเลี้ยงโคชนมากขึ้น กีฬาโคชนที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากมีความตื่นตัว สนุกสนานและมีการวางเดิมพันกันจำนวนมาก หากโคชนมีประวัติการชนที่ดี และได้รับการการันตีจากสัตวแพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญว่ามีความสมบูรณ์แข็งแรงดี ก็จะมีการเดิมพันที่สูง ดังนั้นก่อนที่จะนำโคไปชนที่สนามโคชน เกษตรกรมักจะนำโคของตนมาตรวจสุขภาพกับสัตวแพทย์ ก่อนทำการแข่งขันเสมอๆ จากการเก็บสำรวจข้อมูลย้อนหลัง 3 ปี พบว่าปัญหาที่เกษตรกรจะพาโคชนมาพบสัตวแพทย์ก็คือ เหนื่อยง่าย ไม่อดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น ซึ่งส่งผลเป็นอย่างมากในการแข่งขัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาค่าทางเคมีโปรตีนในกระแสเลือด ที่มีต่อความอดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น อย่างไรก็ตามงานวิจัยเกี่ยวกับโคชนนั้นยังมีไม่แพร่หลาย การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นพื้นฐานเพื่อใช้เป็นแนวทางในการรักษาทางคลินิก และเป็นการศึกษาพื้นฐานในการศึกษาค้นคว้าข้อมูลต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาย้อนหลังจากไปบันทึกการตรวจสัตว์ป่วยที่เข้ารับการบริการการรักษาในโรงพยาบาลปศุสัตว์ทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช ศูนย์รัษฎุมิ ตั้งแต่ปี 2557-2559 ที่มาด้วยอาการเหนื่อยง่าย หอบ ไม่อดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น โดยศึกษาจากการซักประวัติ อาการที่แสดงออก ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) และค่าเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิต โดยรายงานผลเป็นสถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics)

ผลการทดลอง

สัตว์ที่เข้ารับบริการจากโรงพยาบาลสัตว์ปศุสัตว์ทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช ศูนย์รัษฎุมิ ในปี 2557-2559 มีทั้งหมด 323 ตัว มาด้วยอาการเหนื่อยง่าย หอบ ไม่อดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น จำนวน 207 ตัว คิดเป็น 64.09% ของจำนวนประชากรที่มีทั้งหมด โดยในโคที่มีอาการเหนื่อยง่าย ไม่อดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น พบว่ามีภาวะโปรตีนในกระแสเลือดสูงถึง 202 ตัว คิดเป็น 97.58% โดยมีค่าเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่าเซรัมโปรตีนในกระแสเลือด ดังนี้ $38.00 \pm 5.41\%$ และ 9.80 ± 0.63 g/dL ตามลำดับ และพบว่ามีภาวะโปรตีนในกระแสเลือดปกติ 5 ตัว คิดเป็น 2.41% โดยมีค่าเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่าเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิต ดังนี้ $39.00 \pm 3.11\%$ และ 7.70 ± 0.18 g/dL ตามลำดับดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย (Mean±SD) และค่าเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิตเฉลี่ย (Mean±SD) (ก) จำนวนโคชนที่เข้ามาขอรับบริการการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช ศูนย์รัตภูมิในปี 2557-2559 (ข) จำนวนโคที่มาปรึกษาด้วยอาการเหนื่อยง่าย หอบ ไม่อดทนต่อการสู้ชนโค (ค) จำนวนโคจาก ข ที่พบว่ามิเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิตสูงกว่าปกติ (ง) จำนวนโคจาก ข ที่พบว่ามิเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิตปกติ; ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นปกติ 24-46% (Debra, 2009; Lyle, 1989) ค่าปกติของเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิต 8.38±0.68 g/dL (Kapale et al., 2008)

	ก	ข	ค	ง
จำนวน (ตัว)	323	207	202	5
ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)	37.95±1.72	38.00±5.36	38.00±5.41	39.00±3.11
ค่าเซรัมโปรตีนในกระแสโลหิต (g/dL)	9.80±0.25	9.80±0.69	9.80±0.63	7.70±0.18

วิจารณ์

ภาวะโปรตีนในกระแสเลือดสูง (Hyperproteinemia) เป็นผลมาจากระดับความเข้มข้นของเซรัมโปรตีนทั้งหมดสูงขึ้น (Panhyperproteinemia) หรือระดับการเพิ่มขึ้นของ globulins (Hyperglobulinemia) การเพิ่มขึ้นของโปรตีนในกระแสเลือดโดยส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการสูญเสียของเหลวที่เป็นส่วนประกอบของเลือด (Fluid component) ในภาวะที่ร่างกายขาดน้ำหรือสูญเสียน้ำมากเกินไป เรียกว่า ภาวะแห้งน้ำ (Dehydration) สามารถทำให้เกิดภาวะโปรตีนในกระแสเลือดสูง (Hyperproteinemia) ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูง (Packed cell volume; PCV) (Debra et al., 2009) ค่าเซรัมโปรตีนปกติในโคที่โตเต็มวัยนั้น จะอยู่ที่ 8.38±0.68 g/dL (Kapale et al., 2008) ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้อย่างชัดเจนว่าสัตว์อยู่ในภาวะแห้งน้ำทำให้ของเหลวภายในหลอดเลือด (Intravascular fluid) ลดลง สอดคล้องกับความเข้มข้นของเลือดและระดับของโปรตีนทั้งหมด (Total protein) สูงขึ้น ซึ่งสามารถส่งผลให้ระบบไหลเวียนโลหิตล้มเหลว (Circulatory failure) (Debra et al., 2009)

จากผลการทดลองดังตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าโคชนที่เข้ามาขอรับบริการการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช ศูนย์รัตภูมิ มีปริมาณของค่าเซรัมโปรตีนในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ (ค่าเซรัมโปรตีนปกติ 8.38±0.68 g/dL) คิดเป็น 97.58% ของจำนวนโคที่เข้ามาขอรับบริการด้วยอาการเหนื่อยง่าย หอบ ไม่อดทนต่อการสู้ชนโค ซึ่งสอดคล้องกับภาวะแห้งน้ำ และอาการเหนื่อยง่าย หอบ ไม่อดทนต่อการสู้ชนอย่างชัดเจน จากการซักประวัติเพิ่มเติม ทำให้ทราบถึงข้อจำกัดของกินน้ำของโคชน การเลี้ยงและการฝึกซ้อมโคชนในพื้นที่กลางแจ้ง ในสภาพแวดล้อมที่ร้อนระอุ เป็นระยะเวลายาวนาน เป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ส่งผลให้เกิดภาวะแห้งน้ำได้ (Seiji et al., 1996) ซึ่งในภาวะที่ร่างกายขาดน้ำหรือสูญเสียน้ำมากเกินไป ที่เรียกว่า ภาวะแห้งน้ำนั้นสามารถทำให้เกิดภาวะโปรตีนในกระแสเลือดสูง ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูง (Packed cell volume; PCV) แต่อย่างไรก็ตาม ในสัตว์ที่พบภาวะแห้งน้ำ หรือป่วยด้วยโรคโลหิตจาง ก็สามารถพบภาวะโปรตีนในกระแสเลือดสูง ร่วมกับค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ปกติหรือต่ำกว่าปกติได้เช่นเดียวกัน (Debra et al., 2009) นอกจากนั้น ภาวะแห้งน้ำจากการออกกำลังกายนั้น ยังเป็นสาเหตุให้ปริมาณของเหลวในกระแสเลือดลดลงอีกด้วย (Circulating plasma volume) (Seiji et al., 1996)

ภาวะที่สัตว์ได้รับหรือดื่มน้ำในปริมาณที่น้อย นอกจากจะส่งผลให้เกิดภาวะแห้งน้ำแล้ว สัตว์จะแสดงอาการกระหายน้ำ (Thirst) ซึม (Depress) ภาวะกลืนลำบาก (Dysphagia) นอกจากนี้ภาวะแห้งน้ำยังสามารถเกิดได้จาก การฉี่บ่อย (Polyuria) ภาวะไตล้มเหลว (Renal failure) บาดแผลบริเวณกว้างที่ผิวหนัง (Extensive skin wounds) อุจจาระร่วง (Diarrhea) รวมไปถึงการสูญเสียเหงื่อจากการออกกำลังกายนมากเกินไป (Excessive sweating) อาการทางคลินิก (Clinical signs) ของภาวะแห้งน้ำ อาทิเช่น ภาวะหายใจเร็ว (Tachycardia) การไหลเวียนโลหิตส่วนปลายไม่ดี (Prolong capillary refill time) ความดันชีพจรลดลง (Hypotension) และความยืดหยุ่นของผิวหนังลดลง (Decreased skin turgor) (Debra et al., 2009) ตาจมลึก (Sunken eyes) เยื่อเมือกแห้ง (Dry

mucous membranes) อุจจาระแห้ง แข็ง (Dry feces) ขับปัสสาวะลดลง (Decreased urine output) และอุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น (Seppo et al., 2004)

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาจากการเก็บข้อมูลย้อนหลัง เพื่อศึกษาปัญหาของภาวะโปรตีนในกระแสเลือดสูง ที่ส่งผลต่ออาการเหนื่อยง่าย หอบ ไม่อดทนต่อการสู้รบกับโคตัวอื่น นั้นยังต้องการข้อมูลของโคปกติที่เข้ามาใช้บริการการตรวจด้วยอาการอื่นๆ และข้อมูลของค่าเซรัมโปรตีน และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นภายหลังได้รับการรักษา ในการศึกษาเปรียบเทียบก่อนและหลังการรักษา เพื่อความสมบูรณ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม การให้ความรู้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนั้นมีความสำคัญอย่างยิ่งในการเลี้ยง การให้อาหารและปริมาณน้ำที่เพียงพอ รวมไปถึงระยะเวลาการฝึกซ้อมและสภาพแวดล้อมที่ดีไม่ร้อน มีการระบายอากาศที่ดี เพื่อเป็นการป้องกันการเพิ่มขึ้นของอัตราการป่วยในโคนอีกด้วย นอกจากนี้ จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำความรู้ดังกล่าวไปเป็นความรู้พื้นฐานในการรักษา และเป็นพื้นฐานในการศึกษาค้นคว้าข้อมูลต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือจากทางโรงพยาบาลปศุสัตว์ทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช ศูนย์รัษฎุมิ ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลเซรัมโปรตีนและข้อมูลเม็ดเลือดแดงอัดแน่นย้อนหลังตั้งแต่ พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2559 นอกจากนี้ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์ และเจ้าหน้าที่ประจำโรงพยาบาลปศุสัตว์ทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช ศูนย์รัษฎุมิ ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- ถนอม พูนวงศ์. 2545. ประวัติศาสตร์เมืองสงขลา. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร. หน้า 128.
- อาคม เดชทองคำ. 2543. หัวเชื้อกัวซุน. โครงสร้างและพลวัตวัฒนธรรมภาคใต้กับการพัฒนา. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร. หน้า 282.
- Debra Deem Morris and Janet, K. Johnston. 2009. Alterations in blood proteins. Large animal internal medicine, Fourth edition. Mosby Elsevier. Missouri. pp. 411-416.
- Debra Deem Morris. 2009. Alteration in the erythron. Large animal internal medicine, Fourth edition. Mosby Elsevier. Missouri. pp. 400-404.
- Kapale, P.M., Jagtap D.G., Badukale, D.M. and Sahatpure, S.K.. 2008. Serum total proteins and serum total cholesterol levels in Gaolao Cattle. *Veterinary World*. 1(4): 115-116.
- Maeda, S., Miyauchi, T., Waku, T., Koda, Y., Kono, I., Goto, K., and Matsuda, M. 1996. Plasma endothelin-1 level in athletes after exercise in a hot environment: exercise-induced dehydration contributes to increases in plasma endothelin-1. *Life Sciences*. 58(15): 1259-1268.
- Miller, L.D., Thoen, C.O., Throlson, K.J., Himes, E.M. and Morgan, R.L. 1989. Serum biochemical and hematologic values of normail and *Mycobacterium bovis*-infected American bison. *J Vet Diagn Invest*. 1: 219-222.
- Seppo Hyypä and A. Reeta Pösö. 2004. Metabolic diseases of athletic horses. Equine Sports Medicine and Surgery. Saunders. London. pp 836-850.

Color Dilution Alopecia in Lilac Chihuahua: A Case Report

Tanawan Mangklabruks* Peeratas Chitvivatn

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

*Corresponding author: tong_tanawan@hotmail.com

Introduction

Color dilution alopecia (CDA) or color mutant alopecia is a rare dermatologic disorder in dogs. This disease caused by genetic defect, autosomal recessive gene transmission, of hair growth especially in the dog with fawn, lilac, and blue hair coat. The breed predisposing are Dachshund, Doberman Pincher, Chihuahua, etc., which is likely to have diluted-haired color. The pathogenesis of CDA is unclear. Normally, the clumping of pigment or melanin in the hair shaft results in the fade color of the black or brown haired-coat. In CDA, the excessive melanin accumulated in the hair shaft; consequently, inhibit hair growth and breakage of hair shaft. The age affected CDA is around 3 months to three years, while they are born with normal hair coat in puppyhood.

Case description

A 3-months old female lilac Chihuahua was presented to Small Animal Teaching Hospital, Mahanakorn University of Technology for clinical investigation. The main chief complaint was the abnormal hair growth around the head, ear and along the spine. The diluted-fur on the head, ears, and legs were slightly thinner and shorter compared to the color; on the other parts of the body (figure 1). The hair coat along the vertebral spines was dull and dry. The skin under the abnormal hair was remained intact normal without any skin lesion. When the owner starting raising her at 2 months of age, his hair coat was normal, then the fur of at lilac-colored hair coat started to fall at 3 months of age. However, any signs of pruritus was not evidenced.

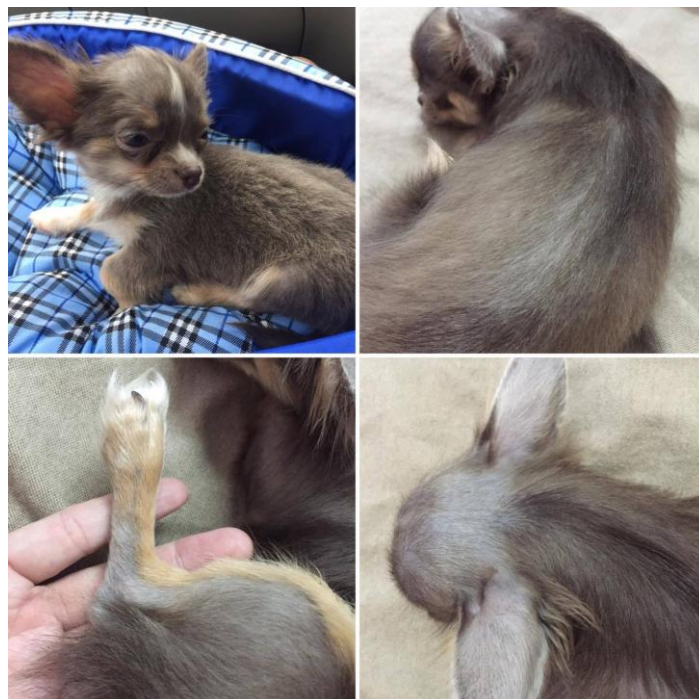


Figure 1: A partial hair loss on head, ears, and legs in the 3-month-old lilac Chihuahua.

Clinical findings

Based on breed, color, age, and evidence of hair loss only in the diluted-hair, CDA was suspected. Trichogram, the microscopic examination of hair shaft, demonstrated the pigment or melanin clumping at the root of hair shaft (figure 2). Other simple dermatologic tests including skin scraping and skin cytology did not find any abnormalities. Although skin biopsy was not performed according to the owner unpermission, the signalment, clinical signs and the trichogram data provided was strongly supported the diagnosis of CDA.

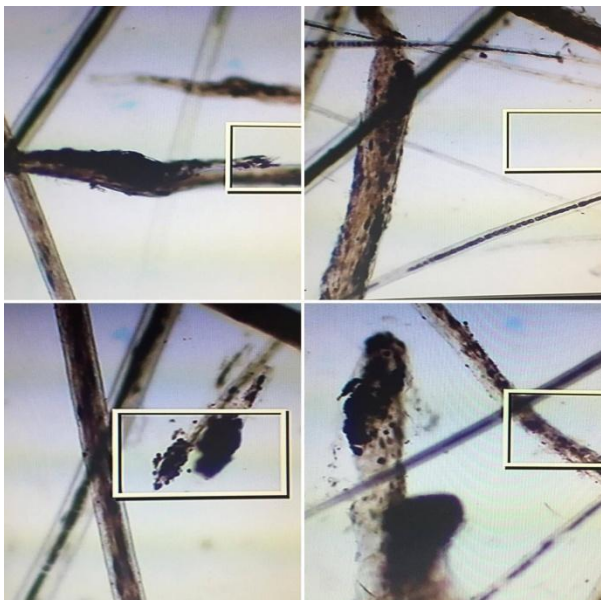


Figure 2: Microscopic examination of hair shaft showed excessive melanin clumping in hair medulla.

Treatment and Outcome

Since CDA is the hereditary disease, there is no specific treatment for the disease. The other supportive treatments aim to prevent the secondary bacterial skin infection. The owner was encouraged to bath the dog regularly with mild shampoo containing benzoyl peroxide in order to flush and clean hair follicle. Excessive brushing and grooming should be avoided. Two months later, at the age of 5 months old, the dog showed neither signs of progressive hair loss nor skin lesion compared with the last visit.

Clinical relevance

CDA is the incurable disease and the prognosis of the normal hair growth is poor; nevertheless, this is only cosmetic problem and there is no effect to quality of life for a CDA dog. There was a case report about the treatment of CDA with melatonin orally, in order to stimulate hair growth, but the clinical improvement was not observed. Occasionally, secondary bacterial infection of skin may occur because of follicular plugging. So the monitoring for bacterial dermatitis should be warranted. The CDA

suspected dogs, other dermatologic disease including hypothyroidism, demodecosis or other skin diseases should be ruled out. As the CDA is an inherited disease in dog, the owner should be informed about the possibility disease occurrence and avoid breeding the dog.

References

1. Spada E, *et al.* 2009. Color dilution alopecia in a blue Doberman pinscher crossbreed. *Can Vet J.* 50(5): 511–514.
2. Kim J, *et al.* 2005. Color dilution alopecia in dogs. *J Vet Sci.* 6: 259–261.
3. Miller, W.H. 1990. Colour dilution alopecia in Doberman Pinscher with blue or fawn coat colours: A study on the incidence and histopathology of this disorder. *Vet Dermatol.* 1: 113–121.

Keywords: color dilution alopecia, dog,
Lilac Chihuahua

การสำรวจความชุกทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดสิสด้วยวิธี Indirect Hemagglutination test ในแพะนมที่เลี้ยงในเขตพื้นที่หนองจอก กรุงเทพมหานคร

อนุสรณ์ จำแสนชื่น มงคล ขวณิช ธนสิทธิ์ สอนภู สมยศ อิมอาร์มณ สุทธิณีย์ บุญให้

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร หนองจอก กรุงเทพมหานคร

*ผู้รับผิดชอบบทความ: Suttinee.b@gmail.com

[บทนำ] โรคเมลิออยโดสิสหรือโรคมกคล่อเทียมเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* [1] จัดเป็นเชื้อประจำถิ่น (endemic area) ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนเหนือของออสเตรเลีย [7, 8] พบก่อโรคทั้งในคนและสัตว์ การติดเชื้อในสัตว์มักพบในแพะ แกะ และ สุนัข การก่อโรคในสัตว์ป่วยพบทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง ในสัตว์ป่วยแบบเฉียบพลันมักพบโลหิตเป็นพิษ ส่วนแบบเรื้อรังสัตว์ป่วยจะมีการผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ เช่น ไอ หายใจลำบาก เป็นต้น มักพบฝืดที่ต่อมน้ำเหลือง ปอด ตับ และม้าม [9] การเพาะแยกเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* จากสัตว์ป่วยเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคเมลิออยโดสิส [10] ซึ่งต้องใช้เวลาประมาณ 4-7 วัน [9] ส่วนการตรวจเพื่อคัดกรองโรคนิยมใช้วิธีการตรวจทางซีรัมวิทยาซึ่งให้ผลการทดสอบที่เร็วขึ้น ปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวินิจฉัยได้แก่ Indirect hemagglutination test, Latex agglutination, Immunofluorescence antibody test, ELISA, Complement fixation test [2] โดยทางสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์จะใช้วิธี Indirect hemagglutination test ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* เพื่อวินิจฉัยโรคเมลิออยโดสิส [2] เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ราคาไม่แพง ทราบผลได้เร็ว [3] ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ยุ่ยยาก โดยมีเกณฑ์ตัดสินผลบวกต่อการทดสอบที่ค่า IHA titer มากกว่า 1:160 [2]

วัตถุประสงค์ เพื่อสำรวจความชุกทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดสิสในแพะนมเขตหนองจอก

[วิธีการ] สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดแพะนมที่เลี้ยงในเขตหนองจอก จำนวน 99 ตัว จากทั้งหมด 320 ตัว โดยคำนวณกลุ่มตัวอย่างจากวิธีของเครซีและมอร์แกน และเลือกการสุ่มแบบแบ่งชั้น จากทั้งหมด 15 ฟาร์ม ในช่วงเดือน ธันวาคม พ.ศ.2555 แล้วนำมาปั่นแยกซีรัมเพื่อส่งตรวจ antibody titer ต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ด้วยวิธี Indirect hemagglutination test

(IHA) ที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ โดยซีรัมตัวอย่างที่มี IHA titer มากกว่า 1:160 จะตัดสินว่าให้ผลบวกต่อการทดสอบ

[ผลการศึกษา] พบตัวอย่างซีรัมแพะที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบด้วยวิธี IHA จำนวน 1 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 99 ตัวอย่าง คิดเป็นความชุกที่ร้อยละ 1.01

[สรุปและวิจารณ์] การพบความชุกร้อยละ 1.01 เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเฝ้าระวังโรคเมลิออยโดสิสของแพะนมในเขตพื้นที่หนองจอก กรุงเทพมหานคร มีรายงานการศึกษาในโคนมพบว่าการที่เจ้าของฟาร์มไม่ทราบว่าสัตว์ของตนเองป่วยด้วยโรคเมลิออยโดสิส จะมีโอกาสทำให้ฟาร์มนั้นเสี่ยงต่อการเกิดโรค 5.88 เท่า [4] การตรวจคัดกรองโรคด้วยวิธีทางซีรัมวิทยาเป็นวิธีที่รวดเร็วในการวินิจฉัยโรคเมลิออยโดสิสในสัตว์ ซึ่งนิยมใช้วิธี Indirect hemagglutination test อย่างไรก็ตามวิธีนี้ มีความไวและความจำเพาะต่ำ [12] และระดับภูมิคุ้มกันที่ตรวจพบไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นสัตว์ที่เคยติดเชื้อหรือเป็นสัตว์อยู่ในช่วงติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ [4] นอกจากนี้ในสัตว์ที่มีสุขภาพดีแต่อยู่ในพื้นที่ซึ่งมีเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* เป็นเชื้อประจำถิ่น (endemic area) อาจมีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อสูงทั้งนี้เนื่องจากสัตว์มีโอกาสได้รับการสัมผัสเชื้อแต่ไม่แสดงอาการดังนั้นในการตรวจด้วยวิธี Indirect hemagglutination test เพียงครั้งเดียวอาจจะไม่เพียงพอที่ในการวินิจฉัยโรคได้ [3] มีรายงานว่า การตรวจด้วยวิธี Indirect hemagglutination test และใช้ค่า IHA titer ที่ มากกว่า 1:160 เป็นค่าตัดสินในการคัดกรองโรคให้ ความแม่นยำเพียงร้อยละ 40 จึงควรทำการตรวจซ้ำใน 2-4 เดือน ถัดมา ซึ่งถ้าค่า IHA titer มากขึ้น จะมีความแม่นยำถึงร้อยละ 100 ในการวินิจฉัยว่าสัตว์เป็นโรคเมลิออยโดสิส แต่ถ้าค่า IHA titer น้อยลงก็สามารถวินิจฉัยได้ว่าสัตว์ไม่เป็นโรค [5] นอกจากนั้นแล้วในการวินิจฉัยโรคเมลิออยโดสิสอาจจะเลือกใช้อื่นในการวินิจฉัยโรคร่วมด้วยเพื่อให้ผลที่น่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น เช่น ELISA, Complement fixation test ซึ่งมีความไวและ

ความจำเพาะมากกว่าวิธี Indirect hemagglutination test [6] ในกรณีที่ตรวจพบว่าสัตว์เป็นโรคเมลิออยโดสิสควรกำจัดทั้งสัตว์ตัวนั้นทันที เนื่องจากการเกิดโรคในสัตว์ส่วนใหญ่จะเกิดในลักษณะโรคเรื้อรัง สามารถติดต่อจากสัตว์สู่คน และมีการติดต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด [2] เช่น Penicillin, Ampicillin หรือยาปฏิชีวนะกลุ่ม Aminoglycoside เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. พิลล สุขสายไทยชนะ. 2555. การดูแลสุขภาพแพะและแกะ. ประมวลความรู้ด้านสุขภาพปศุสัตว์และสัตว์เลี้ยงภาคสนาม. สุรพล เลื่องยศลือชากุล, พัฒนฉัตร ดิสกุล, อภัย สุทธิสังข์ และ ประเทือง สุตสาคร บรรณาธิการ. โครงการสัตวแพทย์พระราชทานในพระราชดำริสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ. กรุงเทพมหานคร. หน้า 63.
2. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์. 2549. คู่มือมาตรฐานการชันสูตรโรคเมลิออยโดสิสโดยวิธีทางซีรัมวิทยา. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์. หน้า 7.
3. สุกัญญา นาคสุนทร และ ปริญญ์ พันนฤทธิ. 2559. การศึกษาทางซีรัมวิทยาต่อโรคเมลิออยโดสิสโดยวิธี indirect haemagglutination และการเพาะเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 10(3): 97-111.
4. ทับทิม บุญเต็ม และ ตรองรัก บุญเต็ม. 2556. ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคเมลิออยโดสิสในโคนมของจังหวัดชัยภูมิ. จดหมายข่าวศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง. 10: 2-20.
5. สุพล ชลดำรงกุล. 2548. การศึกษาแนวทางในการกำจัดโรคเมลิออยโดสิสในแพะที่เลี้ยงในชนบท 2 จังหวัดภาคใต้. วารสารสัตวแพทย์. 15(3): 112-125.
6. สุรพงษ์ วงศ์เกษมจิตต์ เรขา คณิตพันธ์ และ นิตยา ศรีแก้วเขียว. 2558. การประเมินเบื้องต้นของชุดทดสอบโรคเมลิออยโดสิสในปศุสัตว์โดยวิธี Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 9(3): 57-59.
7. Cheng, A.C. and Currie, B.I. 2005 Melioidosis: Epidemiology, Pathology and Management. Clin. Microbiol. Rev. 18: 383-416.
8. Dance, D.A. 2000. Melioidosis as an emerging global problem. Acta Tropica. 74: 115-119.
9. Srikawkheaw, N. and Lawhavinit, O. 2007. Detection of antibodies against melioidosis from animal sera in Thailand by indirect haemagglutination test. Kasetsart J. (Nut Sci). 41: 81-85.
10. Harris, P.N.A., Ketheesen, N., Owens, L. and Norton, R.E. 2009. Clinical Feature that Affect Indirect-hemagglutination- assay responses to *Burkholderia pseudomallei*. Clin. Vaccine. Immunol. 16(6): 924-930.
11. Sirisinha, S. 1991. Diagnostic value of serological test for melioidosis in an endemic area. Asia Pacific J. Allergy Immunol. 9: 1-3.
12. Cheng, C.C., O'Brien, M., Freeman, K., Lum, G. and Currie, B.J. 2006. Indirect hemagglutination assay in patients with Melioidosis in northern Australia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 74(2): 330-334.

คำสำคัญ: โรคเมลิออยโดสิส แพะนม ความชุก indirect hemagglutination

การสำรวจหาปรสิตในทางเดินอาหารของอัลปาก้าจากฟาร์มเอกชน ในประเทศไทย

มงคล ขวณิช สุทธิณีย์ บุญให้ อนุสรณ์ จำแนกชั้น สมยศ อิมอาร์มณ ธนสิทธิ์ สอนภู*

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*Corresponding author: tsomphu@hotmail.com

[บทนำ] อัลปาก้า (*Vicugna pacos*) เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในวงศ์ Camelidae จัดเป็นอูฐพื้นเมืองของอเมริกาใต้ (South American Camelid) ซึ่งถูกเลี้ยงไว้เพื่อนำขนมาใช้ประโยชน์และการบริโภคเนื้อ [1] ประเทศไทยได้มีการนำเข้าและเลี้ยงอัลปาก้าเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยว เนื่องจากอัลปาก้าเป็นสัตว์ต่างถิ่นสำหรับประเทศไทย การดูแลสุขภาพจึงมีส่วนสำคัญที่จะทำให้สัตว์มีสุขภาพดี ปัญหาการติดปรสิตภายในระบบทางเดินอาหารเป็นปัญหาที่ส่งผลต่อสุขภาพและทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ [2] ซึ่งพบได้ทั้งพยาธิตัวกลม, พยาธิตัวตืด, พยาธิใบไม้ และ โปรโตซัว อาการทางคลินิกของการติดปรสิตภายในมักจะไม่เฉพาะ เช่น ผอมลง อัตราการเจริญเติบโตช้า เบื่ออาหาร ท้องเสีย โลหิตจาง [3] การศึกษานี้เพื่อสำรวจหาพยาธิและโอโอซิสของโปรโตซัวในทางเดินอาหารของอัลปาก้าที่เลี้ยงในฟาร์มเอกชนในประเทศไทย

[อุปกรณ์และวิธีการ] เก็บอุจจาระอัลปาก้าที่มีอายุมากกว่า 6 เดือน ที่เลี้ยงในฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครราชสีมาทั้งหมด 34 ตัวอย่างจาก 2 ฟาร์ม ด้วยการล้างเก็บอุจจาระโดยตรงจากทวารหนักและทำการตรวจหาพยาธิและโอโอซิสของโปรโตซัวด้วยวิธี Centrifugal floatation technique และ Centrifugal sedimentation technique และทำการตรวจนับจำนวนพยาธิด้วยวิธี McMaster technique แล้วบันทึกผล

[ผลการสำรวจ] พบความชุกไชพยาธิในอุจจาระอัลปาก้า 61.76% (21/34) และไชพยาธิที่พบเป็นไชพยาธิชนิด Strongyle type egg 95.24% ไชพยาธิ *Strongyloides* spp. 4.76% ไม่พบไชพยาธิชนิดอื่นและโอโอซิสของโปรโตซัว จำนวนไข่ที่ตรวจนับไชพยาธิเฉลี่ย 260.8 ใบต่ออุจจาระ 1 กรัม

[สรุปผลและวิจารณ์] พบไชพยาธิในอุจจาระอัลปาก้า 61.76% ส่วนใหญ่เป็นไชพยาธิในกลุ่ม Strongyle จำนวนไชพยาธิเฉลี่ย 260.8 ใบต่ออุจจาระ 1 กรัม ในการสำรวจในครั้งนี้พบแต่ไชพยาธิตัวกลม ซึ่งเป็นกลุ่มพยาธิที่พบได้บ่อยที่สุดและก่อให้เกิดความสูญเสียได้มากที่สุด[4] ในการแยกชนิดของไชพยาธิกลุ่ม Strongyle ต้องทำการเพาะเลี้ยงไชพยาธิและแยกชนิดพยาธิที่ตัวอ่อนระยะที่ 3 (L3) [5] แต่ในการศึกษานี้ผู้วิจัยไม่ได้ทำ

การเพาะเลี้ยงไชพยาธิจึงไม่สามารถบอกได้ว่าพยาธิที่พบส่วนใหญ่เป็นสปีชีใด มีรายงานการติดพยาธิตัวกลมจากสำรวจในอัลปาก้าที่ประเทศญี่ปุ่น โดยพบไชพยาธิ *Nematodirus* spp. มากที่สุด รองมาเป็น *Trichuris* spp. และ *Capillaria* spp. [6] ในฟาร์มอัลปาก้าในประเทศไทยออสเตรเลียพบไชพยาธิ *Haemonchus contortus* เป็นปัญหาทำให้สัตว์ป่วยและตายมากที่สุด [7] แม้ว่าจะรายงานการพบการติดพยาธิใบไม้ในการสำรวจหลายประเทศ [8, 9] แต่การศึกษานี้ไม่พบไชพยาธิใบไม้ อาจเนื่องจากลักษณะพื้นที่ของฟาร์มไม่เหมาะสมกับวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ ที่ต้องมีโฮสต์กึ่งกลางเป็นสัตว์จำพวกหอยที่อยู่ในแหล่งน้ำ [10] โดยฟาร์มที่เก็บตัวอย่างมีการเลี้ยงอัลปาก้าบนโรงเรือนและอีกฟาร์มเลี้ยงแบบปล่อยทะเล็มหญ้าโดยมีรั้วกั้นในส่วนของการเลี้ยงทั้งหมด การสำรวจนี้ไม่พบโอโอซิสของโปรโตซัวในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากการก่อโรคของโปรโตซัวในระบบทางเดินอาหารมักจะเกิดขึ้นกับลูกสัตว์ ในสัตว์โตจะมีภูมิคุ้มกันต่อการก่อโรคของโปรโตซัวในระบบทางเดินอาหาร [11] ในการศึกษาครั้งนี้เราเก็บตัวอย่างอุจจาระจากอัลปาก้าที่มีอายุมากกว่า 6 เดือน มีรายงานว่าโปรโตซัวในระบบทางเดินอาหารก่อโรคและทำให้เกิดการตายในลูกอัลปาก้าที่อายุน้อยกว่า 4 เดือน [12] นอกจากนี้การก่อโรคจากโปรโตซัวยังเป็นผลมาจากการเลี้ยงที่หนาแน่นและการสุขาภิบาลในฟาร์มที่ไม่ดี [11] โดยฟาร์มที่เก็บตัวอย่างทั้งสองฟาร์มมีการเลี้ยงอัลปาก้าในสภาพแวดล้อมที่มีสุขอนามัยดี สัตว์ไม่มีความเครียดจากการเลี้ยงดู จึงไม่พบการก่อโรคจากโปรโตซัวในระบบทางเดินอาหาร การตรวจพบไชพยาธิจำนวน 260.8 ใบ ต่อ อุจจาระ 1 กรัม ไม่สามารถบอกได้ว่าอัลปาก้าที่ติดพยาธิรุนแรงได้ เพราะความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไชพยาธิที่ขับออกมา กับจำนวนตัวแก่ในระบบทางเดินอาหารและความรุนแรงของอาการทางคลินิกมีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ [4] แต่การตรวจพบไชพยาธิก็จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเฝ้าระวังการเกิดโรคที่ส่งผลต่อสุขภาพได้

เอกสารอ้างอิง

1. Rojas, M., Manchego, A., Rocha, C.B., Formells, L.A., Siva, R.C., Mendes, G.S., Dias, H.G. Sandaval, N., Pezo, D. and Santos, N. 2016. Outbreak of diarrhea among preweaning alpaca (*Vicugna pacos*) in the southern Peruvain highland. J. Infect. Dev. Ctries. 10(3): 269-274.
2. Ballweber, L.R. 2009. Ecto- and of new world camelids. The veterinary clinics of North America. Food animal practice. 25: 295-310.
3. Cebra, C.K., Anderson, D., Tibary, A., Vansaun, R., and Johnson, L.W. 2014. Parasitic gastroenteritis. Llama and alpaca care, medicine, surgery, reproduction, nutrition and health care. Saunder Elsevier. St Louis. pp. 501-512.
4. Franz, S., Wittek, T., Joachim, A., Hinney, B. and Dadak, A.M. 2015. Llamas and alpacas in Europe: Endoparasites of the digestive tract and their pharmacotherapeutic control. Vet J. 204: 255-262.
5. Rodrigues, M.G.R., Soares, F.E.F., Hiura, E., Aguiar, A.R., Ferraz, C.M., Lenz, D., de Souza Barbosa, T., Rangel, M. C.V., da Fonseca, L.A., Lacerda, T.F., Braga, G.M.A.M., Sena, F.P., Araujo, J.V. and Braga, F.R. 2016. In vitro biological control of Strongyles (Strongylida) in llamas (*Lama glama*) coming from a zoo, in southeastern Brazil. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 5(4): 976-983.
6. Hyuga, A. and Matsumoto, J. 2016. A survey of gastrointestinal parasites of alpacas (*Vicugna pacos*) raised in Japan. J. Vet. Med. Sci. 78(4): 719-721.
7. Jabbar, A., Campbell, A., Charles, J.A. and Gasser, R.B. 2013. First report of anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* in alpacas in Australia. Parasites & Vectors. 6: 243.
8. Hamir, A.N. and Smith, B.B. 2002. Severe biliary hyperplasia associated with liver fluke infection in an adult alpaca. Vet. Pathol. 39(5): 592-594.
9. Puente, G.L. 1997. Acute and subacute fasciolosis of alpacas (*Lama pacos*) and treatment with triclabendazole. Trop Anim Health Prod. 29(1): 31-32.
10. Weaver, S. 2009. Llamas and Alpacas: Small-scale Herding for Pleasure and Profit. Hobby farm press. Irvine, California.
11. Whitehead, C.E. and Anderson, D.E. 2006. Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. Small Ruminant Res. 61: 207-215.
12. Rosadio, R.H. and Ameghino, E.F. 1994. Coccidial infections in neonatal Peruvian alpacas. Vet. Rec. 135: 459-460.

คำสำคัญ อัลปาก้า ปรสิต ไช้พยาธิ

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *Toxoplasma gondii* ในโค

ด้วยวิธี Indirect Immunofluorescent Antibody Test และ Sabin Feldman Dye Test

จิตรบรรจง ทุมพงษ์*

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

*ผู้รับผิดชอบบทความ: jitbanjo@yahoo.com

[บทนำ] *Toxoplasma gondii* เป็นเชื้อโปรโตซัวที่สามารถติดต่อไปสู่คนและปศุสัตว์ได้หลายชนิด วิธี Sabin Feldman dye test (SFDT) เป็น gold standard ของการวินิจฉัยโรคหรือใช้ตรวจยืนยันการติดเชื้อ *Toxoplasma gondii* ในคนเนื่องจากมีความไวและความจำเพาะสูงมาก วิธีดังกล่าวจะตรวจหา total immunoglobulin ได้แก่ IgM, IgG และ IgA ที่จำเพาะต่อ *T. gondii* โดยนำหลักการการทำงานของ complement-mediated cytolysis มาช่วยในการตรวจ คือจะนำเอาเชื้อ *T. gondii* ที่ยังมีชีวิตอยู่มาบ่มกับซีรัมที่ต้องการทดสอบและ accessory factor ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมง ซึ่ง accessory factor จะทำหน้าที่เหมือนกับเป็น complement factor นั้นโดยปกติแล้วในห้องปฏิบัติการจะใช้ซีรัมของคนที่ทดสอบแล้วว่าไม่มีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *T. gondii* หลังจากนั้นเติมสี methylene blue ลงไป ถ้าในซีรัมที่ต้องการทดสอบมีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *T. gondii* อยู่แล้ว แอนติบอดินั้นจะไปทำลายเชื้อโดยเพิ่ม membrane permeability ของเชื้อทำให้ไซโทพลาสซึมรั่วซึมออกมาและสีก็จะไม่ถูกดึงเข้าไปภายในเซลล์ทำให้สามารถเห็นเชื้อที่ตายมีลักษณะใสไม่ติดสี แต่ถ้าในซีรัมที่ต้องการทดสอบไม่มีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *T. gondii* อยู่ เชื้อก็จะไม่ถูกทำลายและจะสามารถดึงสีเข้าไปภายในเซลล์ทำให้เราเห็นเชื้อย้อมติดสีน้ำเงิน สำหรับการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *T. gondii* ในสัตว์การตรวจหาเชื้อหรือ DNA ของเชื้อจะทำได้ยาก เนื่องจากสัตว์ที่ติดเชื้อส่วนมากมักจะไม่มีแสดงอาการป่วยแต่จะสามารถเป็นแหล่งนำโรคมานสู่คนได้เมื่อคนไปบริโภคเนื้อสัตว์เหล่านั้น ดังนั้นวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาจึงน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมเช่นเดียวกับในคน แต่ยังเป็นที่ยกเถียงกันอยู่ว่าผลของ SFDT ในสัตว์มีความถูกต้องแม่นยำมากน้อยเพียงใด การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *T. gondii* ในโค โดยการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะด้วยวิธี Indirect Immunofluorescent antibody test (IFAT) กับวิธี SFDT ว่าให้ผลสอดคล้องหรือแตกต่างกันอย่างไร

[วิธีการดำเนินการวิจัย]

1. ตัวอย่างซีรัม

ซีรัมของโค 50 ตัวอย่างถูกนำมาใช้ทดสอบเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *T. gondii* โดยซีรัม 7 ตัวอย่างได้มาจากโคที่ถูกฉีดเชื้อ *T. gondii* อีก 3 ตัวอย่างได้มาจากโคที่ถูกฉีดเชื้อ *N. caninum* [1] และซีรัมอีก 40 ตัวอย่างเป็นซีรัมที่เก็บมาจากโคที่ถูกส่งเข้าโรงฆ่าและโคเหล่านั้นไม่ได้แสดงอาการป่วยหรือผิดปกติใดๆ ซีรัมทุกตัวอย่างจะถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ถูกนำมาทดสอบด้วยวิธี IFAT ส่วนที่ 2 และ 3 ถูกนำมาทดสอบด้วยวิธี SFDT โดยใช้ accessory factor เป็นซีรัมของคนและซีรัมของโคตามลำดับ

2. Indirect Immunofluorescent antibody test (IFAT)

วิธีการตรวจวินิจฉัยโดย IFAT ทำตามขั้นตอนที่กล่าวไว้ใน (1)

3. Sabin Feldman dye test (SFDT)

วิธีการตรวจวินิจฉัยโดย SFDT นั้นกล่าวโดยย่อคือ เริ่มจากนำเชื้อ *T. gondii* สายพันธุ์ RH ระยะ tachyzoites จากช่องท้องของหนูทดลอง Swiss mice ที่ถูกฉีดเชื้อไว้ก่อนหน้า 2-3 วัน มาล้างและนับจำนวนเพื่อปรับความเข้มข้นให้เป็น $1.5-2.5 \times 10^6$ ตัว / 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำซีรัมที่ต้องการทดสอบมาทำ two-fold dilution ใน microplates แล้วเติมเชื้อ *T. gondii* ที่เตรียมไว้ลงไป 50 μ l ในแต่ละหลุม จากนั้นเติม accessory factor ลงไปหลุมละ 50 μ l นำ plate ไปบ่ม 1 ชั่วโมงที่ 37°C แล้วนำออกมาเติมสี methylene blue แล้วอ่านผลโดยจะอ่านผลเป็นบวกถ้าในหลุมมี tachyzoites ที่ตายซึ่งจะไม่ติดสีเป็นจำนวนมากกว่า 50% ซีรัมที่อ่านผลเป็นบวกที่ระดับไทดอร์ 1:16 ขึ้นไปถือว่าเป็นซีรัมที่ให้ผลบวก คือเป็นซีรัมที่มีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ

[ผลการวิจัย]

IFAT	SFDT (Human serum as accessory factor)		Total
	Positive	Negative	
Positive	0	13	13
Negative	0	37	37
Total	0	50	50
IFAT	SFDT (Bovine serum as accessory factor)		Total
	Positive	Negative	
Positive	1	12	13
Negative	0	37	37
Total	1	49	50

ผลการทดลองพบว่า IFAT ให้ผลลบสำหรับซีรัมโคทั้ง 7 ตัวอย่างที่ถูกฉีดเชื้อ *T. gondii* (positive control) กับอีก 6 ตัวอย่าง (หมายเลข 13, 20, 35, 36, 42 และ 47) และให้ผลลบสำหรับซีรัมโคทั้ง 3 ตัวอย่างที่ถูกฉีดเชื้อ *N. caninum* (negative control) ในขณะที่ SFDT ทั้งที่ใช้ซีรัมของคนเป็น accessory factor ให้ผลลบสำหรับซีรัมทุกตัวอย่าง และ SFDT ที่ใช้ซีรัมของโคเป็น accessory factor ให้ผลลบสำหรับซีรัมทุกตัวอย่าง ยกเว้น 1 ซีรัม (หมายเลข 42)

[วิจารณ์] จากผลการทดลองนี้ ซึ่งซีรัมของโคที่นำมาใช้เป็น positive control ในการทดลองเป็นโคที่ถูกฉีดเชื้อไปแล้ว 35-105 วัน พบว่า ผลการตรวจด้วยวิธี IFAT ไม่สอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี SFDT เลย แม้ว่าจะทดลองใช้ซีรัมของโคมาเป็น accessory factor แทนซีรัมของคนด้วยแล้วก็ตาม อาจกล่าวได้ว่า วิธี IFAT ให้ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *T. gondii* ในโคที่เชื่อถือได้มากกว่าเนื่องจากข้อจำกัดของวิธี SFDT นั้นอาจให้ผลเป็น false negative ได้ในกรณีที่โคตัวนั้นติดเชื้อมานานแล้ว เนื่องจากโคเป็นโฮสต์ที่สามารถกำจัด *T. gondii* ให้หมดไปจากร่างกายได้อย่างรวดเร็ว Beverley et al. (1977) ทดลองฉีด *T. gondii* เข้าใต้ผิวหนังให้แก่ลูกโคแล้วตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะ

ต่อเชื้อด้วยวิธี SFDT พบว่าโดยเฉลี่ยลูกโคจะมีระดับแอนติบอดีสูงสุดที่สัปดาห์ที่ 4 หลังจากได้รับเชื้อแล้วหลังจากนั้นระดับแอนติบอดีจะลดลงไปเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 หลังจากได้รับเชื้อ [2] Dubey et al. (1985) แสดงให้เห็นว่าเมื่อทดลองฉีดเชื้อ *T. gondii* ในโคแล้วนำซีรัมของโคมาทดสอบหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อด้วยวิธีต่างๆ แล้วพบว่าวิธี SFDT จะตรวจพบแอนติบอดีได้เพียงช่วงระยะเวลาสั้นๆ ไม่เกิน 1 เดือน หลังจากโคถูกฉีดเชื้อเท่านั้น ในขณะที่วิธีทางซีรัมวิทยาอื่นๆ จะยังคงตรวจพบแอนติบอดีได้นานหลายเดือน [3] Esteban-Redondo and Innes (1997) รายงานว่า SFDT อาจจะไม่เหมาะสมสำหรับใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ *T. gondii* ในโคเนื่องจากมีโอกาสที่ผลจะเป็น false positive จากโปรตีน globulin ในเลือดโค [4]

โดยสรุปจึงกล่าวได้ว่า SFDT ไม่เหมาะสมสำหรับที่จะใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *T. gondii* ในโคเนื่องจากมีโอกาสที่ผลจะเป็น false positive หรือ false negative ได้มาก นอกจากนั้น IFAT ยังมีข้อได้เปรียบ SFDT ตรงที่ไม่ต้องใช้เชื้อที่ยังมีชีวิตในขั้นตอนการตรวจ จึงมีความสะดวกและปลอดภัยกับผู้ปฏิบัติงานมากกว่าอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Wiengcharoen J, et al. 2011. Parasitol Res 108: 1235-1241.
2. Beverley JK, et al. 1977. Res Vet Sci. 23(1): 33-37.
3. Dubey JP, et al. 1985. Am J Vet Res. 48(8): 1239-1243.
4. Esteban-Redondo and Innes, 1997. Comp Immun Microbiol Infect Dis. 20(2): 191-196.

คำสำคัญ: *Toxoplasma gondii*, Sabin Feldman Dye test, indirect immunofluorescent antibody test

โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) ในอ่าวไทยตอนบน

บัญชา สัมฤทธิ์¹ ปิยธิดา เชี่ยวสงคราม¹ สุภาวดี มณีฉาย¹ วีระเกียรติ ทรัพย์มี^{1*} จุฑามาศ ศุภพันธ์²

¹หลักสูตรชีววิทยาประยุกต์ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, 80110

²หลักสูตรครุศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช, 80280

*ผู้รับผิดชอบบทความ: audy422r@yahoo.com

บทคัดย่อ

ศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) ในอ่าวไทยตอนบน วิเคราะห์จากความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณคอนโทรลรีเจียน (control region) ขนาด 580 คู่เบส โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดสมุทรสงคราม และจังหวัดระยอง จำนวน 26 ตัวอย่าง พบว่ามีแฮพลไทป์ (haplotype) ทั้งหมด 22 แฮพลไทป์ ประกอบด้วย shared haplotype 4 แฮพลไทป์ และ rare haplotype 18 แฮพลไทป์ ค่า haplotype diversity และ nucleotide diversity มีค่า 0.988 และ 0.031 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของประชากรด้วยการทดสอบ neutrality test พบว่าค่า Tajima's *D* และ Fu's *F_s* มีค่า -0.010 และ -4.431 ซึ่งเบี่ยงเบนไปจากค่าคาดหวังตาม neutral evolution ในทิศทางที่แสดงว่าประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนเคยมีการขยายขนาดประชากรมาก่อน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบ mismatch distribution วิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของประชากรปลาตะกรับด้วยวิธีการทดสอบแบบ AMOVA พบว่าไม่มีโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบน ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการจัดการพันธุกรรมปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนได้

คำสำคัญ: คอนโทรลรีเจียน โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร ปลาตะกรับ อ่าวไทยตอนบน

Abstract

Population genetic structure of the Spotted scat (*Scatophagus argus*) in upper Gulf of Thailand was investigated. Intraspecific variation was determined from partial sequences of control region of mitochondrial DNA (mtDNA CR) with a size of 580 bp. Sequences of 26 individuals from Samut Songkram and Rayong province were analyzed. A total of 22 haplotypes, consisting of 4 shared and 18 rare haplotypes, were identified. Estimated values of haplotype diversity and nucleotide diversity were 0.988 and 0.031, respectively. Inference of demographic history using neutrality tests, both Tajima's *D* and Fu's *F_s* statistics, yielded negative values (-0.010 and -4.431, respectively), which were deviation from the neutrality, indicating that the *S. argus* in upper Gulf of Thailand had experienced population expansion. In addition, mismatch distribution analysis indicated that possible expansion was occurred. The AMOVA analysis revealed that no genetic differentiation of *S. argus* in upper Gulf of Thailand. This study is necessary information contributing to efficient strategies to conserve this species in upper Gulf of Thailand.

Keywords: control region, population genetic structure, Spotted scat, upper gulf of Thailand

บทนำ

ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) เป็นปลาที่อาศัยตามแนวชายฝั่งจนถึงบริเวณที่เป็นน้ำกร่อย นิยมบริโภคโดยนำมาทำอาหารประเภทแกงหรือแกงส้ม อีกทั้งยังสามารถนำมาปรับเลี้ยงเพื่อเป็นปลาสวยงามได้ ปัจจุบันพบว่าปริมาณปลาตะกรับในแหล่งน้ำธรรมชาติมีแนวโน้มลดลง (อรัญญาและคณะ, 2552) เนื่องจากการจับที่มากเกินไป จึงเริ่มมีการรณรงค์ให้อนุรักษ์และวางแผนการจัดการปลาตะกรับในธรรมชาติ ซึ่งข้อมูลทางพันธุกรรมของประชากรเป็นข้อมูลที่สำคัญในการวางแผนจัดการ แต่พบว่าข้อมูล

ของปลาตะกรับมีเพียงข้อมูลจากทางภาคใต้ของประเทศไทยเท่านั้น (วีระเกียรติ, 2558) วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรของปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบน โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอบริเวณคอนโทรลรีเจียน ซึ่งเป็นบริเวณที่มีอัตราการกลายพันธุ์สูง จึงเหมาะสมในการนำมาศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากร (Boore, 1999) โดยผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการจัดการพันธุกรรมประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนได้และยังก่อให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรปลาตะกรับ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างปลาตะกรับจากจังหวัดในอ่าวไทยตอนบน ได้แก่ จังหวัดสมุทรสงคราม และจังหวัดระยองรวมทั้งหมดจำนวน 26 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) จากนั้นนำเนื้อปลาน้ำหนักประมาณ 20–30 มิลลิกรัม มาสกัด genomic DNA ด้วยชุดสกัด Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, BIOTECH CORP.) ตามวิธีและขั้นตอนของบริษัท

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ใช้ไพรเมอร์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายบริเวณคอนโทรลรีเจียน คือ SACR_H1 5'- AGT ATA ACC GCG AAT GCT GG และ SACR_L1 5'- CAT TTA TGG GGT ATG AAC CC (วีระเกียรติ, 2558) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายในหลอดพีซีอาร์ ประกอบด้วย 10X Taq buffer ปริมาตร 5 ไมโครลิตร, 25 mM MgCl₂ ปริมาตร 7.5 ไมโครลิตร, 2 mM dNTPs mix ปริมาตร 4 ไมโครลิตร, 10 μ M forward primer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, 10 μ M reverse primer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, Taq DNA polymerase (RBCbiosciences, USA) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร (2.5 unit), DNA template ปริมาตร 5 ไมโครลิตร (50-100 ng) และ ultrapure water ปริมาตร 24 ไมโครลิตร รวมปริมาตรทั้งหมด 50 ไมโครลิตร ใช้ปฏิกิริยาอุณหภูมิโพลิเมอเรสด้วยเครื่อง Mastercycler, Eppendorf (Germany) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ แล้วตรวจสอบผลผลิตที่ได้ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1 เปอร์เซ็นต์ นำผลผลิตที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Gel/PCR Purification Mini Kit (FAVORGEN, BIOTECH CORP.) ตามที่บริษัทแนะนำ แล้วนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่หน่วยบริการ (1ST Base Laboratory, (Malaysia)

3. การจัดการข้อมูลและการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

3.1 การจัดการข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

ทำการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม ClustalW version 2.0.12 (Larkin et al., 2007) แล้วตรวจสอบด้วยสายตาอีกครั้ง

3.2 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยหาค่า nucleotide diversity (π ; Nei, 1987), haplotype diversity (h ; Nei, 1987) และค่า mean number of nucleotide differences ระหว่างแฮปโลไทป์ทั้งหมดด้วยโปรแกรม DnaSP version 5.00 (Librado and Rozas, 2009)

4. การวิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร

4.1 โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร

วิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรด้วยวิธี Analysis of Molecular Variance (AMOVA) เพื่อเปรียบเทียบระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากรโดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010)

4.2 ระยะห่างทางพันธุกรรม

วิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรด้วยวิธี pairwise F_{ST} ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations โดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010)

5. การวิเคราะห์ประวัติประชากร

5.1 ทดสอบ neutrality test

วิเคราะห์ค่า Tajima's D (Tajima, 1989) และ Fu's F_s (Fu, 1997) เพื่อทดสอบการเบี่ยงเบนของประชากรจาก neutral evolution ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations โดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010)

5.2 ทดสอบ mismatch distribution

วิเคราะห์ mismatch distribution เพื่อศึกษาการขยายขนาดของประชากรภายใต้สมมติฐาน sudden expansion model โดยใช้ค่าทดสอบ Harpending Raggedness index (Harpending, 1994) และ sum of squared deviations (SSD) เพื่อทดสอบ goodness-of-fit ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations โดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010) ประเมินขนาดของประชากรด้วยพารามิเตอร์ θ_0 และ θ_1 เมื่อ θ_0 และ θ_1 เท่ากับ $2N\mu$ เมื่อ N คือค่า effective female population size

ผลการทดลอง

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณคอนโทรลรีเจียนของปลาตะกรับขนาด 580 คู่เบส มีตำแหน่ง align sites 578 ตำแหน่ง แบ่งเป็น monomorphic sites 508 ตำแหน่ง polymorphic sites 70 ตำแหน่ง (singleton variable site 20 ตำแหน่ง และ parsimony variable site 50 ตำแหน่ง) มีแฮพลไทป์ทั้งหมด 22 แฮพลไทป์ ประกอบไปด้วยแฮพลไทป์ที่เป็น shared haplotype จำนวน 4 แฮพลไทป์โดยแบ่งเป็นแฮพลไทป์ที่เป็น shared haplotype ระหว่างประชากร 2 แฮพลไทป์และ shared haplotype ภายในประชากร 2 แฮพลไทป์ (ตารางที่ 2) ทุกจังหวัดมี rare haplotype รวมจำนวน 18 แฮพลไทป์ โดยจังหวัดสมุทรสงครามมี rare haplotype มากที่สุดจำนวน 10 แฮพลไทป์ และจังหวัดระยองมีจำนวน 8 แฮพลไทป์ สำหรับค่า haplotype diversity มีค่าอยู่ในช่วง 0.985 – 0.989 ส่วนค่า nucleotide diversity มีค่าอยู่ในช่วง 0.023 – 0.037 โดยค่า haplotype diversity ของประชากรทั้งหมดมีค่า 0.988 ± 0.014 และค่า nucleotide diversity ของประชากรทั้งหมดมีค่า 0.031 ± 0.002 สำหรับค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมได้แก่ จำนวนแฮพลไทป์ จำนวน polymorphic sites haplotype diversity (h) และ nucleotide diversity (π) แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณคอนโทรลรีเจียน

Locality	No.	No. haplotypes	No. polymorphic sites	Haplotype diversity (h) (mean $\pm$ SD)	Nucleotide diversity (π) (mean $\pm$ SD)
Samut Songkram	14	13	52	0.989 ± 0.031	0.023 ± 0.003
Rayong	12	11	58	0.985 ± 0.040	0.037 ± 0.002
Total	26	22	70	0.988 ± 0.014	0.031 ± 0.002

ตารางที่ 2. การกระจายของแฮพลোটป์ในจังหวัดที่สุ่มเก็บตัวอย่าง

Haplotype	Samut Songkram	Rayong	Total
H01	1	-	1
H02	1	-	1
H03	2	-	2
H04	1	-	1
H05	1	-	1
H06	1	-	1
H07	1	-	1
H08	1	-	1
H09	1	-	1
H10	1	-	1
H11	1	1	2
H12	1	1	2
H13	1	-	1
H14	-	1	1
H15	-	1	1

ตารางที่ 2 การกระจายของแฮพลোটป์ในจังหวัดที่สุ่มเก็บตัวอย่าง (ต่อ)

Haplotype	Samut Songkram	Rayong	Total
H16	-	1	1
H17	-	2	2
H18	-	1	1
H19	-	1	1
H20	-	1	1
H21	-	1	1
H22	-	1	1
Total	14	12	26

2. โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร

จากการศึกษาพบว่าไม่เกิดโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรของปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบน โดยมีค่า $\Phi_{ST} = 0.085$ และมีค่า $p = 0.054$ และประชากรมีความแปรปรวนภายใน 91.46 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) ผลการวิเคราะห์ค่า pairwise F_{ST} พบว่าประชากรในจังหวัดสมุทรสงครามและจังหวัดระยองไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณคอนโทรลรีเจียนด้วยวิธี AMOVA

Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	p-value
Among populations	1	19.252	0.814 Va	8.54	$\Phi_{ST} = 0.085$
Within populations	24	209.440	8.726 Vb	91.46	($p = 0.054$)
Total	25	228.692	9.541		

ตารางที่ 4 ระยะห่างทางพันธุกรรมโดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณคอนโทรลรีเจียน

	Samut Songkram	Rayong
Samut Songkram	-	
Rayong	0.085	-

3. ประวัติประชากร

จากการทดสอบการเบี่ยงเบนไปจาก neutral population พบว่าค่า D statistic มีค่า -0.010 ($p = 0.080$) และค่า F_s statistic มีค่า -4.431 ($p = 0.101$) ซึ่งเบี่ยงเบนไปจาก neutral population สำหรับการทดสอบ mismatch distribution พบว่าสอดคล้องกับ sudden expansion model โดยค่า SSD มีค่า 0.007 ($p = 0.618$) และค่า Harpending Raggedness index มีค่า 0.007 ($p = 0.873$) ค่าพารามิเตอร์ θ_1 มีค่ามากกว่า θ_0 ในทุกจังหวัดแสดงว่าประชากรเคยมีการขยายขนาดประชากร (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ค่าพารามิเตอร์ในการศึกษาประวัติประชากรวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณคอนโทรลรีเจียน

Locality	Tajima's D	Fu's F_s	θ_0	θ_1	SSD	Raggedness
Samut Songkram	-0.699	-3.055	5.421	34.899	0.009 (0.875)	0.013 (0.634)
Rayong	-0.630	-0.9851	0.010	75.644	0.011 (0.973)	0.024 (0.861)
Total	-0.010 (0.080)	-4.431 (0.101)	11.130	50.937	0.007 (0.618)	0.007 (0.873)

หมายเหตุ : ค่าในวงเล็บคือค่า p - value

วิจารณ์

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการศึกษาพบว่าประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมากโดยมีค่าความแปรปรวนภายในประชากรสูงถึง 91.46 เปอร์เซ็นต์ และจากแฮพลไทป์จำนวน 22 แฮพลไทป์พบว่ามี share haplotype จำนวน 4 แฮพลไทป์ และอีก 18 แฮพลไทป์ เป็น rare haplotype ซึ่งเป็นแฮพลไทป์เฉพาะของแต่ละจังหวัด ซึ่งจากการที่มีจำนวน rare haplotype จำนวนมากในประชากรแสดงว่าในประชากรมีปลาตะกรับเพศเมียที่มีความสามารถในการขยายพันธุ์เป็นจำนวนมากจึงทำให้มีจำนวนแฮพลไทป์ที่มีความแตกต่างกันเป็นจำนวนมาก (Lewontin, 1974) ซึ่งผลการศึกษาที่มี rare haplotype จำนวนมากในประชากรให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาในปลาตะกรับจากภาคใต้ของประเทศไทย (วีระเกียรติ, 2558) และยังสอดคล้องกับงานวิจัยใน

สัตว์ทะเลหลายชนิด เช่นปูแสมก้ามขาวในทะเลอันดามัน (*Episesarma versicolor*) (Supmee et al., 2012) และปลากระบอก ในอ่าวไทย (จุฑามาศ, 2558) เป็นต้น จากการพบว่าทุกกลุ่มประชากรในแต่ละจังหวัดมี rare haplotype เฉพาะท้องถิ่นนั้น สามารถใช้ rare haplotype เป็นตัวชี้วัดแหล่งที่มาของสายพันธุ์หรือระบุแหล่งทางพันธุกรรม (genetic stock) ของปลาตะกรับได้เนื่องจากจะมีความจำเพาะเจาะจงกับแหล่งที่อยู่ (Xu et al., 2009)

2. โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร

จากการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรพบว่าประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม แสดงว่ามีการผสมพันธุ์กันระหว่างปลาตะกรับจากทั้ง 2 จังหวัด ซึ่งสอดคล้องกับตำแหน่งที่ตั้งของถิ่นอาศัยที่อยู่ในเขตทะเลเดียวกัน อีกทั้งจากรายงานของ Kong et al. (2010) รายงานว่าสัตว์ทะเลส่วนใหญ่มีความสามารถในการกระจายพันธุ์ได้ไกลกว่า 3,000 กิโลเมตร ดังนั้นจึงสามารถแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม (gene flow) ระหว่างประชากรที่อาศัยในบริเวณใกล้เคียงกันได้ และน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนไม่เกิดเป็นโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรเกิดขึ้น

3. ประวัติประชากร

จากการทดสอบ neutrality test พบว่าค่า Tajima's D มีค่าเบี่ยงเบนไปจาก neutral state โดยมีค่าติดลบแสดงว่าประชากรน่าจะเกิดการคัดเลือกแบบ purifying selection หรืออาจเกิดการขยายขนาดของประชากรมาก่อน (Yang, 2006) อีกทั้งพบค่า F_s ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบการขยายขนาดของประชากร (Ramirez-Soriano et al., 2008) มีค่าติดลบด้วยเช่นกัน จึงเป็นการยืนยันว่าประชากรปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบนเคยมีการขยายขนาดประชากรมาก่อน สอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยการวิเคราะห์วิธี mismatch distribution ที่ยอมรับสมมติฐาน sudden expansion model และยังสอดคล้องกับค่า θ_1 ซึ่งมีค่ามากกว่า θ_0 ในทุกกลุ่มประชากรซึ่งแสดงว่าประชากรกำลังมีการขยายขนาดประชากรจากขนาดเล็กสู่ขนาดใหญ่

4. แนวทางในการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากผลการศึกษาที่พบว่าไม่มีโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรของปลาตะกรับในอ่าวไทยตอนบน ดังนั้นแนวทางในการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถทำได้โดยการใช้พ่อแม่พันธุ์ระหว่างจังหวัดในอ่าวไทยตอนบนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำเพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม และควรมีวิธีการอื่นในการจัดการอย่างร่วมกัน เช่น การรักษาลินที่อยู่ตามธรรมชาติโดยการไม่ทำลายแหล่งที่อยู่ และไม่ควรจับปลาตัวเมียที่กำลังวางไข่เนื่องจากการขัดขวางการเพิ่มจำนวนประชากร อย่างไรก็ตามการพิจารณาแนวทางในการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม ควรใช้ข้อมูลจากเครื่องหมายโมเลกุลอื่น ๆ เช่น เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งมีอัตราการกลายสูงกว่าเพื่อใช้ประกอบการพิจารณาาร่วมกันด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2558 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

- จุฑามาศ ศุภพันธ์. 2558. โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลากระบอก (*Liza subviridis*) ในอ่าวไทย และแนวทางในการอนุรักษ์. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 10(1) : 157-175.
- วีระเกียรติ ทรัพย์มี. 2558. โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรและประวัติประชากรของปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) ในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 10(2) : 38 -56.
- อรัญญา อัสวารีย์, ภรณ์ยุ ภูมิพลรัง, นิคม ละอองศิริวงศ์ และ ประมัยพร ทองคนารักษ์. 2552. รายงานผลการดำเนินงานปี 2552 โครงการฟื้นฟูทรัพยากรประมงในทะเลสาบสงขลา. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Boore, J. L. 1999. Survey and summary animal mitochondria genome. *Nucleic acids research*. 27(8): 1767-1780.

- Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Res.* 10 : 564-567.
- Fu, F. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 147: 915-925.
- Harpending, R. C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Hum. Biol.* 66: 591-600.
- Kong, X.Y., Li, Y. L. and Kong, W.S.J. 2010. Genetic variation and evolutionary demography of *Fenneropenaeus chinensis* populations, as revealed by the analysis of mitochondrial control region sequences. *Gen. Mol. Biol.* 33(2): 379-389.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. and Higgins, D.G. 2007. Sequence analysis Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinf. Appl. Note.* 23(21) : 2947-2948.
- Lewontin, R.C. 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press, New York.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25: 1451-1452.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York : Columbia University Press.
- Ramirez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S.E., Rozas, J.F. and Navarro, A. 2008. Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. *Genetics*. 179: 555-567.
- Supmee, V., Ngernsiri, L., Sriboonlert, A and Sangthong. P. 2012. Population Genetic Analysis of Violet Vinegar Crab (*Episesarma versicolor*) Along the Andaman Sea Coast of Thailand. *Zoological studies*. 51(7): 1040 -1050.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123: 585-595.
- Xu, Q., Liu, R. and Liu, Y. 2009. Genetic population structure of the swimming crab, *Portunus trituberculatus* in the East China Sea based on mtDNA 16S rRNA sequences. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 371: 121-129.
- Yang, Z. 2006. Computational molecular evolution. Oxford University Press. New York.

Phylogeny of Thai Native Cattle Based on DBY-ZFY Y-Chromosomal Genes

Songmeung Suwannarat¹, Danai Sangthong², Anusorn Jasaenchuen³, Weerapun Nokkaew³ and Pradit Sangthong^{1*}

¹Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

²Department of Animal Husbandry and Basic Professional Sciences Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

³Department of Clinic Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology, Bangkok 10530, Thailand

*Corresponding author: fscipds@ku.ac.th

บทคัดย่อ

ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีนบนโครโมโซมวายจำนวน 2 ยีนประกอบด้วยยีน DBY ยาว 700 คู่เบส และยีน ZFY บริเวณ exon 11 ยาว 1400 คู่เบส ถูกเพิ่มปริมาณด้วยวิธีพีซีอาร์และหาลำดับนิวคลีโอไทด์จากตัวอย่างโคพื้นเมือง 4 กลุ่มที่พบในประเทศไทย ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เชื่อมต่อกันของยีน DBY และ ZFY ที่หาได้จากการศึกษาครั้งนี้ร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณเดียวกันของโคจากกลุ่มอนุกรมวิธานอื่นๆ ที่มีรายงานในฐานข้อมูล พบว่า ยีน DBY-ZFY บริเวณที่ศึกษาแยกสายวิวัฒนาการโคออกเป็น 4 สาย คือ (1) สายโคยุโรปและเอเชีย (zebu-ox clade; สกุล *Bos*) (2) สายไบสัน (American-European bison; สกุล bison) (3) สายกระทิง (banteng-gayal-gaur; สกุลย่อย *Bibos*) และ (4) สาย แยก (Yak; สกุลย่อย *Poephagus*) แม้ผลที่ได้จะแสดงให้เห็นว่าสายวิวัฒนาการของโคยุโรปและเอเชีย รวมถึงโคพื้นเมืองของไทยจะมีรูปแบบเป็นกลุ่มที่มีบรรพบุรุษร่วมกันแบบ monophyly แต่ภายในกลุ่มกลับพบการแยกสายวิวัฒนาการของโคพื้นเมืองของไทยออกจากโคยุโรปและเอเชียอย่างชัดเจนและไม่สามารถระบุโคใดว่ากลุ่มโคใดที่เป็นต้นกำเนิดของโคพื้นเมืองของไทยได้ โดยเมื่อพิจารณาฐานข้อมูลโดยรวมของโคที่นำมาร่วมวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้จะพบว่า สายวิวัฒนาการของโคแยกเป็นสายวิวัฒนาการที่เก่าแก่ที่สุด ส่วนอีก 3 สายวิวัฒนาการที่เหลือมีรูปแบบความสัมพันธ์ที่แยกออกเป็นหลายสายวิวัฒนาการจากบรรพบุรุษเดียวกัน (polytomic relationship) ซึ่งผลทั้งหมดที่ได้บ่งชี้ว่า ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของโคสกุล *Bos* ไม่ได้มีรูปแบบเป็น monophyly

คำสำคัญ: ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โคยุโรป โคเอเชีย สายวิวัฒนาการ โคพื้นเมือง

Abstract

Two DNA fragments of Y-chromosome, the 700 bp of first intron of DBY gene and 1,400 bp of exon11 of ZFY gene were amplified and sequenced from four ecotypes of Thai native cattle. Phylogenetic analysis using the combined sequences of the DBY and ZFY fragments of Thai native cattle obtained in this study and other bovines available in the NCBI database showed four separated clades of bovine species including (1) zebu-ox clade (subgenus *Bos*) (2) American-European bison clade (the genus *Bison*) (3) banteng-gayal-gaur clade (the subgenus *Bibos*) and (4) yak clade (the subgenus *Poephagus*). The zebu-ox clade showed monophyletic group of three subclades, Thai indigenous cattle, *Bos taurus* and *B. indicus* and could not indicate the origin of the Thai native cattle. However, based on DBY-ZFY divergence, the oldest lineage of bovine is the yak (*Bos grunniens*) clade. While the remaining three clades showed polytomic pattern of relationship. The result indicated that *Bos* may be not a monophylatic group.

Keyword: phylogenetic, *Bos taurus*, *Bos indicus*, lineage, Thai indigenous

Introduction

Cattle are important domestic animals of Thailand. Thai native cattle are divided in to four ecotypes based on external morphologies and habitats. The four ecotypes are Central, North-Eastern, Northern and Southern ecotypes. Although, each ecotype shows external characters different from other ecotypes and other bovine species, there are still lacked of phylogenetic relationship based on molecular data (Kikawa et al. 2003). Therefore, this study aims to analysis phylogenetic relationship based on DBY and ZFY Y-chromosomal gene. The Y-Chromosome has been widely used as a new and efficient genetic marker. The Zinc finger Y-chromosomal protein (ZFY gene) in Exon 11 and DEAD-box helicase 3, Y-linked (DBY gene) in first intron are used as the candidate genes to study the phylogenetic tree of bovine (Hurles and Jobling, 2001).

Material and Method

A blood sample of male specimen was collected from each ecotype of Thai indigenous cattle including Central, North-eastern, Northern and Southern ecotype. Total genomic DNA was extracted using Genomic DNA Extraction Blood DNA Mini kit (Favorgen Biotech Corp., Taiwan). Two segments of Y-chromosomal genes including 700 bp of first intron from DBY gene and 1,400 bp of exon 11 from ZFY gene were amplified using the two primer pairs from Hellborg and Ellegren (2003) and Nijman et al., (2008), respectively. PCR products were purified using GEL / PCR Purification Kit (Favorgen Biotech Corp., Taiwan) and sent for sequence analysis at MacroGen Inc. (South Korea).

The obtained DBY and ZFY sequences of each ecotype were combined to create a unambiguous concatenated sequence of 1,650 bp fragment. Available orthologous sequences from GenBank database of other eight Bovidae species including zebu (*Bos indicus*), ox (*B.taurus*), yak (*B. grunniens*), banteng (*B. javanicus*), gaur (*B. gaurus*), gayal (*B. frontalis*), American bison (Bison bison), and European bison (*Bi. bonasus*). Nucleotide sequences of water buffalo (*Syncerus caffer*) and African buffalo (*Bubalus bubalis*) were used as outgroups. Nucleotide sequences were aligned using MEGA v.6 (Tamura et al., 2003). The Bayesian phylogenetic inference was performed using GTR+G model by MrBayes v.3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001).

Results

The Phylogenetic relationship based on concatenated DBY and ZFY sequences was analyzed by Bayesian inference (Figure 1). The obtained topology showed early separation between buffalo and Bovine lineages. The relationship pattern within Bovine clearly presented of four separated lineages including (1) zebu-ox clade (subgenus *Bos*) (2) American-European bison clade (the genus *Bison*) (3) banteng-gayal-gaur clade (the subgenus *Bibos*) and (4) yak clade (the subgenus *Poephagus*). All samples of Thai native ecotypes are located in the same subclade at different branch with *B. taurus* and *B. indicus* within the zebu-ox clade. The oldest lineage of Bovine DBY-ZFY sequences is yak lineages which first split-off from Bovine common ancestor. While the other three lineages, zebu-ox clade, American and European bioson clade, banteng-gayal-gaur clade, showed polytomic distinct pattern which emerged after yak diverse event.

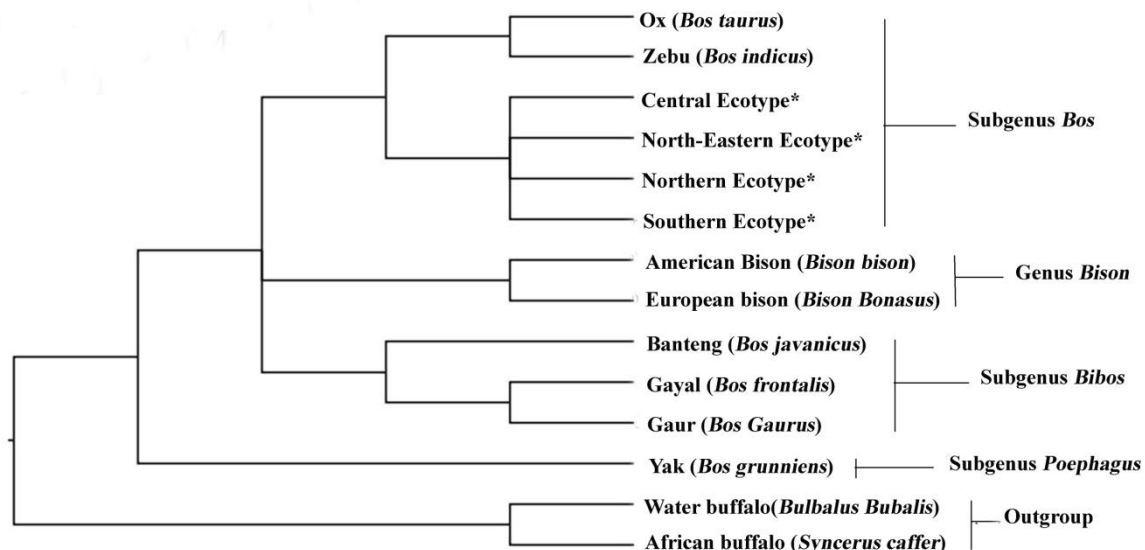


Figure 1. Phylogenetic tree reconstructed by Bayesian inference using the sequences of DBY-ZFY genes on Y-chromosome from eight bovines and two of buffalos (*Bulbalus Bubalis* and *Syncerus caffer*) available from the GenBank Database. The asterisk symbol (*) indicated the four ecotypes of Thai indigenous cattle.

Discussion

The phylogenetic studies of Bovidae including four Thai native ecotypes, Northern, Southern, North-Eastern and Central ecotype have been reconstructions. The tree topology showed monophyletic relationship of parental lineages between four ecotype of Thai indigenous cattle and *B. taurus* – *B. indicus* cattle. However, the divergence of DBY-ZFY genes could not indicate the origin of Thai native ecotypes. It is suggested that the paternal ancestor of Thai indigenous cattle might be introgression of another genetic stock within *B. taurus* – *B. indicus* or, perhaps, another species. According to recently incomplete speciation process of bovine species (Buntjer et al., 2002), the ancestor of Thai indigenous cattle needs further investigation for both maternal and paternal origins.

The DBY – ZFY based relationship of bovine species confirmed the close association of American and European bison which have been presented by the other Y-chromosome sequences, SRY gene. This pattern of relationship is clearly different from mtDNA based relationship which separated the lineage of American bison from European bison. The conflict pattern of species relationship between phylogeny based on the sequences of mtDNA and of genes on Y-chromosome indicated the introgression and hybridization events of different ancestral species of bison and, probably, another bovine species. Moreover, phylogenetic analysis of DBY-ZFY sequences used in this study present the polyphyletic pattern of relationship within *Bos* taxon which is consistent with the phylogeny constructed by bovine SRY gene (Verkaar et al., 2003).

Reference

- Buntjer, J. B., Otsen, M., Nijman, I.J., Kuiper, M. T., and Lenstra, J. A. 2002. Phylogeny of bovine species based on AFLP fingerprinting. *Heredity*. 89: 46-51.
- Hellborg, L. and Ellegren, H., 2003. Y chromosome conserved anchored tagged sequences (YCATS) for the analysis of mammalian malespecific DNA. *Mol. Ecol.* 12: 283-291.
- Huelsenbeck, J.P. and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. 17: 754-755.
- Hurles, M.E. and Jobling, M.A. 2001. Haploid chromosomes in molecular ecology: lessons from the human Y. *Mol Ecol.* 10: 1599-1613.
- Nijman, I.J., van Boxtel, D.C.J., van Cann, L.M., Marnoch, Y., Cuppen, E. and Lenstra, J.A. 2008. Phylogeny of Y chromosomes from bovine species. *Cladistics*. 24 (5): 723-726.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30: 2725-2729.
- Verkaar, E.L.C., Beeke, M., Hanekamp, E., Nijman, I.J. and Lenstra, J.A., 2004. Maternal and paternal lineages in interbreeding bovine species. Is wisent a hybrid species? *Mol. Biol. Evol.* 21: 1165-1170.

ดัชนีผู้นําเสนอผลงาน

Adisak Bhumiratana, 27, 29
Anusorn Jsaenchuen, 77
Apiradee Intarapuk, 25
Benchapol Lorsunyaluck, 1
Danai Sangthong, 77
Ekthida Thongdet, 19
Hassadin Boonsriroj, 33
Kazuaki Takehara, 5, 13
Kingkaew Wattanasirmit, 39
Kittima Lorcharoenrungraj, 5
Kolif Malaya, 33
Kornkamon Paditporn, 13
Orasa Suthienkul, 25
Ornanong Boonklong, 27
Peeratas Chitvivatn, 61
Pornthip Chompook, 25
Pradit Sangthong, 77
Rattanin Phatcharakullawrawat, 35
Sakchai Ruenphet, 5, 13
Sireeporn Tonthong, 49
Siriwirojn Chalee, 51
Sitthichon Rattanachan, 19
Somchin Sutthigran, 51
Songmeung Suwannarat, 77
Sumrarn Bunnajirakul, 19
Suntorn Pimnon, 29
Suvarin Pavasutthipaisit, 33
Tanawan Mangklabruks, 49, 61
Thanongsak Mamom, 35

Wanapa Ritthison, 29
Waristha Angsirijinda, 39
Weerapun Nokkaew, 77
Yupin Worachat, 29
กชพร กมลชัย, 3
กมลวัฒน์ สาแดง, 3
กฤษฎา ขำพูล, 53
เกริกไกร รัตนพิบูลย์เดช, 3
เกียรติชัย ไรจนมงคล, 3
จิตรบรรจง ทุมพงษ์, 67
จุฬามาศ ศุภพันธ์, 69
ชัยวัฒน์ สอนกิจมัน, 3
ณัฐ กายสอน, 31
ธนสิทธิ์ สอนภู, 55, 63, 65
ธรรมบุญ ชิตกุล, 3
นิติพล ศรีอ่อนรอด, 57
บัญชา สัมฤทธิ์, 69
ปิยธิดา เขียวสงคราม, 69
พาราณอล เหมนะ, 57
มงคล ขวณิช, 55, 63, 65
วีระเกียรติ ทรัพย์มี, 69
วีระพันธ์ นกแก้ว, 3
สมยศ อิมอารมณ์, 55, 63, 65
สามารถ สุวรรณเคน, 53
สุทธินัย บุญให้, 55, 63, 65
สุภาวดี มณีฉาย, 69
อนุสรณ์ จำแสนชื่น, 55, 63, 65
อภิรดี อินทรพัทตร์, 3



รายนามผู้สนับสนุนการจัดการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
ครั้งที่ ๙ ประจำปี ๒๕๕๙

1. บริษัท เจ.เอฟ. แอดวาน เมด จำกัด
2. บริษัท เอ็น พี อินเตอร์เทรด จำกัด
3. บริษัท พี เอ็น ซุปไฟเรีย มาร์เก็ตติ้ง จำกัด
4. บริษัท เวท อะกริเทค จำกัด
5. บริษัท เบสท์อะโกร คอมพาเนียน จำกัด
6. บริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด
7. บริษัท โซเอทิส (ประเทศไทย) จำกัด
8. บริษัท ศราวิณ เมดिकอล ซัพพลาย จำกัด
9. บริษัท ยูโนเวท เน็ตเวิร์ค จำกัด
10. บริษัท เมิร์จ คอมพาเนียน (ประเทศไทย) จำกัด
11. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ปกรณ์ภัณฑ์เมดิคอลซัพพลาย
12. บริษัท โซอา เมดดิคอลเทค (ประเทศไทย) จำกัด

Mind Pets Animal Hospital

สถานพยาบาลสัตว์มายด์เพ็ทส์
(เลข=ร่มเกล้า 31)

- ✓ อายุรกรรมสัตว์เล็กทั่วไป
- ✓ อายุรกรรมสัตว์เลี้ยงชนิดพิเศษ
(นก หนู งู กระต่าย กิ้งก่า)
- ✓ ตรวจรักษานอกสถานที่
- ✓ อาบน้ำตัดแต่งทรงขน (สุนัข, แมว, กระต่าย)
- ✓ รับปรึกษา ทุกปัญหาสัตว์เลี้ยง

ติดต่อเราได้ที่นี่

สี่แยกตลาดสดเกรียงไกร เคหะร่มเกล้า 31
แขวงคลองสองต้นนุ่น เขตลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520



โทร 02-916-1708 ,
098-919-4554



VET.MUT. ร่วมใจ



“จงเพิ่มพูนฝีมือ และสั่งสิ่งของของเรา
ชาวสัตว์แพทช์เมานด์ ให้จึงเงินตลอดไป”

ด้วยความปรารถนาดี จาก

น.สพ. นพ. อรุณ

โรงพยาบาลสัตว์ท่าเรือ

เปิดให้บริการ : 9.00 - 20.00 น.

โทร.

082-2406200

090-7877886

062-3709299



ให้บริการ

- เอกซเรย์ ตรวจเลือด
- ผ่าตัด ศัลยกรรมกระดูก
- ตัดใบหู ฉีดวัคซีน
- ตรวจโรคทั่วไป
- ขูดหินปูน

สาขากาญจนบุรี
โรงพยาบาลสัตว์ท่าเรือ
ติดกับโรงพยาบาลกาญจนบุรีโมโนเรล
16/7 ม.5 ต.ท่ามะขาม อ.เมือง
จ.กาญจนบุรี 71000

สาขาท่าเรือ

โรงพยาบาลสัตว์ท่าเรือ

121/29 ถ.รถไฟ 2 ท่าเรือ-พระแท่น

อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี 71130

โดย... นายสัตวแพทย์ พงษ์พิศ สิริการยวงศ์



คลินิก

เมตตา รักษาสัตว์

(หมอไต้ง)

นายสัตวแพทย์ รัชพงษ์ วัฒนะลักษมิชัย (สพ.บ.)

ใบอนุญาตประกอบวิชาชีพการสัตวแพทย์ เลขที่ 01-7534/2553

บริการตรวจรักษาโรค
อายุรกรรมทั่วไป ศัลยกรรมทั่วไป
ผ่าตัดทำหมัน
กำจัดเห็บหมัด ฉีดวัคซีน
อาบน้ำ-ตัดขน

1, 3, 5, 7 ซอยตาดอก ถนนหลักเมือง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

โทร. 044-520541, 096-789-2535 เปิดบริการ 09.00 – 20.00 น.

โรงพยาบาลสัตว์

สาเกตนคร



... บริการครบวงจรเพื่อสัตว์เลี้ยงที่คุณรัก ...

สาขา 1 โรงพยาบาลสัตว์สาเกตนคร
65-67 ถนนพหลโยธิน แขวงจตุจักร กรุงเทพฯ 10130

043 - 518539

080 - 1989449

เปิดบริการ 8.00 - 20.00 น.

สาขา 2 คลินิกรักษาสัตว์โพนกอง
(ใกล้ท่า 8.00 น. ถึง 59 น. 1 ต.โพธิ์ทอง อ.โพธิ์ทอง จ.อ่างทอง)

093 - 5727797

088 - 5717889

เปิดบริการ 9.30 - 19.00 น.



บริการ

- ✿ ตรวจรักษาโรค นิสิตเวช
- ✿ ศัลยกรรมกระดูก/เนื้อเยื่ออ่อน
- ✿ ฟันตึง ทำหมัน ฟันคลอด
- ✿ เอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์ อัลตราซาวด์
- ✿ ตรวจเลือด เซลล์วิทยา
- ✿ รับผสมเทียม ตรวจท้อง ตรวจสืบ
- ✿ อาบน้ำ - ตัดแต่งขน
- ✿ รับตัดแต่งหูพิทบูล
- ✿ โรงรมสัตว์ / แพ็คซิป
- ✿ บริการนอกสถานที่



Facility



เปิดบริการทุกวัน 8.00-21.00 น.

บริการ รับ-ส่ง นอกสถานที่

ฉุกเฉิน 24 ชม.

โรงพยาบาลสัตว์อ่อนรัก

Aonrak Animal Hospital

นายสัตวแพทย์ปริญญ์ พรวิเศษศิริกุล (หมอแม็ก)

Dr. Praty Parnwisessirikul (D.V.M)

ผู้จัดการโรงพยาบาลสัตว์อ่อนรัก

087-684-6527, 044-611-788

Email : Max_vetmed@hotmail.com

093-5645536

34/32-33 ถนนจันทน์วงศ์ ต.โพธิ์ทอง อ.โพธิ์ทอง จ.อ่างทอง 31000



