



# สัตวแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION  
UNDER THE ROYAL PATRONAGE



ปีที่ 48 เล่มที่ 2  
สิงหาคม 2540

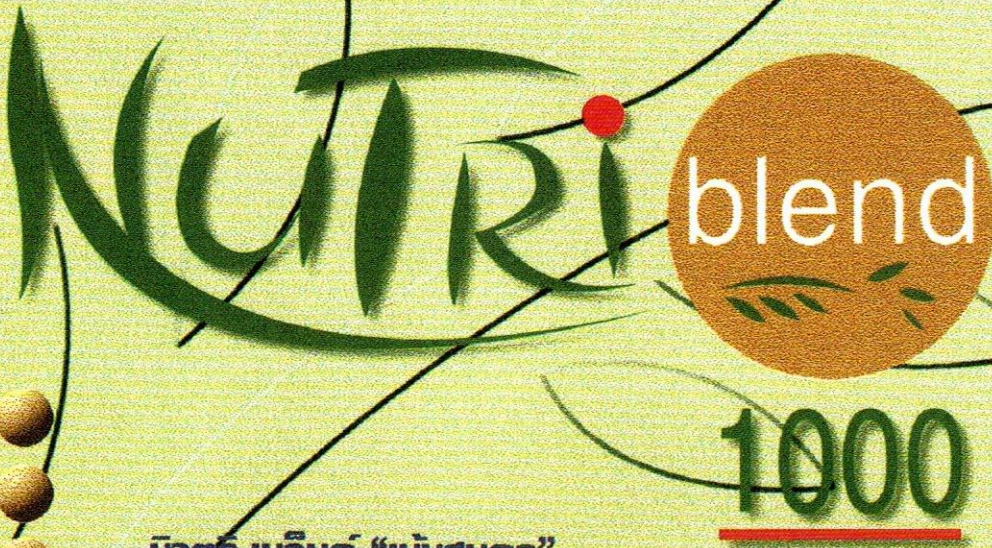
ISSN 0125-0620

Vol. 48 No. 2  
August 1997



# A natural beverage for a better life

## นิวทรี เบลนด์ “เน้นสมดุล”



### นิวทรี เบลนด์ “เน้นสมดุล”

นิวทรี เบลนด์ เป็นสารธรรมชาติจากรัฐพืช ที่ผ่านขบวนการไฮโดรไลซิส ช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหาร ที่มีประโยชน์จากอาหารหลักเข้าสู่ร่างกาย และควบคุมการขจัดสารพิษ และของเสียให้แก่ร่างกาย ทำให้ร่างกาย เจริญเติบโตแข็งแรงในคนทั่วไป และช่วยฟื้นฟูร่างกาย ผู้ป่วยสู่สภาพปกติของตนเอง ชลออัตราการเสียชีวิต ในผู้ป่วยที่เสี่ยงต่อโรคร้ายแรงต่างๆ

คุณเป็นอย่างที่คุณกิน (YOU ARE WHAT YOU EAT) จากความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยี และ วิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ เปิดเผยให้เห็นถึงความยิ่งใหญ่ และการทำงานที่สลับซับซ้อนอย่างน่ามหัศจรรย์ ของร่างกายมนุษย์ ทำให้ทราบว่าทำไมร่างกายบางคนแข็งแรง แต่บางคนกลับล้มป่วยและคิดเชื่อได้ง่าย

จากการศึกษาพบว่า ต้นตอที่ทำให้มนุษย์แตกต่างกัน เริ่มต้นขึ้นที่ปากคือการที่มนุษย์รับประทาน อาหารที่ต่างกัน อาหารที่จำเป็นสำหรับมนุษย์อื่น ได้แก่อาหารหลัก 5 หมู่คือคาร์โบไฮเดรต, โปรตีน, ไขมัน, เกลือแร่ และวิตามิน หากมนุษย์ได้อาหารครบถ้วนในปริมาณที่ร่างกายต้องการทุกคนก็จะมีกลไกในการควบคุมความผิดปกติต่าง ได้เองตามธรรมชาติ (Natural Healing) เรียกว่า ธรรมชาติบำบัด หรือ “การสมานคืน”

ธรรมชาติบำบัด หรือ “การสมานคืน” (Natural Healing) จะเกิดขึ้นได้ ต้องเป็นผลมาจาก ขบวนการที่เรียกว่า ความสามารถในการแลกเปลี่ยนสารต่าง ๆ ผ่านเซลล์ (Ion-Exchange Permeability) ซึ่งมี 2 ประเภท คือ

1. Absorption การนำสารอาหารที่เป็นประโยชน์ไปใช้โดยการดูดซึม
2. Detoxification การนำของเสีย, สารพิษ, ของเหลือ ออกจากร่างกาย

ขบวนการทั้ง 2 นี้เป็นตัวบ่งชี้ว่าผู้ป่วย จะสามารถฟื้นตัวได้เร็วหรือช้า หากมีสิ่งใดที่ช่วยให้ขบวนการเหล่านี้กลับมาทำงานได้ปกติโดยเร็ว ร่างกายก็จะคืนสภาพเดิมได้ง่าย ดังนั้นคุณจะเป็นอย่างไรขึ้นอยู่กับสิ่งที่คุณจะเลือกกิน ในมือต่อไป



ศูนย์บริการข้อมูลเพิ่มเติม  
บริษัท ไบโอดีค จำกัด ชั้น 16 อาคารโรงพยาบาลพญาไท 2  
943 ถนนพหลโยธิน พญาไท กรุงเทพฯ 10400 โทร. 617-2444 ต่อ 1686-9

BIOTIK



# สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION  
UNDER THE ROYAL PATRONAGE

ปีที่ 48 เล่มที่ 2 สิงหาคม 2540  
Vol. 48 No. 2 August 1997

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมความสามัคคีและความเข้าใจระหว่างเพื่อนร่วมวิชาชีพ
2. เพื่อส่งเสริมวิชาชีพสัตวแพทย์ของประเทศไทยให้เจริญรุ่งเรือง
3. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการสัตวแพทย์แก่สมาชิกและผู้สนใจ
4. เพื่อแลกเปลี่ยนความคิดเห็นซึ่งกันและกันระหว่างผู้มีอาชีพสัตวแพทย์  
และไม่มี ความเกี่ยวข้องกับการเมือง

## ค่าบำรุง

สมาชิกสามัญตลอดชีพ	1,000	บาท
สมาชิกสามัญรายปี ปีละ	200	บาท
สมาชิกวิสามัญ ปีละ	50	บาท
สมาชิกสมทบรายปี ปีละ	200	บาท
สมาชิกสมทบตลอดชีพ	2,000	บาท

## ระเบียบการ

ออกทุก 4 เดือน ปีละ 3 เล่ม  
กำหนดออก เดือนเมษายน, สิงหาคม และธันวาคม

## สำนักงาน

สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์

69/26 ซอยโรงพยาบาลนครเอเธนส์

ถนนพญาไท กรุงเทพฯ 10400

โทร. 252-8773, 255-1309 แฟกซ์ 252-8773

รูปเล่ม และจัดพิมพ์ โดย :

ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล ปอยท์ กราฟิค

129 หมู่บ้านจินดาธานี ซ.ศรีโพธิ์บุษย์ ถ.บรมราชชนนี แขวงศาลธรรมสพน์ เขตทวีวัฒนา กรุงเทพฯ 10170 T&F: 888-8163, 01-927-1110





# สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION  
UNDER THE ROYAL PATRONAGE

ปีที่ 48 เล่มที่ 2 สิงหาคม 2540  
Vol. 48 No. 2 August 1997

สาราณียกร      ดรุณี ทันตสุวรรณ  
ผู้ช่วยสาราณียกร      สударัตน์ ดำรงควัฒนโกคิน  
ฝ่ายสาราณียกร      บุญมี สันญญสุจาร์  
                         พรเพ็ญ พัทฒนโสภณ  
                         มานพ ม่วงใหญ่  
                         มนูญ ไพบูลย์  
                         มงคล เตชะกำพ  
                         มาลินี ลัมโกคา  
                         ประโยชน์ ดันติเจริญยศ  
                         ปราณี ดันตวินิช  
                         เปรม พรหมคุปต์  
                         วรปี สุวัฒน์วิโรจน์  
                         วิจิตร สุขเพส่น  
                         สกล พันธุ์ยิ้ม  
                         สัมพันธ์ สิงห์จันทร์  
                         เสรี ดอนแก้วบัว  
                         อรรณพ คุณาวงษ์กฤต  
                         อูราศรี ดันตสวัสดิ์  
                         แอบ คงทน

## Editor

## Assistant editor

## Editorial board

Darunee Tuntasuvan  
Sudarat Damrongwatanapokin  
Boonmee Sunyasootcharee  
Pornpen Pathanasophon  
Manop Muangyai  
Manoon Paiboon  
Monkol Tachakampu  
Malinee Limpoka  
Prayot Tanticharoenyos  
Pranee Tuntivanich  
Prem Brahmacupta  
Vorapee Suwatanaviroj  
Vichitr Sukhapesna  
Sakol Panyim  
Samphan Singhajan  
Saree Donkaewbua  
Annop Kunavongkrit  
Urasri Tantaswasdi  
Ab Kongthon

## ฝ่ายจัดการ

สมชาย ช่างทอง  
เมษินี ศาริกะภูติ  
สุภาภรณ์ ยงพิศาลภพ

## Administrative board

Somchai Changthong  
Mesinee Sarikaputi  
Supaporn Yongpisanpob



# สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION  
UNDER THE ROYAL PATRONAGE

ปีที่ 48 เล่มที่ 2 สิงหาคม 2540

Vol. 48 No. 2 August 1997

## สารบัญ

- ✓ ปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในอาหารไก่และสุกร ในเขตภาคกลาง ของประเทศไทย 11  
 มาลี ธีรานุสนธิ สุชิน อรรถศาสตร์  
 ชิต ศิริวรรณ
- ✓ การตรวจหาระดับแอนติบอดีของโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกรในฟาร์มที่มีปัญหาการแท้งในพื้นที่ 17  
 จังหวัดนครปฐม ฉะเชิงเทรา และสระบุรี  
 ดวงใจ สุวรรณเจริญ นิตยา อินทรศรี  
 ชิต ศิริวรรณ
- ✓ การใช้ไมโครโคลนอลแอนติบอดี ตรวจระดับแอนติบอดีโรคหิวาต์สุกร 27  
 โดย นิวทราลไลซิง เปอร์ออกซิเดส ลิงค์ แอสเซ  
 สุจิตรา ปาจริยานนท์ สุदारตน์ ดำรงค์วัฒนโกธิน  
 วาสนา ภิญโญชนม์
- การแยกเพศตัวอ่อนของโค ด้วยเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่าย 35  
 ปาริฉัตร สุขโต นุสสรา วัฒนกุล
- ✓ การใช้ดั่งซี่ควาย *Ontis spp.* และ *Onthophagus seniculus* เป็นตัวควบคุมพยาธิตัวกลม 45  
 ในกระเพาะอาหาร และลำไส้ของโคโดยชีววิธี  
 นพพร ศราธพันธ์ุ
- รายงานการประชุมของสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย 59  
 ในพระบรมราชูปถัมภ์



# สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION  
UNDER THE ROYAL PATRONAGE

ปีที่ 48 เล่มที่ 2 สิงหาคม 2540  
Vol. 48 No. 2 August 1997

---

## CONTENTS

- Quantitative Analysis of Organophosphate Insecticides in Poultry and Swine Feed in Central Region of Thailand** 11  
Malee Teeranusonti      Suchin Uttasart  
Chit Sirivan
- Leptospirosis Antibodies Detection in Swine Serum Samples from the Farms with History of Abortion in Nakhon Pathom, Chachoengsao and Saraburi Provinces** 17  
Duangjai Suwanchareon      Nittaya Intarasri  
Chit Siriwan
- Application of monoclonal antibody for detection of swine fever virus antibodies by neutralizing peroxidase linked assay** 27  
Sujira Parchariyanon      Sudarat Damrongwatanapokin  
Wasana Pinyochon
- Sex Determination of Bovine Embryos Using a Simplified Cytogenetic Technique** 35  
Parichat Sukhato      Nussara Vadhanakul
- Dung Beetles *Onitis* spp. and *Onthophagus seniculus* (Coleoptera : Scarabacidae) as Biological Control Agents of Gastrointestinal Nematodes of Cattle** 45  
Nopporn Sarataphan
- Meeting Report of the Thai Veterinary Medical Association under the Royal Patronage** 59
- 

Cover : Dung beetles (*Onitis* spp.)



## ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

สัตวแพทยสารเป็นวารสารทางวิชาการของสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ ซึ่งลงบทความผลงานค้นคว้าวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวกับวิชาการและกิจการสาขาสัตวแพทยศาสตร์ คณะผู้จัดทำสัตวแพทยสาร ยินดีรับเรื่องจากทุกท่านที่กรุณาส่งมาเพื่อเผยแพร่และเพื่อความสะดวกในการพิจารณาเรื่อง ขอเสนอแนะดังนี้

### 1. เรื่องที่จะนำลง

1.1 งานค้นคว้าทดลองหรือวิจัยทางวิชาการที่เกี่ยวกับสัตว์หรือพืชอาหารสัตว์ ทั้งที่ทำในประเทศและต่างประเทศ หรือวิทยานิพนธ์

1.2 บทความและย่อเอกสารที่เป็นประโยชน์ และเกี่ยวข้องกับวิชาการสัตวแพทย์และสัตวบาลทุกสาขา

1.3 ข่าวสัตวแพทย์และสัตวบาลทั้งในประเทศและต่างประเทศ

1.4 คำถาม-คำตอบ รวมทั้งจดหมายถึงคณะผู้จัดทำ

1.5 เรื่องอื่นๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

### 2. ต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับที่ส่งมาลงพิมพ์ในสัตวแพทยสารไม่ควรเป็นเรื่องที่เคยพิมพ์หรือกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณา เพื่อลงพิมพ์ในหนังสือหรือวารสารอื่น

2.2 ต้นฉบับเป็นภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษ ส่งมาพร้อม Disket ขนาด 3.4 นิ้ว โดยพิมพ์บทความด้วยโปรแกรม Microsoft word หรือ Macintosh พร้อมสำเนา 2 ชุด

2.3 ความยาวของเรื่องไม่เกิน 12 หน้า

2.4 ไม่มีการส่งคืนต้นฉบับ

2.5 การลำดับเรื่องควรเรียงดังนี้

2.5.1 ชื่อเรื่อง (Title) ควรตั้งชื่อให้สั้นกะทัดรัดและสื่อความหมายได้ดี

2.5.2 ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน (Author

and co-workers) เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษได้ชื่อเรื่อง พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่จะติดต่อได้สะดวก เป็นหมายเหตุ (footnote) (โปรดดูตัวอย่างจากวารสารเล่มนี้) กรุณาบอกหมายเลขโทรศัพท์หรือโทรสาร เพื่อความรวดเร็วในการติดต่อ

2.5.3 บทคัดย่อ (Abstract) เขียนสั้นๆ ให้ได้เนื้อความครอบคลุมทั้งหมด ในกรณีที่ต้นฉบับเป็นภาษาไทยต้องมีชื่อเรื่อง และบทคัดย่อเป็นภาษาอังกฤษ และต้นฉบับภาษาอังกฤษ ต้องมีชื่อเรื่องและบทคัดย่อเป็นภาษาไทย บทคัดย่อในกรณีนี้ต้องเขียนไว้หน้าสุดท้ายของเรื่องเป็นหน้าหนึ่งต่างหาก

2.5.4 คำสำคัญ (Key words) เป็นคำหรือข้อความสั้นๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้นๆ รวมกันแล้วไม่เกิน 4 คำ ระบุอยู่ใต้ (ขึ้นบรรทัดใหม่) บทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

2.5.5 บทนำ (Introduction) บรรยายความเป็นมาและควรมีการตรวจเอกสาร (literature review) ประกอบด้วย รวมทั้งอธิบายถึงจุดประสงค์ของงาน

2.5.6 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and methods) ในกรณีที่เป็นการคิดค้นขึ้นใหม่ ควรอธิบายอย่างละเอียด ถ้าเป็นวิธีการที่ทราบกันอยู่แล้วและตีพิมพ์แล้ว ไม่ต้องบรรยายซ้ำควรเขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ไม่ควรอ้างถึงเครื่องหมายการค้า หรือชื่อการค้าในเรื่อง ควรทำเป็น foot note ไว้ที่ด้านล่างของหน้านั้นๆ

2.5.7 ผล (Result) การรายงานผลการทดลองเป็นคำบรรยาย ควรเป็นอย่างละเอียดและเข้าใจง่าย หากเป็นไปได้ควรเสนอผลในรูปของตารางหรือรูปภาพหรือกราฟพร้อมทั้งบรรยายผลของการทดลองประกอบด้วย ทั้งนี้ ตาราง รูปภาพ หรือกราฟไม่ควรแสดงถึงผลที่เหมือนกัน ถ้าเป็นตาราง (tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจนและขนาดพอเหมาะกับขนาดของ



หน้าของสัตว์แพทย์สาร ตารางควรมีความหมายในตัวเองและต้องมีคำอธิบายเหนือตารางนั้นๆ ด้วย ในกรณีที่ เป็นรูปภาพ (figures) ควรเป็นภาพขาวดำ หรือ สไลด์ หากต้องการให้ตีพิมพ์ภาพสี ทางคณะผู้จัดทำ จะพิจารณาถึงความเหมาะสมและค่าใช้จ่าย หากมีหลายรูปต้องลำดับก่อนหลังของรูป พร้อมทั้งมีเครื่องหมาย กำหนดบอกด้านหัวของรูป และอธิบายรายละเอียดไว้ได้รูปนั้นๆ

**2.5.8 วิจารณ์ (Discussion)** เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง การประเมินผล และการตีค่าของผลงาน การวิจารณ์ผลควรเปรียบเทียบกับผลงานของผู้อื่นที่ได้กระทำมาแล้ว และควรเน้นถึงสิ่งที่ได้ค้นพบ

**2.5.9 สรุป (Conclusion)** อาจมีหรือไม่ก็ได้ หากเป็นบทความการตรวจเอกสาร (review papers) หรือเป็นการทดลองที่มีหลายข้อควรมีบทสรุปที่เขียนใจความที่สำคัญ และคุณค่าของงาน เพื่อผู้อ่านจะได้เข้าใจได้ง่ายขึ้น

**2.5.10 กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)** ควรมีในกรณีที่ได้รับความช่วยเหลือ หรือความร่วมมือที่ให้การสนับสนุนงานค้นคว้าวิจัยนั้นๆ

#### 2.5.11 เอกสารอ้างอิง (Reference)

ก. กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่องควรอ้างอิงดังนี้ คือ

1. กรณีที่อ้างอิงจากการตรวจเอกสารโดยผู้อื่น ให้ใช้คำว่า อ้างถึงโดย (cited by)

2. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นคนไทย เมื่อเป็นประธานของประโยค เช่น สมชาย (2535) หรือเมื่อผู้รายงานอยู่กลาง หรือท้ายประโยค เช่น (บุญมี, 2535), (บุญมีและคณะ, 2535)

3. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นชาวต่างประเทศ เมื่อเป็นประธานของประโยค เช่น Tomazewski และ Daniel (1992), Taylor และคณะ (1992) หรือเมื่อผู้รายงานอยู่กลางหรือท้ายประโยค เช่น (Tomazewski and Daniel, 1992) (Taylor et al., 1992)

4. กรณีอ้างอิงถึงบุคคลหรือเรื่องที่ไม่เคยลงพิมพ์มาก่อน (personal comm.) ให้อ้างเฉพาะในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ต้องนำไปลงในรายชื่อเอกสารอ้างอิง

ข. การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง ควรขึ้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อนแล้วตาม ด้วยภาษาอังกฤษ โดยเขียนเรียงตามลำดับพยัญชนะของผู้เขียน (ถ้าเป็น

ภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง) แล้วตามด้วยปี ชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างอิง ดังตัวอย่าง

มานพ ม่วงใหญ่ และธงชัย เฉลิมชัยกิจ 1988 (2531) Sarcocystis ในประเทศไทย อุบัติการณ์ของ Sarcocystis ในโคและกระบือ เวชศาสตร์สัตว์แพทย์ 18 (4) : 319-328

Fettman, M.J. and Allen, T.A. 1991. Developmental aspects of fluid and electrolyte metabolism and renal function in neonates. Compendium on Continuing Education. 13 (3) : 392-403.

หากเอกสารอ้างอิงเป็นตำราให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่ตีพิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา (พิมพ์ครั้งที่เท่าใด และบรรณาธิการหากมี) สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ หน้าแรกและหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง

Loypetjra P., Chaiyabutr N., Usanakornkul S. and Pichaicharnarong, A. 1987. Water Buffalo. In : World Animal Science, Bioclimatology and the Adaptation of Livestock. Subseries B. Disciplinary Approach, H.D. Johnson ed. Elsevier, Amsterdam. p. 107-125.

หมายเหตุ ชื่อทางวิทยาศาสตร์ทั้งภาษาอังกฤษ และทับศัพท์ภาษาไทยให้พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรที่ต่างจากตัวเรื่อง

**3. คำเรื่อง** ไม่มีคำเรื่อง แต่ผู้เขียนชื่อแรกจะได้รับสำเนาพิมพ์ (Reprints) 7 ชุด

#### 4. สถานที่รับต้นฉบับ

สารานุกรม สัตวแพทย์สาร  
สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย  
ในพระบรมราชูปถัมภ์  
69/26 ซอยโรงพยาบาลนครเอเธนส์  
ถนนพญาไท กรุงเทพฯ 10400  
โทร. 255-1309, 252-8773





# สารานุกรม

## สารบัญ...

ผลงานวิจัยที่ท่านสมาชิกจะได้อ่านในสัตวแพทยสารฉบับนี้ จะมีความหลากหลายของวิชาการมาก เริ่มด้วยเรื่องปริมาณสารพิษในอาหารสัตว์ ต่อด้วยระดับแอนติบอดีของโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกร การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสอหิวาต์สุกรด้วยวิธีใหม่ การแยกเพศตัวอ่อนโค และเรื่องที่น่าสนใจยิ่งคือ การควบคุมพยาธิในโคโดยใช้ด้วงขี้ควาย

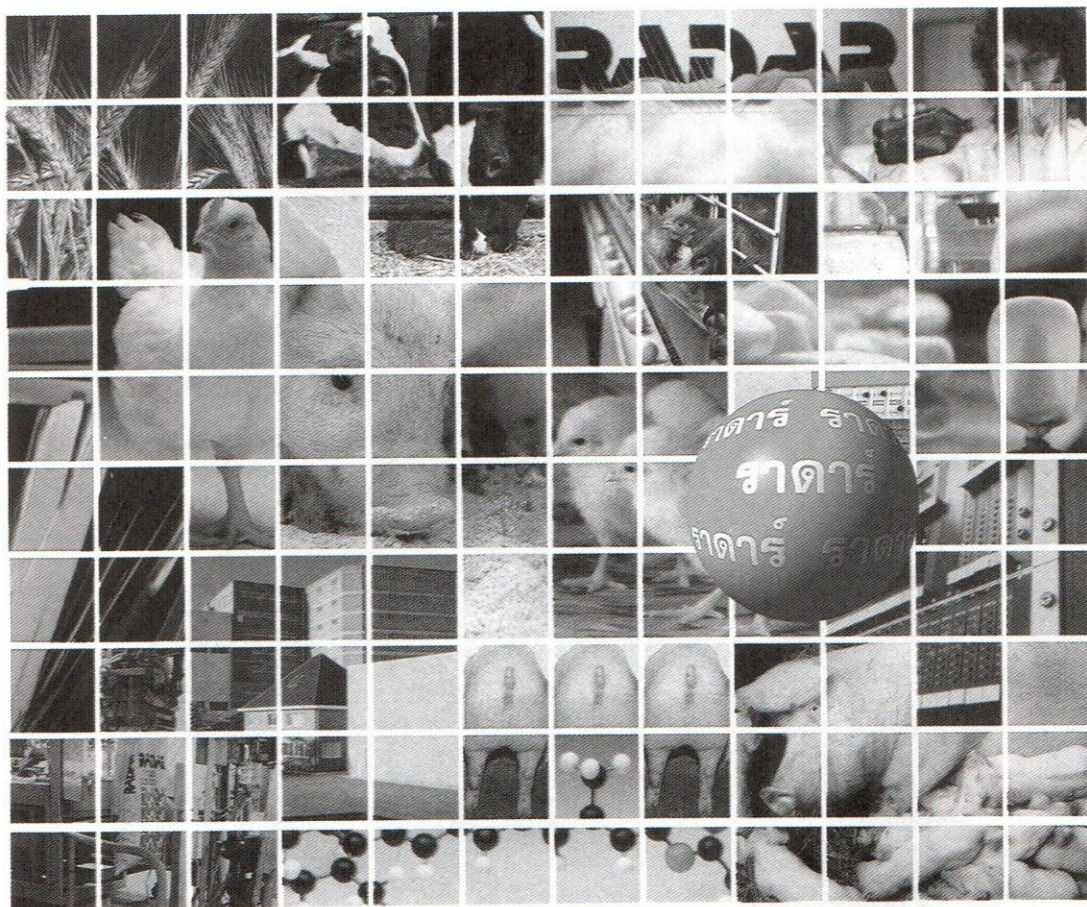
สัตวแพทยสมาคมฯ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือสัตวแพทยสารนี้จะเป็นประโยชน์ต่อท่านสมาชิกในเรื่องวิชาการและเป็นสื่อในการกระจายข่าวของสมาคมฯ ให้สมาชิกได้ทราบ หากท่านที่ประสงค์จะเป็นสมาชิกหรือลงโฆษณา หรือลงบทความในสัตวแพทยสาร กรุณาติดต่อทางโทรศัพท์ โทรสาร หรือจดหมาย ถึงสัตวแพทยสมาคมฯ ค่ะ

สพ.ญ. ดร. ดรุณี ทัศนสุวรรณ  
สารานุกรม



# เรดาร์

พรีมิกซ์คุณภาพจากเบลเยียม



ด้วยเทคโนโลยีการผลิตอันทันสมัย  
ด้วยความเข้าใจในความต้องการของปศุสัตว์ที่แตกต่างไปตามภูมิอากาศ  
และด้วยความรู้ซึ่งถึงองค์ประกอบของสารอาหารในวัตถุดิบแต่ละชนิด  
จึงทำให้ เรดาร์ พรีมิกซ์ เป็นที่ยอมรับของเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ทั่วโลก

เราเชื่อมั่นและภูมิใจในคุณภาพ

ผลิตโดย

**RADAR**

Dorpsstraat 4, B-9800 Deinze-BELGIUM  
Phone (32-91) 36.48.61. Telex 11178

**a**  
AGROMED

ผู้แทนจำหน่ายแต่ผู้เดียวในประเทศไทย

**บริษัท อโกรเมด จำกัด**

283-285 ถ.เพชรเกษม หลักสอง หนองแขม  
กรุงเทพฯ 10160 โทร. 8097254-9 แฟกซ์ 8097260







## ปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในอาหารไก่และสุกร ในเขตภาคกลาง ของประเทศไทย

มาลี ธีรานุสนธิ<sup>1</sup> สุชิน อัดตศาสตร์<sup>1</sup> ชิต ศิริวรรณ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> กลุ่มงานพิษวิทยาและชีวเคมี สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

<sup>2</sup> กลุ่มงานระบาดวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

### บทคัดย่อ

ตัวอย่างอาหารไก่ 97 ตัวอย่าง อาหารสุกร 78 ตัวอย่าง จากฟาร์มต่างๆ ของเกษตรกรในเขต 1, 2 และ 7 ของประเทศไทย รวม 8 จังหวัด ได้ถูกนำมาสกัดและวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas chromatograph พบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างในอาหารไกร้อยละ 63.92 อาหารสุกรร้อยละ 47.44 แต่ปริมาณที่พบไม่เกินค่าปลอดภัย (maximum residue limits) ที่ FAO/WHO กำหนด และอาหารไก่, อาหารสุกรในทุกเขตพบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ชนิด dichlorvos ปนเปื้อนมากกว่าสารพิษชนิดอื่นๆ

**คำสำคัญ** สารพิษตกค้าง, ออร์กาโนฟอสเฟต, อาหารไก่, อาหารสุกร

### บทนำ

อาหารสัตว์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยส่วนผสมของผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง ปลายข้าว รำข้าว มันสำปะหลัง กากปาล์ม เป็นต้น ซึ่งขั้นตอนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตผลการเกษตรดังกล่าวนี้มีการใช้วัตถุพิษในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมท เนื่องจากวัตถุพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนมีฤทธิ์ตกค้างนาน สลายตัวได้ยากและสะสมในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้บางตัวก่อให้เกิดมะเร็งซึ่งถูกห้ามนำเข้าในประเทศแล้ว เช่น DDT, BHC, dieldrin, aldrin เป็นต้น



(จินตนา, 2535) ดังนั้นเกษตรกรจึงหันมานิยมใช้วัตถุพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมากขึ้น เช่น dichlorvos, mevinphos, diazinon, dimethoate, methyl parathion, และ malathion เป็นต้น ถึงแม้ว่าวัตถุพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจะสลายได้เร็วกว่ากลุ่มออร์กาโนคลอรีนก็ตาม แต่ก็มีพิษร้ายแรงหากผู้ใช้ไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำบนฉลากหรือใช้ในปริมาณที่มากเกินไป ก็จะมีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม และปนเปื้อนในผลิตผลทางการเกษตรได้ จากรายงานวิชาการปัญหาสารพิษทางการเกษตรในประเทศไทย พบว่ามีสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างในดิน และน้ำจากแหล่งเกษตรกรรมทั่วประเทศ (นวลศรี, 2533) รัชณี, (2536) รายงานว่าพบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างในพืชผัก ผลไม้ และพืชไร่ต่างๆ จากแหล่งจำหน่ายทั่วประเทศ ดังนั้นอาหารสัตว์ซึ่งมีส่วนผสมจากผลิตผลทางการเกษตรนี้ จึงมีโอกาที่จะปนเปื้อนวัตถุพิษได้ สัตว์ที่ได้รับอาหารที่ปนเปื้อนด้วยวัตถุพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจะทำให้สัตว์มีอาการทางประสาท เนื่องจากวัตถุพิษกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์คลอรีน เอสเทอเรส ทำให้เกิดการสะสมของอาซิติลโคลีนที่ซินแนป (synapses) ของประสาทอาการที่พบคือ น้ำลายไหล ระบบทางเดินอาหารเพิ่มการบีบตัว ท้องเดินไม่สามารถควบคุมระบบขับถ่ายปัสสาวะและอุจจาระ กล้ามเนื้อถูกกระตุ้นมากกว่าปกติ เกิดอาการกระตุก เกร็ง อ่อนเพลีย ตามด้วยอัมพาต หายใจลำบาก ชักและตายได้ (มาลินี, 2523) การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในอาหารไก่และอาหารสุกร จากฟาร์มต่างๆ ในเขตภาคกลางคือ เขต 1, 2 และ 7 ของประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลในการกำหนดแนวทางและชี้แนะให้เกษตรกรได้เข้าใจและระมัดระวังในการใช้สารพิษเหล่านี้ให้ถูกต้องและปลอดภัยยิ่งขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารไก่และอาหารสุกรจากฟาร์มต่างๆ ของเกษตรกรในเขต 1, 2 และ 7 รวม 8 จังหวัด คือ จังหวัดปทุมธานี สระบุรี ลพบุรี ชลบุรี สมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ราชบุรี และนครปฐม เก็บตัวอย่างละ 50 กรัม เป็นตัวอย่างอาหารไก่รวมทั้งสิ้น 97 ตัวอย่าง และอาหารสุกร 78 ตัวอย่าง สกัดสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในตัวอย่างดัดแปลงจากวิธีของ Sasaki et al. (1987) และวิธีของ Sato et al. (1987) โดยชั่งตัวอย่างอาหารจำนวน 20 กรัม นำมาเขย่ากับ acetone 30 นาที กรองแล้วสกัดแยกสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตด้วย dichloromethane จากนั้นขจัดสารปนเปื้อนโดยผ่าน florisil column ชะล้างด้วยสารละลาย hexane : acetone (95 : 5) และ hexane : acetone (75 : 25) อย่างละ 200 ml เก็บสารละลายที่ชะล้างออกมา นำไประเหยแห้งและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ml หลังจากนั้นนำมาตรวจหาชนิดและปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph model GC-9A 2  $\mu$ l อ่านผลโดยการเทียบกับ calibration curve และ retention time ของสารละลายมาตรฐานทั้ง 8 ชนิด โดยมีสภาวะการทำงานของเครื่อง gas chromatograph ดังนี้ column 1.5% sp2250 + 1.95% sp2401 on 100-120 mesh ขนาด 2.5 เมตร อบอุ่นที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ injector 260 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ detector 280 องศาเซลเซียส โดยใช้ nitrogen flow, hydrogen gas และ air คือ 25, 55 และ 35 ml/min ตามลำดับ

### ผลการทดลอง

พบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างในอาหารไก่คิดเป็นร้อยละ 63.92 และในอาหารสุกรคิดเป็นร้อยละ 47.44 ตามลำดับ สารพิษที่พบมากที่สุดคือ dichlorvos รองลงมาคือ mevinphos, diazinon, dichlofenthion, dimethoate, methyl-parathion, malathion, และ parathion ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ตกค้างในอาหารไก่และอาหารสุกร ในแต่ละเขตพบว่ามีชนิดและปริมาณแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) และเมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับค่าปลอดภัย (maximum residue limits, MRL) ซึ่งกำหนดโดย FAO/WHO พบว่าปริมาณ methyl-parathion สูงเกินค่าปลอดภัย ในอาหารไก่ จำนวน 2 ตัวอย่างในเขต 2 และปริมาณ mevinphos สูงเกินค่าปลอดภัย ในอาหารสุกร 2 ตัวอย่างในเขต 2 เช่นกัน ถ้ามองในภาพรวมของแต่ละเขต พบว่าอาหารไก่และอาหารสุกรจะมีสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างอยู่มาก เปอร์เซนต์ที่พบไม่แตกต่างกันนัก

### วิจารณ์

ผลการวิจัยครั้งนี้พบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างในอาหารไ้มากกว่าอาหารสุกร ชนิดและปริมาณของสารพิษตกค้างมากน้อยแตกต่างกันตามแต่ละเขต เนื่องจากในอาหารสัตว์ยังไม่มีรายงานค่าปลอดภัย (maximum residue limits) จึงใช้เทียบกับค่าปลอดภัยของผลิตผลทางการเกษตรแทนพบว่าส่วนใหญ่มีปริมาณไม่เกินค่าปลอดภัย ที่ FAO/WHO (Codex, 1986) กำหนดไว้ แต่มีบางตัวอย่างในเขต 2 พบปริมาณ methyl-parathion สูงกว่า 0.05 ppm ในอาหารไก่ 2 ตัวอย่าง และพบปริมาณ mevinphos สูงเกินกว่า 0.1 ppm ในอาหารสุกร 2 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารไก่และอาหารสุกรของทุกเขต พบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตชนิด dichlorvos ตกค้างมากที่สุดแต่ปริมาณไม่เกินค่าปลอดภัย ดังที่วิสุทธิ์และคณะ (2538) รายงานว่า ตัวอย่างข้าวจากภาคกลางพบ dichlorvos และ malathion ปนเปื้อนในระดับที่ไม่เกินค่าปลอดภัย เมื่อมองในภาพรวมของแต่ละเขตพบว่า อาหารไก่และอาหารสุกรมีสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างอยู่มากเปอร์เซนต์ที่พบไม่แตกต่างกันนัก

สาเหตุของการปนเปื้อนอาจจะขึ้นอยู่กับแหล่งวัตถุดิบที่นำมาผสมเป็นอาหารสัตว์ และวัตถุดิบเหล่านั้นมีการใช้สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตเพื่อป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชมากน้อยต่างกันไปตามแต่ละเขต วิสุทธิ์ (2533) รายงานว่ามีการนำเข้าสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมากที่สุด และชนิดที่นำเข้ามามากที่สุด คือ methyl-parathion รองลงมาคือ dimethoate, mevinphos, และ malathion ประกอบกับเขต 2 เป็นพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกมากทั้งพืชไร่ ผัก และผลไม้ เกษตรกรจึงมีการใช้วัตถุมีพิษเพื่อกำจัดแมลงและป้องกันผลผลิตของตน นอกจากนี้ รัชณี (2536) ได้รายงานว่า เกษตรกรส่วนใหญ่ นิยมใช้สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตกับพืชเศรษฐกิจต่างๆ ไป จน ณ ปัจจุบันนี้ทำให้แมลงต้านทานต่อสารดังกล่าวและมีการระบาดของแมลงมากขึ้น จึงทำให้เกษตรกรใช้สารกำจัดแมลงมากขึ้นจนบางครั้งใช้เกินขนาดจากที่แนะนำ เมื่อถึงเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตอาจมีสารพิษตกค้างในปริมาณที่สูงเกินค่าปลอดภัย ดังนั้นเมื่อเกษตรกรนำผลิตผลการเกษตรที่ปนเปื้อนสารพิษไปผสมเป็นอาหารสัตว์ทำให้อาหารสัตว์มีโอกาสปนเปื้อนสารพิษได้ และหากสัตว์ได้รับอาหารดังกล่าวเข้าไปในปริมาณที่มาก ๆ จะมีผลกระทบต่อสุขภาพจนอาจทำให้สัตว์ตายได้



จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าทุกเขตจะพบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตชนิด dichlorvos ตกค้างมากที่สุด ทั้งในอาหารไก่และอาหารสุกร แม้ปริมาณที่พบไม่เกินค่าปลอดภัยที่กำหนดไว้เราก็ควรจะเฝ้าระวัง FAO/WHO (Codex, 1986) ได้จัดให้ dichlorvos เป็นสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตอยู่ใน class Ib ซึ่งจัดว่ามีความเป็นพิษสูง คงทนต่อความร้อนและเป็นสารก่อกลายพันธุ๋อาจก่อโรคมะเร็งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ (ESCAP/EU, 1994) การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะได้ชี้แนะให้เกษตรกรได้มีความรู้ความเข้าใจ และระมัดระวังในการใช้สารพิษให้ถูกวิธีมากขึ้นเพื่อความปลอดภัยของสัตว์รวมถึงผู้บริโภคด้วย

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการศึกษาขอขอบพระคุณ สพ.ญ. รัมภา อินทรรักษา คุณประพิศ คล้ายนิล ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ พร้อมทั้งเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์จังหวัด และคุณวาสนา บุญถิอ คุณศิลป์ พรหมลักษณะ ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างและช่วยปฏิบัติงาน สพ.ญ. สุรีย์ ธรรมศาสตร์ ที่ช่วยแนะนำและเรียบเรียงต้นฉบับ คุณสุมิตรา ไซตอิทธิพงศ์ ที่ช่วยพิมพ์ต้นฉบับจนทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

- จินตนา ภู่มงกุฎชัย 2535. วัตถุประสงค์ทางการเกษตรที่ห้ามนำหรือสั่งเข้ามาในประเทศไทย ข่าวสารวัดภูมิพิษ 19(2): 89-92
- นวลศรี ทยาพัชร 2533. รายงานวิชาการ ปัญหาสารพิษทางการเกษตรในประเทศไทย กองวัดภูมิพิษ การเกษตรกรมวิชาการเกษตร หน้า 34-37, 44-45
- มาลินี ลิ้มโกคา 2523. พิษวิทยาและการวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์ โรงพิมพ์จรัสสินทวงศ์, กรุงเทพฯ 274 หน้า
- รัชณี สุภาพ 2536. สารพิษตกค้างของวัดภูมิพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในพืช ข่าวสารวัดภูมิพิษ 20(4): 153-160
- วิสุทธิ เขวงศรี 2533. ปริมาณการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย ข่าวสารวัดภูมิพิษ 17(3) : 119-126
- วิสุทธิ เขวงศรี, รัชณี สุภาพ และพนิดา ไชยยันต์บุรณ์ 2538. วิจัยชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัดภูมิพิษในนาข้าว การประชุมวิชาการกองวัดภูมิพิษการเกษตร ครั้งที่ 1 กองวัดภูมิพิษ การเกษตรกรมวิชาการเกษตร หน้า 74-80
- ESCAP/EU 1994. Database on pesticides and the Environment, Asean version.
- FAO/WHO 1986. Codex Alimentarius Vol.XIII. Ed.2.
- Sasaki, K., Suzuki, T. and Saito, Y. 1987. Simplified clean up and gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in crops J. Assoc. off. Anal. Chem 70(3): 460-464.
- Sato, Y. and Ishikuro, E. 1987. Investigation of the simultaneous determination of organophosphorus pesticides in cereals by capillary gas chromatograph. Bulletin of National Fertilizer and Feed Inspection Station, Tokyo. 12 : 15-25.

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ตกค้างในอาหารไก่และอาหารสุกรในเขตภาคกลาง

เขต	จำนวนตัวอย่าง	ไดโคลอส	เมวินฟอส	ไดออร์นอน	ไดคลอเฟนไทออน	ไดเมทิลเดอเท	เมทิลพาราไทออน	มาลาไทออน	พาราไทออน
อาหารไก่	1	<0.001-0.022 <sup>a</sup> (37.14%)	0.002-0.021 (28.57%)	0.001 (8.57%)	0.002-0.007 (22.86%)	-	-	-	-
	2	<0.001-0.007 (34.88%)	<0.001-0.071 (18.60%)	0.005 (2.33%)	0.001-0.006 (23.26%)	0.001-0.049 (4.65%)	0.010-0.219* (11.63%)	0.031 (2.33%)	0.005 (2.33%)
	7	<0.001-0.010 (42.11%)	0.001-0.011 (26.32%)	-	<0.001 (5.26%)	-	-	0.010-0.020 (26.32%)	-
อาหารสุกร	1	<0.001-0.014 (35.48%)	-	-	-	-	-	-	-
	2	<0.001-0.009 (39.25%)	0.012-0.216* (21.43%)	-	0.003 (3.57%)	0.027 (3.57%)	-	0.006-0.017 (7.14%)	-
	7	<0.001-0.009 (47.37%)	0.003-0.049 (31.58%)	0.006 (5.26%)	0.001-0.002 (10.53%)	-	-	-	-
		2 <sup>b</sup>	0.1 <sup>c</sup>	0.1 <sup>d</sup>	-	1.0 <sup>e</sup>	0.05 <sup>f</sup>	8.0 <sup>g</sup>	0.5 <sup>h</sup>

a ปริมาณที่พบค่าสูงสุด  
 b ค่า MRL (ppm) ของไดโคลอส ใน cereal grains  
 c ค่า MRL (ppm) ของ เมวินฟอส ในถั่ว  
 d ค่า MRL (ppm) ของ ไดออร์นอน ใน ถั่วเขียวฝ้าย  
 e ค่า MRL (ppm) ของ ไดเมทิลเดอเท ใน ถั่วฝักยาว  
 f ค่า MRL (ppm) ของ เมทิลพาราไทออน ใน cotton seed oil  
 g ค่า MRL (ppm) ของ มาลาไทออน ใน ถั่ว cereal grains  
 h ค่า MRL (ppm) ของ พาราไทออน ใน ผลไม้  
 \* ปริมาณที่พบเกินค่า MRL



## Quantitative Analysis of Organophosphate Insecticides in Poultry and Swine Feed in the Central Region of Thailand

Malee Teeranusonti<sup>1</sup> Suchin Uttasart<sup>1</sup> Chit Sirivan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Toxicology and Biochemistry section, National Institute of Animal Health, Chatuchak, Bangkok. 10900

<sup>2</sup>Epidemiology section, National Institute of Animal Health, Chatuchak, Bangkok. 10900

### Abstract

Ninety seven poultry and seventy eight swine feed samples were collected from various farms of eight provinces in 1, 2 and 7 regions of Thailand. Samples were extracted and analysed for organophosphate insecticides by gas chromatograph. The residue of organophosphate insecticide group was found in 63.92% of poultry feed and 47.44% of swine feed. However, the level of residue in poultry and swine feed were lower than the maximum residue limits of FAO/WHO recommendation. Dichlorvos residue, the organophosphate insecticide was most often found in poultry and swine feed from these three regions.

**Key words :** Organophosphate, insecticide residue, poultry feed, swine feed



## การตรวจหาระดับแอนติบอดีของโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกรในฟาร์ม ที่มีปัญหาการแท้งในพื้นที่ จังหวัดนครปฐม ฉะเชิงเทรา และสระบุรี

ดวงใจ สุวรรณเจริญ นิตยา อินทศรี ชิต ศิริวรรณ

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

### บทคัดย่อ

ซีรัมสุกรจากฟาร์มที่มีปัญหาการแท้งจาก 3 จังหวัดคือ นครปฐม ฉะเชิงเทรา และสระบุรี รวม 555 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาแอนติบอดีของโรคเลปโตสไปโรซิส ด้วยวิธี microscopic agglutination test (MAT) ตรวจพบว่าซีรัมที่มีแอนติบอดีในพื้นที่ นครปฐม, ฉะเชิงเทรา และสระบุรี เป็น 17.4% (33/190), 1.7% (3/180) และ 10.8% (20/185) ตามลำดับ ระดับแอนติบอดีที่พบส่วนมากอยู่ในช่วง 1:400-1:800 ระดับแอนติบอดีสูงสุดตรวจพบในซีรัมสุกรจาก จ.นครปฐมคือ 1:3,200 จากซีรัมที่ให้ผลบวกต่อการตรวจทั้งหมดพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *L. bataviae* (8.6%), *L. canicola* (0.7%), *L. pomona* (0.4%), *L. icterohaemorrhagiae* และ *L. akiyami* A (0.2%)

คำสำคัญ : แอนติบอดี, เลปโตสไปโรซิส, microscopic agglutination test (MAT), สุกร

### บทนำ

โรคเลปโตสไปโรซิสเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อเลปโตสไปรา (*Leptospira* spp.) ที่มีรูปร่างแบบเกลียวสว่าน ซึ่งมีมากกว่า 100 serotypes (Alston and Broom, 1958) ทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ หนูชนิดต่างๆ เป็นตัวพาหะและเป็นตัวอมโรคที่สำคัญ (Faine, 1982) การติดเชื้ออาจโดยการสัมผัสกับอาหารหรือปัสสาวะที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ หรือสัมผัสกับ body fluid ของสัตว์ที่ติดเชื้อ โดยเชื้อจะไชผ่านผิวหนังที่เป็นรอยขีดข่วนหรือแผลเย็บุดา ปาก จมูก และเยื่อระบบทางเดินอาหาร (อุไรและกัมพล, 2513) สัตว์ที่ติดโรคนี้ได้แก่ โค กระบือ แพะ แกะ

สุกร ฆ่า สุนัข และสัตว์อื่นๆ อาการที่พบในสัตว์คือ มีไข้ เยื่อตาขาวอักเสบ ดีซ่าน บัสสาวะเป็นเลือด ไตวาย และทำให้ตายได้ (Alston and Broom, 1958) Ryley and Simmon (1954) พบว่า *L. pomona* ทำให้สุกรแท้ง ในระยะท้ายของการตั้งท้อง ลูกตายหลังคลอด (stillbirth) หรืออาจพบการแท้งในระยะ 3-4 สัปดาห์ ก่อนลูกจะครบกำหนดคลอด คนที่ติดเชื้อจะมีอาการ ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ มีไข้ คลื่นไส้ อาเจียน ซึ่งอาการคล้ายคลึงกับไข้หวัดใหญ่ และพบไตอักเสบ ตับวาย และจุดเลือดออกตามอวัยวะต่างๆ (Wagenaar, 1994)

นอกจากนี้ Wagenaar (1994) ได้กล่าวถึงการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส ซึ่งอาจทำได้โดยการตรวจหาเชื้อโดยตรงโดย Bacterioscopic methods; darkfield examination, staining, detection with labelled antibodies หรือการเพาะแยกเชื้อจากเลือด, บัสสาวะ, อวัยวะสืบพันธุ์, น้ำนม, ไต, และซากสัตว์ที่แท้ง และการวินิจฉัยทางซีรัมวิทยา ด้วยวิธี Microscopic agglutination test (MAT) หรือ Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) จากการตรวจซีรัมสุกรที่นำส่งสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ พบว่าสุกรมีแนวโน้มของการติดเชื้อ *Leptospirosis* spp. มากขึ้น

วัตถุประสงค์ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อสำรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราโดยวิธี MAT ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงระดับแอนติบอดีและการระบาดของโรค โดยสุ่มตัวอย่างสุกรจากฟาร์มที่มีปัญหาการแท้งลูก เพื่อจะได้นำมาเป็นข้อมูลสำหรับกำหนดแนวทางการป้องกันและควบคุมโรคนี้นในสุกร รวมทั้งป้องกันการติดต่อโรคจากสุกรไปสู่คน

## อุปกรณ์และวิธีการ

### ตัวอย่างซีรัม

สุ่มเก็บตัวอย่างซีรัมสุกรจากฟาร์มที่มีปัญหาการแท้งลูก โดยแบ่งเป็นตัวอย่างซีรัมสุกรจาก จ.นครปฐม 190 ตัวอย่าง ฉะเชิงเทรา 180 ตัวอย่าง และสระบุรี 185 ตัวอย่าง รวม 555 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคที่ทำให้เกิดการแท้งในสุกรได้ เช่น โรคบรูเซลโลซิส โรคท็อกโซพลาสโมซิส และโรคพาร์โวไวรัส ถ้าให้ผลลบต่อการตรวจแอนติบอดีต่อโรสดังกล่าว จึงนำซีรัมนั้นมาตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ซีรัมทั้งหมดเก็บไว้ที่  $-20^{\circ}\text{C}$  จนกว่าจะนำมาใช้

### แอนติเจน

ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เลปโตสไปโรซิส คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล *Leptospira* จำนวน 12 serovars ได้แก่ *L. akiyami* A, *L. ballico*, *L. bataviae*, *L. canicola*, *L. gryppotyphosa*, *L. hebdomadis*, *L. hyos*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. javanica*, *L. pomona*, *L. pyrogenes* และ *L. wolffi* นำมาเพาะลงใน Liquid EMJH media (Difco laboratories, Michigan, USA) เป็นเวลานาน 3-7 วัน ความเข้มข้น  $10^6$ - $10^7$  leptospire ต่อ 1 ml

### การตรวจคัดเบื้องต้น (Screening test)

นำตัวอย่างซีรัมมาตรวจด้วยวิธี microscopic agglutination test (MAT) โดยนำตัวอย่างซีรัมมาทำให้



เจือจางเป็น 1:50 ด้วย normal saline (pH 7) และนำแอนติเจนเชื้อเป็นทั้ง 12 serovars มาผสมกับ diluted serum sample (1 serovar:1 diluted serum) ในปริมาณเท่าๆ กัน (1:1) จะได้ส่วนผสมของซีรัมและแอนติเจนเป็น 1:100 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2-3 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจดูการจับกลุ่มของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark field การอ่านผล MAT ถ้าเห็นการจับกลุ่มรวมตัวของเชื้อ (agglutination) หรือการแตกสลายตัวของเชื้อและจับกลุ่มรวมตัวกัน (lysis agglutination)  $\geq 50\%$  ถือว่าให้ผลบวก ตัวอย่างที่มีแอนติบอดี  $\geq 1:100$  ตัดสินเป็นผลบวก

**การตรวจหาระดับแอนติบอดี**

นำตัวอย่างซีรัมที่ทดสอบในเบื้องต้นแล้วมาทำ dilution แบบ 2 folds โดยเริ่มตั้งแต่ 1:50 ใช้แอนติเจน serovar เฉพาะที่พบให้ผลบวกใน screening test มาผสมกับ serum ในแต่ละ dilution ในอัตราส่วนที่เท่ากัน (1:1) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2-3 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจดูการจับกลุ่มของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark field แอนติบอดีไตเตอร์ของตัวอย่างซีรัมคือค่า dilution สูงสุดของซีรัมที่ทำให้เกิด Lysis agglutination  $\geq 50\%$

**ผล**

จากการสำรวจแอนติบอดีต่อโรคเลปโตสไปโรซิสของสุกรจากฟาร์มที่มีปัญหาการแท้งจาก 3 จังหวัด คือ นครปฐม ฉะเชิงเทรา และสระบุรี รวม 555 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาแอนติบอดีของโรคเลปโตสไปโรซิส ด้วยวิธี MAT พบว่าซีรัมที่มีแอนติบอดีในพื้นที่ นครปฐม, ฉะเชิงเทรา และสระบุรี เป็น 17.4% (33/190), 1.7% (3/180) และ 10.8% (20/185) ตามลำดับ ระดับแอนติบอดีที่พบส่วนมากอยู่ในช่วง 1:400-1:800 ระดับแอนติบอดีสูงสุดที่ตรวจพบในซีรัมสุกรจาก จ. นครปฐมคือ 1:3,200 จากซีรัมที่ให้ผลบวกต่อการตรวจทั้งหมดพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *L. bataviae* (8.6%), *L. canicola* (0.7%), *L. pomona* (0.4%), *L. icterohaemorrhagiae* และ *L. akiyami A* (0.2%) ซีรัมที่ให้ผลบวกต่อการตรวจจำนวน 56 ตัวอย่าง พบแอนติบอดีต่อเชื้อ serovar *L. bataviae* จำนวนสูงถึง 48 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** แสดงจำนวนและเปอร์เซ็นต์ การพบแอนติบอดีของโรคเลปโตสไปโรซิสในซีรัมสุกรและระดับ titer จากฟาร์มที่มีประวัติการแท้งใน จ. นครปฐม ฉะเชิงเทรา และ สระบุรี

จังหวัด	จำนวนซีรัมทั้งหมดที่ตรวจ	จำนวนซีรัมที่ตรวจพบแอนติบอดี (%)	serovar ที่พบ (%)	ค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดี (GMT $\pm$ S.D.)
นครปฐม	190	33 (17.4%)	<i>L. bataviae</i> (15.8%)	470 $\pm$ 29.92
			<i>L. pomona</i> (1.0%)	566 $\pm$ 3.16
			<i>L. akiyami A</i> (0.5%)	400 $\pm$ 0.0
ฉะเชิงเทรา	180	3 (1.7%)	<i>L. canicola</i> (1.7%)	127 $\pm$ 2.96
สระบุรี	185	20 (10.8%)	<i>L. bataviae</i> (9.7%)	356 $\pm$ 24.21
			<i>L. canicola</i> (0.5%)	400 $\pm$ 0.0
			<i>L. ictero</i> (0.5%)	400 $\pm$ 0.0

## วิจารณ์

จากการตรวจแอนติบอดีในห้องปฏิบัติการพบว่าสุกรนี้มีแนวโน้มของการติดเชื้อเลปโตสไปราเพิ่มขึ้น (ข้อมูลส่วนตัวยังไม่ได้ตีพิมพ์) ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา 15% ในโค และ 8% ในสุกร (Hanson, 1982) ในประเทศไทย บุญธรรมและจำลอง (2511) ได้รายงานการสำรวจโรคนี้ในสัตว์ต่างๆ โดยการเพาะเชื้อซึ่งพบว่า 3.5% ของสุกรใน จ.สระบุรี แต่จากการสำรวจในครั้งนี้นับ 10.8% เป็นแอนติบอดีต่อเชื้อ serovar *L. bataviae* มากที่สุด ซึ่งตรงกับรายงานของ Chotisen และ Morris (1966) ทำการเพาะเชื้อจากไตของสุนัขและหนูซึ่งเป็นพาหะของโรคและพบ *L. bataviae* มากที่สุด Charoonruangrit และ Boonpacknauig (1964) ทำการศึกษาในคนไข้ที่ป่วยด้วยโรคนี้และแยกเชื้อพบ *L. bataviae* ถึง 95% แต่รายงานจาก Ellis et al. (1986) ได้ศึกษาความชุกของโรคนี้ใน Northern Ireland จากสุกรที่มีปัญหาการแท้งและแยกเชื้อพบ 4 serogroups (*L. australis*, *L. hebdomadis*, *L. autumnalis* และ *L. icterohaemorrhagiae*) นอกจากนั้นมียางานการแท้งจาก serovar อื่นๆ อีก เช่น bratislava ซึ่งพบในสุกรที่รัฐไอโอวา (Ellis and Thiermann, 1986) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในแต่ละประเทศจะพบ serogroup หรือ serovar ของเชือนี้แตกต่างกันไป จากการสำรวจของ Alston และ Broom (1958) พบว่าซีรัมสุกรที่สู่มักเก็บจากโรงฆ่าสัตว์ตรวจพบแอนติบอดี (MAT) ต่อ *L. pomona* 59% (114/193) โดยมีระดับแอนติบอดี 1:100 และ 27% (52/193) มีระดับแอนติบอดีมากกว่า 1:800 และตรวจพบเชื้อเลปโตสไปราออกมากับปัสสาวะ (leptospiuria) ซึ่งเป็นเรื่องปกติธรรมดามากกว่าพวกโค กระบือ แพะ แกะ ม้า และคน

ผลการสำรวจแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราซีรัมจากฟาร์มที่มีประวัติการแท้ง พบว่าฟาร์มที่มีแอนติบอดีของโรคนี้ มักจะมีสัตว์ที่ให้ผลบวกมากกว่า 1 ตัว และตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อชนิดเดียวกันในระดับไตเตอร์ที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าถ้ามีการติดเชื้อในฟาร์มมักจะมีการแพร่เชื้อให้สัตว์ที่อยู่ในโรงเรือนเดียวกันหรือใกล้เคียงกันได้ (Faine, 1982) โดยเฉพาะโรงเรือนที่มีความชื้นแฉะจะทำให้เชื้อมีโอกาสแพร่กระจายได้สูง ในประเทศไทยจากการสำรวจของ อุไร และกัมพล (2513) พบว่าฤดูกาลที่พบโรคนี้ได้บ่อยคือ ฤดูฝนต้นฤดูหนาวซึ่งเป็นระยะที่มีน้ำท่วมขัง อัตราการเกิดโรคจะสูงมากกว่าฤดูอื่นๆ และได้ให้ความเห็นไว้ว่าคงเป็นเพราะในระยะนี้มีน้ำขังนิ่ง น้ำไหลในลำธารเอื่อยๆ และดินเปียกอยู่เสมอ จึงทำให้เชื้อสามารถอยู่ได้นานเป็นสัปดาห์ และโรคนี้มักพบในคนทำงานในโรงฆ่าสัตว์ ชาวไร่อ้อย สัตวแพทย์ พ่อค้าเนื้อสัตว์ คนเลี้ยงสัตว์ ชาวสวน และชาวนา (Brewer et al., 1960) วิธีควบคุมและป้องกันโรคโดยการกำจัดพาหะสัตว์ที่เป็นโรค เช่น การขจัดหนู, คัดสัตว์ป่วยที่เป็นโรคออกจากฝูง, ทำความสะอาดโรงเรือนด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ส่วนการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะการประเินผลการรักษาค่อนข้างยาก เพราะเป็นโรคชนิดเฉียบพลันแต่มีอัตราการตายไม่สูงนัก (Faine, 1982) สำหรับการใช่วัดซีนป้องกันและควบคุมโรคนั้น Frantz et al. (1989) ได้ทำการทดลองประสิทธิภาพของวัดซีนโดยใส่เชื้อ serovar bratislava ซึ่งแยกเชื้อได้จากอวัยวะสืบพันธุ์ในท้องที่ลงในวัดซีนเพิ่มอีกหนึ่งชนิดจาก pentavalent leptospiral vaccine ที่ใช้ทั่วไป พบว่าแม่สุกรมื้ออัตราการคลอดเพิ่มขึ้น สำหรับวัดซีนที่มีในประเทศไทยปัจจุบันนั้นเป็นวัดซีนที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (*L. canicola*, *L. grippophyposa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*) ซึ่งเชื้อ serovar ที่ใช้ในการเตรียมวัดซีนกับแอนติบอดีต่อเชื้อที่พบจากการสำรวจนี้ไม่สอดคล้องกัน



### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการศึกษาขอขอบคุณ อาจารย์อุไร โพธา ศูนย์เลปโตสไปโรซิส คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่เอื้อเพื่อให้แอนติเจนเชื่อเป็น และ สพ.ญ. มนยา เอกทัตร์ ที่ช่วยให้การดำเนินงานครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

- บุญธรรม สุนทรเกียรติ และจำลอง หะรินสุต 2511 โรคเลปโตสไปโรซิสในประเทศไทย มหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ หน้า 43-46
- อุไร โพธา และกัมพล พันศำพล 2513 เลปโตสไปโรซิสในประเทศไทย วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ 3(1): 1-42
- Alston, J. M. and Broom, J.C. 1958. Leptospirosis in Man and Animals. E. & S. Livingstone, Ltd. Edinburgh and London. p. 237-241.
- Brewer, W.E., Alexander, A.D., Hakiolu, F. and Evan, L.B. 1960. Rice field leptospirosis in Turkey. A serologic survey. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 6:229.
- Charoonruangrit, S. and Boonpacknauig, S. 1964. Leptospirosis at Chulalongkorn hospital in Bangkok. J. Med. Assoc. Thailand 47(11):653-659.
- Chotisen, A. and Morris, J.H. 1966. Isolation of leptospirosis from Thailand: modes of transmission. Ann. Pro. Rep. SEATO. p. 166-167.
- Ellis, W.A., McParland, P. J., Bryson, D.G. and Cassells, J.D. 1986. Prevalence of leptospirosis infection in aborted pigs in Northern Ireland. Vet. Rec. 118: 63-65.
- Ellis, W.A. and Theirmann, A.B. 1986. Isolation of *Leptospira interrogans* serovars *bratislava* from sows in Iowa. Am. J. Vet. Rec. 47(7): 1458-1460.
- Faine, S. 1982. Guidelines for the control of Leptospirosis. World Health Organization, Geneva. p. 28-31.
- Frantz, J.C., Hanson, L.E. and Brown, A. L. 1989. Effect of vaccination with a bacterin containing *Leptospira interrogans* serovar *bratislava* on the breeding performance of swine herds. Am. J. Vet. Res. 50: 1044-1047.
- Hanson, L.E. 1982 Leptospirosis in domestic animals : the public health perspective. J. Am. Vet. Med. Ass. 181: 1505-1509.
- Ryley, J.W. and Simmon, G.C. 1954. *Leptospira pomona* as a cause of abortion and neonatal mortality in swine. Qd. J. Agric. Sci. 11: 61.
- Wagenaar, J.A, 1994. Leptospirosis diagnosis and pathogenesis. Ph.D. Thesis, University of Utrechth. p. 13-20

## Leptospirosis Antibodies Detection in Swine Serum Samples from the Farms with History of Abortion in Nakhon Pathom , Chachoengsao and Saraburi Provinces

Duangjai Suwanchareon    Nittaya Intarasri    Chit Siriwan

National Institute of Animal Health, Kasetklang, Chatuchak, Bangkok 10900

### Abstract

A total of 555 swine serum samples from the farms with history of abortion in Nakhon Pathom, Chachoengsao and Saraburi provinces were tested for leptospirosis antibodies using microscopic agglutination test (MAT). The positive sera to leptospirosis antibodies by MAT from Nakhon Pathom, Chachoengsao and Saraburi were 17.4% (33/190), 1.7% (3/180) and 10.8% (20/185), respectively. Most of the positive sera had the titer of 1:400 to 1:800. The highest antibody titer at 1:3,200 was detected from the sows in Nakhon Pathom. The positive sera, were positive to *L. bataviae* (8.6%), *L. canicola* (0.7%), *L. pomona* (0.4%), *L. icterohaemorrhagiae* and *L. akiyami A* (0.2%)

**Key Word :** Antibodies, Leptospirosis, Microscopic agglutination test (MAT), swine





## โรห์น-ปูแลงค์ และ Merck ร่วมกันก่อตั้งเมเรียล (MERIAL) บริษัทที่ดำเนินธุรกิจยาสัตว์และพันธุภัณฑ์ใหญ่ที่สุดในโลก

โรห์น-ปูแลงค์ และ Merck & Co., Inc. ได้ประกาศในวันนี้ว่า ทั้งสองบริษัท มีกำหนดจะปิดการรวมตัวกันของ  
คนในธุรกิจยาสัตว์และพันธุภัณฑ์เพื่อให้การจัดตั้งบริษัท MERIAL จำกัดแล้วเสร็จภายในวันที่ 31 กรกฎาคม 2540  
ซึ่ง MERIAL นี้จะกลายเป็นบริษัท stand-alone ที่ครบวงจรสมบูรณ์แบบที่สุด โดยทั้งสองฝ่ายจะถือหุ้นกันคนละ  
ครึ่ง และมีเงินรายได้อยู่ที่ 1.9 พันล้านเหรียญสหรัฐ คาดว่า MERIAL จะสามารถเริ่มดำเนินงานได้ตั้งแต่วันที่  
1 สิงหาคม 2540

การรวมตัวกันของสองบริษัทจะทำให้ MERIAL เป็นบริษัทที่ใหญ่ที่สุดในโลกแต่เพียงผู้เดียวในเรื่องของการ  
ค้นคว้า, การผลิต และการตลาดเกี่ยวกับเวชภัณฑ์ยาสัตว์และวัคซีนสำหรับสัตว์ MERIAL มีพนักงานทั้งหมด  
ทั่วโลกมากกว่า 6,000 คนใน 30 สาขากระจายอยู่ทั่ว 150 ประเทศ สำนักงานใหญ่ตั้งอยู่ที่ลอนดอน และมี  
สำนักงานติดต่อธุรกิจอยู่ที่เมืองลีซง ฝรั่งเศส, และเมืองวู้ตบริดจ์ มลรัฐ นิวเจอร์ซีย์ สหรัฐอเมริกา

### เน้นการค้นคว้าสิ่งใหม่

การก่อตั้ง MERIAL ที่เกิดจากการรวมตัวกันของ RHONE MERIEUX ซึ่งเป็นกลุ่มย่อยของ RHONE  
POULENC และ Merck's Ag Vet นั้น ทำให้ MERIAL มีกลุ่มสินค้าในอุตสาหกรรมยาสัตว์มากที่สุดและ  
สามารถให้บริการได้กว้างขวางที่สุดเพื่อการป้องกันและรักษาโรคในปศุสัตว์ (วัวควาย, สุกร และ แกะ), สัตว์ปีก  
(ไก่และไก่งวง) และสัตว์เลี้ยงอื่นๆ (แมว, สุนัข และม้า) โดยมีสัตวแพทย์, ผู้ผลิต อาหารสัตว์ และเจ้าของ  
สัตว์เลี้ยงเป็นผู้ใช้เวชภัณฑ์ยาและวัคซีนของ MERIAL ทั่วโลก

จอห์น เพรสตัน, BVMS, P.T.O MRCVS, ประธานบริษัท MERIAL กล่าวว่า "ชื่อของโรห์น-ปูแลงค์ และ Merck  
เป็นที่รู้จักกันมาเป็นเวลานานในฐานะผู้ค้นคว้าริเริ่มด้านเวชภัณฑ์ยาสัตว์และวัคซีนสำหรับสัตว์ และ MERIAL  
จะเป็นบริษัทที่สานต่องานดังกล่าวนั้นต่อไป" เพรสตันยังได้กล่าวเสริมว่า "MERIAL มีทุกสิ่งทุกอย่างที่มากด้วย  
คุณภาพและแหล่งทรัพยากรที่จำเป็นเพื่อส่งเสริมให้เกิดความก้าวหน้าที่มีความสำคัญในสาขาต่างๆ สำหรับ  
ยาสัตว์และพันธุภัณฑ์ อาทิ งบประมาณเพื่อการค้นคว้าและวิจัยในอุตสาหกรรมจำนวน 120 ล้านดอลลาร์สหรัฐ,  
บุคลากรที่มีความชำนาญในงานวิจัย, ศิลปกรรมแห่งเทคโนโลยีและเครื่องมือเครื่องใช้ และความสำเร็จอย่าง  
เทียบพร้อมในการพัฒนา"

### ความสมดุลของสินค้า, ชนิดของสัตว์ และภูมิศาสตร์

สินค้าของ MERIAL ประกอบด้วย 19 สูตรตัวยา Ivermectin ของ Merck ซึ่งเป็นเวชภัณฑ์ยาสำหรับสัตว์ที่ขายมากที่สุดในโลกเนื่องจากสามารถใช้ได้กับสัตว์ต่างๆ ถึง 11 ชนิด และวัคซีนที่มีอยู่มากมายของโรห์น เมอร์ริเออร์ และเวชภัณฑ์ยาอื่นๆ รวมทั้ง Frontline (fipronil) ซึ่งโรห์น เมอร์ริเออร์ เพิ่งจะนำ Frontline เปิดตัวสู่ตลาดเมื่อไม่นานมานี้เพื่อใช้รักษาการแพร่ของเห็บและหมัดในสุนัขและแมว

ในทางภูมิศาสตร์ MERIAL แสดงให้เห็นถึงความแข็งแกร่งในทุกๆ จุดใหญ่ๆ ที่สำคัญในตลาดโรห์น เมอร์ริเออร์ ครอบครองความแข็งแกร่งอย่างมากในตลาดยุโรปและตะวันออกไกล ในขณะที่ Merck Ag Vet แกร่งในตลาดของอเมริกา ยอดการจำหน่ายของ MERIAL เกือบจะเป็นการแบ่งระหว่างยุโรป อเมริกาเหนือ และส่วนที่เหลือของโลกอย่างเท่าเทียมกัน เพียงเท่านั้นก็ได้อุตสาหกรรมของโลกมาไว้ในมืออย่างมากแล้ว

หลุยส์ ของเฟด CEO ของ MERIAL กล่าวว่า MERIAL จะเป็นการรวมตัวกันของธุรกิจยาสัตว์ 2 ธุรกิจ ซึ่งช่วยให้ขอบเขตของสินค้า, การกระจายสินค้า, ชนิดของสัตว์และการครองตลาดในทางภูมิศาสตร์มีความสมบูรณ์อย่างยิ่ง MERIAL จะมีข้อได้เปรียบในทางยุทธศาสตร์ทุกจุดซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อความสำเร็จในวงการอุตสาหกรรมยาสัตว์ที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วนี้"

คาดว่า MERIAL จะเป็นบริษัทที่ได้รับการรวมรวมพลังอย่างเด่นชัดทั้งนี้จากสินค้าในส่วนที่เป็นเวชภัณฑ์ยา และวัคซีนที่มีอยู่นานาชนิด ความสามารถในการเข้าสู่ตลาดที่เป็นกุญแจสำคัญในหลายจุดและศักยภาพในการรวมตัวกันของสินค้า

เพื่อให้ MERIAL เป็นจริงขึ้นมา Rhone-Poulenc จึงได้สนับสนุนทุกอย่างเกี่ยวกับการค้นคว้าวิจัยและการพัฒนา, การผลิต, การจำหน่ายและการตลาดและสินค้าของโรห์น เมอร์ริเออร์ ในขณะที่ Merck สนับสนุนบุคลากรในการค้นคว้าวิจัย, การจำหน่ายและการตลาดรวมทั้งสินค้าของ Merck Ag Vet MERIAL จะมีการทำสัญญาหลายฉบับเกี่ยวกับการค้นคว้าวิจัยและการผลิตกับบริษัทแม่ทั้งหลายในกลุ่ม Rhone-Poulenc โดยผ่าน Rhone-Poulenc Agrc, Rhone-Poulenc rorer และ Pasteur Merleux Connaught ส่วน Merck จะทำสัญญาผ่าน Merck Manufacturing Division และ Merck Research Laboratories เป็นการเปิดทางให้กับความร่วมมือและเทคโนโลยีใหม่ที่จะนำมาใช้ในยาสัตว์

### พันธมิตร

โรห์น เมอร์ริเออร์ และ Merck ยังได้นำเอาธุรกิจพันธมิตรที่ของตนมารวมกัน กล่าวคือพันธมิตร Hubbard ของ Merck และ ISA ของโรห์น เมอร์ริเออร์ ดังนั้นธุรกิจพันธมิตรที่ของ MERIAL จะเป็นที่รู้จักกันในนามว่า Hubbard-ISA จากรายได้ที่จะได้รับประมาณ 330 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ธุรกิจพันธมิตรที่ของ Merial นี้จะกลายเป็นธุรกิจใหม่ชั้นนำของโลกในแง่ของการพัฒนาและการผลิตพ่อแม่พันธุ์ไก่ และให้ผลผลิตเต็มทีแก่ไก่ ไก่วงและไข่



โรห์น-ปูแลงค์ ในฐานะที่เป็นหนึ่งของกลุ่มผู้นำของโลกในเรื่องของวิทยาศาสตร์สิ่งมีชีวิตและเคมีในรูปแบบพิเศษ สนับสนุนและทุ่มเทเพื่อคิดค้นสิ่งใหม่ๆ อันเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงชีวิตความเป็นอยู่ของมนุษยชาติ สัตว์ และพืชรวมทั้งคุณภาพและความปลอดภัยของสินค้าที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมและชีวิตประจำวัน โรห์น-ปูแลงค์มี ยอดจำหน่ายในปี 1995 ที่ 86 พันล้านฟรังก์ฝรั่งเศส

Merck & Co., Inc. เป็นบริษัทชั้นนำในด้านการให้บริการและด้านเวชภัณฑ์ที่ผ่านการค้นคว้าวิจัย Merck ค้นคว้า, พัฒนา, ผลิต และทำตลาดผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ อย่างกว้างขวางเพื่อปรับปรุงชีวิตมนุษย์และสัตว์ รวมถึงปรับปรุงคุณภาพชีวิตและให้ความสำคัญอย่างยิ่งต่อการดูแลสุขภาพโดยทั่วไป Merck มียอดจำหน่ายในปี 1996 ที่ 19.8 พันล้านเหรียญสหรัฐ

บริษัทโรห์น เมอร์ริเออร์ (ไทยแลนด์) จำกัด (RHONE MERIEUX (THAILAND)) กำลังดำเนินการเปลี่ยนชื่อเป็น บริษัท เมเรียล (ประเทศไทย) จำกัด (MERIAL (THAILAND)) ในเร็วๆ นี้ โดยสถานที่ทำการและเบอร์โทรศัพท์ โทรสาร ยังเป็นสถานที่เดิมและเบอร์เดิม คือ เลขที่ 3195/8 อาคารวิบูลย์ธานี 1 ชั้น 3 ถนนพระราม 4 แขวง คลองตัน เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10110 โทร. 661-3377 โทรสาร 661-3379

# โซลิตา zoletil

ยาชาสำหรับสัตว์



จัดจำหน่ายโดย



บริษัท เวท อะกริเทค จำกัด

93/47 ชั้น 4 อาคารโมเดิร์นกรู๊ป ถนนแจ้งวัฒนะ

ปากเกร็ด นนทบุรี โทร.982-9560-4 แฟกซ์ : 574-6405

virba



# การใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี ตรวจระดับแอนติบอดี โรคอหิวาต์สุกรโดย นิวทราลไลซิง เพอร์ออกซิเดส ลิงค์ แอสเซ

สุจิตรา ปาจริยานนท์ สุदारัตน์ ดำรงค์วัฒนโกคิน วาสนา ภิญโญชนม์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กทม. 10900

## บทคัดย่อ

ได้พัฒนานิวทราลไลซิง เพอร์ออกซิเดส ลิงค์ แอสเซ (NPLA) มาใช้ในการตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคอหิวาต์สุกร โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (MAb) ต่อเชื้ออหิวาต์สุกร พบว่าการใช้ MAb ย้อมไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง PK-15 ซึ่ง fix ไว้ใน microplate แทนการใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดี ให้ผลการตรวจที่ชัดเจนกว่า และจากการตรวจซีรัมจากฟาร์มสุกรในแถบภาคกลางของประเทศ จำนวน 414 ตัวอย่าง ด้วย NPLA โดยใช้ Mab เปรียบเทียบกับวิธีนิวทราลไลซิงอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (NIF) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test พบว่าทั้ง 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยค่าความไว และความจำเพาะของ NPLA เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี NIF เป็น 97.6% และ 83.3% ตามลำดับ และจากการหาค่าความสัมพันธ์ของทั้ง 2 วิธีโดย correlation coefficient ค่า  $r = 0.927$  และ  $r^2 = 0.86$  ( $p < 0.001$ ) แสดงให้เห็นว่าทั้ง 2 วิธี สามารถใช้แทนกันได้

คำสำคัญ : นิวทราลไลซิง เพอร์ออกซิเดส ลิงค์แอสเซ, โรคอหิวาต์สุกร

## บทนำ

โรคอหิวาต์สุกรเป็นโรคระบาดร้ายแรงซึ่งทำความสูญเสียอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร หลายประเทศทั่วโลกประสบปัญหาการระบาดของโรคนี้ และพยายามหามาตรการกำจัดโรคนี้ให้หมดไป การกำจัดโรควิธีหนึ่งคือการตรวจแอนติบอดี โดยเฉพาะในประเทศที่ไม่มีการฉีดวัคซีน และทำการคัดทิ้งสุกรที่มีแอนติบอดี (Wensvoort et al., 1988) ส่วนในประเทศที่มีการฉีดวัคซีน การศึกษาาระดับแอนติบอดีจะเป็นแนวทางในการควบคุม ป้องกันและกำจัดการระบาดของโรค วิธีการตรวจแอนติบอดีสำหรับโรคนี้นี้มีหลายวิธี เช่น อินไดเรค ฟลูออเรสเซนซ์ แอนติบอดี เทคนิค (Ressang & Den Boer, 1969) อินไดเรค เพอร์ออกซิเดส แอนติบอดี เทคนิค (Saunders, 1977) คอมพลีเมนต์ ฟิกเซชัน (Eskildsen & Overby, 1976) อการ์ เจล ดิฟฟิวชันเทส (Pirtle, 1965)

หรือ อิมมูโนอิเล็กโตรออสโมโฟเรซิส (Terpstra, 1978) ซึ่งวิธีดังกล่าวไม่สามารถแยกแอนติบอดีระหว่างโรคคหิวหวัดสุกรและโรคที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่น bovine viral diarrhea (BVD) ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยการตรวจด้วยวิธีการทำนิวทรัลไลเซชัน ซึ่งมีอยู่ 2 วิธีคือ นิวทรัลไลซิง อิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (NIF) (Leiss et al., 1976) และนิวทรัลไลซิง เปอร์ออกซิเดส ลิงค์ แอสเซ (NPLA) (Holm-Jensen, 1981) แต่วิธี NIF เป็นวิธีที่มีความยุ่งยากในการอ่านผล ต้องใช้กล้องฟลูออเรสเซนซ์ การดูด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์นานๆ จะทำให้สีของการเรืองแสงในเซลล์เพาะเลี้ยงจางหายไป ไม่สามารถนำมาตรวจดูได้อีกเมื่อต้องการ (Afshar et al., 1989)

จุดประสงค์ของการศึกษาค้างนี้เพื่อทดลองนำ NPLA ร่วมกับการใช้ โมโนโคลนอลแอนติบอดี (MAb) ตรวจแอนติบอดีของโรคคหิวหวัดสุกรและเปรียบเทียบกับวิธี NIF ว่ามีความใกล้เคียง แตกต่างกันอย่างใด เพื่อนำมาใช้ตรวจระดับแอนติบอดีโรคคหิวหวัดสุกรในห้องปฏิบัติการต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### เซลล์เพาะเลี้ยงและเชื้อไวรัสคหิวหวัดสุกร

ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงไตสุกร PK-15 เลี้ยงด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ Eagle's MEM และ 5 % fetal calf serum (FCS) ซึ่งปราศจากเชื้อและแอนติบอดีต่อเชื้อ BVD เชื้อไวรัสคหิวหวัดสุกรใช้ ALD strain เลี้ยง ในเซลล์ PK-15 เป็นเวลา 4 วัน เก็บเชื้อไวรัสที่ได้โดย freeze-thaw 2 ครั้ง บั่นตกตะกอนแยกส่วนน้ำใส หาปริมาณไวรัส แจกและเก็บที่  $-70^{\circ}\text{C}$

### แอนติบอดี

เตรียม MAb ต่อเชื้อคหิวหวัดสุกรโดยเลี้ยงไฮบริโดมาเซลล์ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr. Mitsugu Shimizu (National Institute of Animal Health, Japan) ใน Dulbecco's modified eagles medium และ 10 % FCS Supernatant ของ tissue culture fluid มาตกตะกอน 1 ครั้งด้วย 0.5 เท่าของแอมโมเนียม ซัลเฟต ที่อิ่มตัว บั่นและแยกตะกอน นำตะกอนที่ได้ละลายใน phosphate buffer saline (PBS) โดยให้เข้มข้นเป็น 100 เท่าของ supernatant culture fluid แล้ว dialyse ใน PBS 2-3 ครั้ง และเก็บที่  $-20^{\circ}\text{C}$

เตรียม โพลีโคลนอล แอนติบอดี (PAb) ต่อเชื้อคหิวหวัดสุกร ALD strain ในกระต่าย โดยฉีดเชื้อ ALD strain ซึ่งผสม Freund incomplete adjuvant ในปริมาตรเท่ากัน เข้าใต้ผิวหนังกระต่าย จำนวน 1 มิลลิลิตรต่อตัว (มล./ตัว) จากนั้น 2 สัปดาห์ ฉีดเชื้อ ALD strain จำนวน 1 มล./ตัว เข้าเส้นเลือด 2 สัปดาห์ต่อมา เจาะเลือดและแยกซีรัม แบ่งและเก็บที่  $-20^{\circ}\text{C}$

### คอนจูเกต

การทำ NPLA ในกรณีใช้ MAb หรือ PAb ใช้ goat antimouse peroxidase conjugate (DAKO, Japan) หรือ goat antirabbit peroxidase conjugate (DAKO, Japan) ตามลำดับส่วนวิธี NIF ใช้ฟลูออเรสเซนซ์แอนติบอดี คอนจูเกต

หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติบอดีและคอนจูเกต โดยทำ checkerboard titration



**Substrate solution**

ใช้ 3 amino-9-ethyl carbazole ตามวิธีของ Graham et al. (1965)

**ตัวอย่างซีรัมสำหรับตรวจแอนติบอดี**

ใช้ซีรัมจากสุกรที่เลี้ยงในแถบภาคกลางของประเทศ ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการระบาดของโรค จำนวน 414 ตัวอย่าง โดย inactivate ที่ 56 °C นาน 30 นาที ทดสอบซีรัมด้วย NPLA และวิธี NIF วิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าความไวและความจำเพาะ (Martin, 1977) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ความไว} = \frac{a}{a + c} \times 100 \%$$

$$\text{ความจำเพาะ} = \frac{d}{b+d} \times 100 \%$$

a = ซีรัม positive โดย NPLA และวิธี NIF

b = ซีรัม negative โดย NPLA และ positive โดยวิธี NIF

c = ซีรัม positive โดย NPLA และ negative โดยวิธี NIF

d = ซีรัม negative โดย NPLA และวิธี NIF

ซีรัม positive = ซีรัมไตเตอร์เท่ากับหรือมากกว่า 1 : 4 โดยวิธี NIF และ NPLA

**วิธี NPLA**

ดัดแปลงจากวิธีของ Holm-Jensen (1981) โดยทำนิวทราลไลเซชันระหว่าง serial 2-fold dilution ของตัวอย่างซีรัมจำนวน 50 ไมโครลิตรต่อหลุม กับเชื้ออหิวาต์สุกร ALD strain 100 TCID<sub>50</sub> (50 ไมโครลิตรต่อหลุม) ใน microplate ชนิด 96 หลุม อบในตู้ 37 °C ที่มี 5% CO<sub>2</sub> ในบรรยากาศ นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเซลล์เพาะเลี้ยง PK-15 ความเข้มข้น 3x10<sup>5</sup> เซลล์ต่อมล. (100 ไมโครลิตรต่อหลุม) แล้วอบต่อ นาน 4 วัน fix เซลล์เพาะเลี้ยงใน microplate ด้วย 4% formaldehyde (100 ไมโครลิตรต่อหลุม) ใน 0.5% PBS tween 20 เป็นเวลา 15-20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างเซลล์เพาะเลี้ยงใน microplate ด้วย PBS-tween จำนวน 3 ครั้ง แอนติบอดีและคอนจูเกตละลายใน 1% bovine serum albumin ใน PBS-tween เติมแอนติบอดี (50 ไมโครลิตรต่อหลุม) นาน 1 ชั่วโมง ล้างและเติมเปอร์ออกซิเดส คอนจูเกต (50 ไมโครลิตรต่อหลุม) นาน 1 ชั่วโมง ล้างและเติม substrate solution (100 ไมโครลิตรต่อหลุม) นาน 30 นาที ล้างด้วยน้ำ 1 ครั้ง สะบัดให้แห้ง แล้วอ่านผลด้วยตาเปล่า ซีรัมที่เจือจางมากที่สุดและสามารถนิวทราลไลซ์ไวรัสได้หมด ซึ่งไม่ติดสีน้ำตาลแดง จะเป็นระดับแอนติบอดีของซีรัมนั้น

**วิธี NIF**

ตามวิธีของ พวงทิพย์และคณะ (2533) โดยทำนิวทราลไลเซชันระหว่าง serial 2-fold dilution ของตัวอย่างซีรัมจำนวน 50 ไมโครลิตรต่อหลุม กับเชื้ออหิวาต์สุกร ALD strain 100 TCID<sub>50</sub> (50 ไมโครลิตรต่อหลุม) ใน microplate ชนิด 96 หลุม อบในตู้อบ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมส่วนผสมที่ได้ (10 ไมโครลิตร) ลงใน

multiwell slides ที่มีเซลล์เพาะเลี้ยง PK-15 ความเข้มข้น  $4-5 \times 10^5$  เซลล์ต่อมล. (20 ไมโครลิตร) ออบในตู้อบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ล้าง slide ด้วย PBS 1 ครั้ง และ fix slide ด้วย acetone นาน 10 นาที นำมาย้อมด้วยฟลูออเรสเซนซ์ แอนติบอดีคอนจูเกต และอ่านผลแอนติบอดีไโตเตอร์ด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ ซีรัมที่เจือจางมากที่สุดและสามารถนิเวศรไลซ์ไวรัสได้หมด ซึ่งไม่ติดสีเรืองแสง เมื่อดูด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ จะเป็นระดับแอนติบอดีของซีรัมนั้น

### ผลการทดลอง

จากการตรวจระดับแอนติบอดีโรคหิวาต์สุกรด้วย NPLA โดยใช้ MAb พบว่าการติดสีที่ไม่จำเพาะ (non-specific staining) จะน้อยกว่า PAb ทำให้อ่านผลได้ชัดเจนกว่า การเปรียบเทียบผลที่ได้จากการตรวจด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธี NIF โดยใช้ซีรัมจำนวน 414 ตัวอย่าง และวิเคราะห์ทางสถิติโดย t-test พบว่าทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) และจากการหาค่าความสัมพันธ์ของทั้ง 2 วิธี โดย correlation coefficient ค่า  $r = 0.927$  และ  $r^2 = 0.86$  ( $p < 0.001$ ) แสดงดังรูปที่ 1 โดยมี regression equation  $y = 0.21 + 0.96x$  ค่าความไว และความจำเพาะ ของ NPLA เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี NIF เท่ากับ 97.6 % และ 83.3 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

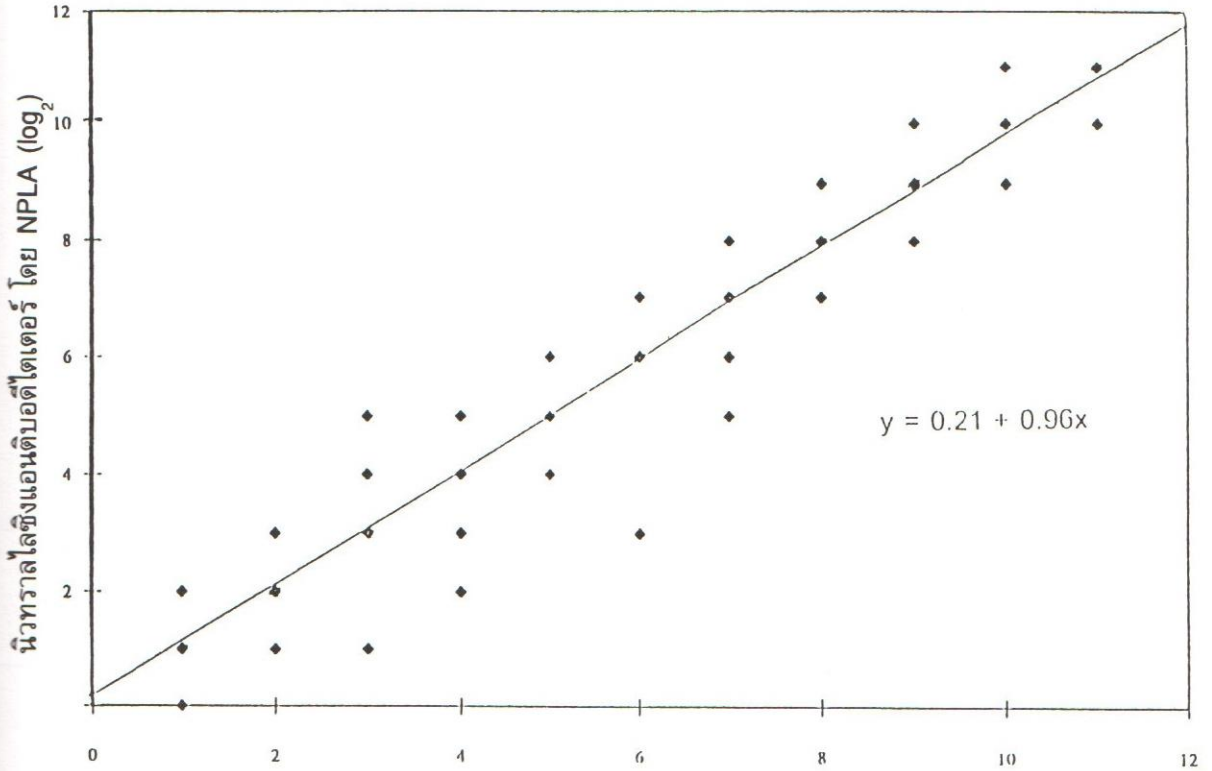
ตารางที่ 1 ตารางแสดงค่าความไว และความจำเพาะของ NPLA และวิธี NIF

		NPLA		
		Pos	Neg	
NIF	Pos	381 (a)	4 (b)	385 (a+b)
	Neg	9 (c)	20 (d)	29 (c+d)
Total		390 (a+c)	24 (b+d)	414

$$\text{ความไว} = \frac{381}{381+9} \times 100\% = 97.6\%$$

$$\text{ความจำเพาะ} = \frac{20}{4+20} \times 100\% = 83.3\%$$





นิวทราลไลซิงแอนติบอดีไตเตอร์ โดยวิธี NIF (log<sub>2</sub>)

รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของนิวทราลไลซิงแอนติบอดีไตเตอร์ ที่ตรวจโดย NPLA และวิธี NIF

## วิจารณ์

จากรายงานของ Afshar et al. (1989) พบว่าการใช้เปอร์ออกซิเดส เลเบล แอนติบอดี แอสเซ ช่วยในการตรวจหาแอนติบอดีไตเตอร์ในซีรัมสุกรหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกร สามารถตรวจพบแอนติบอดีไตเตอร์ได้ก่อนวิธีที่ใช้อินไดเรคฟลูออเรสเซนซ์แอนติบอดีเทคนิค Meyling (1983) ใช้เปอร์ออกซิเดสเทคนิคในการตรวจเชื้อ BVD ในวัว พบว่าให้ความไวในการตรวจ เหมือนกับการใช้ฟลูออเรสเซนซ์เทคนิค แต่วิธีการและการอ่านผลง่ายกว่า จากผลการทดลองใช้ MAb แทนการใช้ PAb พบว่าให้ผลการอ่านที่ชัดเจนกว่าอาจเนื่องจาก MAb ที่นำมาใช้เตรียมจาก supernatant ของ tissue culture fluid ของไฮบริโดมาเซลล์ ซึ่งมีแอนติบอดีชนิดอื่นปนเป็นนอยกว่า PAb ที่ได้จากสัตว์ (Harlow & Lane, 1988)

จากการหาค่าความสัมพันธ์ของ NPLA และวิธี NIF โดย correlation coefficient จะเห็นว่า ค่า  $r$  และ  $r^2$  มีค่าใกล้ 1.0 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันอย่างมากสามารถใช้แทนกันได้ จากการพิจารณาค่าความไว พบว่า NPLA ให้ค่าความไวค่อนข้างสูง คือ 97.6% ในขณะที่ความจำเพาะเป็น 83.3% ซึ่งอาจเนื่องจาก negative sera ที่ใช้ในการทดสอบมีจำนวนน้อยไป ควรทำการหาค่าความจำเพาะโดยใช้จำนวนซีรัมที่ไม่มีไตเตอร์ต่อโรคอหิวาต์สุกรมากกว่านี้

## สรุป

วิธีที่ใช้ในการตรวจแอนติบอดีต่อโรคอหิวาต์สุกรตาม OIE Manual (1995) แนะนำทั้ง NPLA และวิธี NIF ดังนั้นการจะเลือกใช้วิธีใดขึ้นอยู่กับความพร้อมของแต่ละห้องปฏิบัติการ ซึ่งทั้ง 2 วิธีต้องอาศัยห้องปฏิบัติการที่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ แต่ NPLA สามารถอ่านผลไตเตอร์ด้วยตาเปล่า ไม่ต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ และยังสามารถนำตัวอย่างมาอ่านผลซ้ำหรือเก็บไว้อ่านผลภายหลังได้โดยสีไม่จางหายไป จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ จากวิธีการและการอ่านผลที่ง่าย ทำให้สามารถตรวจซีรัมได้ครั้งละจำนวนมาก ทำให้ทราบข้อมูลและสภาวะโรค อันจะนำไปสู่แผนการควบคุมป้องกันโรคอหิวาต์สุกรให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่กลุ่มงานไวรัสวิทยา และนายสมชาย ช่างทอง ที่ช่วยงานทดลอง และช่วยวิเคราะห์ข้อมูล ตามลำดับ

## เอกสารอ้างอิง

- พวงทิพย์ เมธิยะพันธ์ สุจิรา ปาจารย์านนท์ และวาสนา ภิญญชนม์ 2533. การตรวจภูมิคุ้มกันต่อโรคอหิวาต์สุกร โดยวิธีไมโครนิวทรัลไลเซชัน อิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ สัตวแพทยสาร 41(2): 83-92.
- Afshar, A., Dulac, G.C. and Bouffard, A. 1989. Application of peroxidase labeled antibody assays for detection of porcine IgG antibodies to hog cholera and bovine viral diarrhoea viruses. *J. Virol. Methods.* 23: 253-262.



- Eskildsen, M. and Overby, E. 1976. Serological diagnosis of classical swine fever : a comparison of a modified direct complement fixation test with an immunofluorescence plaque neutralization test in the diagnosis of experimental subclinical infection. *Acta Vet. Scand.* 17: 131-141.
- Graham, R.C., Lundholm, U and Karnousky, M.J. 1965. Cytochemical demonstration of peroxidase activity with 3-amino-9-ethylcarbazole. *J. Histochem. Cytochem.* 13: 150-152.
- Harlow, E. and Lane, D. 1988. Storage and purifying antibodies. In *Antibodies : A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory, USA. p. 283-318.
- Holm-Jensen, M. 1981. Detection of antibodies against hog cholera virus and bovine viral diarrhea virus in porcine serum : a comparative examination using CF, PLA and NPLA assays. *Acta Vet. Scand.* 22: 85-98.
- Liess, B., Frey, H.R., Prager, D., Hafez, S.M. and Roeder, B. 1976. Detection of neutralizing antibodies (NIF test) : use of new technical equipment (CCSC system) for laboratory swine fever diagnosis. CEC report on diagnosis and epizootiology of classical swine fever. *EUR 5486:* 187-197.
- Martin, S.W. 1977. The evaluation of tests. *Can. J. Comp. Med.* 41: 19-25.
- Meyling, A. 1983. An immunoperoxidase (PO) technique for detection of BVD virus in serum of clinically and subclinically infected cattle. *Proceedings of the third Int. Symp. Ames, Iowa, USA,* p. 179-184.
- Pirtle, E.C. 1965. A soluble precipitating antigen (HCA) from hog cholera virus propagated in tissue culture. II. Incidence of HCA-antibodies in sera of hog cholera immune and non-immune swine. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 28: 297-303.
- Ressang, A.A. and Den Boer, J.L. 1969. The indirect fluorescent antibody technique as a method for detecting serum antibodies against hog cholera. Part I. An outline of the technique and its preliminary evaluation. *Zentralbl. Veterinaarmed. Reihe B.* 16: 709-716.
- Saunders, G.C. 1977. Development and evaluation of an enzyme labeled antibody test for the rapid detection of hog cholera antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 38: 21-25.
- Terpstra, C. 1978. The use of immunoelectro-osmophoresis as a possible aid in the diagnosis of swine fever. *Zentralbl. Veterinaarmed. Reihe B.,* 25: 576-585.
- O.I.E. Manual 1995. Classical swine fever (Hog cholera). Chapter 2.1.13 : Amendment 1, May 1995. p. 1-12.
- Wensvoort, G., Bloemraad, M. and Terpstra, C. 1988. An enzyme immunoassay employing monoclonal antibodies and detecting specifically antibodies to classical swine fever virus. *Vet. Micro.* 17: 129-140.

## Application of Monoclonal Antibody for Detection of Swine Fever Virus Antibodies by Neutralizing Peroxidase Linked Assay

Sujira Parchariyanon   Sudarat Damrongwatanapokin   Wasana Pinyochon

National Institute of Animal Health, Kasetklang, Jatujak, Bangkok, 10900, Thailand.

### Abstract

Neutralizing peroxidase linked assay (NPLA) using monoclonal antibody (MAb) was developed for detection of swine fever virus (SFV) antibodies in swine sera. Staining positive cells in the microplates using MAb instead of polyclonal antibody in NPLA yielded a better positive reaction. Four hundred and fourteen swine sera from the Central part of Thailand were examined for SFV antibodies by NPLA and neutralizing immunofluorescence (NIF) test. The NPLA had a sensitivity of 97.6% and a specificity of 83.3% when compared with the NIF test. There was no significant difference ( $P>0.05$ ) between the two tests and the correlation coefficient ( $r=0.927$  and  $r^2=0.86$ ) was statistically significant ( $p<0.001$ ).

**Key word :** neutralizing peroxidase linked assay, swine fever



## การแยกเพศตัวอ่อนของโคด้วยเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่าย

ปาริฉัตร สุขโต      นุสสรာ วัฒนกุล

กองผสมเทียม กรมปศุสัตว์ ถนนพญาไท กรุงเทพฯ 10400

### บทคัดย่อ

ศึกษาการแยกเพศตัวอ่อนของโคก่อนการถ่ายฝาก ด้วยเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่าย ซึ่งประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดีในการแยกเพศตัวอ่อนของหนูและแกะ โดยปรับช่วงเวลาการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของโคใน colcemid เพื่อให้ได้ช่วงเวลาที่สั้นที่สุดที่จะเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของโค โดยทำให้มีจำนวนเมตาเฟสเพียงพอที่จะตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศได้ถูกต้อง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สามารถเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของโคใน colcemid โดยใช้ระยะเวลาเพียง 2 ชม. เท่านั้น ก็ทำให้มีจำนวนเมตาเฟสเพียงพอที่จะตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศได้ และการแยกเพศตัวอ่อนของโคด้วยเทคนิคนี้ใช้เวลาในการปฏิบัติงานทั้งสิ้นไม่เกิน 4 ชั่วโมง

**คำสำคัญ :** โค, แยกเพศตัวอ่อน

### บทนำ

การขาดแคลนโคนมเพศเมียพันธุ์ดีที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูง เป็นปัญหาหนึ่งที่เป็นอุปสรรคสำคัญต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมของประเทศ จึงได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีต่างๆ มาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสัตว์และการขยายพันธุ์สัตว์ให้มีจำนวนมากขึ้น การถ่ายฝากตัวอ่อนเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่ได้รับการสนับสนุนให้นำมาใช้เพื่อเพิ่มจำนวนแม่โคนมพันธุ์ดีในระยะเวลาอันสั้น แต่เนื่องจากอัตราการตั้งท้องจากการถ่ายฝากตัวอ่อนยังค่อนข้างต่ำ และอัตราการเกิดลูกเพศเมียตามปกติจะประมาณไม่เกิน 50% (Powell et al., 1975; Foote, 1977) จึงทำให้การเพิ่มจำนวนโคนมเพศเมียพันธุ์ดีแม้จะสูงขึ้นบ้าง แต่ก็ยังไม่เพียงพอ เทคโนโลยีการแยกเพศตัวอ่อนก่อนการถ่ายฝาก เพื่อคัดเลือกตัวอ่อนเพศเมียพันธุ์ดีนำมาถ่ายฝากให้โคตัวรับ จะเป็นวิธีที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่งในการเพิ่มจำนวนโคนมเพศเมียพันธุ์ดีให้มีจำนวนมากขึ้นในระยะเวลาอันสั้น นอกจากนั้นยังเป็นการลดค่าใช้จ่าย และเวลาที่สูญเสียไปในการเลี้ยงลูกโคนมเพศผู้โดยไม่จำเป็น โดยสามารถนำเทคนิคนี้มาใช้ร่วมกับเทคโนโลยีการถ่ายฝากตัวอ่อนครั้งใบ ซึ่งประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดีในสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย (นุสสรา และคณะ, 2538) ทำให้สามารถคัดเลือกตัวอ่อนส่วนหนึ่งมาทำการตรวจแยกเพศ ในขณะที่ตัวอ่อนอีกครึ่งหนึ่งจะเพาะเลี้ยงไว้เพื่อรอผลการแยกเพศ เมื่อทราบว่าเป็นเพศที่ต้องการแล้ว จึงนำมาถ่ายฝากให้โคตัวรับต่อไป

เทคโนโลยีการแยกเพศตัวอ่อนก่อนทำการถ่ายฝากนี้กำลังเป็นที่ศึกษากันในประเทศที่พัฒนาแล้ว เพื่อให้ได้เทคโนโลยีที่มีความแม่นยำ สะดวกในทางปฏิบัติ และทราบผลในระยะเวลาอันสั้น ทำให้สามารถนำตัวอ่อนที่ทราบเพศแล้วไปถ่ายฝากให้โคตัวรับเร็วที่สุด อันจะทำให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้น เทคนิคนี้อาจทำได้หลายวิธีได้แก่ cytological method (Wintenberger-Torres and Popescu, 1980, Singh and Hare, 1980, King, 1984), immunological method (Wachtel, 1984, Anderson, 1987), gene dosage (Williams, 1986, Monk and Handyside, 1988) และ DNA hybridization (Herr et al., 1989) โดยให้ความแม่นยำเกือบ 100% วิธี DNA hybridization เป็นเทคนิคที่กำลังได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน แต่จำเป็นต้องมีการสกัด DNA และมีความจำเพาะในสัตว์แต่ละชนิด และใช้ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง ในขณะที่เทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์จะมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่า และยังสามารถตรวจความผิดปกติทางพันธุกรรมของตัวอ่อนก่อนการถ่ายฝากได้ด้วย แต่เทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบมาตรฐานที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจโครโมโซมเพศในเลือดนั้นมิใช่ข้อเสียคือขั้นตอนในการปฏิบัติงานค่อนข้างยุ่งยาก และใช้เวลานานหลายวันกว่าจะทราบผล (Betteridge et al., 1981) จึงไม่เหมาะสำหรับการนำมาตรวจโครโมโซมของตัวอ่อน เพื่อการแยกเพศ เพราะจะทำให้การมีชีวิตรอดของตัวอ่อนครึ่งใบที่เพาะเลี้ยงไว้ระหว่างรอผลการตรวจเพศลดลง

นอกจากนี้ในการปฏิบัติงานในห้องที่จริง ๆ จำเป็นต้องถ่ายฝากตัวอ่อนครึ่งใบที่เพาะเลี้ยงไว้นั้น ให้แก่โคตัวรับภายในวันเดียวกัน จึงจะทำให้ไม่มีผลกระทบต่อการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนครึ่งใบนั้น และอัตราการตั้งท้องที่ได้ก็จะไม่แตกต่างกับการถ่ายฝากตัวอ่อนเต็มใบด้วย (Williams et al., 1984, Takeda et al., 1986, Voelkel et al., 1984, Warfield et al., 1986, นุสสราและคณะ, 2538) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาให้ได้เทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่ายขึ้น โดยตัดขั้นตอนที่ยุ่งยากออกไป ทำให้การปฏิบัติงานง่ายขึ้นและใช้ระยะเวลาสั้น และได้มีการศึกษาในตัวอ่อนของหนูไมซ์และแกะจนได้ผลที่น่าพอใจแล้ว (Vadhanakul, 1990, นุสสราและคณะ, 2536) การศึกษาค้างนี้เป็นการนำเอาเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่ายมาทดลองใช้ในการแยกเพศตัวอ่อนของโค โดยใช้ colcemid ที่ความเข้มข้น 0.05  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่ง Singh และ Hare (1980) ได้เคยทดลองใช้แยกเพศตัวอ่อนของโคสำเร็จมาแล้ว แต่ใช้เทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์ที่แตกต่างกับเทคนิคนี้ และใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงที่นานกว่า ในการศึกษาครั้งนี้จะศึกษาหาช่วงเวลาในการเพาะเลี้ยงที่สั้นที่สุดที่ยังทำให้มีจำนวนเมตาเฟสเพียงพอที่จะใช้ตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศได้ โดยทดลองใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับที่ใช้ในเทคนิคการแยกเพศตัวอ่อนของหนูไมซ์และแกะ คือ 2 และ 3 ชม.ตามลำดับ (Vadhanakul, 1990, นุสสราและคณะ, 2536) และทดลองเพาะเลี้ยงในช่วงเวลาที่นานขึ้นเล็กน้อยด้วย เพื่อศึกษาว่าจะมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเมตาเฟสอย่างไร แต่จะไม่ใช้ช่วงเวลาในการเพาะเลี้ยงที่นานเกินไป เพราะจะมีผลเสียต่อการรอดชีวิตของตัวอ่อน นอกจากนี้ยังศึกษาลักษณะและการกระจายตัวของโครโมโซมที่ได้จากเทคนิคนี้ด้วยว่าเหมาะสมพอที่จะสามารถตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศได้หรือไม่ เพื่อให้ได้เทคนิคที่มีความแม่นยำสูง ไม่ยุ่งยาก ประหยัด และใช้เวลาในการปฏิบัติงานที่สั้นที่สุด



## อุปกรณ์และวิธีการ

ชะล้างตัวอ่อนโคโคนมอายุ 7 วัน ระยะ morula หรือ blastocyst ออกจากแม่โคตัวให้ (donor) ซึ่งได้รับการกระตุ้นให้มีการตกไข่หลายใบพร้อมกัน (superovulation) ด้วยวิธีเดียวกับ นุสสรารและคณะ (2538) คัดเลือกเฉพาะตัวอ่อนที่มีคุณภาพดี (เกรด A) แล้วนำตัวอ่อนแต่ละใบมาตัดแยกเป็น 2 ส่วน โดยใช้ใบมีดขนาดเล็ก และนำยาเลี้ยงตัวอ่อน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดอินเวอร์ต ตามวิธีเดียวกับ นุสสรารและคณะ (2538)

นำตัวอ่อนแต่ละส่วนที่ได้ (demi-embryo) มาศึกษาทดลองแยกเพศด้วยเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่าย ซึ่งดัดแปลงมาจากเทคนิคที่ประสบผลสำเร็จมาแล้วในตัวอ่อนของหนูไม้ซ์ (Vadhanakul, 1990) และตัวอ่อนของแกะ (นุสสรารและคณะ, 2536) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มจะเพาะเลี้ยงชิ้นของตัวอ่อนในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนชนิด F10<sup>1</sup> ซึ่งมี โปรตีน 20% และมีสาร colcemid ที่ความเข้มข้น 0.05 µg/ml และเก็บไว้ในตู้ที่ 37 °C ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% โดยใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 เป็น 2, 3 และ 3.5 ชม. ตามลำดับ

หลังจากการเพาะเลี้ยง นำชิ้นตัวอ่อนแต่ละชิ้นมาทำให้เกิดการกระจายของนิวเคลียสและโครโมโซมบนสไลด์ โดยขั้นแรกทำให้เกิดการกระจายตัวของเซลล์ตัวอ่อนในระดับหนึ่งก่อนด้วย hypotonic solution (0.5% KCl) โดยจะหยดบนชิ้นตัวอ่อนบนสไลด์ และทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที แล้วจึงหยดน้ำยา fixing solution (absolute methanol : glacial acetic acid = 3:1) ลงบนชิ้นตัวอ่อนที่ละลาย ประมาณ 3-4 หยด เพื่อรักษาสภาพเซลล์ของตัวอ่อน และทำให้การติดสีสม่ำเสมอ หลังจากนั้นจึงทำให้นิวเคลียสและโครโมโซมของชิ้นตัวอ่อนเกิดการกระจายต่อไปด้วยน้ำยา softening solution A (absolute methanol : 75% glacial acetic acid = 1:1) และน้ำยา softening solution B (absolute methanol : 75% glacial acetic acid = 1:4) ขณะที่หยดน้ำยาแต่ละหยดสังเกตการกระจายตัวของเซลล์ตัวอ่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ พบว่าเมื่อไม่มีการกระจายของเซลล์ของตัวอ่อนเพิ่มขึ้นอีกต่อไป จึงหยด drying solution (absolute methanol : glacial acetic acid = 1:1) เพื่อให้เซลล์ที่กระจายตัวอยู่นั้นแบนลง (flatten) และเกาะติดกับแผ่นสไลด์ ปล่อยให้แห้ง แล้วย้อมด้วย 10% Giemsa solution

ตรวจนับจำนวนเมตาเฟส (metaphase spread) และตรวจลักษณะและการกระจายตัวของโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound

## ผล

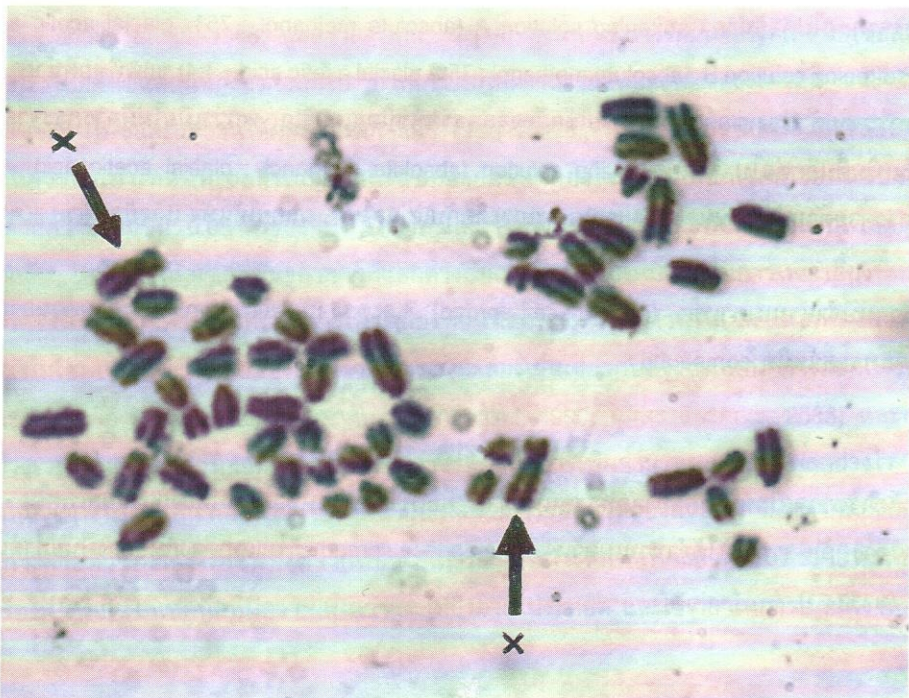
จากการตรวจสไลด์ทางกล้องจุลทรรศน์พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นตัวอ่อนที่ต้องการแยกเพศใน colcemid ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน จะทำให้ได้จำนวนเมตาเฟส (metaphase spread) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.01$ ) (ตาราง 1)

<sup>1</sup> Gibco Laboratories, Life Technology, Inc., Grand Island, N.Y.

ตารางที่ 1 จำนวนเมตาเฟสที่ได้เมื่อเพาะเลี้ยงตัวอ่อนในสาร colcemid ที่เวลาต่างๆ

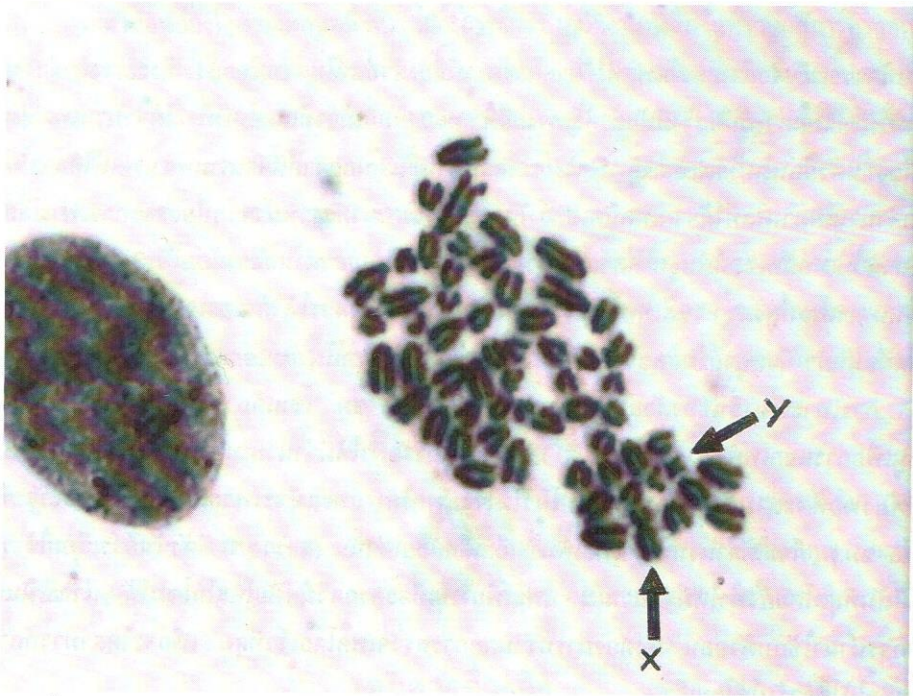
กลุ่ม	เวลาในการเพาะเลี้ยง (ชม.)	จำนวนตัวอ่อนครั้งใบ (ชม.)	จำนวนเมตาเฟสที่ได้ (กลุ่ม) ( $\bar{X} \pm SD$ )
1	2	30	7.9 $\pm$ 3.26
2	3	30	8.1 $\pm$ 2.59
3	3.5	30	8.6 $\pm$ 2.19

เมื่อตรวจสอบดูลักษณะ รูปร่าง และการติดสีของโครโมโซมในแต่ละเมตาเฟสของตัวอ่อนทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าโครโมโซมของทุกเมตาเฟส มีลักษณะและการติดสีที่ชัดเจน และมีการกระจายตัวของโครโมโซมที่ดีพอสมควรที่จะสามารถตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศได้ (รูป 1 และ 2) แต่การกระจายตัวที่ดีของโครโมโซมนั้นจะไม่พบในทุกเมตาเฟส คือบางเมตาเฟสอาจมีการติดหรือทับกันของโครโมโซมบ้าง (รูป 3) จึงทำให้ไม่สามารถตรวจวินิจฉัยโครโมโซมจากเมตาเฟสกลุ่มนั้นได้ชัดเจน แต่จะสามารถตรวจลักษณะของโครโมโซมจากเมตาเฟสกลุ่มที่มีการกระจายตัวที่ดีได้

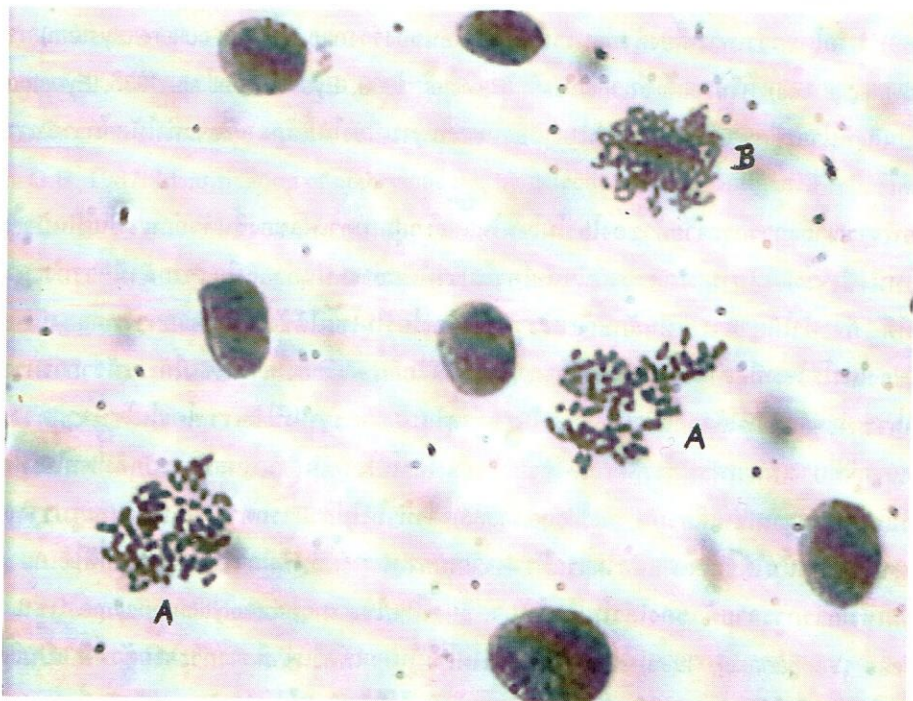


รูปที่ 1 กลุ่มเมตาเฟสของชิ้นตัวอ่อนที่ทำการแยกเพศแสดงให้เห็นโครโมโซมเพศเมีย (XX)





รูปที่ 2 กลุ่มเมตาเพลสของซันตัวอ่อนที่ทำการแยกเพศแสดงให้เห็นโครโมโซมเพศผู้ (XY)



รูปที่ 3 การกระจายตัวของโครโมโซมในแต่ละกลุ่มเมตาเพลสของซันตัวอ่อน แสดงให้เห็นการกระจายตัวที่ดีในบางกลุ่ม และมีการทับกันของโครโมโซมในบางกลุ่ม (A: กลุ่มเมตาเพลสที่มีการกระจายตัวที่ดี, B: กลุ่มเมตาเพลสที่มีการทับกัน)



## วิจารณ์

เมื่อพิจารณาถึงจำนวนเมตาเฟสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนใน colcemid ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน จะเห็นว่า ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.01$ ) แม้ว่ามีแนวโน้มที่จะได้จำนวนเมตาเฟสที่สูงขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นตัวอ่อนใน colcemid เป็นระยะเวลาที่นานขึ้น นอกจากนี้จำนวนเมตาเฟสที่ได้จากการศึกษานี้จะน้อยกว่าจำนวนเมตาเฟสที่ได้จากเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบมาตรฐานมาก เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ใน colcemid สำหรับเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบมาตรฐานนั้น จะใช้เวลานานอย่างน้อยถึง 3 วัน (Eldridge, 1985) จึงได้จำนวนเมตาเฟสที่สูงกว่า แต่เทคนิคที่ใช้ในการศึกษานี้ ต้องการให้ได้ระยะเวลาในการแยกเพศที่สั้นที่สุด โดยยังให้ผลที่แม่นยำ จึงพยายามลดช่วงเวลาในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนใน colcemid ให้สั้นที่สุด ซึ่งจากการศึกษาคครั้งนี้พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นของตัวอ่อนเป็นระยะเวลาเพียง 2 ชม. เช่นเดียวกับเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของหนูเพื่อการแยกเพศ (Vadhanakul, 1990) ก็สามารถทำให้มีจำนวนเมตาเฟสได้ถึง  $7.9 \pm 3.26$  กลุ่ม ซึ่งนับว่าเพียงพอที่จะสามารถตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศได้ และแม้จะเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาที่นานขึ้น (3 ชม., 3.5 ชม.) ก็จะได้จำนวนเมตาเฟสเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยเท่านั้น (ตาราง 1) ดังนั้นการเลือกใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงที่สั้นที่สุดโดยยังทำให้มีจำนวนเมตาเฟสเพียงพอที่จะตรวจวินิจฉัยโครโมโซมได้ น่าจะเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการนำมาใช้กับตัวอ่อน ซึ่งต้องการทราบผลการตรวจเพศโดยเร็วที่สุด เพื่อจะได้สามารถถ่ายฝากชิ้นตัวอ่อนที่เหลือให้โคตัวรับได้โดยเร็ว

อย่างไรก็ดีการกระตุ้นให้เซลล์ของตัวอ่อนแบ่งตัวมากขึ้น เพื่อให้มีจำนวนเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวในระยะเมตาเฟสเพิ่มขึ้น โดยใช้สารกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ (mitogenic agent) เช่น phytohemagglutinin (Menino et al., 1989) หรือโดยการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนร่วมกับเซลล์อื่นของร่างกายสัตว์ (co-culture system) เช่น เซลล์ท่อไข่ (oviductal cell) หรือเซลล์ trophoblast (Bavister, 1988, Eyestone et al., 1985, Eyestone et al., 1987) ก็เป็นสิ่งที่น่าจะศึกษาต่อไปเพื่อย่นระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงให้สั้นลง ซึ่งจะทำให้สามารถทราบผลการตรวจเพศได้เร็วยิ่งขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงการกระจายตัวของโครโมโซมในแต่ละกลุ่มเมตาเฟสของชิ้นตัวอ่อน อันเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งซึ่งจะทำให้สามารถตรวจวินิจฉัยโครโมโซมได้อย่างแม่นยำ เนื่องจากถ้ามีการกระจายตัวของโครโมโซมที่ดี ก็จะทำให้สามารถเห็นลักษณะและรูปร่างของโครโมโซมได้ชัดเจน จากการทดลองนี้พบว่าการกระจายตัวของโครโมโซมที่ดีเพียงพอที่จะสามารถตรวจวินิจฉัยลักษณะของโครโมโซมได้ แม้ว่ามีการกระจายตัวนี้จะน้อยกว่าการกระจายตัวที่ได้จากเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบมาตรฐานที่ใช้ตรวจโครโมโซมจากตัวอย่างเลือดก็ตาม ส่วนกรณีที่บางเมตาเฟสมีการติดกันหรือทับกันของโครโมโซมนั้น ก็เป็นสภาวะปกติที่พบในเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบมาตรฐานเช่นเดียวกัน (Eldridge, 1985) จึงทำให้ไม่สามารถตรวจลักษณะและรูปร่างของโครโมโซมจากเมตาเฟสกลุ่มนั้นได้ชัดเจน แต่สามารถตรวจจากเมตาเฟสกลุ่มอื่นที่มีการกระจายตัวที่ดีได้ อย่างไรก็ตามการพยายามเพิ่มการกระจายตัวของโครโมโซมให้มากขึ้น โดยใช้สาร proteolytic enzyme เช่น trypsin, hyaluronidase (Vadhanakul, 1990) เพื่อช่วยให้โครโมโซมในทุกเมตาเฟสมีการกระจายตัวที่ดี เป็นสิ่งที่ควรจะทำการศึกษาต่อไป เพื่อให้การตรวจวินิจฉัยโครโมโซมเพศเป็นไปได้อย่างแม่นยำและรวดเร็วยิ่งขึ้น



การแยกเพศตัวอ่อนของโคด้วยเทคนิคนี้พบว่าใช้เวลาในการปฏิบัติงานทั้งสิ้นจนทราบผลการตรวจเพศภายใน 4 ชม. เท่านั้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการปฏิบัติงานในห้องที่ เพราะเป็นเทคนิคที่ง่าย ประหยัด และใช้เวลานั้น ทำให้สามารถถ่ายฝากตัวอ่อนครั้งที่เหลือที่ทราบว่า เป็นเพศที่ต้องการแล้วให้โคตัวรับได้โดยเร็ว นอกจากนี้ เทคนิคนี้ยังทำให้สามารถตรวจความผิดปกติอื่นๆ ของโครโมโซมของตัวอ่อนก่อนทำการถ่ายฝากได้ด้วย ซึ่งจะป้องกันไม่ให้เกิดการถ่ายทอดโครโมโซมที่ผิดปกติไปยังลูกหลาน

อย่างไรก็ดี ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการถ่ายฝากชิ้นตัวอ่อนครั้งที่เหลือ แต่นำชิ้นตัวอ่อนที่ตัดแยกไว้แต่ละครั้งนั้น มาใช้ในการแยกเพศด้วยเทคนิคเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่ายทั้งหมด เนื่องจากตัวอ่อนมีจำนวนจำกัด จึงจำเป็นต้องใช้ชิ้นของตัวอ่อนทั้งหมดให้มีประโยชน์สูงสุดในการศึกษาค้นคว้า เพื่อให้ได้เทคนิคที่แม่นยำที่สุด

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายสัตวแพทย์ สัมพันธ์ สิงห์จันทร์ ผู้เชี่ยวชาญด้านวิจัย (ผสมเทียม) กรมปศุสัตว์ ที่กรุณาให้การสนับสนุนและคำปรึกษาในการศึกษานี้เป็นอย่างดี และขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์ ภาณุพันธ์ พงษ์เพ็ง สัตวแพทย์บุญชู ศรีสุข และคุณอนุชาติ ศิริรัตน์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการศึกษานี้เป็นอย่างดี

### เอกสารอ้างอิง

- นุสสุรา วัฒนกุล, Galloway, D.B. และ Brandon, M.R. 2536 เทคนิคการแยกเพศคัพภะของแกะด้วยวิธีเซลล์พันธุศาสตร์แบบง่าย การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 3-6 กุมภาพันธ์ 2536 หน้า 606-614.
- นุสสุรา วัฒนกุล, ปาริฉัตร สุขโต, พรรณพิไล เสกสิทธิ์, วินิจ คำสังข์, ภาณุพันธ์ พงษ์เพ็ง และ บุญชู ศรีสุข 2538 การผลิตลูกโคเนมจากตัวอ่อนครั้งใบ สัตวแพทยสาร 46(3): 11-25.
- Anderson, G.B. 1987. Identification of embryonic sex by detection of H-Y antigen. *Theriogenology* 27: 81-97.
- Bavister, B.D. 1988. Role of oviductal secretions in embryonic growth in vivo and in vitro. *Theriogenology* 29: 77-88.
- Betteridge, K.L., Hare, W.C.D. and Singh, E.L. 1981. Approaches to sex selection in farm animals. In: *New Technologies in Animal Breeding*, Bracket et al. Academic Press, New York. p. 109-125.
- Eldridge, F.E. 1985. *Cytogenetics of Livestock*. AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut. p. 125-144.
- Eyestone, W.H., Northey, D.L., and Leibfried-Rutledge, M.L. 1985. Culture of one-cell bovine embryos in the sheep oviduct. *Biol. Reprod.* 32 (Supp. 1): 100.
- Eyestone, W.H., Vignieri, J., and First, N.L. 1987. Co-culture of early bovine embryos with oviductal epithelium. *Theriogenology* 27: 228.
- Foote, R.H. 1977. Sex ratios in dairy cattle under various conditions. *Theriogenology* 8: 349-356.

- Herr, C., Matthaiei, K.I. and Reed, K.C. 1989. Accuracy of a rapid Y-chromosome detecting bovine embryo sexing assay. *Proc. Aust. N.N.Z. Soc. for Cell Biol.* p. 50.
- King, W.A. 1984. Sexing embryos by cytological methods. *Theriogenology* 21: 7-17.
- Menino, A.R. Jr., Williams, J.S. and Gardiner, C.S. 1989. Development of mouse embryos in media containing lectins. *Theriogenology* 31: 821-834.
- Monk, M. and Handyside, A.H. 1988. Sexing of preimplantation mouse embryos by measurement of X-linked gene dosage in a single blastomere. *J. Reprod. Fertil.* 82: 365-368.
- Powell, R.L., Norman, H.D. and Dickinson, F.N. 1975. Sire differences in sex ratio of progeny. *J. Dairy Sci.* 58: 1723-1726.
- Singh, E.L. and Hare, W.C.D. 1980. The feasibility of sexing bovine morula stage embryos prior to embryo transfer. *Theriogenology* 14: 421-427.
- Takeda, T., Hallowell, S.V., McCauley, A.D. and Hasler, J.F. 1986. Pregnancy rates with intact and split bovine embryos transferred surgically and nonsurgically. *Theriogenology* 25: 204.
- Vadhanakul, N. 1990. Cytogenetic sex determination of embryos. Master Degree Thesis. The University of Melbourne, Australia. 116 pp.
- Voelkel, S.A., Humes, P.E. and Godke, R.A. 1984. Pregnancy rates resulting from non-surgical transfer of micromanipulated bovine embryos. *10th Cong. Anim. Reprod. and A.I.* p. 251-253.
- Wachtel, S.S. 1984. H-Y antigen in the study of sex determination and control of sex ratio. *Theriogenology* 21: 18-28.
- Warfield, S.J., Seidel, G.E., Jr. and Elsdon, R.P. 1986. Transfer of bovine demi-embryos with and without zona pellucidae. *Theriogenology* 25: 212.
- Williams, T.J., Elsdon, R.P. and Seidel, G.E., Jr. 1984. Pregnancy rates with bisected bovine embryos. *Theriogenology* 22: 521-531.
- Williams, T.J. 1986. A technique for sexing mouse embryos by a visual colorimetric assay of the X-linked enzyme glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Theriogenology* 25: 733-739.
- Wintenberger-Torres, S and Popescu, P.C. 1980. Transfer of cow blastocysts after sexing. *Theriogenology* 14: 309-318.



## **Sex Determination of Bovine Embryos Using a Simplified Cytogenetic Technique**

**Parishat Sukhato    Nussara Vadhanakul**

**Division of Artificial Insemination, Department of Livestock Development,  
Pyathai Road, Bangkok 10400**

### **Abstract**

Sex determination of bovine embryos before transfer was studied by using a simplified cytogenetic technique which was successfully established for sexing mouse and ovine embryos. The culture period of bovine embryos with colcemid was adjusted in order to obtain the shortest duration that could produce enough metaphase spreads to allow accurate sex chromosome identification. The results indicated that only 2 hour-culture-period of bovine embryos with colcemid was sufficient to produce enough metaphase spreads for sex chromosome identification. This technique required less than 4 hours for sexing bovine embryos.

**Key words :** embryo sexing, bovine embryo, simplified cytogenetic technique



อภินันทนาการ



จาก

**ELANCO**  
ANIMAL HEALTH

TM.

ผู้ผลิต และ นำเข้า

- ๑ ไทแลนพรีมิกซ์
- ๑ ไทแลนชนิดฉีด
- ๑ แอปพราแลนพรีมิกซ์
- ๑ เซอร์แม็ก
- ๑ อีแลนโคบาน
- ๑ แมคชิบาน
- ๑ ไทแลนซัลฟา
- ๑ ไทแลนละลายน้ำ
- ๑ แอปพราแลนละลายน้ำ
- ๑ ไฮโกรมิกซ์
- ๑ มอนทีบาน

บริษัท อีไล ดิลลี เอเชีย อิงค์ - สาขาประเทศไทย

แกรนด์อัมรินทร์ ทาวเวอร์ ชั้น 14, เลขที่ 1550 ถนนเพชรบุรีตัดใหม่ มักกะสัน ราชเทวี กรุงเทพฯ 10310

โทรศัพท์ 207-0920 แฟกซ์ 207-0925



การใช้ด่างซี่ควาย *Onitis* spp. และ *Onthophagus seniculus*  
เป็นตัวควบคุมพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหาร  
และลำไส้ของโคโดยชีววิธี

นพพร ศราธพันธุ์

กลุ่มงานปรสิตวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ  
เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

รายงานนี้เป็นการสำรวจรวบรวมและประเมินผลความสามารถในการคุ้มเชื้อของอุจจาระของด่างซี่ควายที่พบในประเทศไทย เพื่อนำมาใช้ควบคุมพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคโดยชีววิธี ผลจากการสำรวจและเก็บรวบรวมด่างซี่ควายใน 16 จังหวัด ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2536-2540 พบด่างซี่ควาย 15 ชนิด ใน 3 วงศ์ ด่างซี่ควายที่พบมากที่สุดคือ *Onitis* spp. กระจายอยู่เกือบทั่วทุกภาค และ *Onthophagus seniculus* Fabr. ส่วนใหญ่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การทดสอบประสิทธิภาพของด่างซี่ควายในการกระจายกองอุจจาระกระบือในห้องปฏิบัติการพบว่า *Onitis* spp. จำนวน 10 ตัว และ *Onthophagus seniculus* Fabr. จำนวน 20 ตัว สามารถกระจายกองอุจจาระกระบือหนัก 100 และ 200 กรัม ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลาหนึ่งคืน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ด่างซี่ควายชนิด *Onitis* spp. 10 ตัว และ *Onthophagus seniculus* Fabr. 20 ตัว สามารถลดจำนวนตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโค 4 ชนิด คือ *Bunostomum phlebotomum*, *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp. และ *Oesophagostomum* spp. ที่ฟักตัวจากอุจจาระโคหนัก 100 กรัม ในห้องปฏิบัติการ ได้ 95.9 และ 89 เปอร์เซ็นต์ และนอกห้องปฏิบัติการได้ 96.8 และ 91.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ : ด่างซี่ควาย การควบคุมโดยชีววิธี พยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ โค

## บทนำ

ด้วงขี้ควาย (dung beetles) เป็นแมลงปีกแข็งที่จัดอยู่ในอันดับ Coleoptera มีอยู่ 11 วงศ์ ได้แก่ Histeridae, Trogidae, Hybosoridae, Hydrophilidae, Staphylinidae, Ceratocanthidae, Ochodaeidae, Aegialidae, Aphodiidae, Geotrupidae และ Scarabaeidae ในประเทศญี่ปุ่นพบ 8 วงศ์ 149 ชนิด (Tukamoto, 1996) ในประเทศออสเตรเลียพบ 4 วงศ์ 14 ชนิด (English, 1979) ด้วงขี้ควายจำแนกออกเป็น 3 ชนิด ตามลักษณะการหากินและการทำรังเพื่อวางไข่ ชนิดแรกเรียกว่า paracoprid เป็นชนิดที่หากินกลางคืน (nocturnal species) ตามกองมูลสัตว์ ในเวลากลางวันขุดดินเป็นรูลึกใต้กองมูลสัตว์ และนำเอามูลสัตว์ลงไปในพื้นที่หลุมเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวเองและทำรังเพื่อวางไข่ภายในก้อนอุจจาระ ตัวอ่อนที่เกิดมาจะกินอุจจาระเป็นอาหาร จนกระทั่งเจริญเป็นดักแด้และตัวเต็มวัย ชนิดที่สองเรียกว่า telecoprid เป็นชนิดที่หากินกลางวัน (diurnal species) ซึ่งด้วงชนิดนี้จะนำเอามูลสัตว์ โดยปั้นเป็นก้อนกลิ้งไปเป็นระยะทางไกลๆ จากแหล่งอาหารด้วยขาหน้าและขาหลัง เพื่อเป็นอาหารและทำรังวางไข่ ชนิดที่สามเรียกว่า endocoprid พวกนี้หากินในเวลากลางวันและกลางคืนตามกองมูลสัตว์ ทำรังวางไข่ภายใต้กองมูลสัตว์ (Walsh and Gandolfo, 1996)

Reinecke (1960) พบว่าจำนวนตัวอ่อนพยาธิที่ฟักออกมาจากกองอุจจาระโคลลดลง เมื่อกองอุจจาระนั้นถูกด้วงขี้ควายเข้าทำลาย ประสิทธิภาพของด้วงขี้ควายแต่ละชนิดในการกระจายกองมูลสัตว์มีไม่เท่ากัน ซึ่ง Bornemissza (1960) พบว่าด้วงขี้ควายพันธุ์พื้นเมืองของประเทศออสเตรเลียมีความสามารถน้อยกว่าพันธุ์ที่อยู่ทางประเทศแถบแอฟริกาใต้ ดังนั้นในปีค.ศ. 1968 จึงมีการนำด้วงขี้ควายชนิด *Onthophagus gazella* F. (Coleoptera, Scarabaeinae) เข้าประเทศออสเตรเลีย เพื่อใช้ควบคุมแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวัน buffalo fly (*Haematobia exigua*) และ bush fly (*Musca vetustissima*) (Bornemissza 1970) ต่อมา Bryan (1973, 1976) ประสบความสำเร็จในการใช้ด้วงขี้ควายชนิดนี้ในการควบคุมจำนวนตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคในประเทศออสเตรเลีย เช่นเดียวกับ Fincher (1973, 1975) ก็ใช้ด้วงขี้ควายพันธุ์พื้นเมืองในประเทศสหรัฐอเมริกาทางตอนใต้ในการควบคุมจำนวนตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโค สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการนำด้วงขี้ควายมาใช้ควบคุมพยาธิโดยชีววิธี

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เพื่อสำรวจ รวบรวมชนิดของด้วงขี้ควาย ตามแหล่งที่มีการเลี้ยงโคและกระบือ แล้วนำด้วงขี้ควายชนิดที่พบมากที่สุดมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในความสามารถกระจายกองอุจจาระ และความสามารถในการลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้โคในและนอกห้องปฏิบัติการ

## อุปกรณ์และวิธีการ

### พื้นที่สำรวจ

ทำการสุ่มพื้นที่สำรวจตามแหล่งเลี้ยงโคและกระบือในภาคเหนือ 2 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย และ สุโขทัย ภาคกลาง 1 จังหวัด ได้แก่ สระบุรี ภาคตะวันออก 1 จังหวัดคือ สระแก้ว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 10 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ขอนแก่น เลย ชัยภูมิ มหาสารคาม สกลนคร อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ และบุรีรัมย์ ภาคใต้ 2 จังหวัด ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ และตรัง ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2536-2540



## วิธีการเก็บตัวอย่าง

วิธีการเก็บรวบรวมตัวอย่างมี 3 วิธีคือ วิธีที่หนึ่ง ชุดดินใต้กองมูลโคและกระบือที่ถ่ายมาแล้ว 1-5 วัน ซึ่งมีลักษณะถูกคีย์เขี่ยหรือมีขุยดินปน ลึกประมาณ 50 ซม. เก็บตัวเต็มวัยที่ฝังตัวอยู่ในรูและก้อนอุจจาระที่มีตัวอ่อนอยู่ หรือเก็บตัวเต็มวัยของดั่งชีควายชนิดที่หากินกลางวันในกองมูลโคและกระบือ วิธีที่สอง เก็บรวบรวมตัวเต็มวัยตามบิ๋มน้ำมันในเวลากลางคืน ตัวเต็มวัยที่เก็บได้ใส่ในขวดโหลพลาสติกที่มีดินทรายชั้นบรรจุอยู่ ปิดฝาด้วยมุ้งไนลอนกันยุง นำกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานปรสิตวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เพื่อทำการทดสอบประเมินผล วิธีที่สาม เก็บรวบรวมดั่งชีควายหรือที่ชาวบ้านเรียกว่า “แมงกูดจี” ที่วางขายตามตลาดสดที่ตลาดสดอำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร อำเภอชุมแพ จังหวัดขอนแก่น และตลาดสดอำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม แห่งละ 2 ครั้ง นำตัวอย่างกลับมายังห้องปฏิบัติการเพื่อจำแนกชนิด ที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร

## การทดสอบความสามารถของดั่งชีควาย

ดั่งชีควายแต่ละชนิดถูกแยกเลี้ยงในโหลแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 ซม. สูง 32 ซม. โดยใส่ทรายละเอียดที่มีความชื้น ระดับสูงประมาณ 15 ซม. ให้อุจจาระกระบือที่ปราศจากการปนเปื้อนของ ไช้หนอนพยาธิเป็นอาหารวันเว้นวัน ก่อนทำการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ทดสอบหาจำนวนดั่งชีควายที่สามารถคีย์เขี่ยของอุจจาระกระบือ ซึ่งวางบนทรายชั้นที่บรรจุอยู่ในถังพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. สูง 23 ซม. ใช้ดั่งชีควาย 2 ชนิดที่พบมากจากการสำรวจ คือ ใช้ดั่งชีควายชนิด *Onitis* spp. จำนวน 5, 10, 15 และ 20 ตัวต่อกองอุจจาระ 100 กรัม และจำนวน 10, 15, 20, 25 ตัวต่อกองอุจจาระ 200 กรัม ส่วนดั่งชีควายชนิด *Qnthophagus seniculus* Fabr. จำนวน 5, 10, 15, 20 ตัวต่อกองอุจจาระ 100 กรัม และ จำนวน 10, 20, 30, 40 ตัวต่อกองอุจจาระ 200 กรัม การประเมินผลความสามารถจากลักษณะผิวของกองอุจจาระกระบือที่กระจายออกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ และการประเมินผลดูจากเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของอุจจาระที่หายไป เปรียบเทียบกับตัวอย่างกองอุจจาระควบคุม

**การทดลองที่ 2** ทดสอบความสามารถของดั่งชีควาย 2 ชนิดที่มีผลต่อจำนวนของพยาธิตัวอ่อนที่ฟักตัวออกมาจากไข่พยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคในห้องปฏิบัติการ ใช้อุจจาระของโคเนื้อหลายตัวของเกษตรกรจากจังหวัดปทุมธานีที่ติดพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ตามธรรมชาติ กวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน วางบนทรายชั้น ในกระป๋องพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 40 ซม. เนื่องจากผลการทดลองที่ 1 พบว่าดั่งชีควายชนิด *Onitis* spp. จำนวน 10 ตัว และชนิด *O. seniculus* จำนวน 20 ตัว มีความสามารถที่จะกระจายกองอุจจาระได้อย่างน้อย 90 เปอร์เซ็นต์ การทดลองที่ 2 นี้จึงใช้ดั่งชีควายชนิด *Onitis* sp. 10 ตัวต่อกองอุจจาระ 100 กรัม จำนวน 4 กอง ใช้ดั่งชีควายชนิด *Onthophagus seniculus* Fabr. 20 ตัว ต่อกองอุจจาระ 100 กรัม จำนวน 4 กอง ปล่อยลงไปเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักอุจจาระที่เหลืออยู่บนพื้นทราย และนำไปเพาะฟักตัวอ่อนพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้โดยใช้เครื่องมือตัดแปลงตาม

วิธีของ Baerman technique เป็นเวลา 5 อาทิตย์ ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนของพยาธิ เปรียบเทียบกับตัวอย่างอุจจาระควบคุม ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน และจำแนกชนิดของพยาธิจากรูปร่างลักษณะของตัวอ่อนระยะติดต่อกัน ตามวิธีของ Hansen และ Shivnani (1956)

**การทดลองที่ 3** ทดสอบความสามารถของด้วงขี้ควายสองชนิดที่มีผลต่อจำนวนของพยาธิตัวอ่อนที่ฟักตัวออกมาจากไข่พยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคนอกห้องปฏิบัติการกลางแจ้ง ใช้อุจจาระของโคเนื้อหลายตัวของเกษตรกรจากจังหวัดปทุมธานีที่ติดพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ตามธรรมชาติ กวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน วางบนทรายชั้น ในกระป๋องพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 40 ซม. ใช้ด้วงขี้ควายชนิด *Onitis* spp. 10 ตัวต่อกองอุจจาระ 100 กรัม จำนวน 4 กอง ใช้ด้วงขี้ควายชนิด *Onthophagus seniculus* Fabr. 20 ตัวต่ออุจจาระ 100 กรัม จำนวน 4 กอง ปล่อยลงไปเป็นเวลา 3 วัน โดยตั้งทิ้งไว้กลางแจ้ง เก็บรวบรวมอุจจาระแห้งนำไปเพาะฟักตัวอ่อนพยาธิโดยใช้เครื่องมือตัดแปลงตามวิธีของ Baerman technique เป็นเวลา 5 อาทิตย์ ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนของพยาธิ ในอาทิตย์ที่ 2, 3, 4 และ 5 เปรียบเทียบกับตัวอย่างอุจจาระควบคุมภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน

## ผล

### ชนิดของด้วงขี้ควายที่พบ

ด้วงขี้ควายที่พบใน 16 จังหวัด ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536-2540 มี 15 ชนิด ใน 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Scarabaeidae วงศ์ย่อย Coprinae มีอยู่ 13 ชนิด คือ *Heliocopris bucephalus* Fabr., *Catharsius birmanensis* Lansb., *Copris* spp., *Grynopleurus aethiops* Sharp., *Onitis* spp., *Copris iris* Sharp., *Copris nevinsoni* Waterh., *Onthophagus* spp., *Onthophagus bonasus* Fabr., *Onthophagus seniculus* Fabr., *Onthophagus sagittarium* Fabr., และ unidentified genus 2 ชนิด ด้วงขี้ควายในวงศ์ Histeridae อีกหนึ่งชนิดยังไม่ทราบชื่อสกุล และด้วงขี้ควายในวงศ์ Aphodiidae อีกหนึ่งชนิดยังไม่ทราบชื่อชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 ด้วงขี้ควายที่มีขนาดใหญ่ที่สุดคือ *Heliocopris bucephalus* Fabr. มีความยาวลำตัว 50.4 มม กว้าง 30.2 มม พบที่บึงน้ำมันในอำเภอภูเรือ จังหวัดเลย ส่วนด้วงขี้ควายที่มีขนาดเล็กที่สุดคือ *Aphodius* spp. มีความยาวลำตัว 4.0 มม กว้าง 2.0 มม พบที่อำเภอโกสุมพิสัย และอำเภอเขียงยืน จังหวัดมหาสารคาม ดังแสดงในรูปที่ 1

ด้วงขี้ควายชนิดที่พบมากที่สุดคือ *Onitis* spp. กระจายอยู่เกือบทั่วทุกภาค ตั้งแต่ภาคเหนือที่อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ถึงภาคใต้ที่อำเภอเมือง จังหวัดตรัง และ *Onthophagus seniculus* Fabr. ส่วนใหญ่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ดังแสดงในตารางที่ 1

### ความสามารถในการกระจายกองอุจจาระ

ประสิทธิภาพของด้วงขี้ควายในการกระจายกองอุจจาระกระบือในห้องปฏิบัติการ พบว่า *Onitis* spp. จำนวน 10 ตัว และ *Onthophagus seniculus* Fabr. จำนวน 20 ตัว สามารถกระจายกองอุจจาระกระบือหนัก 100 และ 200 กรัม ได้เท่ากับและมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลาหนึ่งคืน และทำให้อุจจาระมีน้ำหนักลดลงในวันที่



3 สูงถึง 60 และ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกองอุจจาระควบคุมมีน้ำหนักลดลง 40 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 และ 4 หลังเริ่มทำการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2

### ความสามารถในการลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้โค

ความสามารถของตัวขี้ควายสองชนิดที่คู้ยเขี่ยอุจจาระโค 100 กรัม และมีผลต่อการฟักตัวอ่อนของไข่พยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคในห้องปฏิบัติการ (ในร่ม) พบว่า *Onitis* spp. 10 ตัว และ *Onthophagus seniculus* Fabr. 20 ตัว สามารถลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิได้ 95.9 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 3

ความสามารถของตัวขี้ควายสองชนิดที่คู้ยเขี่ยอุจจาระโค 100 กรัม และมีผลต่อการฟักตัวอ่อนของไข่พยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคนอกห้องปฏิบัติการ (กลางแจ้ง) พบว่า *Onitis* spp. 10 ตัว และ *Onthophagus seniculus* Fabr. 20 ตัว สามารถลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิได้ 96.8 และ 91.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 4

จากการศึกษาจำแนกชนิดของตัวอ่อนระยะติดต่อกของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ในอุจจาระโคที่ทำการทดลอง พบว่ามี 4 ชนิดคือ *Bunostomum phlebotomum*, *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp. และ *Oesophagostomum* spp. ซึ่งอยู่ในอันดับ Strongylida วงศ์ Ancylostomatidae วงศ์ Trichostrongylidae และวงศ์ Trichonematidae ตามลำดับ

### วิจารณ์

จากการสำรวจพบตัวขี้ควายในกองอุจจาระโคและกระบือในประเทศไทย จำนวน 15 ชนิด ใน 3 วงศ์ ใกล้เคียงกับตัวขี้ควายที่พบในกองขี้ม้า ที่เมืองม็อกกิลล์ ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งพบ 14 ชนิด ใน 4 วงศ์ (English, 1979) ตัวขี้ควายหรือแมงกูดี้ที่วางไข่ตามตลาดสดในภาคอีสาน พบว่าส่วนมากเป็นชนิด *Onthophagus seniculus* และ *Onitis* spp. ส่วนชนิดอื่นๆ พบบ้างเล็กน้อย เนื่องจากตัวขี้ควายทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นพวกที่เรียกว่า paracoprid คือเป็นชนิดที่หากินกลางคืน (nocturnal species) เวลากลางวันขุดดินเป็นรูลึกใต้กองมูลสัตว์ และนำเอามูลสัตว์ลงไปในกันหลุมเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวเองและตัวอ่อน ชาวบ้านเก็บตัวเต็มวัยโดยใช้สวิงช้อนกองอุจจาระกระบือในเวลากลางวัน หรือขุดดินใต้กองอุจจาระโคและกระบือในเวลากลางวัน ส่วนพวกที่สองเรียกว่า telecoprid ตัวอย่างเช่น *Grynopeurus aethiops*, Sharp เป็นชนิดที่หากินกลางวัน (diurnal species) ซึ่งตัวขี้ชนิดนี้จะนำเอาอุจจาระสัตว์ โดยปั้นเป็นก้อนกลิ้งไปเป็นระยะทางไกลๆ จากแหล่งอาหารด้วยขาหน้าและขาหลัง เพื่อเป็นอาหารและทำรังเพื่อวางไข่ ข้อสังเกตขาหลังส่วน tibia ของตัวขี้ควายชนิดนี้มีความโค้งยาวมากกว่าพวกอื่นๆ พวกที่สามเรียกว่า endocoprid พวกนี้หากินในเวลากลางวันและกลางคืน ทำรังเพื่อวางไข่ภายใต้กองมูลสัตว์ ตัวอย่างเช่น *Copris iris* Sharp

ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถของตัวขี้ควายที่จะนำมาใช้ให้เป็นประโยชน์ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวขี้ควาย จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่า มีตัวขี้ควายของประเทศไทยอย่างน้อยสองชนิดที่สามารถนำเอามาใช้ประโยชน์ได้คือ ตัวขี้ควายชนิด *Onitis* spp. และ *Onthophagus seniculus* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการ

กระจายกองอุจจาระสัตว์ และสามารถลดจำนวนพยาธิตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคได้มากกว่า 69 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการทดลองของ Bryan (1976) ในภาคสนามที่ใช้ *Onthophagus gazella* จำนวน 20 และ 60 ตัวต่ออุจจาระโค 1,000 กรัม สามารถลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิลงได้ 74 และ 66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลการทดลองที่ 3 ในตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า ตัวด้วงขี้ควายทั้งสองชนิดนี้ที่คู้ยเชื้อของอุจจาระจะเร่งการฟักตัวของไข่พยาธิให้เป็นตัวอ่อนส่วนใหญ่ภายใน 2 อาทิตย์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งการฟักตัวของไข่พยาธิกินเวลานานถึง 5 อาทิตย์ ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากกองอุจจาระที่ถูกคู้ยเชื้อจะเป็นการเพิ่มออกซิเจนให้กับไข่พยาธิ ทำให้เหมาะสมแก่การฟักตัวของไข่เร็วขึ้น การลดลงของจำนวนตัวอ่อนพยาธิอาจมีผลมาจากสาเหตุทางอ้อม คือความแห้งของกองอุจจาระทำให้ตัวอ่อนพยาธิที่ฟักตัวออกมาตาย และสาเหตุทางตรง คือไข่พยาธิอาจถูกทำลายได้โดยตรงโดยฟันของตัวด้วงขี้ควาย ดังที่ Miller (1961) ได้รายงานไว้

นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการกระจายกองอุจจาระสัตว์ และการลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคขึ้นอยู่กับจำนวนตัวด้วงขี้ควายต่อหน้าหนักอุจจาระ และปริมาณน้ำฝน เช่น การทดลองของ Bryan (1973) ซึ่งใช้ *Onthophagus gazella* จำนวน 2 ตัวต่ออุจจาระโค 100 กรัม และ 500 กรัม สามารถลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิลงได้ 50 และ 84 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในพื้นที่ที่มีฝนตกชุก ในขณะที่เดียวกันสามารถลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิลงได้ 76 และ 93 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในพื้นที่ที่แห้งแล้ง ดังนั้นในสภาพธรรมชาติ เมื่อมีฝนตกชุกซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมกับการฟักตัวของไข่พยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ได้เป็นอย่างดี ซึ่งอุณหภูมิที่พอเหมาะในการฟักไข่พยาธิเท่ากับ 18 ถึง 26 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ Reinecke (1960) พบว่าในประเทศที่ค่อนข้างแห้งแล้งในทวีปอาฟริกาใต้ เมื่อตัวด้วงขี้ควายเข้าทำลายกองอุจจาระของสัตว์ที่อยู่ในแปลงหญ้า ตัวอ่อนพยาธิที่ฟักออกมาจะมีปริมาณลดลงเป็นอย่างมาก เพราะวากกองอุจจาระที่ถูกทำลายจะไปเร่งให้มีการฟักไข่เป็นตัวอ่อนพยาธิระยะที่หนึ่งและสองเร็วขึ้น แต่ตัวอ่อนพยาธินี้จะตายเร็วขึ้นเนื่องจากความแห้ง ก่อนจะเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่สาม ตายก่อนที่จะเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่สาม เนื่องจากความแห้ง

จากการสำรวจและการทดลองในครั้งนี้ ทำให้ทราบว่าตัวด้วงขี้ควายที่พบในประเทศไทยอย่างน้อยสองชนิด ที่น่าจะนำมาใช้เป็นประโยชน์สำหรับควบคุมพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคและกระบือโดยชีววิธี เพื่อเป็นการตัดวงจรหรือลดจำนวนพยาธิตัวอ่อนระยะติดต่อไม่ให้เกิดการแพร่ระบาดในฝูงสัตว์ ควรทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับบทบาทของตัวด้วงขี้ควายในการลดจำนวนตัวอ่อนพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ในอุจจาระที่เกิดจากสาเหตุใด และควรจะทำการศึกษาความสามารถในการลดจำนวนไข่พยาธิในกองอุจจาระโดยตรงได้เท่าใดต่อจำนวนตัวด้วงขี้ควายหนึ่งตัว ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงความสามารถของตัวด้วงขี้ควายที่จะนำไปใช้สำหรับควบคุมพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโคและกระบือในภาคสนามต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

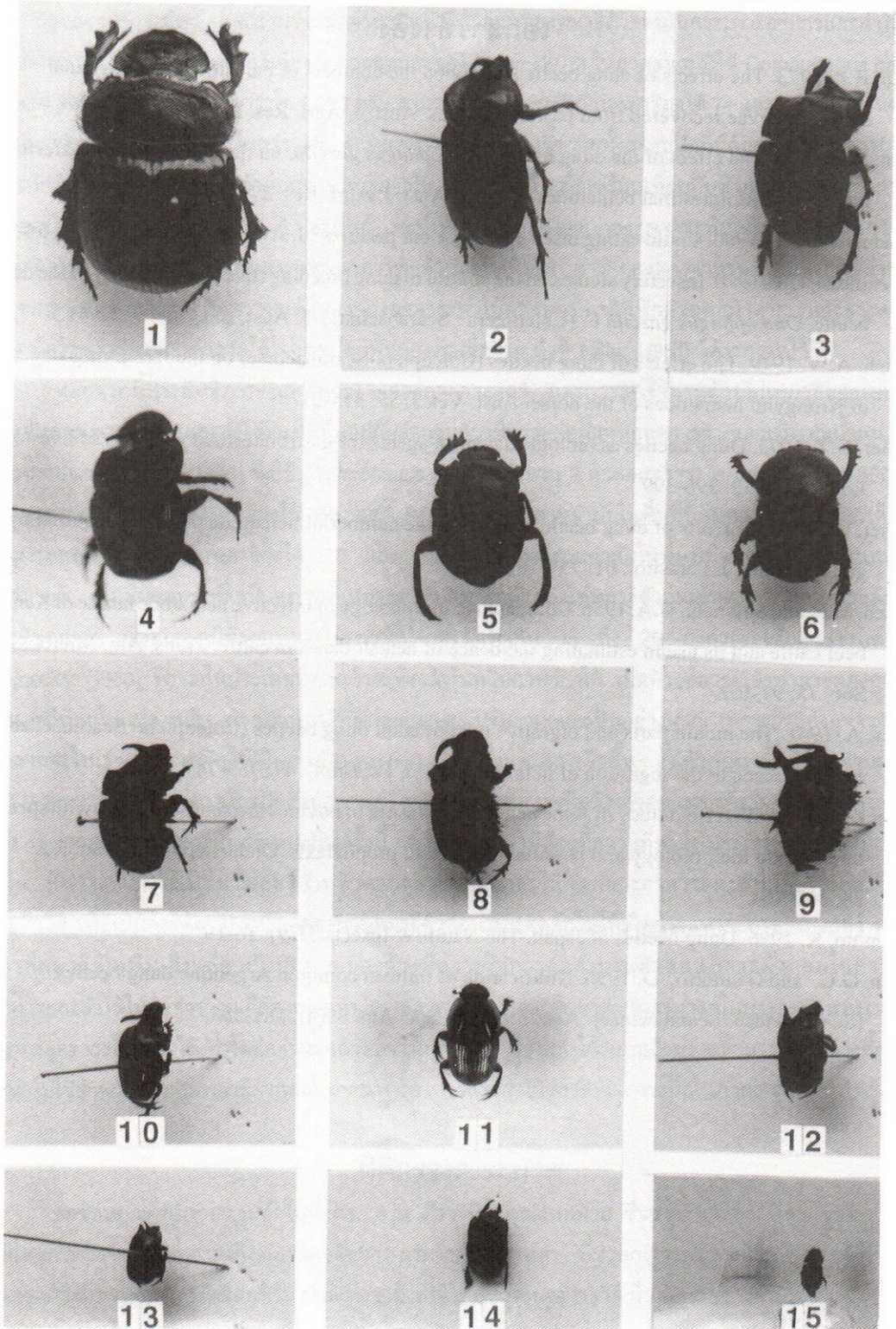
ขอขอบคุณผู้ที่มีรายนามต่อไปนี้ ดร. อุ่น สิวานิช คุณสมหมาย ชื่นราม และคุณวิจิตร ขุนทอง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยกรุณาตรวจแยกชนิดของตัวด้วงขี้ควาย และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในส่วนของกรมปศุสัตว์



## เอกสารอ้างอิง

- Bryan, R.P. 1973. The effects of dung beetle activity on the numbers of parasitic gastrointestinal helminth larvae recovered from pasture samples. *Aust. J. Agri. Res.* 24: 161-168.
- Bryan, R.P. 1976. The effect of the dung beetle, *Onthophagus gazella*, on the ecology of the infective larvae of gastrointestinal nematodes of cattle. *Aust. J. Agri. Res.* 27: 567-574.
- Bornemissza, G.F. 1960. Could eating insects improve our pastures? *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 26: 54-56.
- Bornemissza, G.F. 1970. Insectary studies on the control of dung breeding flies by the activity of the dung beetle, *Onthophagus gazella* F. (Coleoptera : Scarabaeinae). *J. Aust. Ent. Soc.* 9: 31-41.
- English, A.W. 1979. The effects of dung beetles (Coleoptera-Scarabaeinae) on the free-living stages of strongylid nematodes of the horse. *Aust. Vet. J.* 55: 315-21.
- Fincher, G.T. 1973. Dung beetles as biological control agents for gastrointestinal parasites of livestock. *J. Parasitol.* 59: 396-399.
- Fincher, G.T. 1975. Effects of dung beetle activity on the number of nematode parasites acquired by grazing cattle. *J. Parasitol.* 61: 759-762.
- Hansen, M.F. and Shivnani, G.A. 1956. Comparative morphology of infective nematode larvae of Kansas beef cattle and its use in estimating incidence of nematodiasis in cattle. *Trans. Am. Microbiol. Soc.* 75: 91-102.
- Miller, A. 1961. The mouth parts and digestive tract of adult dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) with reference to the ingestion of helminth eggs. *J. Parasitol.* 47: 735-744.
- Reinecke, R.K. 1960. A field study of some nematode parasites of bovines in a semi-arid area, with special reference to their biology and possible methods of prophylaxis. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 28: 365-464.
- Tukamoto, K. 1996. Dung beetles of Japan. *The Nature & Insects* 31(9): 16-19.
- Walsh, G.C. and Gandolfo, D. 1996. Nidification of thirteen common Argentine dung beetles (Scarabaeidae: Scarabaeinae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 89(4): 581-588.





รูปที่ 1 ตัวขี้ควาย 15 ชนิด ที่พบในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2536-2540

(หมายเลข, ชื่อ เรียงตามตารางที่ 1)



ตารางที่ 1 การกระจายของด้วงขี้ควายชนิดต่าง ๆ ที่พบใน 16 จังหวัดของประเทศไทย ซึ่งเก็บตัวอย่าง ตั้งแต่ 4 เมษายน 2536 ถึง 19 มิถุนายน 2540

อันดับ/วงศ์/วงศ์ย่อย/สกุล/ชนิด	แหล่งที่พบ
<b>อันดับ Coleoptera</b>	
<b>วงศ์ Scarabaeidae</b>	
<b>วงศ์ย่อย Coprinae</b>	
1. <i>Heliocopris bucephalus</i> Fabr.	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> เลย (ภูเรือ) ขอนแก่น (ชุมแพ พระยีน) นครราชสีมา (ปากช่อง)
2. unidentified genus	<u>ภาคกลาง</u> สระบุรี (ทับทิม)
3. <i>Catharsius birmanensis</i> Lansb.	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ขอนแก่น (ชุมแพ) <u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> สกลนคร (เรณูนคร) อุบลราชธานี (โขงเจียม) ศรีสะเกษ (เมือง) สุรินทร์ (เมือง) บุรีรัมย์ (กระสัง) มหาสารคาม (โกสุมพิสัย เชียงยีน)
4. <i>Copris</i> spp.	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> มหาสารคาม (โกสุมพิสัย) ขอนแก่น (พระยีน)
5. <i>Grynoppleurus aethiops</i> Sharp	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> สกลนคร (เมือง พรรณานิคม), มหาสารคาม (เมือง, โกสุมพิสัย, เชียงยีน)
6. <i>Onitis</i> spp.	<u>ภาคเหนือ</u> เชียงราย (แม่สาย) สุโขทัย (บ้านด่านลานหอย) <u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ชัยภูมิ (ภูเขียว บำเหน็จณรงค์) ขอนแก่น (เมือง บ้านไผ่ พระยีน) มหาสารคาม (เมือง โกสุมพิสัย เชียงยีน) สกลนคร (เมือง) สุรินทร์ (เมือง) ศรีสะเกษ (เมือง)
7. <i>Copris iris</i> Sharp	<u>ภาคตะวันออก</u> สระแก้ว (วังน้ำเย็น) <u>ภาคใต้</u> ประจวบคีรีขันธ์ (บางสะพาน) ตรัง (เมือง)
8. <i>Copris nevinsoni</i> Waterh	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ขอนแก่น (ภูเรือ) มหาสารคาม (เมือง โกสุมพิสัย เชียงยีน)
9. <i>Onthophagus</i> sp.	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ขอนแก่น (ชุมแพ) มหาสารคาม (โกสุมพิสัย) ชัยภูมิ (ภูเขียว) สกลนคร (เมือง) ศรีสะเกษ (เมือง) นครราชสีมา (เขาใหญ่)
10. <i>Onthophagus bonasus</i> Fabr.	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> สกลนคร (เรณูนคร) <u>ภาคกลาง</u> สระบุรี (ทับทิม)
11. unidentified genus	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ขอนแก่น (ชุมแพ) <u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ขอนแก่น (เมือง) มหาสารคาม (โกสุมพิสัย)
12. <i>Onthophagus seniculus</i> Fabr.	<u>ภาคกลาง</u> สระบุรี (ม่วงเหล็ก) <u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> ชัยภูมิ (คอนสวรรค์) ขอนแก่น (เมือง พระยีน พล) มหาสารคาม (เมือง โกสุมพิสัย เชียงยีน) สกลนคร (เมือง พรรณานิคม เรณูนคร) นครราชสีมา (เมือง) อุบลราชธานี (โขงเจียม) สุรินทร์ (เมือง) บุรีรัมย์ (กระสัง)
13. <i>Onthophagus sagittarius</i> Fabr.	<u>ภาคกลาง</u> สระบุรี (ทับทิม ม่วงเหล็ก) <u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> มหาสารคาม (วาปีปทุม) สกลนคร(เมือง)
<b>วงศ์ Histeridae</b>	
14. unidentified genus	<u>ภาคกลาง</u> สระบุรี (ม่วงเหล็ก) <u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> มหาสารคาม (โกสุมพิสัย เชียงยีน)
<b>วงศ์ Aphodiidae</b>	
15. <i>Aphodius</i> sp.	<u>ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u> มหาสารคาม (เมือง โกสุมพิสัย เชียงยีน)

ตารางที่ 2 จำนวนด้วงขี้ควายสองชนิดที่สามารถค้ำยเชื้อกระจายมูลของกระบือ 100 และ 200 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของอุจจาระที่หายไปในวันที่สาม หลังจากปล่อยด้วง

น้ำหนัก	ชนิด	จำนวนด้วง	การกระจาย (%)	น.น.แห้ง(กรัม)	น้ำหนักหายไป (%)
100 กรัม	control	0	0	60	40
	<i>Onitis</i> spp.	5	50	60	40
		10	100	40	60
		15	100	25	75
		20	100	35	65
		control	0	0	35
	<i>O. seniculus</i>	5	10	5	95*
		10	20	40	60
		15	80	40	60
		20	90	30	70
200 กรัม		<i>Onitis</i> spp.	10	90	70
	15		100	50	75.0
	20		100	90	55.0
	25		100	50	75.0
	<i>O. seniculus</i>	10	50	70	65.0
		20	90	60	70.0
		30	100	70	65.0
		40	100	45	77.5

**หมายเหตุ** \* น้ำหนักอุจจาระที่หายไป 95 % ด้วงขี้ควายนำไปเป็นอาหารและสร้างรังเพื่อวางไข่ (brood ball)

\*\*น้ำหนักอุจจาระควบคุมที่ชั่งในวันที่ 4



**ตารางที่ 3** แสดงเปอร์เซ็นต์ลดลงของตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโค ใน อุจจาระโค 100 กรัม ที่ถูกค้ำยเชื้อโดยตัวงชีควายสองชนิดเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมใน ห้องปฏิบัติการ (ในร่ม)

ชนิด	จำนวนตัวง	จำนวนตัวอ่อนพยาธิ (ตัว)	เปอร์เซ็นต์ลดลง	
control	0	33,970		0
<i>Onitis</i> spp.	10	35		94.6
	10	59		90.9
	10	5		99.2
	10	7		98.9
			<b>เฉลี่ย</b>	<b>95.9</b>
<i>O. seniculus</i>	20	358		98.9
	20	782		97.7
	20	12,780		62.4
	20	996		97.0
			<b>เฉลี่ย</b>	<b>89.0</b>

**ตารางที่ 4** แสดงเปอร์เซ็นต์ลดลงของตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของโค ใน อุจจาระโค 100 กรัม ที่ถูกค้ำยเชื้อโดยตัวงชีควายสองชนิดเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม นอกห้องปฏิบัติการ (กลางแจ้ง)

ชนิด	จำนวนตัวง	จำนวนตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมในกระเพาะอาหารและลำไส้				เปอร์เซ็นต์	
		อาทิตย์ที่ 2	อาทิตย์ที่ 3	อาทิตย์ที่ 4	อาทิตย์ที่ 5	รวม	ลดลง
control	0	61	212	221	2678	3172	0
<i>Onitis</i> spp.	10	76	0	0	0	76	97.6
	10	12	7	0	0	19	99.4
	10	107	1	0	0	108	96.8
	10	197	0	0	0	197	93.8
							<b>เฉลี่ย</b>
<i>O. seniculus</i>	20	250	0	3	0	253	92.0
	20	268	0	2	0	270	91.5
	20	329	69	0	0	398	87.5
	20	178	0	0	0	178	94.4
						<b>เฉลี่ย</b>	<b>91.3</b>

**Dung Beetles *Onitis* spp. and *Onthophagus seniculus*  
(Coleoptera : Scarabaeidae) as Biological Control Agents of  
Gastrointestinal Nematodes of Cattle**

**Nopporn Sarataphan**

**Parasitology Section, National Institute of Animal Health,  
Kaset Klang, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand**

**Abstract**

The objective of this study was to collect and evaluate the ability of dung beetles (Coleoptera : Scarabaeidae) to disperse fecal masses for biological control of bovine gastrointestinal nematodes. Investigations of dung beetles were performed in 16 provinces of Thailand between 1993 to 1997. Fifteen species of dung beetles were performed in this investigation belonging to family Scarabaeidae, Histeridae and Aphodiidae. *Onitis* spp. was found the dominant species with widely distribution and followed by *Onthophagus seniculus* Fabr, which only in the northeastern part of Thailand. Number of *Onitis* spp. and *Onthophagus seniculus* Fabr. to disperse (above 90 %) of 100 and 200 g buffalo fecal masses in one night was 10 and 20, respectively. The result demonstrated that 10 adults of *Onitis* spp. and 20 adults of *Onthophagus seniculus* Fabr. were able to cause reduction in larval hatching from each 100 g of cattle feces contaminated with eggs of *Bunostomum phlebotomum*, *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp. and *Oesophagostomum* spp. average 95.9 and 89 %, respectively in laboratory as well as 96.8% and 91.3% outside laboratory conditions.

**Key words :** dung beetles, biological control, gastrointestinal nematode, cattle



# Partnership for Leadership Hoechst Roussel Vet

เราสร้างสรรค์สิ่งที่ดีสำหรับท่าน

ขอเสนอผลิตภัณฑ์คุณภาพมาตรฐานจากเยอรมนี

## ยาปฏิชีวนะ

- Omnamycin      อดนามัยซิน      ฉีดรักษาโรคติดเชื้อที่ไวต่อยาเพนิซิลลินและสเตรปโทโมซิน
- Borgal 24%      โบร์กาล 24%      ฉีดรักษาโรคติดเชื้อที่ไวต่อยาซัลฟา, ไตรเมทโพรอิม
- Trafigal 30%      ทราฟีกาล 30%      กินรักษาโรคติดเชื้อที่ไวต่อยาซัลฟา, ไตรเมทโพรอิม รวมทั้ง  
ปาราสิตในกระแสเลือด เช่น ลิวโคซัยโตซูน

## ยาผสมอาหาร

- Sacox      ซาค็อกซ์      ผสมอาหารกินป้องกันโรคบิดในไก่
- Salocin      ซาลอซิน      ผสมอาหารกินป้องกันโรคติดเชื้อที่ไวต่อยาซาลิโนมัยซิน เช่น  
พีไอเอ คอมเพล็กซ์ (PIA-COMPLEX), บิดมูกเลือดในสุกร
- Flavomycin      ฟลาวโวมัยซิน      ผสมอาหารกินเพื่อลดการถ่ายทอดการต้อของเชื้ออีโคไล,  
เชื้อแซลโมเนลลา และเร่งการเจริญเติบโต

## ยาบำรุง

- Tonophosphan      โทโนฟอสฟาน      ฉีดบำรุงร่างกายของสัตว์ที่อ่อนเพลียช่วงฟื้นไข้หรือหลังคลอดลูก
- MyoFer 100      ไมโอเฟอร์ 100      ธาตุเหล็กฉีดรักษาและป้องกันโรคโลหิตจาง

## ยากำจัดพยาธิภายในและภายนอก

- Berenil      เบเรนิล      ฉีดรักษาโรคทริพาโนโซมและบาบิเซีย
- Panacur      พานาคูร์      ยาฆ่าพยาธิตัวกลมและตัวแบนตายหมดทั้งวงจร
- Taktic      แทคติก      ฟันหรืออาบป้องกันและรักษาโรคขี้เรื้อน, เห็บ, เหา

## ปฏิกณะ

- Nolvagin      โนวาลยีน      ฉีดลดไข้ แก้ปวด ลดการอักเสบ
- Receptal      ริเซพทอล      ฮอร์โมนชนิดฉีด เพื่อช่วยกระตุ้นในการตกไข่ให้สมบูรณ์
- Stagloban SHP      สตาโกลบาน เอสเอสพี      ฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุนัขเพื่อป้องกัน และรักษาโรคไข้หัด,  
ตับอักเสบ และโรคพาร์โวไวรัส
- Salenvac      ซาลเอนแวก      วัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อแซลโมเนลลาในสัตว์ปีก
- Illren      อิลลิเร็น      ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินชนิดฉีด
- Vivitonin      วิวิตอนิน      กินเพื่อรักษาสุนัขอายุมากที่มีอาการเซื่องซึม ให้แข็งแรง, ร่าเริง  
และไม่เหน็ดเหนื่อย
- Erysorb Plus      อิริซอร์บ พลัส      ฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโรคไข้หนังแดงในสุกร
- Hostacain      ฮอสตาเคน      ยาชาเฉพาะที่ใช้สำหรับในกรณีทำคลอด, ผ่าตัด, บรรเทาอาการปวด  
ที่เกิดจากภาวะโคลิค

บริษัท เอ็กซ์ รูซเซล เวท จำกัด

บัญชีธานีทาวเวอร์ ชั้น 17, 127/22 ถนนพหลโยธิน ซอยนนทบุรี ยานนาวา กรุงเทพฯ 10120

โทร. 681-0140-3 แฟกซ์ 681-0144 [http:// www. Hoechst Roussel Vet.com](http://www.HoechstRousselVet.com)

**Hoechst**

ห้างหุ้นส่วนจำกัด แซค ไซน์ เอ็น  
SAC SCIENCE-ENG LTD., PART.



**จำหน่าย**

- เคมีภัณฑ์, เครื่องแก้วทุกชนิด
- อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
- อาหารเลี้ยงเชื้อ
- เครื่องมือวิทยาศาสตร์ทุกชนิด

49/522, 523 ม. 5 ซ.บุญส่งโสฬส ต.สุขาภิบาล 1 แขวงคลองกุ่ม เขตบึงกุ่ม กรุงเทพฯ 10240  
โทร. 374-1534, 377-0753, 734-7715, 734-8193-4 Fax : 374-7837, 01-8128132



## รายงานการประชุมคณะกรรมการบริหารสัตวแพทยสมาคมฯ

ครั้งที่ 4/2540 วันอังคารที่ 8 เมษายน 2540

### ณ ห้องประชุมสัตวแพทยสมาคมฯ

เริ่มประชุมเวลา 13.40 น.

นายกสัตวแพทยสมาคมฯ เปิดประชุมและดำเนินการประชุมตามวาระดังนี้

#### วาระที่ 1 เรื่องแจ้ง เพื่อทราบ

1.1 รศ.น.สพ.สงคราม เหลืองทองคำ อุปนายกสมาคมสัตวแพทย์สุขศาสตร์การอาหารแห่งโลก ได้ส่งแบบลงทะเบียนการประชุมวิชาการนานาชาติของสมาคมฯ ระหว่างวันที่ 24-29 สิงหาคม 2540 กรุงเทพฯ ประเทศเนเธอร์แลนด์

1.2 Commonwealth Veterinary Association เชิญชวนสัตวแพทย์สมาคมฯ ร่วมประชุม 2<sup>nd</sup> Pan Commonwealth Veterinary Conference ระหว่างวันที่ 22-27 กุมภาพันธ์ 2541 เมือง Bangalore ประเทศอินเดีย

1.3 World Veterinary Association (WVA) ได้ส่ง Newsletter ประจำเดือนมีนาคม 2540 แก่สัตวแพทย์สมาคมฯ 1 ฉบับ

1.4 สมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ขอให้ทางสมาคมฯ เสนอโครงการฯ พร้อมงบประมาณแก่ฝ่ายเลขาธิการ สสวท. ภายในวันศุกร์ที่ 4 เม.ย. 2540

1.5 ได้รับการตอบรับการลงทะเบียน FAVA จากประเทศออสเตรเลีย รวม 6 ท่าน จากสัตวแพทย์สมาคมฯ

#### วาระที่ 2 รับรองรายงานการประชุม ครั้งที่ 3/2540

#### วาระที่ 3 ติดตามเรื่องเดิม

3.1 การพิจารณาที่ทำการสมาคมฯ ใหม่ ที่ประชุมได้เสนอความคิดเห็น และสรุปว่า (ก) สมควรยึดเวลาในการย้ายออกไปก่อน (ข) เสนอสถานที่ทำการใหม่ให้กรรมการฯ พิจารณา 3 แห่ง คือ ทาวน์เฮาส์บ้านรังสิตฯ, ทาวน์เฮาส์หลังสภาวิจัยแห่งชาติ และซีดีทาวน์โฮม ลาดพร้าว 80 (ค) ควรพิจารณาการย้ายของกรมปศุสัตว์ (ง) ควรคำนึงถึงงบประมาณเงินรายได้จากการจัดงาน 50 ปีของสมาคมฯ

3.2 การเตรียมการแข่งขันกอล์ฟประจำปี 2540

จากการประชุมเมื่อวันที่ 8 เมษายน 2540 เลขาธิการฯ ได้แจ้งว่าสถานที่ได้ที่สนามบางกอกกอล์ฟคลับ จ.ปทุมธานี ได้รับความอนุเคราะห์โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายเวลา 12.30 น. วันที่ 20 มิถุนายน 2540 รวม 40 ทีม สมัครงายในวันที่ 10 มิถุนายน 40 แผ่น พบคาดว่าจะเสร็จภายในเดือนเมษายน 2540 ของรางวัลมีค่ามากมายเหมือนทุกปี

#### 3.3 พ.ร.บ. วิชาชีพการสัตวแพทย์

นายกสมาคมฯ ได้นำเสนอคุณไมตรี ตันเต็มทรัพย์ แล้ว และหลังจากนั้นจะได้หารือร่วมกับ น.สพ.ปานเทพ นายกสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ รวมทั้งติดตามความคืบหน้าจาก ศ.น.สพ.พีระศักดิ์ ในการหารือกับทาง ส.ส.พรรคประชาธิปัตย์ ด้วย

#### 3.4 การจัดตั้ง "ศูนย์ข้อมูลสัตวแพทย์"

เลขาธิการฯ ได้เสนอข้อมูลที่เคยทำไว้เมื่อปี พ.ศ. 2535 และจะได้นำมาทบทวน เสนอแบบฟอร์มให้คณะกรรมการฯ เสนอชื่อผู้ประสานงานศูนย์ข้อมูล เพื่อเสนอแต่งตั้งต่อไป เสนอโครงการทำ Electric mail และ Home page ของสมาคมฯ

#### วาระที่ 4 เรื่องเพื่อพิจารณา

4.1 รับรองงบดุลเดือน กุมภาพันธ์/มีนาคม 40 ที่ประชุมรับรอง

#### 4.2 รับรองสมาชิกใหม่

เดือนเมษายน ไม่มีผู้สมัคร ที่ประชุมเสนอแนะคือเสนอกรรมการจัดงานต้อนรับบัณฑิต ถึงกรรมการรับสมัครสมาชิกใหม่ในงาน และควรปรับปรุงทะเบียนสมาชิก ให้ทันสมัยด้วยระบบคอมพิวเตอร์

4.3 การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่ 24 และงานต้อนรับบัณฑิตสัตวแพทย์ รุ่น 55

ติดตามถึงคณะกรรมการจัดงานด้วย ประธานฯ ผศ.ดร.ทวีวัฒน์ ทัศนวัฒน์ และเสนอเปลี่ยนรูปแบบการจัดงานต้อนรับบัณฑิตใหม่ แก่ประธานฯ น.สพ.วิทยา พรประยูร

4.4 การสรรหาสัตวแพทย์ตัวอย่าง ประจำปี 2540

ศ.น.สพ.ดร.ศุภกิจ อังศุภากร รับเป็น

ประธานการสหราชอาณาจักรด้วย ประจำปี 2540 และจะได้เชิญกรรมการประชุมราวปลายเดือน เมษายน 2540 นี้

4.5 การเตรียมงานฉลอง 50 ปี สัตวแพทยสมาคมฯ

คณะกรรมการบริหารฯ ได้เข้าพบอธิบดีกรมปศุสัตว์ น.สพ.สุวิทย์ ผลลาภ เรียนเชิญเป็นประธานจัดงาน โดยได้เสนอคณะกรรมการดังต่อไปนี้

ประธานจัดงาน น.สพ. สุวิทย์ ผลลาภ  
รองประธานฯ รศ.น.สพ. สงคราม เหลืองทองคำ  
น.สพ. กริธา ชันติ  
น.สพ. ยุคล ลิ้มแหลมทอง

คณะกรรมการที่ปรึกษา นายกสัตวแพทยสมาคมฯ

คณบดี คณะสัตวแพทยศาสตร์  
ทุกมหาวิทยาลัย

รศ.น.สพ. ดานิส ทวีดิยานนท์

ศ.น.สพ. พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป

รศ.สพ.ญ. วรณี เมืองเจริญ

สพ.ญ. ทศนีย์ ชมภูจันทร์

เหรียญก

เลขานุการคณะกรรมการ รศ.สพ.ญ.ดร.วรรณดา สุจริต

ผู้ช่วยเลขานุการฯ น.สพ.จีระ สรรวัตร

เลขาธิการสัตวแพทยสมาคมฯ

วาระที่ 5 เรื่องอื่นๆ (ถ้ามี)

5.1 การประชุมและสัมมนากรรมการบริหารสมาคมฯ

วันที่ 9-10 พฤษภาคม 2540 ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียน พัทยา โดยนายยก จะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในเรื่องค่าโรงแรมที่พักและค่าอาหาร สมาคมฯ เจ้าภาพเลี้ยงอาหารเย็นวันที่ 9 พฤษภาคม 40 โดยมีผู้ร่วมประชุมคือ กก.บริหาร และ กก.จัดคอลล์ฟการกุศล ร่างกำหนดการคือ 14.00-15.00 น. ประชุม กก.กอล์ฟ 15.00-17.00 น. ประชุม กก.บริหารสมาคมฯ ครั้งที่ 5/2540 19.00 น. รับประทานอาหารเย็นและพักผ่อนตามอัธยาศัย โดยเลขาธิการ จะได้ติดต่อกรรมการทุกท่านเพื่อทราบการตอบรับก่อนการเดินทางอีกครั้งหนึ่ง

5.2 ที่ประชุมมีมติให้ น.สพ. ประจักษ์ ธิรทินรัตน์ เป็นผู้แทนสัตวแพทยสมาคมฯ ในคณะกรรมการควบคุมการบำบัดโรคสัตว์ ของกรมปศุสัตว์ ต่ออีกวาระหนึ่ง

5.3 สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ขอให้ทางสมาคมฯ เสนอชื่อเพื่อพิจารณาเป็นสมาชิกก่อตั้งบัณฑิตยสภาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่ง

ประเทศไทย (บวท) และหัวข้อการศึกษาวิจัยที่ (บวท) ควรดำเนินการ โดยทางสมาคมฯ จะได้สอบถามรายละเอียดและเสนอชื่อต่อไป

5.4 สาราณียกร เสนอแผนการปรับปรุงสัตวแพทยสาร ดังนี้

แผนการปรับปรุงสัตวแพทยสาร ตั้งแต่ฉบับปีที่ 47 เล่มที่ 3-4

1. สัตวแพทยสาร จะออกปีละ 3 เล่ม

2. เปิดรับสมาชิกทั่วไปของสัตวแพทยสาร (ที่ไม่ใช่สมาชิกของสมาคมฯ) ในอัตราปีละ 200 บาท

3. เปลี่ยนรูปแบบวารสาร โดยในแต่ละฉบับจะประกอบด้วยเนื้อหาทางวิชาการอย่างน้อย 4 เรื่อง และนำผลิตภัณฑ์ใหม่ (กิ่งโฆษณา) ซึ่งมีความยาวไม่เกิน 3 หน้า อีก 1 เรื่อง จัดให้มีใบแทรกโฆษณามากขึ้น

4. จัดเรียงเนื้อเรื่องใหม่ให้มีรูปแบบใหม่ ตัวหนังสืออ่านง่ายขึ้น

5. แจกฟรีให้กับห้องสมุดสถาบันราชชมงคลทั่วประเทศ แห่งละ 1 เล่ม พร้อมหนังสือเชิญชวนให้เป็นสมาชิก

6. จัดหนังสือที่เหลืออยู่ที่สมาคมเป็น 2 ชุด ให้กับห้องสมุด มหาวิทยาลัยมหานคร และมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

7. ปรับราคาค่าโฆษณา ดังนี้

เต็มหน้าในเล่ม	จาก 2,000.-	เป็น 4,000.-
ปกหลัง	จาก 10,000.-	เป็น 12,000.-
ปกหลังด้านใน	จาก 6,500.-	เป็น 8,000.-
ปกหน้าด้านใน	จาก 7,000.-	เป็น 9,000.-
ใบแทรกเดี่ยว	จาก 2,000.-	เป็น 3,000.-
ใบแทรกคู่	จาก 3,500.-	เป็น 5,000.-
แนะนำผลิตภัณฑ์ใหม่		20,000.-
โฆษณาบนซอง	จาก 3,000.-	เป็น 5,000.-

เรื่องราคาค่าโฆษณาที่ประชุมเห็นสมควรให้เปลี่ยนแปลงตามที่เสนอ

ปิดประชุมเวลา 15.20 น.

ประชุมครั้งต่อไปวันศุกร์ที่ 9 พฤษภาคม 2540 ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียน จ.ชลบุรี

รศ.สัตวแพทย์หญิง ดร.อัจฉริยา ไสละสูต

ผู้จัดบันทึกการประชุม



รายงานการประชุมคณะกรรมการบริหารสัตวแพทย์สมาคมฯ

ครั้งที่ 5/2540 วันศุกร์ที่ 9 พฤษภาคม 2540

ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียน พัทยา

เริ่มประชุมเวลา 16.00 น.

นายกสัตวแพทย์สมาคมฯ เปิดประชุมและ  
ดำเนินการประชุมตามวาระดังนี้

วาระที่ 1 เรื่องแจ้ง เพื่อทราบ

1.1 สมาคมสัตวแพทย์โลก (World Veterinary Association, WVA) ได้ส่งสมุดรายงานการประชุม  
พร้อมกำหนดการประชุมของผู้แทนสมาคมสัตวแพทย์  
สมาชิก ที่จะประชุมวันที่ 31 พฤษภาคม 2540 ที่  
ประเทศฝรั่งเศส

1.2 จดหมายตอบรับในการอนุเคราะห์มอบ  
ถ้วยรางวัลการแข่งขันกอล์ฟการกุศลของสมาคมฯ  
จากหน่วยราชการและที่ปรึกษาต่างๆ

วาระที่ 2 รับรองรายงานการประชุม ครั้งที่ 4/2540  
ที่ประชุมพิจารณารายงานการประชุม  
ครั้งที่ 4/2540 เมื่อวันที่ 8 เมษายน 2540

วาระที่ 3 ติดตามเรื่องเดิม

3.1 การเตรียมการแข่งขันกอล์ฟประจำปี 2540  
น.สพ.มาโนช ได้เป็นประธานในการ  
ประชุมคณะกรรมการจัดการแข่งขันกอล์ฟ โดยมี  
ความคืบหน้าดังนี้

- แผ่นพับ พิมพ์เสร็จแล้ว จำนวน 600 ชุด
- ถ้วยรางวัล 26 ใบ จัดทำแล้วในราคา

25,000 บาท

- การหาทีมการแข่งขัน กำหนดไว้ควรจะ  
ได้ 40 ทีม โดยให้กรรมการทุกท่านช่วยกันหาทีม  
หากผู้สมัครจ่ายทันทีเมื่อจอง จะได้รับของชำร่วย

- ฝ่ายหาทีมเสนอให้ทำป้ายประชาสัมพันธ์  
บริษัทที่มีอุปการคุณ โดยปักป้ายไว้ที่หลุมกอล์ฟ และ  
Logo ในห้องอาหาร

- ของชำร่วยหมวก 1 ใบ ราคาใบละ 170  
บาท หรือให้ลูกกอล์ฟคนละ 3 ลูก

- เวลาในการแข่งขัน เริ่มเวลา 12.30 น.  
ทุกทีม

- ที่ประชุมฯ เสนอให้มีการประชุมสรุป  
งานกอล์ฟอีกครั้งภายในเดือนพฤษภาคม 2540 นี้

3.2 พ.ร.บ. วิชาชีพการสัตวแพทย์

นายกฯ ได้แจ้งความคืบหน้าว่า คุณไมตรี  
ตันเต็มทรัพย์ ได้กรุณาแก้ไขร่าง พ.ร.บ.แล้ว และจะ  
ดำเนินการจัดพิมพ์แก้ไขอีกครึ่งหนึ่ง เนื่องจากมีข้อ  
ขัดแย้งในผู้บริหารของกรมฯ ในการเสนอ พ.ร.บ.นี้  
นายกฯ จะหารือกับ น.สพ.สุวงศ์ฯ ซึ่งแจ้งแก่ผู้บริหาร  
ของกรมปศุสัตว์อีกครึ่งหนึ่ง

3.3 การจัดตั้ง "ศูนย์ข้อมูลสัตวแพทย์"

จะได้ขอความร่วมมือจากศูนย์คอมพิวเตอร์  
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ฯ ในการทำ Internet และ  
Home page ในการจัดทำศูนย์ข้อมูลสัตวแพทย์  
เลขาธิการจะได้เสนองบประมาณในการประชุมคราว  
ต่อไป

วาระที่ 4 เรื่องเพื่อพิจารณา

4.1 รับรองงบดุลเดือนเมษายน 2540

เลื่อนไปรับรองในการประชุมคราวหน้า

4.2 รับรองสมาชิกใหม่

ไม่มีสมาชิกสมัครใหม่/ เรื่องทะเบียนสมาชิก/  
การทำบัตรสมาชิกเสนอราคามาแล้ว ใบละ 24.50 บาท  
ไม่รวม Vat ตกประมาณใบละ 30 บาท ควรทำเป็นที่  
ระลึกในโอกาสฉลอง 50 ปี สัตวแพทย์สมาคมฯ นาย  
ทะเบียนจะสืบราคาดูอีกบริษัทอื่น เพื่อเสนอในการ  
ประชุมคราวต่อไป

4.3 การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่  
24 และงานต้อนรับบัณฑิตสัตวแพทย์ รุ่น 55

วันที่ 3-4-5 พฤศจิกายน 2540 ที่โรง  
แรมเซ็นทรัลพลาซ่า วันที่ 3 พ.ย. 40 งานเลี้ยงบัณฑิต  
ห้องบางกอกคอนเวนชัน เซ็นทรัลฯ ประชุมประธาน  
คณะกรรมการ วันที่ 14 พฤษภาคม 2540 เวลา 13.30  
น. ที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ ม.เกษตรฯ โดยรศ.น.สพ.  
ดร.อภิรักษ์ สุประเสริฐ จะเป็นเลขานุการของการ  
ประชุมครั้งนี้

4.4 การสรรหา สัตวแพทย์ตัวอย่างประจำปี  
2540

สัตวแพทย์สมาคมฯ ได้เชิญคณะทำงาน  
ชุดที่แล้วประชุม โดยมี ศ.น.สพ.ดร.ศุภกิจ อังศุภากร  
เป็นประธาน ที่ประชุมคณะทำงานได้พิจารณาและเชิญ

คณะทำงานชุดใหม่เข้าร่วมการพิจารณา พร้อมกับกำหนดเกณฑ์การพิจารณา ตลอดจนการดำเนินการ

ความก้าวหน้าขณะนี้ คือจะได้ส่งหนังสือถึงสมาชิกและหน่วยงานให้เสนอชื่อส่งกลับภายใน 30 มิถุนายน 2540 หลังจากนั้นคณะทำงานจะได้พิจารณาและสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติม โดยกำหนดเสนอชื่อให้สัตวแพทยสมาคมฯ ได้ประมาณต้นเดือนกรกฎาคม

**หมายเหตุ** ต้นเดือนกรกฎาคม จะเวียนหนังสือข่าถึงสมาชิกอีกครั้งหนึ่งให้เสนอชื่อเข้ามาภายใน 30 กรกฎาคม 2540 เป็นครั้งสุดท้าย

4.5 การเตรียมการฉลอง 50 ปี สัตวแพทยสมาคมฯ

ได้เตรียมงานแล้ว จะได้ประชุมหารือในวันที่ 19 พฤษภาคม 2540 ที่โรงแรมโนโวเทล เพื่อเตรียมอนุกรรมการฝ่ายต่างๆ การเตรียมงานฉลองในรูปแบบต่างๆ เพื่อมอบหมายโดยเสนอให้ทำสัญลักษณ์ (Logo) และงานกาล่าดินเนอร์ เป็นต้น

**วาระที่ 5 เรื่องอื่นๆ (ถ้ามี)**

5.1 ศ.น.สพ.พีระศักดิ์ อุปนายภฯ ได้ให้ข้อมูลระดับนโยบายแก่กรรมการ ดังนี้

5.1.1 ขณะนี้เป็นกรรมการตรวจสอบนโยบายปศุสัตว์แห่งชาติ การปรับปรุงคุณภาพเพิ่มผลผลิตปศุสัตว์ คุณภาพการควบคุมพันธุ์สัตว์นำเข้าจากต่างประเทศ ส่งเสริมการใช้เทคโนโลยีทางปศุสัตว์ ได้มีคณะอนุกรรมการโคเนื้อ/กระบือ/ผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก/โคนม/อาหารสัตว์/ธุรกิจนมผง นมผงขาดมันเนย ให้นำเข้าประมาณ 6,000 ล้านบาท

5.1.2 เป็นที่ปรึกษารัฐมนตรีกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การกำจัดน้ำเสียจากฟาร์มเกี่ยวกับเรื่องสิ่งแวดล้อม

5.1.3 ได้เชิญเลขาธิการ อ.ย. หรือ อธิบดีกรมปศุสัตว์ คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สัตวแพทย์ต้องเตรียมการในเรื่องคุณภาพชีวิตประชาชน

5.1.4 ยินดีมอบข้อมูลสาขาปศุสัตว์แก่ศูนย์ข้อมูลสัตวแพทย์ และได้พัฒนาเป็น CD-ROM ต่อไป

5.1.5 ในเรื่องวิชาชีพสัตวแพทย์ พัฒนาเป็นที่ยอมรับเป็นที่เชื่อถือ ทำเป็น V.D.O. แนะนำวิชาชีพควรทำประชาสัมพันธ์ตามโรงเรียนต่างๆ

5.2 การเลี้ยงแสดงความยินดีแก่ รศ.น.สพ. สงคราม เหลืองทองคำ เลี้ยงแสดงความยินดี ประมาณ

ปลายเดือนพฤษภาคม 2540 โดยทางสมาคมฯ จะได้ส่งจดหมายแสดงความยินดีก่อน ในการเลี้ยงแสดงความยินดีเสนอให้เลี้ยง พลตรีศิริชัย ชาวอ่อน ด้วย

5.3 ในเรื่องการปรับทุนการศึกษาของสัตวแพทยสมาคมฯ ประจำปี 2540 ตามมติที่ประชุมคณะกรรมการฯ เสนอให้เพิ่มเป็นทุนละ 6,000 บาท นั้น สัตวแพทย์สนั่น เอกพจน์ ได้เสนอความคิดเห็นในการจัดสรรทุนการศึกษา

- (1) ทุน น.สพ.ดร. ทศพร สุทธิคำ ดอกผลจากทุนได้ 6,000 บาท
- (2) ทุน หลวงชัยอัศวรักษ์ ดอกผลจากทุนได้ 6,000 บาท
- (3) ทุน น.สพ. จรัส สืบแสง ดอกผลจากทุนได้ 6,000 บาท
- (4) ทุน คุณหญิงศักดิ์ คณาธนะวานิช ดอกผลจากทุนได้ 6,000 บาท
- (5) ทุน ชูวิจิตรพาหนการ สมทบกับสำเนียง ศรีมณี ดอกผลจากทุนได้ 6,000 บาท
- (6) ทุน พระยาอาหารบริรักษ์ สมทบกับ ดร.อาร์.พี. โยนส์ และสนั่น เอกพจน์ ดอกผลจากทุนได้ 6,000 บาท
- (7) ทุน ศ.ดร. เชื้อ ว่องสงสาร
- (8) ทุน อุดม-รำพึง ศิษย์ สพ. 19

**หมายเหตุ** ทุน (7) (8) เสนอนายกฯ หรือเพื่อขอเพิ่มเงินทุนโดยให้ดอกผลพอจ่ายถึง 6,000 บาท ซึ่งทางสมาคมฯ จะได้ดำเนินการต่อไป ส่วนทุน (1) - (6) ที่ประชุมรับรอง โดยมีจดหมายชี้แจงแก่ทายาทเจ้าของทุนด้วย

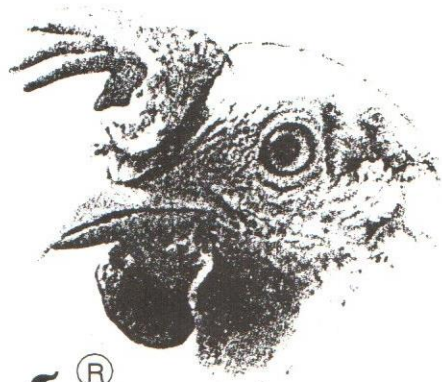
5.4 งาน 50 ปีสัตวแพทยสมาคมฯ ควรมีการรำลึกถึง หลวงชัยอัศวรักษ์

5.5 ควรฟื้นฟูเพลงสัตวแพทย์ในงานต้อนรับบัณฑิตสัตวแพทยศาสตร์

ปิดประชุมเวลา 17.20 น.

รศ. สัตวแพทย์หญิง ดร.อังฉริยา ไคละสุต  
ผู้บันทึกการประชุม

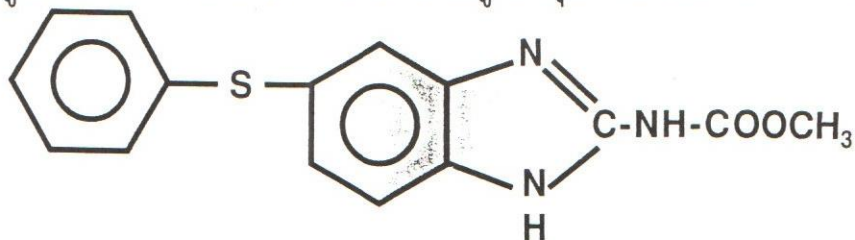




# พานาคัวร์®

ตัวยาออกฤทธิ์ คือ เฟนเบนดาโซล (Fenbendazole) ซึ่งจากการวิจัยค้นคว้าของ บริษัท ไฮเก็ท รุชเชล เวท จำกัด ยาถ่ายพยาธินี้อยู่ในกลุ่ม เบนซิมิดาโซล คาร์บาเมต

สูตรโครงสร้าง



**พานาคัวร์** มีประสิทธิภาพในการฆ่าพยาธิที่สำคัญทุกชนิดในสุกรและสัตว์ปีก ตัวยาจะมีผลในการฆ่าพยาธิตัวอ่อนและตัวแก่ โดยไปขัดขวางการสร้างพลังงานและทำลายระบบประสาทของพยาธิ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการฆ่าไข่พยาธิด้วย (Ovicidal) โดยหลังจากได้รับยาภายใน 10-12 ชั่วโมง ไข่พยาธิจะไม่สามารถฟักเป็นตัวอ่อนได้และพยาธิจะไม่สามารถสร้างไข่ได้ ภายหลังได้รับยา 36 ชั่วโมง

ยาฆ่าพยาธิพานาคัวร์มีความปลอดภัยสูง แม้ใช้เกินกว่าขนาดแนะนำหลายเท่าก็ไม่ทำอันตรายต่อตัวสัตว์ และไม่มีผลข้างเคียงต่อสัตว์ที่ตั้งท้อง หรือมีสุขภาพอ่อนแอ

## พานาคัวร์ 4%

ชนิดผงผสมอาหาร

เหมาะสำหรับสุกร, ไก่ไข่, ไก่พันธุ์

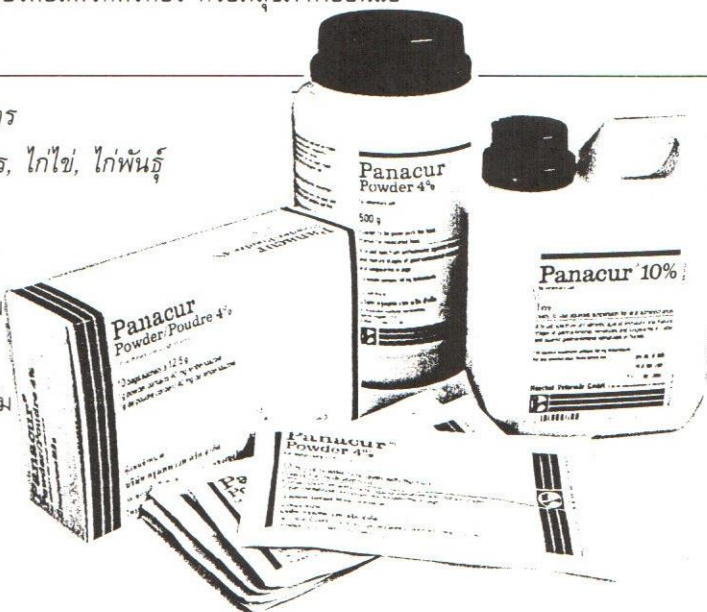
ขนาดบรรจุ

กล่องละ 10 ซอง

ซองละ 12.5 กรัม

ขวด 500 กรัม

กล่อง 25 กิโลกรัม



## พานาคัวร์ 10%

ชนิดน้ำแขวนตะกอน

ไม่ทำให้หัวจ่ายน้ำ (nipple)

อุดตัน เหมาะสำหรับไก่ไข่,

ไก่พันธุ์,

ขนาดบรรจุ ขวด 1 ลิตร



ผู้แทนจำหน่าย

**บริษัท กรุงเทพ เวท กรีก จำกัด**

37/81-82 ซ.เย็นจิตต์ ถ.จันทน์ เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120 โทรศัพท์ 6759450-2

ผลิตภัณฑ์ของ

**Hoechst**

# สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์

และ

## คณะผู้จัดทำ "สัตวแพทยสาร"

### ขอขอบคุณผู้อุปการะ

1. บริษัท ไปโอติก จำกัด	ปกหน้าด้านใน
2. บริษัท ฟอรัท ดอตจี้ แอนิมัล เฮลธ์ (ไทยแลนด์) จำกัด	ปกหลังด้านใน
3. 50 ปี สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์	ปกหลัง
4. บริษัท อโกรเมต จำกัด	9
5. บริษัท แอ็ดวานซ์ฟาร์มา จำกัด	10
6. บริษัท เมเรียล จำกัด	23-25
7. บริษัท เวท อะกริเทค จำกัด	26
8. บริษัท อีไล ลิลลี่ เอเชียอิงค์ สาขาประเทศไทย	44
9. บริษัท เฮ็กซ์ รูซเซล เวท จำกัด	57
10. ห้างหุ้นส่วนจำกัด แซด ซายน์ เอ็น	58
11. บริษัท กรุงเทพ เวท ดรัก จำกัด	63



สำหรับเจ้าหน้าที่	
ลำดับที่.....	เสนอที่ประชุม กก.บริหาร
ใบเสร็จเลขที่.....	ครั้งที่.....วันที่.....
จำนวนเงิน.....บาท	มติ.....
<input type="checkbox"/> เงินสด <input type="checkbox"/> เช็ค <input type="checkbox"/> ธนาณัติ	เลขอาธิการ.....
ชื่อผู้รับใบสมัคร.....	ลงทะเบียนเลขที่.....
(.....)	นายทะเบียน.....
วันที่รับ.....	

### ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

- สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์
- หนังสือสัตวแพทยสาร

เขียนที่.....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า (นาย, นาง, น.ส.).....อายุ.....ปี สัญชาติ.....

อยู่บ้านเลขที่.....ตรอก/ซอย.....ถนน.....

ตำบล/แขวง.....อำเภอ/เขต.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....

ปัจจุบันประกอบอาชีพ.....ตำแหน่ง.....

สถานที่ทำงาน.....

จบการศึกษาจาก.....พ.ศ.....วันที่.....วุฒิ.....

เป็นนิสิตนักศึกษา ปีที่.....สถานศึกษา.....

มีความประสงค์สมัครเข้าเป็นสมาชิกสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์

- |  |   |
|--|---|
| <input type="radio"/> ประเภทสมาชิกสามัญตลอดชีพ 1,000 บาท   | <input type="radio"/> ประเภทสมาชิกสมทบรายปี บิลละ 200 บาท |
| <input type="radio"/> ประเภทสมาชิกสามัญรายปี บิลละ 200 บาท | <input type="radio"/> ประเภทสมาชิกสมทบตลอดชีพ 200 บาท     |

พร้อมใบสมัครนี้ ข้าพเจ้าได้ชำระค่าสมัคร 100.- บาท และค่าบำรุง.....บาท รวมเป็นเงิน.....บาท

(.....) โดย  เงินสด  เช็ค, เช็คไปรษณีย์  ธนาณัติ

ข้าพเจ้าทราบบัญญัติประสงค์และข้อบังคับของสัตวแพทยสมาคมฯ ดีแล้วและยินดีปฏิบัติตามทุกประการ

ลงชื่อผู้สมัคร.....

(.....)

#### หมายเหตุ

โปรดส่งจ่ายในนามเหรียญกษาปณ์ สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย  
 69/26 ซอยโรงพยาบาลนครเอนิส ถนนพญาไท กรุงเทพฯ 10400 (ปท.ราชเทวี)  
 กรณีเจ็บวิชาชีพสัตวแพทย์จากต่างประเทศ ให้นำสำเนาเอกสาร 1 ชุด พร้อมกับมีชื่อสมาชิกสามัญตลอดชีพ  
 ลงชื่อรับรองในสำเนา 1 ท่าน (พร้อมชื่อตัวบรรจง)

# ใบสั่งโฆษณา

หนังสือ "สัตวแพทยสาร" ของสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์  
69/26 ซ.โรงพยาบาลนครเอเธนส์ ถ.พญาไท กรุงเทพฯ 10400 โทร. 2551309, 2528773 แฟกซ์. 2528773

เขียนที่.....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าในนามบริษัท / ห้าง / ร้าน.....

ยินดีให้ความอุปการะการพิมพ์หนังสือ "สัตวแพทยสาร" ดังนี้

เล่มที่ 1 เดือน เมษายน 2540 ประจำปีที่ 48

เล่มที่ 2 เดือน สิงหาคม 2540 ประจำปีที่ 48

เล่มที่ 3 เดือน ธันวาคม 2540 ประจำปีที่ 48

ด้วยข้อความตามที่แนบมา หรือความเรียงดังนี้.....

รวมทั้งสิ้นเป็นจำนวน.....เล่ม ต่อเนื่องกันเป็นจำนวนเงินรวม.....บาท

(.....) ซึ่งข้าพเจ้าจะชำระเงินค่าโฆษณาแจ้งความกับเจ้าหน้าที่ของสมาคมฯ ที่

นำไปเสร็จรับเงินและหนังสือ "สัตวแพทยสาร" มาให้ข้าพเจ้าถูกต้องแล้วเป็นจำนวน.....เล่ม

ทุกครั้งที่ พิมพ์เสร็จโดยไม่คิดมูลค่า

ลงนาม.....

( )

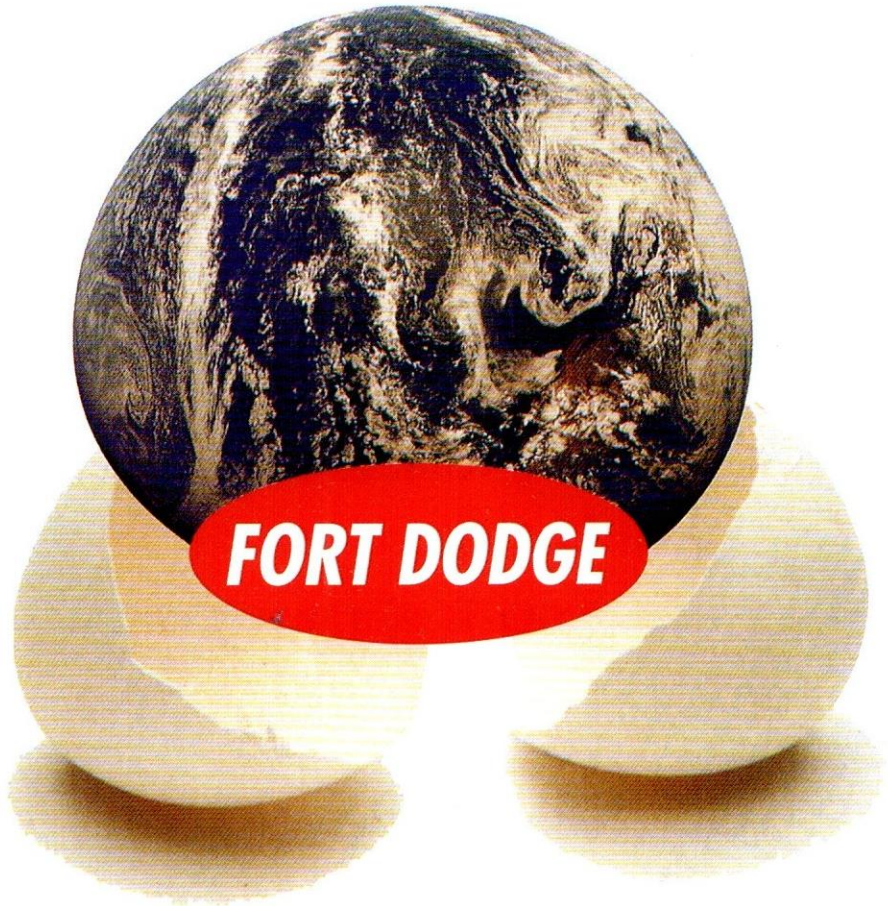
ตำแหน่ง.....

## อัตรากำลังโฆษณาแจ้งความใน "สัตวแพทยสาร"

เต็มหน้าในเล่ม (ขาว-ดำ)	2,000.00	บาท
ปกหลังด้านนอก (4 สี)	10,000.00	บาท
ปกหลังด้านใน (4 สี)	6,500.00	บาท
ปกหน้าด้านใน (4 สี)	7,000.00	บาท
ใบแทรกเดี่ยว	2,000.00	บาท
ใบแทรกคู่	3,500.00	บาท
บทความกึ่งโฆษณา (ไม่เกิน 3 หน้า)	5,000.00	บาท
โฆษณาบนซอง	3,000.00	บาท

หมายเหตุ - ใบแทรกในฉบับ ผู้ลงโฆษณาจัดพิมพ์เองให้เรียบร้อย (ขนาด 8 หน้ายก)





นึกถึง **วัดจีน** นึกถึง **ฟอรัท ดอดจ์**

บริษัท ฟอรัท ดอดจ์ แอนิมัล เฮลธ์ (ไทยแลนด์) จำกัด

61/5 ซอยนาวัน ถนนเชื้อเพลิง แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา กทม. 10120

โทร. 2498898-9, 2499986-9, 2499050 โทรสาร. 2498900



**ห้าสิบปีมุ่งมั่น ● สร้างสรรค์กว้างไกล ● สมาคมร่วมใจ ● สัตวแพทย์ไทยพัฒนา**

**สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์**

**ร่วมด้วย**

**สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**

**ขอเชิญร่วม**

**งานประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่ 24**

**และ**

**การประชุมวิชาการบำบัดโรคสัตว์เล็ก ครั้งที่ 4**

**ประจำปี พ.ศ. 2541**

**ในวาระฉลอง 50 ปี สัตวแพทย์สมาคมฯ**

**5-7 สิงหาคม 2541**

**ขอเชิญร่วมพบปะสังสรรค์และรำลึกถึงความหลังใน...**

**งานราตรี 50 ปี สัตวแพทย์สมาคมฯ**

**7 สิงหาคม 2541**

**ณ โรงแรมเซ็นทรัลพลาซ่า ลาดพร้าว**

**สมาชิกของสัตวแพทย์สมาคมฯ และ**

**สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์**

**ชำระค่าลงทะเบียนล่วงหน้า 800 บาท**

**ตั้งแต่บัดนี้ถึงก่อน 15 มิถุนายน 2541**

**ลงทะเบียนหน้างาน 1,000 บาท**

**ติดต่อลงทะเบียนได้ที่...สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย**

**โทร. 252-8773, 255-1309 โทรสาร 252-8773**

<http://www.veterinary.or.th>

E-mail : TVMA@veterinary.or.th