สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION
UNDER THE ROYAL PATRONAGE

ปีที่ 47 เล่มที่ 1
มีนาคม 2539

ISSN 0125-0620

Vol. 47 No. 1
March 1996

กำจัดเห็บ ให้หมดไป

ด้วย BAYER bayticol®

เมื่อท่านใช้ bayticol®

ท่านสามารถเว้นระยะเวลาการใช้ได้นานกว่า ซึ่งหมายถึงประหยัดทั้งเวลาและต้นทุนได้มากกว่า อันเป็นผลมาจากประสิทธิภาพที่ดีกว่า

ไบติคอล คันคว้าวิจัยและรับประกันคุณภาพโดยไบเออร์ เยอรมนี

สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION ปีที่ 47 เล่มที่ 1 มีนาคม 2539
UNDER THE ROYAL PATRONAGE Vol. 47 No. 1 March 1996

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมความสามัคคีและความเข้าใจระหว่างเพื่อนร่วมวิชาชีพ
2. เพื่อส่งเสริมวิชาชีพสัตวแพทย์ของประเทศไทยให้เจริญรุ่งเรือง
3. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการสัตวแพทย์แก่สมาชิกและผู้สนใจ
4. เพื่อแลกเปลี่ยนความคิดเห็นซึ่งกันและกันระหว่างผู้มีอาชีพสัตวแพทย์ และไม่มีความเกี่ยวข้องกับการเมือง

ค่าบำรุง

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

ระเบียบการ

ออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 เล่ม

กำหนดออก เดือนมีนาคม, มิถุนายน, กันยายน และธันวาคม

สำนักงาน

สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์
69/26 ซอยโรงภาพยนตร์เอเธนส์
ถนนพญาไท กรุงเทพฯ 10400
โทร. 252-8773

รูปเล่ม และจัดพิมพ์ โดย :
ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล ปอยท์ กราฟิค
6/3 หมู่ 10 ซ.พิทักษ์ธรรม 2 ถ.สายผัก เขตตลิ่งชัน กทม. 10170 Tel. 434-3575, 01-9271110 Fax : 435-1233

สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย

ในพระบรมราชูปถัมภ์

รายนามคณะกรรมการสัตวแพทยสมาคม ประจำปี พ.ศ. 2539-2540

คณะกรรมการที่ปรึกษา

1. อธิบดีกรมปศุสัตว์
2. เจ้ากรมการสัตว์ทหารบก
3. ประธานมูลนิธิสัตวแพทย์
4. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
6. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
7. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
8. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
9. นายกสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์
10. นายกสมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์และเคมีภัณฑ์สำหรับสัตว์
11. ปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์
12. ปลัดกระทรวงสาธารณสุข
13. น.สพ. อดิเรค ศรีประทักษ์
14. นายกสมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์แห่งประเทศไทย

คณะกรรมการบริหารสัตวแพทยสมาคมฯ

1. นายสัตวแพทย์บุญเชิด ชัยพานิช	นายกสัตวแพทยสมาคม ฯ
2. ศ.นายสัตวแพทย์พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป	อุปนายกคนที่ 1
3. นายสัตวแพทย์มาโนช เฟื่องฟูพงศ์	อุปนายกคนที่ 2
4. รศ.สัตวแพทย์หญิง ดร.อัจฉริยา ไศละสูต	เลขาธิการ
5. ผศ.สัตวแพทย์หญิง ดร.นันทริกา ชันซื่อ	ผู้ช่วยเลขาธิการ
6. สัตวแพทย์หญิงทัศนีย์ ชมภูจันทร์	เหรัญญิก
7. สัตวแพทย์หญิงมนยา เอกทัตร์	ผู้ช่วยเหรัญญิก
8. นายสัตวแพทย์วิทยา พรประยุทธ	นายทะเบียน
9. สัตวแพทย์หญิง ดร.ดรุณี ทันตสุวรรณ	สาราณียกร
10. สัตวแพทย์หญิงวาสนา ภิญโญชนม์	ผู้ช่วยสาราณียกร
11. นายสัตวแพทย์บรรจง อภิวัฒน์นากร	บรรณารักษ์
12. รศ.สัตวแพทย์หญิง ดร.วรรณดา สุจริต	วิเทศสัมพันธ์
13. นายสัตวแพทย์ประจักษ์ ถิรทินรัตน์	เผยแพร่วิชาการ
14. นายสัตวแพทย์หัสนัย สุขเสวี	ผู้ช่วยเผยแพร่วิชาการ
15. ร.อ.สัตวแพทย์หญิงปิยนุช ประสิทธิรัตน์	ปฏิคม
16. สัตวแพทย์หญิงปนันท์ ธนเจริญวัชร	ผู้ช่วยปฏิคม
17. นายสัตวแพทย์จีระ สรนุวัตร	ประชาสัมพันธ์
18. ผศ.นายสัตวแพทย์ ดร.ธงชัย เฉลิมชัยกิจ	ผู้ช่วยประชาสัมพันธ์
19. นายสัตวแพทย์กรีฑา ขันติ	กรรมการกลางสามัญ
20. รศ.สัตวแพทย์หญิงวรรณี เมืองเจริญ	กรรมการกลางสามัญ
21. รศ.นายสัตวแพทย์สงคราม เหลืองทองคำ	กรรมการกลางสามัญ
22. พ.อ.นายสัตวแพทย์พิษณุ สุขัษเฐียร	กรรมการกลางสามัญ
23. รศ.นายสัตวแพทย์สุวงศ์ ศาสตรวาหา	กรรมการกลางสามัญ
24. ผู้แทนบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ ม.เกษตร	กรรมการกลางสามัญ
25. ผู้แทนบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ	กรรมการกลางสามัญ
26. ผู้แทนบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ ม.ขอนแก่น	กรรมการกลางสามัญ

สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION
UNDER THE ROYAL PATRONAGE

ปีที่ 47 เล่มที่ 1 มีนาคม 2539
Vol. 47 No. 1 March 1996

สาราณียกร	ดรุณี ทันตสุวรรณ	**Editor**	Darunee Tuntasuvan
ผู้ช่วยสาราณียกร	สุดารัตน์ ดำรงควัฒนโภคิน	**Assistant editor**	Sudarat Damrongwatanapokin
ฝ่ายสาราณียกร	บุญมี สัญญสุจารี	**Editorial board**	Boonmee Sunyasootcharee
	พรเพ็ญ พัฒนาโสภณ		Pornpen Pathanasophon
	มานพ ม่วงใหญ่		Manop Muangyai
	มนูญ ไพบูลย์		Manoon Paiboon
	มงคล เตชะกำพุ		Monkol Tachakampu
	มาลินี ลิ้มโภคา		Malinee Limpoka
	ประโยชน์ ตันติเจริญยศ		Prayot Tanticharoenyos
	ปราณี ตันติวนิช		Pranee Tuntivanich
	เปรม พรหมคุปต์		Prem Brahmacupta
	วรปี สุวัฒนวิโรจน์		Vorapee Suwatanaviroj
	วิจิตร สุขเพสน์		Vichitr Sukhapesna
	สกล พันธุ์ยิ้ม		Sakol Panyim
	สัมพันธ์ สิงหจันทร์		Samphan Singhajan
	เสรี ดอนแก้วบัว		Saree Donkaewbua
	อรรณพ คุณาวงษ์กฤต		Annop Kunavongkrit
	อุราศรี ตันตสวัสดิ์		Urasri Tantaswasdi
	แอบ คงทน		Ab Kongthon
ฝ่ายจัดการ	สมชาย ช่างทอง	**Administrative board**	Somchai Changthong
	เมษินี ศาริกะภูติ		Mesinee Sarikaputi
	สุภาภรณ์ ยงพิศาลภพ		Supaporn Yongpisanpob

สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION ปีที่ 47 เล่มที่ 1 มีนาคม 2539

UNDER THE ROYAL PATRONAGE Vol. 47 No. 1 March 1996

สารบัญ

สาส์นจากนายกฯ 9

องค์ประกอบของแอนติเจนที่มีผลในการสร้างความคุ้มโรค
ต่อ Riemerella anatipestifer 13
พรเพ็ญ พัฒนโสภณ ทิพา ตันติเจริญยศ
ทากูโอะ ซาวาดะ

เทคนิคการเก็บรักษาคัพภะโคเย็นตัดอย่างรวดเร็ว 23
นุสสรา วัฒนกุล วินิจ คำสัง
พรรณพิไล เสกสิทธิ์ ปาริฉัตร สุขโต

การตรวจหาเชื้อโรทาไวรัสในมูลลูกโคปกติ 35
มลิวัลย์ ชุนถนอม

การตรวจสอบคุณภาพนมพาสเจอร์ไรส์ ก่อนและหลังปรับปรุงการผลิต 45
ชูรัฐ แปลกสงวนศรี

รายงานการประชุมสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศ ในพระบรมราชูปถัมภ์ 59

จากปก : โรคนิวคัดซินโดรม

สัตวแพทยสาร

JOURNAL OF THE THAI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION ปีที่ 47 เล่มที่ 1 มีนาคม 2539

UNDER THE ROYAL PATRONAGE Vol. 47 No. 1 March 1996

CONTENTS

President's Address 9

Immunogenic Component of *Riemerella anatipestifer* 13

Pornpen Pathanasophon Tipa Tanticharoenyos

Takuo Sawada

An Ultratapid Technique for Cryopreservation of Bovine Embryo 23

Nussara Vadhanakul Vinit Kumsung

Panpilai Sekasiddhi Parishat Sukkhato

Detection of Rotavirus in Normal Calf Feces 35

Maliwan Choontanom

Pasteurized Milk Quality Detection : Before and After the Processing Improvement 45

Churath Plaksanguansri

Meeting report of the Thai Veterinary Medical Association under the Royal Patronage 59

ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

สัตวแพทยสารเป็นวารสารทางวิชาการของสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ ซึ่งลงบทความผลงานค้นคว้าวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ที่เกี่ยวกับวิชาการและกิจการสาขาสัตวแพทยศาสตร์ คณะผู้จัดทำสัตวแพทยสารยินดีรับเรื่องจากทุกท่านที่กรุณาส่งมาเพื่อเผยแพร่และเพื่อความสะดวกในการพิจารณาเรื่อง ขอเสนอแนะดังนี้

1. เรื่องที่จะนำลง

1.1 งานค้นคว้าทดลองหรือวิจัยทางวิชาการที่เกี่ยวกับสัตว์หรือพืชอาหารสัตว์ ทั้งที่ทำในประเทศและต่างประเทศหรือวิทยานิพนธ์

1.2 บทความและย่อเอกสารที่เป็นประโยชน์ และเกี่ยวข้องกับวิชาการสัตวแพทย์และสัตวบาลทุกสาขา

1.3 ข่าวสัตวแพทย์และสัตวบาลทั้งในประเทศและต่างประเทศ

1.4 คำถาม-คำตอบ รวมทั้งจดหมายถึงคณะผู้จัดทำ

1.5 เรื่องอื่นๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

2. ต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับที่ส่งมาลงพิมพ์ในสัตวแพทยสารไม่ควรเป็นเรื่องที่เคยพิมพ์หรือกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อลงพิมพ์ในหนังสือหรือวารสารอื่น

2.2 ต้นฉบับเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ พร้อมสำเนา รวม 3 ชุด

2.3 ต้นฉบับควรเป็นตัวพิมพ์จริงที่ไม่ใช่สำเนา เว้นบรรทัดห่างกัน 2 ช่องไฟ

2.4 การลำดับเรื่องควรเรียงดังนี้

2.4.1 **ชื่อเรื่อง (Title)** ควรตั้งชื่อให้สั้นกะทัดรัดและสื่อความหมายได้ดี

2.4.2 **ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน (Author and co-workers)** เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้ง ภาษาไทยและภาษาอังกฤษใต้ชื่อเรื่อง พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่จะติดต่อได้สะดวก เป็นหมายเหตุ (footnote) (โปรดดูตัวอย่างจากวารสารเล่มนี้) กรุณาบอกหมายเลขโทรศัพท์หรือโทรสารเพื่อความรวดเร็วในการติดต่อ

2.4.3 **บทคัดย่อ (Abstract)** เขียนสั้นๆ ให้ได้เนื้อความครอบคลุมทั้งหมด ในกรณีที่ต้นฉบับเป็นภาษาไทยต้องมีชื่อเรื่อง และบทคัดย่อเป็นภาษาอังกฤษ และต้นฉบับภาษาอังกฤษ ต้องมีชื่อเรื่องและบทคัดย่อเป็นภาษาไทย บทคัดย่อในกรณีนี้ต้องเขียนไว้หน้าสุดท้ายของเรื่องเป็นหน้าหนึ่งต่างหาก

2.4.4 **คำสำคัญ (Key words)** เป็นคำหรือข้อความสั้นๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้นๆ รวมกันแล้วไม่เกิน 4 คำ ระบุอยู่ได้ (ขึ้นบรรทัดใหม่) บทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

2.4.5 **บทนำ (Introduction)** บรรยายความเป็นมาและควรมีการตรวจเอกสาร (literature review) ประกอบด้วย รวมทั้งอธิบายถึงจุดประสงค์ของงาน

2.4.6 **อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and methods)** ในกรณีที่เป็นการคิดค้นขึ้นใหม่ ควรอธิบายอย่างละเอียด ถ้าเป็นวิธีการที่ทราบกันอยู่แล้วและตีพิมพ์แล้ว ไม่ต้องบรรยายซ้ำควรเขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ไม่ควรอ้างถึง เครื่องหมายการค้า หรือชื่อการค้าในเรื่อง ควรทำเป็น foot note ไว้ที่ด้านล่างของหน้านั้นๆ

2.4.7 **ผล (Result)** การรายงานผลการทดลองเป็นคำบรรยาย ควรเป็นอย่างละเอียดและเข้าใจง่าย หากเป็นไปได้ควรเสนอผลในรูปของตาราง หรือรูปภาพหรือกราฟพร้อมทั้งบรรยายผลของการทดลองประกอบด้วย ทั้งนี้ตาราง รูปภาพ หรือกราฟไม่ควรแสดงถึงผลที่เหมือนกัน ถ้าเป็นตาราง (tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจนและขนาดพอเหมาะกับขนาดของหน้าของสัตวแพทยสาร ตารางควรมีความหมายในตัวเองและต้องมีคำอธิบายเหนือตารางนั้นๆ ด้วย ในกรณีที่เป็นรูปภาพ (figures) ควรเป็นภาพขาวดำ หรือสไลด์ หากต้องการให้ตีพิมพ์ภาพสี ทางคณะผู้จัดทำจะพิจารณาถึงความเหมาะสมและค่าใช้จ่าย หากมีหลายรูปต้องลำดับก่อนหลัง

ของรูป พร้อมทั้งมีเครื่องหมายกำหนดบอกด้านหัวของรูป และอธิบายรายละเอียดไว้ใต้รูปนั้นๆ

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

2.4.9 **สรุป (Conclusion)** อาจมีหรือ ไม่มีก็ได้ หากเป็นบทความการตรวจเอกสาร (review papers) หรือเป็นการทดลองที่มีหลายข้อควรมีบทสรุปที่เขียนใจความที่สำคัญ และคุณค่าของงาน เพื่อผู้อ่านจะได้เข้าใจได้ง่ายขึ้น

2.4.10 **กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)** ควรมีในกรณีที่ได้รับความช่วยเหลือ หรือความร่วมมือที่ให้การสนับสนุนงานค้นคว้าวิจัยนั้นๆ

2.4.11 **เอกสารอ้างอิง (Reference)**

ก. กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง ควรอ้างอิงดังนี้ คือ

1. กรณีที่อ้างจากการตรวจเอกสารโดยผู้อื่น 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. กรณีอ้างถึงบุคคลหรือเรื่องที่ไม่เคยลงพิมพ์มาก่อน (personal comm.) ให้อ้างเฉพาะในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ต้องนำไปลงในรายชื่อเอกสารอ้างอิง

ข. การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่องควรขึ้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อนแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ โดยเขียนเรียงตามลำดับพยัญชนะของผู้เขียน (ถ้าเป็นภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง) แล้วตามด้วยปี ชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างถึง ดังตัวอย่าง

มานพ ม่วงใหญ่ และธงชัย เฉลิมชัยกิจ 1988 (2531) Sarcocystis ในประเทศไทย อุบัติการของ Sarcocystis ในโคและกระบือ เวชชสารสัตวแพทย์ 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 และบรรณาธิการ หากมี) สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ หน้าแรก และหน้าสุดท้ายที่อ้างถึง

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

หมายเหตุ ชื่อทางวิทยาศาสตร์ทั้งภาษาอังกฤษ และทับศัพท์ภาษาไทยให้พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรที่ต่างจากตัวเรื่อง

3. ค่าเรื่อง ไม่มีค่าเรื่อง แต่ผู้เขียนชื่อแรกจะได้รับสำเนาพิมพ์ (Reprints) 7 ชุด

4. **ความยาวของเรื่อง** ไม่ควรเกิน 1.5 ยก หรือ 12 หน้า

5. **สถานที่รับต้นฉบับ**

สาราณียกร สัตวแพทยสาร
สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์
69/26 ซอยโรงกาพยนตร์เอเธนส์ ถนนพญาไท
กรุงเทพฯ 10400 โทร. 255-1309, 252-8773

จาก สาราณียกร

สวัสดีค่ะ

ก่อนอื่น ขอแสดงความยินดีกับนายสัตวแพทย์ สุวิทย์ ผลลาภ ที่ได้รับแต่งตั้งให้เป็นอธิบดีกรมปศุสัตว์คนใหม่

หลังจากที่ น.สพ.บุญเชิด ชัยพานิช ได้รับเลือกให้เป็นนายกสัตวแพทยสมาคมฯ แล้ว ก็ได้แต่งตั้งคณะกรรมการชุดใหม่ ดังนั้นบทความวิชาการที่ตีพิมพ์ในสัตวแพทยสารฉบับนี้ คือ ปีที่ 47 ฉบับที่ 1 และต่อไปอีก 7 ฉบับ จนถึงปีที่ 48 ฉบับที่ 4 จะดำเนินงานโดยคณะผู้ทรงคุณวุฒิชุดใหม่ ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นผู้พิจารณาและให้คำแนะนำที่สำคัญแก่ผู้เขียน เพื่อประโยชน์ในทางวิชาการด้านสัตวแพทย์ มิใช่แต่เพียงในประเทศไทยเท่านั้น แต่ทั่วโลกด้วย (ISSN 0125-0620) ดังที่เคยปรากฏว่าบทคัดย่อบางเรื่องถูกเสนอใน Veterinary Bulletin ของ CAB International, UK หรือได้รับการอ้างอิงถึงจากนักวิชาการหลายสาขา

คณะสาราณียกรสัตวแพทยสารมีความยินดีเป็นอย่างยิ่งที่จะเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานของท่าน ซึ่งอาจเป็นงานวิจัย รวบรวมเอกสาร หรือรายงานสัตว์ป่วย ก็ได้ และหากท่านสมาชิกได้รับหนังสือล่าช้าไปบ้าง ก็ขอได้โปรดเข้าใจในวิธีการดำเนินการของคณะผู้จัดทำ เพื่อให้วารสารสัตวแพทยสารนี้เป็นเอกสารที่ทรงคุณค่าทางวิชาการ สมกับที่ได้มีอายุมาถึง 47 ปี ขอขอบคุณค่ะ

ดรุณี ทันตสุวรรณ
สาราณียกรฯ

สาส์นจาก นายกสัตวแพทยสมาคมฯ

เรียน ท่านสมาชิกสัตวแพทยสมาคมฯ ที่เคารพทุกท่าน

ในโอกาสที่ผมและคณะกรรมการบริหารชุดใหม่ ได้มีโอกาสมาทำหน้าที่บริหารสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2539 เป็นต้นมา ผมขอขอบคุณท่านสมาชิกทุกท่าน ที่ได้ให้ความไว้วางใจให้ผมและคณะกรรมการบริหารฯ เข้ามาบริหารสมาคมฯ ซึ่งเป็นสมาคมของวิชาชีพ ได้ทำหน้าที่เป็นตัวแทนของสัตวแพทย์ในด้านต่าง ๆ มากว่า 48 ปี และมีผลงานที่ผ่านมามากมาย

คณะกรรมการบริหารสมาคมฯ ชุดนี้ จะยึดหลักการบริหารสมาคมฯ โดยปฏิบัติตามข้อบังคับของสมาคมฯ ประชาสัมพันธ์สมาคมฯ และวิชาชีพ สานต่องานกิจกรรมต่าง ๆ ให้ลุล่วง ให้ประโยชน์แก่มวลสมาชิกทั้งภาครัฐ และเอกชน พัฒนากิจกรรมของสมาคมฯ สู่ความเป็นสากล เช่น กิจกรรมกับสมาคมฯ ต่างประเทศ FAVA และ WAVFH ส่งเสริมให้สัตวแพทย์มีกิจกรรมร่วมกัน และมีความสามัคคีกันในหมู่คณะ ผมมีความหวังอยากให้สัตวแพทย์ทุกท่าน ผู้ยังไม่ได้เป็นสมาชิกของสมาคมฯ มาร่วมกันสมัครเป็นสมาชิก เพื่อพัฒนาวิชาชีพสัตวแพทย์ ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อวิชาชีพและสังคมมากที่สุด

เนื่องในปี พ.ศ. 2539 เป็นวาระมหามงคลสมัยที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ เฉลิมฉลวัลย์ราชสมบัติครบรอบปีที่ 50 สัตวแพทยสมาคมฯ ซึ่งเป็นสมาคมหนึ่งในพระบรมราชูปถัมภ์ ขอน้อมถวายความจงรักภักดีระลึกในพระมหากรุณาธิคุณของพระองค์ท่านด้วยกิจกรรมต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ต่อสาธารณกุศล อาทิเช่น ในวันที่ 21 มิถุนายน 2539 สมาคมฯ ได้จัดงานกอล์ฟการกุศล เพื่อหารายได้ ขึ้นที่สนามบางกอกกอล์ฟคลับ ต.บางกะดี จ.ปทุมธานี ซึ่งในงานนี้จะเป็นการเชื่อมสัมพันธ์ในมวลหมู่สมาชิก ผมขอเรียนเชิญให้ท่านสมาชิกมาร่วมงาน ซึ่งนอกจากจะได้ออกกำลังกายสนุกกับการกีฬาแล้ว ยังได้ทำประโยชน์เพื่อสังคมอีกด้วย

ในนามของนายกสมาคมฯ ขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ให้ความสนับสนุนพร้อมให้ความร่วมมือ ร่วมแรงร่วมใจ และกำลังทรัพย์ ทำให้กิจกรรมของสัตวแพทยสมาคมฯ ที่ผ่านมาลุล่วงไปได้ด้วยดี และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าคงจะได้รับการสนับสนุนจากท่านสมาชิกในกิจกรรมต่าง ๆ ของสมาคมฯ ในโอกาสต่อ ๆ ไป

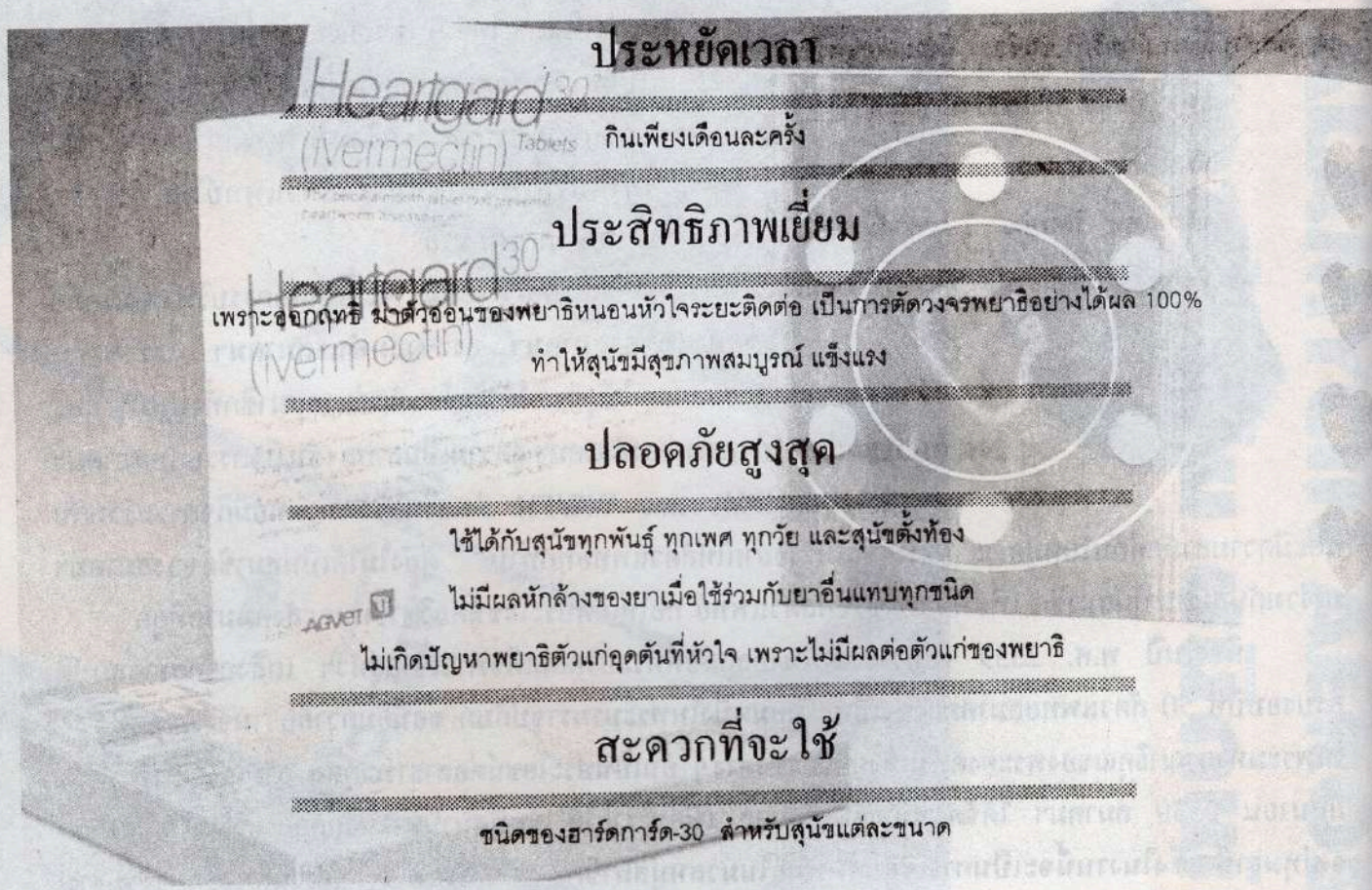
ท้ายนี้ ขออำนาจคุณพระศรีรัตนตรัย คุณพระบารมีของพระมหากษัตราธิราชเจ้าทุกพระองค์ พร้อมสิ่งศักดิ์สิทธิ์ทั้งหลายในสากลพิภพ ดลบันดาลให้ท่านสมาชิกและครอบครัวประสบความสุข ความเจริญยิ่ง ๆ ขึ้นไป

(นายสัตวแพทย์บุญเชิด ชัยพานิช)
นายกสัตวแพทยสมาคมฯ

แนวทางใหม่และง่ายที่สุด ในการป้องกัน พยาธิหนอนหัวใจ

ฮาร์ทการ์ด-30®

Heartgard 30®



คำแนะนำ : *เริ่มให้สุนัขได้รับยาตั้งแต่อายุ 6 สัปดาห์ขึ้นไป เพื่อสุขภาพที่สมบูรณ์ แข็งแรงของสุนัขของท่าน และเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ควรให้สุนัขได้รับยาอย่างต่อเนื่องตามโปรแกรม*

The most widely used small animal medication in America

Heartgard 30®
(ivermectin)

ผลิตภัณฑ์คุณภาพจาก

MSD AGVET

ผู้แทนจำหน่าย

บริษัท บี เอ็ล เอช เทรดดิ้ง จำกัด

27/2-3 ถนนวิทยุ กทม. 10330 **โทร. 2530178-81**

ด้วยความปรารถนาดีจาก

บริษัท ฟาร์มาเซีย แอนด์ อัพยอห์น จำกัด

THE PHARMACIA & UPJOHN PERSONAL PROTECTION PLAN
CONSISTENT RESULTS
TM

ได้ผลเสมอ

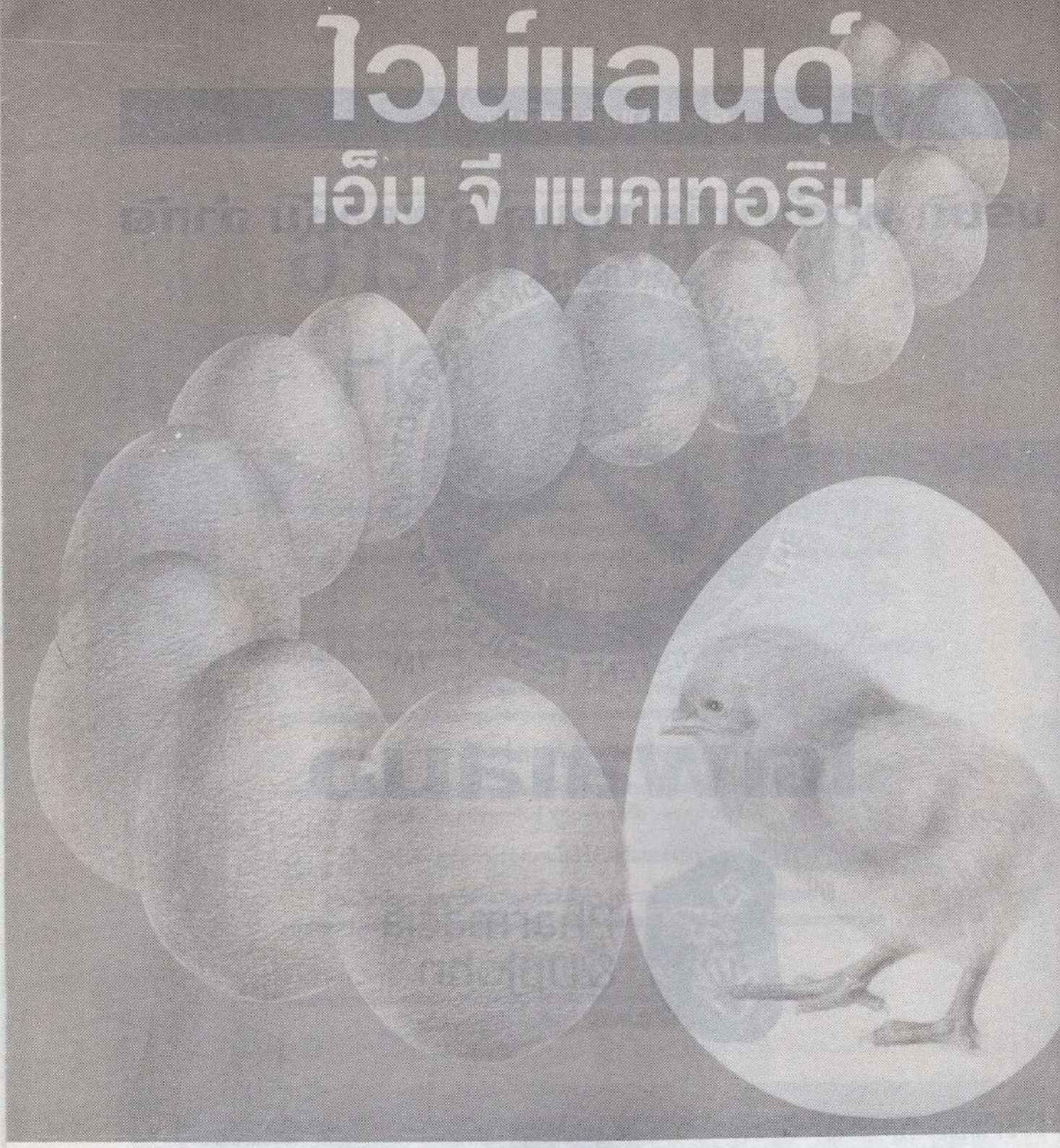
Pharmacia
&Upjohn

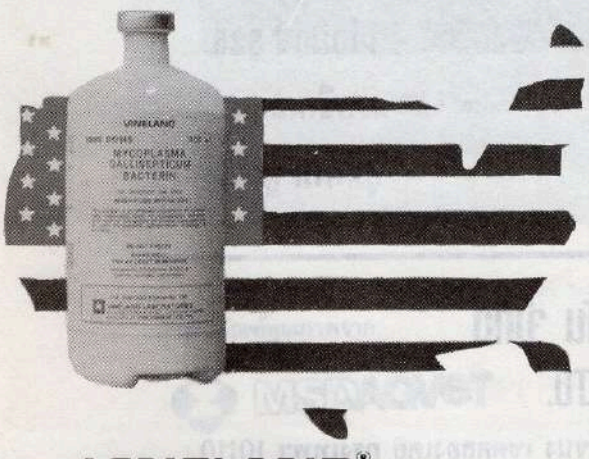
ลินโคมิกซ์ 110	ลินโค-สะเปคติน 100	นีโอมิกซ์ 25
ลินโคมิกซ์-เอส	ลินโค-สะเปคติน ชนิดฉีด	นีโอมิกซ์ 325
ลินโค-สะเปคติน 44 พรีมิกซ์	ลูทาไลซ์	เอคซีเนล
ลินโค-สะเปคติน 880	อีซีพี	ยูนิเพท นูตริแทบ

บริษัท ฟาร์มาเซีย แอนด์ อัพยอห์น จำกัด
PHARMACIA & UPJOHN CO., LTD.

75 อาคารไวท์กรุ๊ป ชั้น 6 ซ.แสงจันทร์-รูเบีย ถ.สุขุมวิท 42 แขวงพระโขนง เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10110
75 Soi Saengchan-Rubia Sukhumvit 42 Road, Prakanong Klongtoey, Bangkok 10110
โทร. 391-7567, 381-0063 แฟกซ์ : 381-1365

ไวน์แลนด์
เอ็ม จี แบคเทอริน





เพิ่มผลผลิต... คุ้มครองชีวิตลูกไก่

ด้วย

ไวน์แลนด์ เอ็ม จี แบคเทอริน

วัคซีน ป้องกันการติดเชื้อ มัยโคพลาสมา (เอ็ม

VINELAND®

บริษัท ไวน์แลนด์ ลาบอราทอรีส์

สหรัฐอเมริกา

บริษัท เวลโนว่น อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
89/425 หมู่บ้านกรีนเลค หมู่ 2 อ.บางพลี
จ.สมุทรปราการ 10540 โทร. 3164370-5 แฟกซ์. 316

องค์ประกอบของแอนติเจนที่มีผลในการสร้างความคุ้มโรคต่อ *Riemerella anatipestifer*

พรเพ็ญ พัฒนโสภณ* ทิพา ตันติเจริญยศ* ทากูโอะ ซาวาดะ**

บทคัดย่อ

ศึกษาความคุ้มของวัคซีนป้องกันโรคนิวดัคซินโดรม (Anatipestifer infection) ซึ่งเตรียมจากเชื้อ *Riemerella anatipestifer* สเตรน 1081 ซีโรไทป์ 1 ในเป็ด โดยใช้ส่วนโปรตีนกึ่งบริสุทธิ์ที่ตกตะกอนโดย ammonium sulfate และสกัดด้วย Sephadex G-200 gel filtration วัคซีนที่มีโปรตีน 100 μg และมีอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์อยู่ 25% ทำหน้าที่เป็นแอ็ดจูแวนท์ สามารถให้ความคุ้มโรคในเป็ดอายุ 14 วันได้ 100% โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังเพียงครั้งเดียว ต่อการฉีดพิษทับด้วยเชื้อดังกล่าว $5x10^9$ Colonyofarming Units หลังการฉีดวัคซีน 21 วัน เมื่อลดปริมาณโปรตีนลงเหลือ 50 μg สามารถคุ้มโรคได้ 50% ค่า median effective dose (ED_{50}) ของโปรตีนในวัคซีนได้จากการคำนวณเท่ากับ 43 μg

วัคซีนเชื้อตายชนิดเซลล์รวมน้ำเลี้ยงสามารถให้ความคุ้มได้สูงอย่างมีนัยสำคัญต่อการฉีดพิษทับ ด้วยเชื้อสเตรนเดียวกัน แต่จะให้ความคุ้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทำให้วัคซีนร้อน 100 °C นาน 1 ชั่วโมง หรือย่อยด้วยเอ็นซายม์ trypsin ในขณะที่เอ็นซายม์ lipase ลดความคุ้มของวัคซีนได้ปานกลางอย่างมีนัยสำคัญ

จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า โปรตีน หรือสารประกอบ peptide เป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในการสร้างความคุ้มโรคต่อเชื้อ *Riemerella anatipestifer* ในลูกเป็ด ในขณะที่ lipid หรือสารประกอบของ lipid มีผลต่อการสร้างความคุ้มรองลงมา

* กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กทม. 10900

** Nippon Veterinary and Animal Science University Japan

INTRODUCTION

Two types of vaccines, inactivated bacterin and live vaccine, were reported as successful prophylaxis against infection with virulent *R. anatipestifer* strains of the same serotype (Sandhu, 1979; Layton and Sandhu, 1984; Sandhu, 1991). However no information was reported sbout what component of the bacteria or vaccine is immunogenic. No research on the vaccine has also been done in Thailand.

Riemerella anatipestifer has been once nominated as *Pasteurella anatipestifer,* species incertae sedis in Burgey's Manual of Systemic Bacteriology (Mannheim, 1984). *R. anatipestifer* and *P. multocida* have enough characteristic similarities including morphology and high pathogenicity in ducks. Immunity induced by the strains of *P. multocida* and *R. anatipestifer* is reportedly type specific (Rebers and Heddleston, 1974; Sandhu, 1979). Their serotypes have been determined by the gel-diffusion precipitin test with heat stable extract (100 to 121 °C, 1 h). Lipopolysaccharides (LPS) of *P. multocida* are major antigens reponsible for the type specificity (Rebers and Heddleston, 1974; Rebers *et al.,* 1980; Rimler and Brown, 1982), but purified polysaccharide antigen by cetylpyridinium chloride failed to provide protection (Kodama *et al.,* 1981). Therefore protein integrated in the basic LPS structure was essential for immunogenicity, because the treatment of the complex with phenol abolished its property (Rebers and Heddleston, 1974). An immunogenic fraction of *P. multocida* consisted mainly of a high-molecular weight protein-polysaccharide complex containing 25-27% protein and 10.7% carbo-hydrate (Ganfield *et al.,* 1976). Highly protective antigens (LPS-protein antigen complex) have been found in soluble fraction of *P. multocida* extracted by heating at 56 °C in 2.5% NaCl or prolonged stirring in formalin saline (Kodama *et al.,* 1982) or potassium thiocyanate extraction followed by ultracen-trifugation at 105,000 x g for recovering the antigen (McKinney *et al.,* 1982).

In this study a local isolate of serotype 1, which is the most prevalent serotype in relation to outbreaks in Thailand (Pathanasopahon *et al.,* 1995) was selected as the representative strain for characterization of antigenicity. This report is also documented the first attempt in the world to prepare sub-unit *Riemerella anatipestifer* vaccine which yielded high protection in ducks.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains

R. anatipestifer strain 1081 of serothpe 1, which is highly lethal for ducks and gave the highest protection against homologous challenge, was selected from the local isolates and used as the representative strain for characterization of immunogenicity.

Partial purification of protein antigen

The lyophilized culture was reconstituted in 0.3% yeast extract added tryptic soy broth (Difco) (TSBY) and streaked on tryptic soy agar (Difco) with 5% defibrinated sheep blood (TSAB). The agar plates were incubated in 5% CO_2 incubator. One or two colonies of the culture were inoculated into 10 ml of TSBY and incubated in shaker bath at 37 °C for 24 h. The broth

culture was transferred to 1 litre of TSBY medium in 2 litre-flask and incubated as mentioned above. Purity was checked by Gram-staining and plating on TSAB. Bacterial cells were sedimented by centrifugation at 12,000 x g for 20 min at 4°C and washed 3 times in PBS, and finally resuspended in 25 ml of Tris-EDTA. The cell suspension was sonicated for 15 min in ice box. The extract was designated as crude extract (CE). The CE was centrifuged to seperate cell debris as above mentioned. Protein antigen in the supernatant was precipitated by slow adding of saturated ammonium sulfate at an equal volume with continuous gentle stirring on ice box. The precipitated material was harvested by centrifugation at 5,000 x g for 30 min at 4°C, resuspended in 5 ml of Tris-EDTA and dialyzed against PBS (pH 7.2) at 4°C for 3 days. Finally 7 ml of remaining non-dialyzable component (ammonium precipitated fraction : APF) was used for gel filtration. Gel filtration of the sample by Sephadex G-200 (Pharmacia) column of 2.5 x 48 cm was performed as described by Sawada *et al.* (1983). After elution by Tris-EDTA at a flow rate of 20 ml/h for 12 h, two peaks were obrained. The first fraction (fraction A) with a total volume of 37.5 ml of high molecular weight protein peak (partially purified fraction : PPF) was collected and concentrated by centrifugation in Centriprep-10 concentrator (Amicon, Inc.). Protein estination wasdone using Bio-Rad protein assay based on the method of Bradford (1976). Finally the protein concentration of PPF was adjusted to 50, 100, 200 and 400 μg/dose and adsorbed onto aluminium hydroxide gel (25% of $Al(OH)_3$ v/v). The adjuvant was provided by Foot and Mounth Disease Center, Veterinary Biologic Products Division, Department of Livestock Development, Thailand.

Heat or enzyme treatment

One litre of broth of strain 1081 was prepared as mentioned above. Part of the broth culture was diluted and plated on TSAB to check purity and to determine colony-forming units (CFU/ml). The broth culture was inactivated by addition of 0.3% formalin (v/v) and stirrd at room temperature overnight. Optical density was checked by transferring a part of the sample to a cuvette to determine the absorbance at 540 nm (Spectronic 20 A, Shimadzu, Millon Roy Company). The whole broth colture (WC) was standardized the concentration to 2 x 10^{10} CFU/ml (double concentrated) by centrifugation at 4,000 x g for 20 min at 4°C and removing a part of supernatant. Protein determination was made by the same method as mentioned above.

Enzyme treatment was done by incubating the WC with equal volumes of the following enzymes (Sigma) at 37°C for 2 h : 0.9 units of wheat germ lipase per ml in 0.5 M phosphate buffer (PB), pH 7.5; 1,000 units of muramidase per ml in 0.05 M PB, pH 6.5; 6,000 units of trypsin per ml in 0.05 M Tris-buffer, pH 7.5.

Heat treatment was done by incubating the standardized WC, which was diluted with equal volume of CF to obtain the same concentration of bacterial cell as that in the enzyme treatment, at various degrees of temperature (37, 56 or 100°C) for 1 or 2 h in water bath.

Vaccination and challenge exposure

One-day-old male Khakhi campbel ducklings, free from *R. anatipestifer* infection, which were bred at Bangprakong Livestock Breeding Station, raised in the experimental animal house of Nationalinstitute of Animal Health were vaccinated at 2 weeks of age subcutaneously at the feather line of the neck with 0.5 ml of immunogen. Challenge exposure was done intramuscularly at the thigh with 0.5 ml of 10^{10} viable organisms/ml of strain 1081 three weeks after immunization. The control birds were raised in the same condition. The ducks were observed each day for 14 days after the vaccination and the challenge. Responses of the ducks to challenge exposure were determined by quantal (live-dead) method. The median effective dose (ED_{50}) was determined by the method of Spearman and Kärber (Finney, 1964). Before the challenge experiments, the median lethal dose (LD_{50}) of *R. anatipestifer* strains for ducks was determined. Concentrations of the bacterial suspensions were adjusted by spectrophotometer and CFU was measured by direct agar plate counting. The LD_{50} of strain 1081, which is one of the highly pathogenic strains, was more than 5×10^8 but less than 5×10^9 CFU. While LD_{100} was more than 5×10^9 CFU. Therefore 0.5 ml of 10^{10} CFU dose was used for challenge.

Statistics

Since there were variable mortalities in control ducks after challenge exposure, the protection was evaluated with a protective index calculated as described by Samdhu (1979):

$$\text{Protective index (PI)} = \frac{\text{\%MORTALITY IN CONTROLS-\%MORTALITY IN VACCINATED}}{\text{\%MORTALITY IN CONTROLS}} \times 100$$

A chi-square test was performed to compare immunized and control groups.

RESULTS

Gel filtration

Crude protein extract was precipitated by saturated ammonium sulfate and separated through the Sephadex G-200 column. Two fractions (A and B) corresponding to two protein peaks were each pooled. Fraction A (1 st peak) contained 172.67 μg/ml of protein while fraction B (2 nd peak) contained 2.3 μg/ml. Therefore only fraction A was studied further for protection test in ducklings. The efficacy of protein inoculums in ducks is shown in Table 1. A single subcutaneous inoculation of 100 μg protein of fraction A induced 100% protection against challenge exposure with 5×10^9 CFU of strain 1081 which killed all the unvaccinated control birds, while 50 μg protein inoculum protected a half of them. The ED_{50} was 43 μg of protein per dose.

Heat or enzyme treatments

Influence of heat or enzyme treatments of WC on protective activities in ducks is shown in Table 2. Heating at 37°C and 56°C did not have a noticeable effect on the immunogenicity.

However heating at 100°C for 1 h significantly reduced the protective effect. Muramidase had mild effect but not significant, while the treatment with lipase yielded moderate effect with significant reduction of the protection ($P<0.05$). Treatment with trypsin gave highly significant reduction of protective activity.

Table 1. Protection induced with a gel-filtrated antigen from *R. anatipestifer* strain 1081 against homologous challenge in Khakhi Campbel ducks

Protein antigen[a] (μg/dose)	Mortality (No. dead/No.tested)	% mortality	PI[b]
50	5/10	50	50
100	0/10	0	100
200	2/10	20	80
400	1/7	14	86
Nonimmune	10/10	100	0

[a] All the antigens as inoculum were adsorbed onto aluminium hydroxide to 25% (v/v) and injected once subcutaneously into 14-day-old ducklings.

[b] PI : protective index

Table 2 Influence of various treatments on immunogeniaty of broth culture bacterin prepand from strain 1081 in Khakhi Compbel ducks

Treatment	Protein content (μg/ml)	Mortality (No. dead/No. tested)	% mortality	PI[c]
Heat[a]				
37°C, 2h	1,312.5	5/18	27.8	72.2[e]
56°C, 1h	1,208.3	4/20	20	80[e]
100°C, 1h	750	13/20	65	35[d]
Enzyme[b]				
Lipase	1,293	8/18	44.4	55.6[d]
Muramidase	1,125	5/18	27.8	72.2[e]
Trypsin	1,292	12/19	63.2	36.8[d]
Control				
Untreated-vaccine (WC)[f]	1,395	4/20	20	80
Nonimmune		20/20	100	0

[a] Heat treatment was done in water-bath.

[b] Enzyme treatment was done at 37°C for 2 h in water-bath.

[c] PI : protective index

[d] Significantly different ($P<0.05$)

[e] Significantly not different

[f] WC : whole culture

DISCUSSION

In partial purification by gel filtration, the protein content, which was necessary for protection of ducks from challenge exposure was more than 6 times different between the WC and fraction A. As shown in Table2, the WC vaccine containing 1,395 μg/ml protein protected 80% while 100 μg/dose (0.5 ml) of fraction A protected 100% (Table 1). The quantitative difference was clearly noticed and showed that partial purified sub-unit vaccine was highly immunogenic. Commercial production of such a vaccine may be possible when industrial high technologies are employed

Results of the heat or trypsin treatment and ammonium sulfate precipitation indicated that protein or peptid moiety was an essential factor in the protective antigen (s) of *R. anatipestifer.* Decreasing of PI by lipase treatment was approximately half of that by heat or trypsin (24.4, 45 and 43.2 respectively). Therefore protective antigen (s) of *R. anatipestifer* is belived to consist approximately of lipid or lipid aggregated substance/protein or peptide moiety ratio of 0.5 by activity.

It is not known whether the protein component (s) alone is immunogenic or protein integrated in basic LPS structure is essential for immuogenicity similar to that described in *P. multocida* (Rebers and Heddleston, 1974). A direct comparison of these antigens in terms of their chemical compositon is possible only when they are purified from an identical method.

COMCLUSION

The sub-unit vaccine prepared from partially purified protein fraction containing 100 μg protein was highly efficacious. Protein or peptide moiety antigen played most important role of immunogenicity of *R. anatipestifer* in ducklings while lipid or lipid aggregated substant (s) had minor responsibility.

REFERENCES

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitative of microgram quantitties of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72 : 248-254.

Finney, D.J. 1964. The Spearman-Kärber method. In Statistical methods. In biological assay, 2nd ed., Charles Griffin, London, pp. 512.

Ganfield, D.J., Rebers, P.A. and Heddleston, K.L. 1976. Immunogenic and toxic properties of a purified lipopolysaccharide-protein complex from *Pasteurella multocida.* Infect. Immun. 14 : 990-999.

Kodama, H., Matsumoto, M. and Snow, L.M. 1981. Immunogenicity of capsular antigens of *Pasteurella multocida* in turkeys. Am. J. Vet. Res. 42 : 1838-1840.

Kodama, H., Matsumoto, M., Fuquay, J.I. and Syuto, B. 1982. Soluble fractions of *Pasteurella multocida* : Their protective qualuties against fowl cholera in turkeys. Avian Dis., 27 : 283-291.

Hea

in Table 2

Layton, H.W. and Sandhu, T.S. 1984. Protection of ducklings with a broth-grown *Pasteurlla anatipestifer* bacterin. Avian Dis., 28 : 718-726.

Mannheim, W. 1984. Family III. *Pasteurellaceae* Pohl 1981a. In Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. Krieg N.R. and Holt, J.G. (ed.), The Williams & Wilkins Co., Baltimore. p. 550-557.

McKinney, K.L., Rebers, P.A. and Rimler, R.B. 1982. Immunogenicity of potassium thiocyanate extracted and electrofocused *Pasteurella multocida* X-731 antigens in chickens and mice. Can. J. Microbiol., 28 : 1219-1225.

Pathanasophon, P., Tanticharoenyos, T. and Sawada, T. 1995. New serotypes of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand. Avian Pathol., 24 : 195-199.

Rebers P.A. and Heddleston, K.L. 1974. Immunological comparison of Westphal-type lipopolysaccharides and free endotoxins from encapsulated and a non-encapsulated avian strain of *Pasteurella multocida.* Am. J. Vet. Res., 35 : 555-560.

Rebers, P.A., Marshall, P., Rimler, R.B., Boykins, R.A. and Rhoades, K.R. 1980. Immunizing porperties of Westphal lipopolysaccharide from an avian strain of *Pasteurella multocida.* Am. J. Vet. Res., 41 : 1650-1654.

Rimler, R.B. and Brown, W.E. 1982. Comparisons of the serologic response of chickens to *Pasteurella multocida* and its lipopolysaccharide. Avian Dis., 26 : 842-846.

Sandhu, T.S. 1979. Immunization of White Peking ducklings against *Pasteurella anatipestifer* infection. Avian Dis., 23 : 662-669.

Sandhu, T.S. 1991. Immunogenicity and safety of a live *Pasteurella anatipestifer* vaccine in White Pekin ducklings: laboratory and field trials. Avian Pathol., 20 : 423-432.

Sawada, T., Seto, K., Fukui, K and Muramatsu, M. 1983. Effect of subsequent inoculation with erysipelas bacteria on swine immunized with an attenuated strain. Annu. Rep. Natl. Vet. Assay Lab. (Jpn.), 20 : 3-9.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to Bangprakong Livestock Breeding Station for providing Khakhi Campbel ducklings in these experiments.

Immunogenic Component of *Riemerella anatipestifer*

Pornpen Pathanasophon[1] Tipa Tanticharoenyos[1] Takuo Sawada[2]

Abstract

Immunogenicity of partially purified protein fraction obtained from the local strain 1081 of *Riemerella anatipestifer* serotype 1 by ammonium sulfate precipitation and Sephadex G-200 gel filtration was determined in Khaki Campbell ducklings. One subcutaneous injection with 100 μg of the protein adsorbed onto aluminium hydroxide gel into 14-day-old ducklings gave 100% protection against challenge exposure with $5x10^9$ Colony-forming units of the honologous strain 21 days after immunization. While inoculum containing 50 μg protein yielded 50% protection. The median effective dose (ED_{50}) was 43 μg of the protein.

Efficacy test of 0.3% formalin added whole broth culture bacterin gave highly significant protection with only singly inoculation against challenge with homologous strain but significantly lost its immunogenicity after treatment with heat (100°C, 1h) or trypsin while treatment with lipase gave moderately significant effect.

These results indicated that protein or peptide moiety antigen played most important role of immunogenicity of *R. anatipestifer* in ducklings while lipid or lipid aggregated substant (s) had minor responsibility.

[1] National Institute of Animal Health, Kasetkang, Bangkhen, Bangkok 10900 Thailand.
[2] Nippon Veterinary and Animal Science University, Musashino, Tokyo 180, Japan

ด้วยอภินันทนาการ

จาก

BACO

บริษัท ไบโอเท็ค แอ็กกริ-บิซเน็ส จำกัด

ที่ 1112/53-75 ชั้นที่ 5 ศูนย์การค้าพระโขนง ถนนสุขุมวิท
แขวงพระโขนง เขตพระโขนง กรุงเทพฯ 10110 โทร. 392-1901-4

อภินันทนาการ

จาก

COMVET

บริษัท คอมเว็ท จำกัด

43/1086 ถนนรามอินทรา แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพฯ 10220
โทร. 552-7836-8, 552-1518, 552-4500
แฟกซ์ 552-4710

MALLINCKRODT
VETERINARY

บริษัท มอลลินครอท เว็ทเทอรินารี จำกัด

ผู้ผลิตจำหน่าย

- ❑ ไทรเวทตริน 24% ชนิดฉีด
- ❑ ไทรบริสเซน 48% ชนิดฉีด
- ❑ ไทรบริสเซน พี.เอส
- ❑ ไทรบริสเซน โอ.เอส
- ❑ ไทรบริสเซน โบลัส
- ❑ ไทรบริสเซน 40% ชนิดผง
- ❑ ทรัยควิน
- ❑ ไทโอทิลิน 10% ชนิดฉีด
- ❑ ไทโอทิลิน 80% พรีมิกซ์
- ❑ คูเปอร์เท็ต แอล-เอ
- ❑ ฟรีโซเจน สำหรับฉีด
- ❑ วัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย TYPE O และ TYPE OA
- ❑ แร็บโดมูน
- ❑ กูซาเน็กซ์
- ❑ ยาฆ่าแมลง ซีสลิน
- ❑ สโตม็อกซิน อี.ซี 20%
- ❑ แทสมิกซ์ 44 พรีมิกซ์
- ❑ บอร์ซัพพลีเม้นท์
- ❑ เอ็นร่ามัยซิน เอฟ 40 สารเร่งการเจริญเติบโต
- ❑ อ๊อกซีสแตท
- ❑ โมลต์สแตท
- ❑ ซัลกิล
- ❑ ยาฉีดอิมมิโซล
- ❑ แพลนเนต
- ❑ ไบโอฟอส
- ❑ ไดนาฟอส
- ❑ ออมนิไซด์

For better health from start to finish

บริษัท มอลลินครอท เว็ทเทอรินารี จำกัด

อาคารเจียมจรรย์ ชั้น 5

254 หมู่ 8 ถ.สุขสวัสดิ์ ราษฎร์บูรณะ กรุงเทพฯ 10140

โทร. 428-3682, 428-3884, 428-3687 โทรสาร. 428-3671

เทคนิคการเก็บรักษาคัพภะโคเย็นจัดอย่างรวดเร็ว

นุสสรา วัฒนกุล* วินิจ คำสัง*
พรรณพิไล เสกสิทธิ์* ปาริฉัตร สุขโต*

บทคัดย่อ

ศึกษาการเก็บรักษาคัพภะโคเย็นจัดอย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือแช่แข็ง แต่จะทำให้เกิดสภาวะ vitrification ของ cryoprotective agent บริเวณที่บรรจุคัพภะอยู่ในหลอด น้ำยาที่ใช้ในการเก็บรักษาคัพภะเย็นจัด (vitrification solution) มี 3 ประเภท ซึ่งประกอบด้วย glycerol, ethylene glycol, sucrose และ dextrose ในสัดส่วนที่แตกต่างกันไป และมี equilibration time ของคัพภะในน้ำยาแต่ละชนิดที่แตกต่างกันไปด้วย ผลการศึกษาพบว่าคัพภะโคทุกระยะมีอัตราการรอดชีวิตสูงทั้งในวัน thaw และหลังการเพาะเลี้ยงต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคัพภะระยะ compact morula ($p<0.05$) นอกจากนี้ เทคนิคนี้ยังมีขั้นตอนในการปฏิบัติงานที่ง่ายและใช้เวลาเพียงไม่เกิน 15 นาที จึงน่าจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้เก็บรักษาคัพภะโคในท้องที่ได้

คำสำคัญ : การเก็บรักษาคัพภะเย็นจัด คัพภะโค เทคนิครวดเร็ว

* กองผสมเทียม กรมปศุสัตว์ ถนนพญาไท กรุงเทพฯ

บทนำ

การเก็บรักษาคัพภะโคหลังการชะล้างออกจากแม่โคตัวให้ (Donor) เพื่อให้คัพภะยังคงคุณภาพที่ดีอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน และสามารถถ่ายฝากให้โคตัวรับโดยยังให้อัตราการตั้งท้องที่น่าพอใจนั้น โดยปกติแล้วจะต้องเก็บรักษาโดยวิธีการแช่แข็งเย็นจัด (deep freezing) โดยจำเป็นต้องใช้เครื่องมือแช่แข็ง (freezing machine) ซึ่งมีราคาแพงเป็นเครื่องมือหลัก เนื่องจากจำเป็นต้องมีการลดอุณหภูมิลงอย่างช้า ๆ (slow cooling) จนถึง seeding point แล้วจึงทำให้เกิด crystallization หลังจากนั้นจึงค่อย ๆ ลดอุณหภูมิต่อไปอย่างช้า ๆ อีกจนถึงประมาณ -25 °C ถึง -38 °C แล้วจึงจะนำลงแช่ในไนโตรเจนเหลวได้ เทคนิคนี้จึงใช้เวลาค่อนข้างนาน และไม่สะดวกในการปฏิบัติงานในท้องที่ จึงได้มีผู้พยายามศึกษาหาวิธีที่ง่ายขึ้น โดยใช้เครื่องมือและเวลาให้น้อยที่สุด เทคนิค Quick freezing โดยการแช่แข็งคัพภะในไอของไนโตรเจนเหลวระยะหนึ่งก่อน แล้วจึงนำลงแช่ในไนโตรเจนเหลวภายหลัง เป็นวิธีหนึ่งที่มีผู้ศึกษาอย่างกว้างขวาง แต่ผลที่ได้รับยังไม่ค่อยสม่ำเสมอ ทั้งยังมีขั้นตอนในการปฏิบัติงานที่ไม่สะดวกนัก (Chupin, 1986; Chupin, 1987; Szell and Shelton, 1986; Takahashi and Kanagawa, 1988) ต่อมามีผู้ศึกษาวิธีการเก็บรักษาคัพภะอย่างรวดเร็ว (Ultrarapid cryopreservative technique) โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือแช่แข็ง เรียกว่าวิธี Vitrification ซึ่งสามารถทำได้ในเวลาอันรวดเร็ว เนื่องจากสามารถตัดขั้นตอนของการลดอุณหภูมิลงอย่างช้า ๆ และขั้นตอนการ seeding ออกไป โดยไม่จำเป็นต้องทำให้เกิดสภาวะเกล็ดน้ำแข็ง แต่จะทำให้สาร cryoprotectant ที่ใช้เก็บรักษาคัพภะอยู่นั้นเกิดสภาวะ solidification แทน อันเนื่องมาจากความหนืดที่เพิ่มสูงขึ้นมากในอุณหภูมิที่เย็นจัด และการที่ไม่เกิดสภาวะเกล็ดน้ำแข็ง นี้ยังมีข้อดี คือจะช่วยลดอัตราการเสียหายของคัพภะอันเนื่องมาจากการเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ของคัพภะได้ ในระยะแรกได้มีผู้ทดลองใช้เทคนิค vitrification นี้ในการเก็บรักษาอวัยวะต่าง ๆ พบว่าได้ผลดี (Fahy et al., 1984, Takahashi et al., 1986) ต่อมาจึงได้มีการศึกษาในคัพภะของหนู (Rall and Fahy, 1985, Rall et al., 1985, Robertson et al., 1989, Kasai et al., 1990, Kasai et. al., 1992, Miyake et al., 1993) และพัฒนา ต่อมาในคัพภะของโค (Massip et al., 1987, Van der Zwalmen et al., 1989, Dobrinsky et al., 1991, Kuwayama et al., 1992, Yang et al., 1992, Ishimori et al., 1993, Saito et al., 1994) โดยใช้ cryoprotective agent ที่แตกต่างกันไป เพื่อศึกษาให้ได้ชนิดและสัดส่วนของ cryoprotective agent ที่มีอันตราย (toxic) ต่อเซลล์ของคัพภะให้น้อยที่สุด โดยในแต่ละการศึกษาก็มีข้อจำกัดและให้ผลที่แตกต่างกันไปในคัพภะของโคแต่ละระยะ และส่วนใหญ่มักเป็นการศึกษาใน IVF bovine ecbryo โดยการศึกษาที่น่าสนใจที่สุดคือการศึกษาของ Saito et al. (1994) ซึ่งพบว่าได้ผลดีใน IVF bovine embryo ทุกระยะ และยังมีขั้นตอนในการปฏิบัติงานที่ง่ายและใช้เวลาสั้น แต่ยังไม่มีการศึกษาใน *in vivo* embryo

เนื่องจากในประเทศไทย การนำเทคนิค vitrification มาใช้ในการเก็บรักษาคัพภะโคเย็นจัดยังไม่ค่อยแพร่หลายในทางปฏิบัตินัก การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงผลของการเก็บรักษาคัพภะโค (*in vivo* embryo) ด้วยวิธี vitrification โดยใช้เทคนิคเดียวกับ Saito et al. (1994) โดยจะศึกษาถึงอัตราการรอดของคัพภะหลังจากการทำละลาย และศึกษาว่าคัพภะสามารถจะเจริญต่อไปได้หรือไม่โดยเพาะเลี้ยงต่อไปในหลอดทดลอง เพื่อให้ทราบถึงความเป็นไปได้ในการเก็บรักษาคัพภะโคด้วยเทคนิคนี้ในสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ปฏิบัติงานในท้องที่ เพื่อให้สามารถเก็บรักษาคัพภะได้สะดวกรวดเร็ว และ

ประหยัดมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ชะล้างคัพภะอายุ 7 วัน ออกจากแม่โคตัวให้ (donor) ซึ่งได้รับการกระตุ้นให้มีการตกไข่หลายใบพร้อมกัน (superovulation) ด้วยวิธีเดียวกับ นุสสราและคณะ (2538) คัดเลือกเฉพาะคัพภะที่มีคุณภาพดี (grade A) และคุณภาพปานกลาง (grade B) มาทำการศึกษา โดยแบ่งกลุ่มคัพภะเหล่านี้ตามระยะการเจริญเติบโต (embryonic stage) และคุณภาพ (quality) ของคัพภะ กล่าวคือ ระยะ compact morula, early blastocyst, expanding blastocyst และ expanded blastocyst โดยในแต่ละกลุ่มจะมีคัพภะ 30 ใบ ถ่ายรูปคัพภะสดแต่ละใบไว้ก่อน แล้วจึงนำมาเก็บรักษา (cryopreservation) ด้วยวิธี vitrification (Saito et al., 1994) น้ำยาที่ใช้ในการเก็บรักษาคัพภะ (vitrification solution) มี 3 ชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบและความเข้มข้นที่แตกต่างกันไป และ equilibration time ของคัพภะในน้ำยาแต่ละชนิดจะเป็น 5 นาที, 5 นาที และ 1 นาที ตามลำดับ (ตาราง 1) หลังจากถ่ายคัพภะลงในน้ำยาชนิดที่ 3 แล้ว จะบรรจุคัพภะแต่ละใบลงในหลอดบรรจุคัพภะขนาด 0.25 มล. ซึ่งมีน้ำยาสำหรับทำละลายคัพภะ (sucrose 1/2 M) บรรจุอยู่แล้วในหลอดส่วนหนึ่งตามวิธีของ Saito และคณะ (1994) แล้วปิดปากหลอดบรรจุคัพภะทั้ง 2 ด้านด้วยความร้อน แล้วแช่ลงในไนโตรเจนเหลวทันที หลังการเก็บรักษาคัพภะไว้ในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 1 เดือน นำคัพภะแต่ละหลอดมาอุ่นในน้ำอุ่น (20 °C) เป็นเวลา 10 วินาที แล้วถ่ายคัพภะนั้นลงในน้ำยา thaw 2 ชนิด คือ sucrose 1/2 M และ sucrose 1/4 M ชนิดละ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (≤28 °C) หลังจากนั้นล้างคัพภะในน้ำยา Dulbecco's phosphate buffered saline* ซึ่งมีโปรตีน 20% 2 ครั้ง แล้วตรวจดูการมีชีวิตรอดของคัพภะแต่ละใบหลังการ thaw ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดอินเวอร์ตกำลัง ขยาย 400 เท่า โดยตรวจดูลักษณะเซลล์ที่มีชีวิต เซลล์ฝ่อ เซลล์ตาย ตลอดจนขนาดและสีของคัพภะที่เปลี่ยน แปลงไป รวมทั้งความผิดปกติอื่นๆ ด้วย แล้วถ่ายรูปไว้เปรียบเทียบกับรูปของคัพภะสดก่อน vitrification หลังจากนั้นถ่ายคัพภะแต่ละใบลงในน้ำยาเพาะเลี้ยงคัพภะชนิด TCM 199* ซึ่งมีโปรตีน 20% แล้วนำไปเพาะเลี้ยงไว้ในตู้เพาะเลี้ยงชนิดบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์ (37 °C, 5% CO_2) เป็นเวลา 120 ชม. โดยจะศึกษาการรอดชีวิตของคัพภะทุก 24 ชม. ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดอินเวอร์ต และถ่ายรูปไว้เปรียบเทียบกับรูปคัพภะสดก่อน vitrification แล้วบันทึกจำนวนคัพภะที่รอดชีวิตในแต่ละระยะไว้ โดยจะแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ จำนวนคัพภะที่ยังมีเซลล์ที่มีชีวิตเท่าเดิมเหมือนก่อน vitrification จำนวนคัพภะที่มีเซลล์ที่มีชีวิตลดลงแต่ยัง ≥50% (อยู่ในเกณฑ์ที่ถือว่ายังสามารถถ่ายฝากให้โคตัวรับได้) และจำนวนคัพภะที่มีเซลล์ที่มีชีวิตเหลือน้อยกว่า 50% (อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่สามารถถ่ายฝากให้โคตัวรับได้

* Gibco Laboratories, Life Technologies, Inc., Grand Island, N.Y.

ตาราง 1 องค์ประกอบของน้ำยา vitrification solution

ชนิดของน้ำยา vitrification solution	Glycerol (%)	Ethylene glycol (%)	Sucrose (M)	Dextrose (M)
น้ำยาชนิดที่ 1	10	-	1/8	1/8
น้ำยาชนิดที่ 2	10	10	1/4	1/4
น้ำยาชนิดที่ 3	20	20	3/8	3/8

ผลและวิจารณ์

การรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ ในวันที่ Thaw และหลังการเพาะเลี้ยงที่ชั่วโมงต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2 ถึง 7

ตารางที่ 2 อัตราการรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ ในวันที่ Thaw

ชนิดของคัพภะ		จำนวนคัพภะที่ศึกษา (ใบ)	คัพภะที่ยังมีเซลมีชีวิตเท่าเดิมเหมือนก่อน vitrification (%)	คัพภะที่มีเซลมีชีวิตลดลงแต่ยังเหลือ ≥ 50% (%)	คัพภะที่มีเซลมีชีวิตลดลงเหลือ < 50% (%)
ชนิด	คุณภาพ				
Compact morula	ดี	30	100^{NS}	-	-
	ปานกลาง	30	100^{NS}	-	-
Erly Blastocyst	ดี	30	83.33^{NS}	16.67	-
	ปานกลาง	30	80^{NS}	20	-
Wxpanding Blastocyst	ดี	30	86.67^{NS}	13.33	-
	ปานกลาง	30	83.33^{NS}	16.67	-
Expanded Blastocyst	ดี	30	76.67^{NS}	23.33	-
	ปานกลาง	30	70^{NS}	30	-

NS = ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 อัตราการรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ชนิดของคัพภะ		จำนวนคัพภะ	คัพภะที่ยังมีเซลมีชีวิต	คัพภะที่มีเซลมีชีวิต	คัพภะที่มีเซลมีชีวิต
ชนิด	คุณภาพ	ที่ศึกษา	เท่าเดิมเหมือนก่อน Vitrification	ลดลงแต่ยังเหลือ ≥ 50%	ลดลงเหลือ < 50%
		(ใบ)	(%)	(%)	(%)
Compact morula	ดี	30	73.33[a]	26.67	-
	ปานกลาง	30	43.33[bc]	56.67	-
Erly Blastocyst	ดี	30	26.67[b]	73.33	-
	ปานกลาง	30	6.67[bd]	83.33	10
Expanding Blastocyst	ดี	30	40[bc]	60	-
	ปานกลาง	30	30[bc]	70	-
Expanded Blastocyst	ดี	30	26.67[b]	73.33	-
	ปานกลาง	30	23.33[b]	76.67	-

a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

c และ d แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 อัตราการรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ชนิดของคัพภะ		จำนวนคัพภะ	คัพภะที่ยังมีเซลมีชีวิต	คัพภะที่มีเซลมีชีวิต	คัพภะที่มีเซลมีชีวิต
ชนิด	คุณภาพ	ที่ศึกษา	เท่าเดิมเหมือนก่อน Vitrification	ลดลงแต่ยังเหลือ ≥ 50%	ลดลงเหลือ < 50%
		(ใบ)	(%)	(%)	(%)
Compact morula	ดี	30	73.33[a]	26.67	-
	ปานกลาง	30	16.67[b]	83.33	-
Erly Blastocyst	ดี	30	26.67[b]	73.33	-
	ปานกลาง	30	-	90	10
Expanding Blastocyst	ดี	30	40[b]	60	-
	ปานกลาง	30	20[b]	73.33	6.67
Expanded Blastocyst	ดี	30	20[b]	80	-
	ปานกลาง	30	16.67[b]	83.33	-

a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 5 อัตราการรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของคัพภะ		จำนวนคัพภะ	คัพภะที่ยังมีเซลมีชีวิตเท่าเดิมเหมือนก่อน Vitrification	คัพภะที่มีเซลมีชีวิตลดลงแต่ยังเหลือ ≥ 50%	คัพภะที่มีเซลมีชีวิตลดลงเหลือ < 50%
ชนิด	คุณภาพ	ที่ศึกษา (ใบ)	(%)	(%)	(%)
Compact morula	ดี	30	73.33[a]	26.67	-
	ปานกลาง	30	16.67[b]	83.33	-
Erly Blastocyst	ดี	30	26.67[b]	73.33	-
	ปานกลาง	30	-	60	40
Expanding Blastocyst	ดี	30	26.67[b]	73.33	-
	ปานกลาง	30	13.33[b]	60	26.67
Expanded Blastocyst	ดี	30	20[b]	60	20
	ปานกลาง	30	13.33[b]	66.67	20

a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 6 อัตราการรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง

ชนิดของคัพภะ		จำนวนคัพภะ	คัพภะที่ยังมีเซลมีชีวิตเท่าเดิมเหมือนก่อน Vitrification	คัพภะที่มีเซลมีชีวิตลดลงแต่ยังเหลือ ≥ 50%	คัพภะที่มีเซลมีชีวิตลดลงเหลือ < 50%
ชนิด	คุณภาพ	ที่ศึกษา (ใบ)	(%)	(%)	(%)
Compact morula	ดี	30	73.33[a]	26.67	-
	ปานกลาง	30	16.67[b]	70	13.33
Erly Blastocyst	ดี	30	20[b]	80	-
	ปานกลาง	30	-	46.67	53.33
Expanding Blastocyst	ดี	30	13.33[b]	73.33	13.33
	ปานกลาง	30	6.67[b]	56.67	36.67
Expanded Blastocyst	ดี	30	10[b]	70	20
	ปานกลาง	30	10[b]	66.67	23.33

a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 7 อัตราการรอดชีวิตของคัพภะระยะต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ชนิดของคัพภะ		จำนวนคัพภะ	คัพภะที่ยังมีเซลมีชีวิต	คัพภะที่มีเซลมีชีวิต	คัพภะที่มีเซลมีชีวิต
ชนิด	คุณภาพ	ที่ศึกษา	เท่าเดิมเหมือนก่อน Vitrification	ลดลงแต่ยังเหลือ ≥ 50%	ลดลงเหลือ < 50%
		(ใบ)	(%)	(%)	(%)
Compact morula	ดี	30	50[a]	50	-
	ปานกลาง	30	16.67[b]	43.33	40
Erly Blastocyst	ดี	30	-	90	10
	ปานกลาง	30	-	46.67	53.33
Expanding Blastocyst	ดี	30	13.33[b]	73.33	13.33
	ปานกลาง	30	3.33[b]	56.67	40
Expanded Blastocyst	ดี	30	6.67[b]	60	33.33
	ปานกลาง	30	6.67[b]	66.67	26.67

a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า ในวันที่ทำละลายคัพภะทุกระยะมีอัตราการรอดชีวิตสูง ที่สามารถถ่ายฝากให้โคตัวรับได้ทั้งหมด โดยทุกๆ ระยะของคัพภะมีคุณภาพใกล้เคียงกัน โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า คัพภะระยะ compact morula ทั้งที่มีคุณภาพดีและคุณภาพปานกลาง จะไม่มีจำนวนคัพภะที่มีเซลล์ที่มีชีวิตลดลงเลย จนเมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า จำนวน compact morula ที่คุณภาพดีจะมีเซลล์ที่มีชีวิตสูงเมื่อเทียบกับคัพภะระยะ early blastocyst, expanding และ expanded blastocyst อย่างมีนัย สำคัญ ($p<0.05$) โดยที่ early blastocyst ที่มีคุณภาพปานกลาง มีอัตราการตายสูงขึ้น โดยมีจำนวนของคัพภะที่มีเซลล์ที่มีชีวิตเหลือน้อยกว่า 50% เป็นจำนวนถึง 10% (ตาราง 3)

เมื่อเพาะเลี้ยงไปจนถึงชั่วโมงที่ 48 จะเห็นว่า compact morula ที่มีคุณภาพดียังคงมีเซลล์ที่มีชีวิตรอดสูงกว่าคัพภะระยะอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) ในขณะที่คัพภะระยะอื่นๆ ไม่แตกต่างกัน จนเมื่อเพาะเลี้ยงมาจนถึงชั่วโมงที่ 72, 96 และ 120 พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกับชั่วโมงที่ 48 โดยที่ในชั่วโมงที่ 72 นั้น จำนวนของคัพภะระยะ early blastocyst ชนิดคุณภาพปานกลางที่มีเซลล์ที่มีชีวิตเหลือน้อนกว่า 50% จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นถึง 40% เช่นเดียวกับ expanding และ expanded blastocyst ชนิดคุณภาพปานกลาง ซึ่งมีคัพภะที่มีเซลล์ที่มีชีวิตน้อยกว่า 50% เป็น 26.67 และ 20% ตามลำดับ และจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงนานขึ้น (ตาราง 6, 7) แต่ทั้งนี้ไม่มีเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะไปในทางที่ผิดปกติเลย นอกจากเซลล์ฝ่อลงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานขึ้น ซึ่งเป็นสภาวะปกติของการเพาะเลี้ยงนอกร่างกายสัตว์ (*in vitro* culture) แต่ในระยะ 48 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงจะเห็นว่า คัพภะส่วนใหญ่ยังมีเซลล์ที่มีชีวิตเหลืออยู่มาก และเซลล์มีลักษณะปกติดี

แสดงว่าการเก็บรักษาคัพภะด้วยเทคนิคนี้ไม่มีผลเสียต่อการเจริญของคัพภะ โดยคัพภะยังมีอัตราการรอดสูงมากในวันทำละลาย และยังมีเซลล์ที่มีชีวิตรอดสูงแม้จะเพาะเลี้ยงต่อไปภายนอกร่างกายสัตว์โดยไม่มีความผิดปกติของรูปร่าง ลักษณะของเซลล์ของคัพภะ หรือทำให้เซลล์ของคัพภะตายมากกว่าปกติเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปเลย ซึ่งตรงกับการศึกษา ใน IVF embryo โดย Saito et al. (1994) ซึ่งใช้เทคนิคเดียวกันนี้ แต่ใช้สาร ß-mercaptoethanol ซึ่งเป็นสารที่ช่วยกระตุ้นการเจริญและการแบ่งตัวของเซลล์ (mitogenic agent) เข้ามาร่วมในอาหารเลี้ยงคัพภะเพื่อเพาะเลี้ยงต่อไปหลังการทำละลาย และพบว่าคัพภะมีอัตราการรอดสูงเช่นเดียวกัน ในขณะที่การศึกษาอื่นๆ ที่เก็บรักษาคัพภะด้วยวิธี vitrification จะใช้น้ำยา (vitification solution) ที่ต่างกันไป และให้ผลที่แตกต่างกันไปในคัพภะแต่ละระยะด้วย น้ำยาที่มีผู้ศึกษาไว้มากได้แก่ glycerol และ propylene glycol (Massip et al., 1986, Scheffen et al., 1986, Van der Zwalmen et al., 1989, Douchi et al., 1990) ซึ่งพบว่าจะใช้ได้ผลดีในคัพภะโครระยะ morula ถึงระยะ early blastocyst เท่านั้น แต่จะให้อัตราการรอดต่ำในคัพภะระยะ blastocyst โดยเฉพาะใน in vivo blastocyst จะไม่สามารถรอดชีวิตได้ (Kuwayama et al., 1992) ในขณะที่ Yang et al. (1992) ทดลองใช้น้ำยาซึ่งประกอบด้วย glyderol และ ethylene glycol โดยศึกษาใน IVF embryo ระยะ expanded blastocyst พบว่าให้อัตราการรอดสูง แต่ Saito et al. (1994) ทดลองใช้น้ำยาชนิดเดียวกันนี้ใน IVF embryo ระยะ early และ expanding blastocyst พบว่าให้ผลไม่ดี ในขณะที่การศึกษาของ Ishimori et al. (1993) ทดลองใช้ ethylene glycol และ dimethylsulfoxide (DMSO) พบว่าให้ผลดีเช่นเดียวกันใน IVF ecbryo และ Tachikawa et al. (1993) ทดลองใช้น้ำยาหลายชนิดรวมกันได้แก่ ethylene glycol, glycerol และ propylene glycol ร่วมกับ ficoll และ sucrose พบว่าให้ผลดีเช่นเดียวกันใน IVF blastocyst

จะเห็นได้ว่า การใช้เทคนิคจากการศึกษานี้ในการเก็บรักษาคัพภะของโค จะให้ผลดีกับคัพภะทุกระยะ ทั้งใน *in vivo* และ IVF embryo โดยคัพภะมีอัตราการรอดสูงทั้งในวันที่ทำละลาย และหลังการเพาะเลี้ยงต่อไป โดยไม่มีเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปในทางที่ผิดปกติใดๆ นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังสามารถทำได้ง่าย ประหยัดและใช้เวลาสั้นเพียงไม่เกิน 15 นาที ซึ่งนับว่าเป็นเทคนิคที่ดีเมื่อเทียบกับเทคนิคอื่นๆ ซึ่งอาจมีข้อจำกัดบางประการที่แตกต่างกันไป อย่างไรก็ดีการศึกษาโดยถ่ายฝากคัพภะที่เก็บรักษาด้วยเทคนิคดังกล่าวนี้ให้แก่โคตัวรับ ก็เป็นเรื่องจำเป็นที่จะต้อง ศึกษาต่อไป เพื่อให้ทราบว่าเทคนิคนี้สามารถให้อัตราการตั้งท้องเช่นไรในสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย

สรุป

จากการศึกษานี้จะบ่งชี้ได้ว่า น่าจะสามารถนำเทคนิคนี้มาใช้ในการเก็บรักษาคัพภะโคในท้องที่สภาวะแวดล้อมของประเทศไทยได้ เพื่อช่วยลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการผลิตคัพภะเย็นจัดให้น้อยลงอันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อเกษตรกรในประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายสัตวแพทย์สัมพันธ์ สิงหจันทร์ ผู้เชี่ยวชาญพิเศษฯ กรมปศุสัตว์ และ Dr. N. Saito, JICA expert ที่ช่วยกรุณาให้การสนับสนุนและคำปรึกษาในการศึกษานี้เป็นอย่างดียิ่ง และขอขอบคุณสัตวแพทย์บุญชู ศรีสุข ที่ช่วยเหลือในการศึกษานี้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

นุสสรา วัฒนกุล, ปาริฉัตร สุขโต, พรรณพิไล เสกสิทธิ์, วินิจ คำสังข์, ภาณุพันธ์ พงษ์เพ็ง, และบุญชู ศรีสุข 2538 การผลิตลูกโคนมจากตัวอ่อนครึ่งใบ สัตวแพทยสาร 46(3): 11-25.

Chupin, D. 1986. Quick freezing of bovine blastocysts. Theriogenology 25: 147-155.

Chupin, D. 1987. Quick freezing of day 7 bovine blastocysts: Optimum parameters of dehydration step. Theriogenology 27: 219-223.

Dobrinsky, J.R., Hess, F,F., Duby, R.T. and Rob, J.M. 1991. Cryopreservation of bovine embryos by vitrification. Theriogenology 35: 194-198.

Douchi O., Takakura, H., Imai., K. 1990. Transfer of bovine embryos cryopreserved by vitrification. Jpn. J. Anim. Reprod. 36: 69-72

Fahy, G.M., Mac Farlane, D.R., Angell, C.A. and Meryman, H.T. 1984. Vitrification as an approach to cryopreservation. Cryobiology 21: 407-426.

Ishimori, H., Saeki, K., Inai, M., Itasaka, J., Miki, Y., Nozaki, N., Seike, N. and Kainuma, H. 1993. Direct transfer of vitrified bovine embryos. Theriogenology 39: 238. (Abstr).

Kasai, M., Komi, J.H., Takakamo, A., Tsudera, H., Sakurai, T. and Machida, T. 1990. A simple method for mouse embryo cryopreservation in a low toxicity vitrification solution, without appreciable loss of viabiliby. J. Reprod. Fert. 89: 91-97.

Kasai, M., Nishimori, M., Zhu, S.E., Sakurai, T. and Machida, T. 1992. Survival of mouse morulae vitrified in an ethylene glycol-based solution after exposure to the solution at various temperatures. Biology of Reproduction 47: 1134-1139.

Kuwayama, M., Hamano, S., Nagai, T. 1992. Vitrification of bovine blastocysts obtained by in vitro culture of oocytes matured and ferfilized in vitro. J. Reprod. Fert. 96: 187-193.

Massip, A., Van Der Zwalmen, P. and Ectors, F. 1987. Recent progress in cryopreservation of cattle embryos. Theriogenology 27: 69-79.

Massip, A., Van Der Zwalmen, P., Scheffen, B. and Ectors, F. 1986. Pregnancies following transfer of cattle embryos preserved by vitrification. Cryo-Letters 7: 270-273.

Miyake, T., Kasai, M., Zhu, S.E., Sakurai, T. and Machida, T. 1993. Vitrification of mouse oocytes and embryos at various stages of development in an ethylene glycol-based solution by a simple method. Theriogenology 40: 121-134.

Rall, W.F. and Fahy, G.M. 1985. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 °C by vitrification. Nature 313: 573-575.

Rall, W.F., Wood, M.J. and Kirby, C. 1985. In vivo development of mouse embryos cryopreserved by vitrification. Cryobiology 22: 603 (Abstr.)

Robertson, J.L., Minhas, B.S., Randall, G.W., Dodson, M.G., Palmer, T.V. and Ricker, D.D. 1989. Ultrarapid freezing of mouse embryo with DMSO and trehalose. Theriogenology 31: 250-256.

Saito, N., Imai, K. and Tomizawa, M. 1994. Effect of sugars-addition on the survival of bovine blastocysts produced in vitro. Theriogenology 41: 1053-1060.

Scheffen, B., Van Der Zwalmen, P. and Massip, A. 1986. A simple and efficient procedure for preservation of mouse embryos by vitrification. Cryo-Letters. 7: 260-269.

Szell, A. and Shelton, J.N. 1986. Sucrose dilution of glycerol from mouse embryos frozen rapidly in liquid nitrogen vapour. J. Reprod. Fert. 76: 401-408.

Tachikawa, S., Otoi, T., Kondo, S., Machida, T., Kasai, M. 1993. Successful vitrification of bovine blastocysts, derived by in vitro maturation and fertilization. Molecular Reproduction and Development 34: 266-271.

Takahashi, T., Hirsh, A., Erbe, E.F., Bross, J.B., Steere, R.L. and Williams, R.J. 1986. Vitrification of Human monocytes. Cryobiology 23: 103-115.

Takahashi, Y. and Kanagawa, H. 1988. The role of lactose in quick freezing of mousee embryos. Theriogenology 29: 215-318.

Van Der Zwalman, P., Touati, K., Ectors, F.J., Massip, A., Beckers J.F., Ectors, F. 1989. Vitrification of bovine blastocysts. Theriogenology 31: 270 (Abstr.)

Yang, N.S., Lu, K.H., Gordon, I., Polge, C. 1992. Vitrification of blastocysts produced *in vitro*. Theriogenology 37: 326. (Abstr).

An Ultratapid Technique for Cryopreservation of Bovine Embryo

Nussara Vadhanakul* **Vinit Kumsung***
Panpilai Sekasiddhi* **Parishat Sukkhato***

Abstract

An ultrarapid technique for cryopreservation of in vivo bovine embryo without using a freezing machine was studied. This technique is based on vitrification of cryoprotective agent that preserves embryo in a ministraw. Three types of vitrification solution containing different proportion of glycerol, ethylene glycol, sucrose and dextrose were used. Equilibration time of embryosin each solution was also different. The results showed that the survival rate of every stages of embryo was quite high on the day of thawing and further culture, especially for compact morula ($p<0.05$). In addition, this technique is easily operated and takes only less than 15 minutes. This can be very much useful for cryopreservation of bovine embryo under field condition.

Key words : Cryopreservation of embryo, vitrification, bovine embryo, ultrarapid technique

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

" เบ็ทเทอร์ฟาร์ม่า " ผู้ผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ยาสัตว์ อาหารเสริมไวตามิน แร่ธาตุ พรีมิกซ์ ยาฆ่าเชื้อ ฯลฯ ที่ได้รับมาตรฐาน GMP มาโดยตลอด และยังได้รับความไว้วางใจจากผู้ผลิตยาในต่างประเทศให้เป็นตัวแทนจำหน่ายผลิตภัณฑ์ต่าง ๆสำหรับสัตว์เลี้ยงในฟาร์มไม่ว่าจะเป็นสุกร ไก่ วัว กุ้ง ตลอดจนสุนัข และแมว

มาตรฐานเบ็ทเทอร์ฟาร์ม่า...

...เพื่อมาตรฐานการปศุสัตว์ไทย

บริษัท เบ็ทเทอร์ฟาร์ม่า จำกัด

230 อาคารแลนด์ แอนด์ ทาวเวอร์ ชั้น 10 ถ.รัชดาภิเษก
ห้วยขวาง กทม. 10310 โทรศัพท์ 274–0716 (5 สาย) โทรสาร 275–859

การตรวจหาเชื้อโรทาไวรัส ในมูลลูกโคปกติ

มลิวัลย์ ชุนถนอม

บทคัดย่อ

การตรวจหาเชื้อโรทาไวรัส ใช้วิธี Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) และยืนยันผลการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนโดยตรง (direct electron microscope - EM) หรือ Immune electron microscope (IEM) ตัวอย่างตรวจเก็บทุกเดือนจากมูลลูกโคปกติในฟาร์มเลี้ยงโคนม จังหวัดสระบุรี จำนวนทั้งหมด 360 ตัวอย่าง ทั้งเพศผู้และเพศเมีย อายุตั้งแต่ 1 วัน จนถึง 112 วัน พบเชื้อโรทาไวรัส จำนวน 62 ตัวอย่าง (17.2%) ลูกโคที่พบเชื้ออายุน้อยที่สุด คือ 1 วัน และอายุมากที่สุด 57 วัน ลูกโคที่พบเชื้อแยกเป็นลูกโคกลุ่มอายุสัปดาห์แรก (1-7 วัน) พบ 23.5%, ลูกโคกลุ่มอายุสัปดาห์ที่สอง (8-14 วัน) พบ 33%, ลูกโคกลุ่มอายุสัปดาห์ที่สาม (15-21 วัน) พบ 14.3% และลูกโคกลุ่มอายุสัปดาห์ที่สี่ (22-28 วัน) พบ 8.1% โดยลูกโคอายุ 9 วัน พบเชื้อโรทาไวรัสมากที่สุด (8 ใน 18 ตัวอย่าง, 44.4%) รองลงมาเป็นลูกโคอายุ 8 วัน (9 ใน 21 ตัวอย่าง, 42.8%) เชื่อโรทาไวรัสพบได้ตลอดปี พบมากที่สุดในเดือนสิงหาคม (9 ใน 21 ตัวอย่าง, 30%) และพบน้อยในเดือนพฤศจิกายน (2 ใน 3 ตัวอย่าง, 6.7%) และเดือนธันวาคม (1 ใน 30 ตัวอย่าง, 3.3%)

ข้อจากรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และผลงานนี้เป็นความรับผิดชอบของผู้วิจัยแต่ผู้เดียว

ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เกษตรกลาง จตุจักร กทมง 10900

บทนำ

โรทาไวรัสเป็นเชื้อไวรัสชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหาโรคท้องร่วงตั้งแต่ในเด็กแรกเกิดจนถึงสัตว์หลายชนิดทั่วไป (มลิวัลย์และเยาวภา, 2529, เยาวภาและคณะ, 2530) โรคติดต่อเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจในสัตว์ด้วย (Straub, 1981) โดยสามารถตรวจพบเชื้อโรทาไวรัสทั้งในยุโรป อเมริกา และเอเชีย เช่น พบเชื้อในลูกม้าในประเทศสหราชอาณาจักร (Flewett et al., 1975) สหรัฐอเมริกา (Conner and Darlingtion 1980) และญี่ปุ่น (Imagawa et al., 1982) พบในลูกโคประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน (Eichhorn et al., 1985) สหราชอาณาจักร (McNulty and Logal 1983) และประเทศต่าง ๆ ในยุโรป ได้แก่ ออสเตรีย ยูโกสลาเวีย เบลเยี่ยม ฝรั่งเศส เป็นต้น (Straub, 1981) แม่โคที่มีระดับภูมิต้านทานต่อเชื้อโรทาไวรัสจะถ่ายทอดผ่านน้ำนมเหลืองไปยังลูกในระยะแรกคลอด (Zaane et al., 1986) ต่อมาเมื่อระดับภูมิต้านทานลดลงจะทำให้ลูกโคมีอัตราการเป็นโรคเพิ่มขึ้น และอาจพบลูกโคเสียชีวิตจากเชื้อนี้ได้ (Hudson, 1981) ซึ่งเป็นผลมาจากสภาพขาดน้ำ หรือการติดเชื้อแทรกซ้อนของแบคทีเรีย โดยเฉพาะ *E. coli* และ เชื้อไวรัสอื่น เช่น โคโรนาไวรัส (Hofmann and Arends 1981) สภาพร่างกายอ่อนแอ สภาพอากาศหนาวเย็นและความ แออัดของจำนวนสัตว์ในคอกเดียวกัน ก็จะทำให้ความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้น แต่ถ้ามีสภาพร่างกายแข็งแรงจะหายได้ภายใน 3-4 วัน (มลิวัลย์และเยาวภา, 2529)

การตรวจหาเชื้อโรทาไวรัสในมูลลูกโคปกตินี้ เพื่อดูอัตราการพบเชื้อในระดับอายุต่าง ๆ ของลูกโค ซึ่งต่อไปจะได้ติดตามดูพฤติกรรมในการก่อปัญหา และนำเชื้อไปศึกษาคุณสมบัติรวมทั้งแยกชนิด (typing) อันจะเป็นประโยชน์ในแง่ระบาดวิทยา และการป้องกันต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บมูลลูกโคอายุตั้งแต่ 1 วันขึ้นไป ล้วงโดยตรงจากทางทวารหนักใส่หลอดเก็บตัวอย่าง ฟาร์มที่เก็บมูลโคเป็นฟาร์มเลี้ยงโคนมหลายฟาร์มในจังหวัดสระบุรี เริ่มจากเดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม จำนวนเดือนละ 30 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 360 ตัวอย่าง

มูลลูกโค นำตรวจตามรายงาน วิธีการตรวจ ขององค์การอนามัยโลก (Almeida et al., 1979) คือ Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) ผลที่ไม่ชัดเจนจะนำมาตรวจซ้ำด้วยกล้องจุลทรรศ์อิเลคตรอนโดยตรง (direct electron microscope-EM) หรือ Immune electron microscope (IEM)

นำมูลลูกโคมาทำ 30% suspension ใน minimum essential medium - Eagle with Earle's salts (MEM) ซึ่งผสมยาปฏิชีวนะป้องกันเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อรา นำส่วนใสจากการปั่น 3,000 รอบต่อนาที ที่ 8 ^{0}C นาน 30 นาที มาปั่นด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีที่ 4 ^{0}C ในระบบสูญอากาศ นาน 10 นาที แยกส่วนใสนำตรวจด้วยวิธี ELISA โดยใช้วิธีการตรวจและ test kit ของ Dakopatts การยืนยันผลตัวอย่างตรวจที่ไม่ชัดเจนโดยนำส่วนใสจากการปั่นแล้ว 2 ครั้งแรกมาปั่น 30,000 รอบต่อนาที ที่ 4 ^{0}C ในระบบสูญญากาศนาน 1 ชั่วโมง 30 นาที นำส่วนตะกอนที่ได้มาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศ์อิเลคตรอน โดยผสมตะกอน 1 หยดกับน้ำกลั่น 1 หยด บนแผ่นพาราฟิล์มใช้กริดทองแดง (400 mesh - copper grid) ซึ่งเคลือบด้วยฟอร์มวาร์ (formvar) และเคลือบทับด้วยคาร์บอน (carbon) แตะผิวของตะกอนผสมน้ำกลั่น ย้อมด้วยกรดฟอสฟอทังสติก (phosphortungstic acid - PTA) 1.5% ph 6 ซับน้ำบริเวณขอบกริดทิ้งไว้จนแห้ง แล้วนำมาตรวจโดยกล้องจุลทรรศ์อิเลคตรอนเพื่อหาเชื้อโรทาไวรัส

สำหรับการตรวจ IEM ใช้ส่วนใสก่อนปั่น 30,000 รอบต่อนาที ผสมกับแอนติซีรั่มจำเพาะต่อเชื้อโรทาไวรัส (ใช้ในกรณีที่มีจำนวนเชื้อน้อย) วางไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ปั่นด้วยความเร็ว 30,000 รอบต่อนาที ที่ 4 ^{0}C ที่ระบบสูญอากาศนาน 1 ชั่วโมง 30 นาที เก็บส่วนตะกอนที่ได้มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนตามวิธีการข้างต้น

ผล

มูลลูกโคปกติ จำนวน 360 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อโรทาไวรัสจำนวน 62 ตัวอย่าง (17.2%) ตามตารางที่ 1 แบ่งแยกตามอายุ ตั้งแต่ 1 วัน จนถึง 3 เดือน 22 วัน (112 วัน) พบอัตราการติดเชื้อสูงสุดในลูกโคที่อายุ 8-14 วัน หรือสัปดาห์ที่ 2 รองลงมาเป็นช่วงอายุ 1-7 วัน หรือสัปดาห์แรกหลังคลอด ตารางที่ 2 พบเชื้อไวรัส 8 ตัวอย่าง ในจำนวน 18 ตัวอย่าง (44.4%) ของลูกโคอายุ 9 วัน และพบเชื้อ 9 ตัวอย่างในจำนวน 21 ตัวอย่าง (42.8%) ของลูกโคอายุ 8 วัน ส่วนอุบัติการณ์ของการพบเชื้อโรทาไวรัสมีตลอดปี จำนวนแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละเดือน พบมากในช่วงฤดูฝนเฉพาะเดือนสิงหาคม และพบน้อยในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำคือ เดือนพฤศจิกายน และธันวาคม ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 1 กลุ่มอายุลูกโคปกติที่ตรวจมูลพบเชื้อโรทาไวรัส

กลุ่มอายุ		จำนวนตรวจ (ตัวอย่าง)	จำนวนพบเชื้อโรทาไวรัส (ตัวอย่าง)	อัตราพบเชื้อฯ (%)
สัปดาห์ที่	ช่วงอายุ (วัน)			
1	1 - 7	68	16	23.5
2	8 - 14	97	32	33
3	15 - 21	56	8	14.3
4	22 - 28	37	3	8.1
5	29 - 35	33	-	-
6	36 - 42	23	1[1]	4.3
7	43 - 49	12	1[2]	8.3
8	50 - 56	8	-	-
9	57 - 63	12	1[3]	8.3
10	64 - 112	14	-	-
	รวม	360	62	17.2

1. ลูกโคตรวจพบเชื้อโรทาไวรัส อายุ 1 เดือน 7 วัน
2. ลูกโคตรวจพบเชื้อโรทาไวรัส อายุ 1 เดือน 17 วัน
3. ลูกโคตรวจพบเชื้อโรทาไวรัส อายุ 1 เดือน 27 วัน

ตารางที่ 2 ข้อมูลรายละเอียดกลุ่มอายุ 3 สัปดาห์แรกจากตารางที่ 1

อายุ (วัน)	จำนวนตรวจ (ตัวอย่าง)	จำนวนพบเชื้อโรคทางไวรัส (ตัวอย่าง)	อัตราพบเชื้อฯ (%)
1	4	1	25
2	7	-	-
3	13	1	7.7
4	6	1	16.7
5	9	3	33.3
6	10	3	30
7	19	7	36.8
8	21	9	42.8
9	18	8	44.4
10	11	4	36.4
11	15	5	33.3
12	14	4	28.6
13	8	1	12.5
14	10	1	10
15	14	4	28.6
16	10	2	20
17	9	1	11.1
18	7	-	-
19	4	1	25
20	4	-	-
21	8	-	-
รวม	221	56	25.3

ตารางที่ 3 การตรวจเชื้อโรทาไวรัสในมูลลูกโคปกติตลอดปี

เดือน	จำนวนตรวจ (ตัวอย่าง)	จำนวนพบเชื้อโรทาไวรัส (ตัวอย่าง)	อัตราพบเชื้อฯ (%)
มกราคม	30	8	26.7
กุมภาพันธ์	30	4	13.3
มีนาคม	30	4	13.3
เมษายน	30	5	16.7
พฤษภาคม	30	6	20
มิถุนายน	30	5	16.7
กรกฎาคม	30	7	23.3
สิงหาคม	30	9	30
กันยายน	30	6	20
ตุลาคม	30	5	16.7
พฤศจิกายน	30	2	6.7
ธันวาคม	30	1	3.3

วิจารณ์

จากรายงานอาการท้องร่วงมีสาเหตุจากเชื้อโรทาไวรัส โคโรนาไวรัส และ *E. coli* เชื้อโรทาไวรัสจะพบในส่วนของเซลล์บุผิวส่วนปลายวิลไล (villi) ของลำไส้เล็ก ทำให้วิลไลหดสั้นมีผลเสียต่อการดูดซึมอาหารและน้ำในลำไส้ (Straub, 1981) เชื้อโคโรนาไวรัสพบในลำไส้ใหญ่ส่วน colon การติดเชื้อโรทาไวรัสสามารถทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ในวันแรกหลังคลอด โดยที่เชื้อโรคโรทาไวรัสทำให้ลูกโคแสดงอาการในวันที่ 5 หลังคลอด และแสดงความรุนแรงมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 2 (Bürki et al., 1983) สำหรับ *E. coli* พบโดยปกติในลำไส้ใหญ่อยู่แล้วและพร้อมที่จะเพิ่มจำนวนสร้าง enterotoxin ได้ตลอดเวลา ทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้อย่างรวดเร็ว (mayr et al., 1984) จึงมีผู้ทำวัคซีนผสมระหว่างโรทาไวรัสและโคโรทาไวรัส (Freitag et al., 1984) รวมทั้งวัคซีนผสมระหว่างโรทาไวรัสและ *E. coli* K 99 (Eichhorn et al., 1982)

การตรวจพบเชื้อโรทาไวรัสในมูลลูกโคปกติถึง 17.2% (62 ตัวอย่าง จาก 360 ตัวอย่างตรวจ) เป็นเรื่องที่น่าสนใจมาก เนื่องจากลูกโคเหล่านี้ถ้าเป็นเพศเมีย ต่อไปจะกลายเป็นแม่โคที่ใช้เลี้ยงเพื่อกิจการผลิตภัณฑ์นมและเป็นแม่พันธุ์ด้วย การตรวจพบเชื้อนี้ในลูกโคอายุตั้งแต่ 1 วัน แสดงว่าเชื้ออาจแฝงอยู่ในแม่โคและแพร่ต่อมายังลูกที่ฟาร์มเลี้ยงโคนมที่ใช้เก็บตัวอย่างนี้ ลูกโคได้รับการเลี้ยงดูอย่างดีหลังคลอดโดยให้น้ำนมเหลืองจากแม่โค และต่อด้วยนมผงละลายน้ำที่มีการควบคุมคุณภาพ ทำให้สภาพร่างกายทั่วไปสมบูรณ์ แข็งแรง ปัญหาเรื่องโรคจึงมีน้อยมาก ฉะนั้นเชื้อโรทาไวรัสที่ตรวจพบในมูลจึงไม่ก่อให้เกิดอาการท้องร่วงให้เห็น แต่ในทางระบาดวิทยาลูกโคเหล่านี้จะเป็นแหล่งสะสมและแพร่เชื้อไวรัสไปสู่ลูกหลานไม่มีที่สิ้นสุด

เชื้อโรทาไวรัสมีการตรวจพบในลูกโคตลอดทั้งปี แสดงให้เห็นว่าภูมิอากาศในประเทศไทย เหมาะต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของเชื้อได้เป็นอย่างดี ส่วนเดือนพฤศจิกายนและธันวาคม สภาพอากาศค่อนข้างเย็น จึงทำให้พบเชื้อในปริมาณน้อย เมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่น ในคอกโคทั่วไปมีกลิ่นมูลและอาหารสัตว์ ทำให้มีแมลงจำนวนมาก เชื้อจากมูลสัตว์อาจติดไปกับแมลงเมื่อไปตอมอาหาร จึงเป็นการติดต่ออีกวิธีหนึ่ง แมลงทั่วไปจะพบมากในช่วงอากาศอบอุ่นและฤดูฝน แต่จะเบาบางในช่วงอากาศเย็น

ฉะนั้นเมื่อตรวจพบเชื้อไวรัสในมูลสัตว์ทั้งที่ไม่แสดงอาการท้องร่วง ก็ควรแยกสัตว์และทำลายมูลสัตว์ด้วยการฝังดินหรือใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ประจำคอก สิ่งที่ควรทำต่อไปคือการนำเชื้อโรทาไวรัสมาศึกษาถึงคุณสมบัติและแยกชนิดของเชื้อ (Typing) อันจะเป็นประโยชน์ในด้านการควบคุม ป้องกันการแพร่กระจาย และการทำวัคซีนในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

มลิวัลย์ ชุนถนอม และเยาวภา พงษ์สุวรรณ 2529 การศึกษาเชื้อโรทาไวรัสที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคท้องเสียในสุกร สัตวแพทยสาร 3(4) : 179-184

เยาวภา พงษ์สุวรรณ, วันเพ็ญ บุญวานิช และ ชื่นฤดี ไชยวสุ 2530 การศึกษาระบาดวิทยาในระดับโมเลกุลของโรทาไวรัส ช่วงฤดูหนาว พ.ศ. 2529-2530 วารสารสัตวแพทย์ 8(3) : 193-201

Almeida, J. D., Atanasu, P., Bradley, D. W., Gardner, P. S., Maynard, J., Schuurs, A. W., Voller, A. and Yolken, R. H. 1979 Manual for rapid laboratory viral diagnosis. WHO offset Publication 47 : 9-10

Burki, F., Schusser, G., Szekely, H. 1983. Clinical virological and serological evaluation of efficacy of per oral live Rota virus vaccination in calves under normal husbandry conditions. Zbl. Vet. Med. B. 30 : 237-250.

Conner, M. E. and Darlington, R. W. 1980. Rotavirus infection in foals. Am. J. Vet. Res. 4 : 1699-1703.

Danner, K. 1983. Virusbedingte Enteritiden beim Rind. Tierärztl. Prax. 11 : 149-161.

Eichhorn, W., Bachmann, P. A., Baljer, Go, Plank, P. und Schneider, P. 1982. Vakzinierung hochträchtiger Rinder mit einem kombinierten Rotavirus/E. coli K 99-Impfstoff zur Prophylaxe von Durchfallerkrankungen bei neugeborenen Kälbern. Tierärztl. Umschau 37 : 599-604.

Eichhorn, W., Krauss, M., Bachmann, P. A. and Mayr, A. 1985. Vorkommen und Verbreitung atypischer Rotaviren bei Kälbern in Deutschland. Tierärztl. Umschau 40(6) : 435-436.

Flewett T. H., Bryden, A. S. and Davies, H. 1975. Virus diarrhoea in foals and other animals. Vet. Rec. 96 : 477-478.

Freitag, H., Wetzel, H. und Espenkoetter, E. 1984. Zur Prophylaxe der Rota - Corona - Virusbedingten Kälberdiarrhoea. Tierärztl. Umschau 39 : 731-736.

Hofmann, W. und Arens, M. 1981. Corona -, Rota - und Parvovirusinfektionen beim Kalb aus Klinischer Sicht. Dtsch. Tierärztl. Wshr. 88 : 316-321.

Hudson, D. 1981. Rota / Corona virus vaccination of pregnant cows. Modern Vet. Pract. p. 626-628.

Imagawa, H, Hirasawa, K., Akiyama, Y. and Omori, T. 1982. A sero - epizootiological survey on rotavirus infection in foals. Jpn. J. Vet. Sci, 44 : 819-821.

Jayavasu; C. Hooniwat, Y., Sagaunwong, S., Jayavasu, J. and Chatiyanonda, K. 1982. A long term study of rotavirus infection in in Thai infants and children with diarrhea. Southeast Asian J. Trop. Med. Pulb. Hlth. Vol. 13(3) : 373-376

Mayr, A., EiBner, G. und Mayr - Bibrack, B. 1984. Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin. Paul Parey Verlag. Berlin - Hamburg.

McNulty, M. S. and Logal, E. P. 1983. Longitudinal survey of Rota virus infection in calves. Vet. Rec. 113 : 333-335.

Report of a WHO Scientific Group 1981. Rapid laboratory technique for the diagnosis of viral infections. Technical Report Series, 661 : 8-10.

Straub, O. C. 1981. Die Reovirusinfektion beim Rind. Tierärztl. Umschau 36 : 758-763.

Zaane, D. V., Ijzerman, J. and de Leeuw, P. W. 1986. Intestinal antibody response after vaccination and infection with rotavirus of calves fed colostrum with or without rotavirus antibody. Vet. Im. and Impath. 11 : 45-63.

Detection of Rotavirus in Normal Calf Feces

Maliwan Choontanom

Abstract

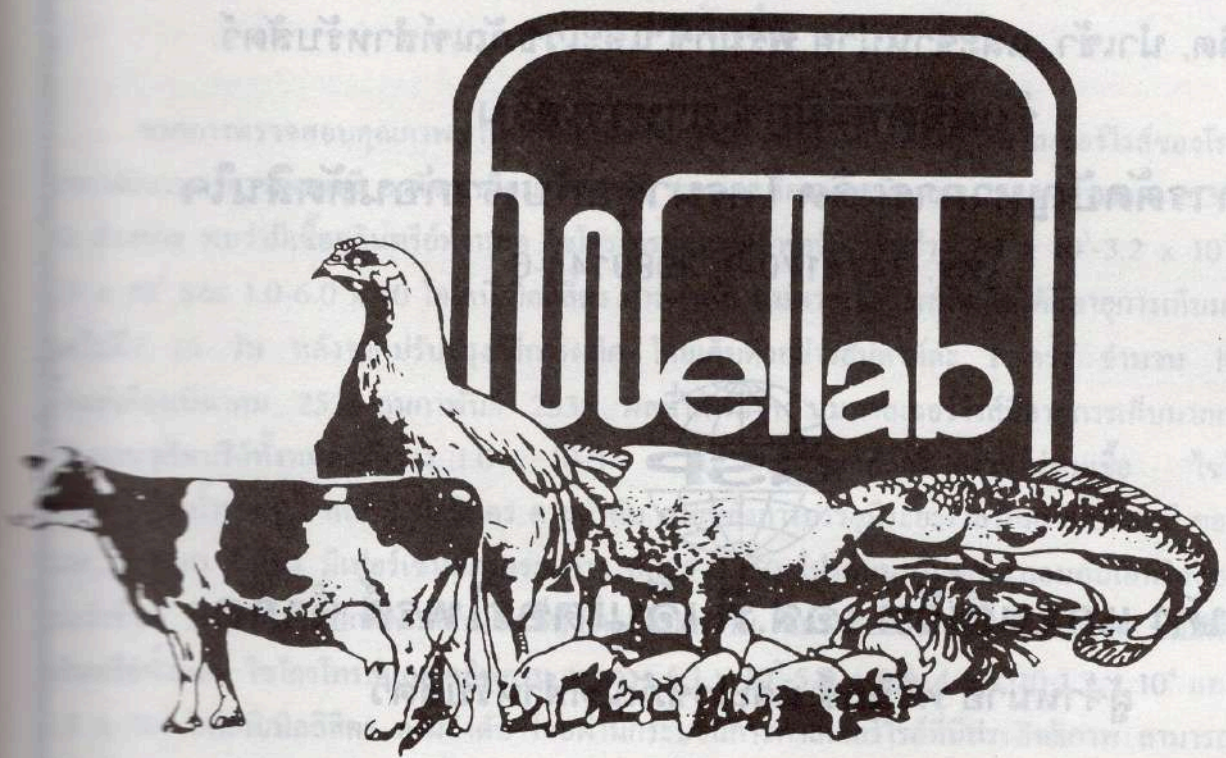
Rotavirus from the feces was detected by enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) and confirmed by direct electron microscopy (EM) or an immune electron microscopy (IEM). The fecal samples from dairy farms in Saraburi were collected monthly throughout the year for identification of the rotavirus. The normal three hundred and sixty calves both male and female ranging in age from 1 day to 112 days were included in this investigation. Sixty - two out of these samples (17.2%) were found positive for rotavirus. The youngest calf giving one of these positive samples was one-day-old and the oldest one was fiftyseven days old. In consideration of the positive samples from various age groups : 23.5% were from the one-week-old calf group (15-21 days) and 8.1% were from the four-week-old calf group (22-28 days). Among these positive samples, the high incidence of rotavirus was found in 9 day-old calves (8 of 18 samples : 44.4%X and in 8 day-old calves (9 of 21 samples; 42.8%). Rotavirus could be isolated from the fecal samples of the calves throughout the year. The highest rate of isolation was in August (9 of 30 samples : 30%), the lowest rate were in November (2 of 30 samples : 6.7%) and December (1 of 30 samples; 3.3%).

Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University Bangkok Thailand.

บริษัท เวลแล็บ
อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
วิจัยและพัฒนา นำหน้าด้วยคุณภาพ

ผู้ผลิตและจำหน่าย

- **ยา อาหารเสริม พรีมิกซ์**
  สำหรับ ไก่ สุกร วัวนม วัวเนื้อ สุนัข ม้า ปลา และ กุ้ง



ผู้แทนจำหน่าย

- **วัคซีนป้องกันโรค**
  สำหรับ ไก่ สุกร สุนัข และ แมว
- **เครื่องมือสัตวแพทย์ทุกชนิด**

Wellab®
บริษัท เวลแล็บ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
101/31 หมู่ที่ 20 ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

โทรศัพท์ 3197165-7, 5291301-6
เทเล็กซ์ 20871 WELLAB TH
โทรสาร (662) 529-1309

แกรนด์สยาม

ผลิตภัณฑ์ดี บริการเด่น เน้นคุณภาพ

GRAND SIAM

บริษัท แกรนด์สยาม จำกัด

ผู้ผลิต, นำเข้า, และจำหน่าย พรีมิกซ์ และเวชภัณฑ์สำหรับสัตว์

รับผลิตพรีมิกซ์,อาหารเสริม

ต้องการตัดปัญหาการผลิต โทรมาคุยกับเราก่อนตัดสินใจ

โทร. 7474170-9, 3989144-6

GSP

บริษัท แกรนด์เว็ท เอส.พี.เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด

ผู้จำหน่าย พรีมิกซ์ และเวชภัณฑ์สำหรับสัตว์

บริษัท มารีน่า เว็ท จำกัด

ผู้จำหน่าย พรีมิกซ์ และเวชภัณฑ์ สำหรับสัตว์น้ำ

926/26 หมู่ 12 ซ.เซลียง 1 ถ.บางนา-ตราด พระโขนง กทม.10260

โทร.3989144-6, 7474170-9 โทรสาร 3989630

การตรวจสอบคุณภาพนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนและหลังปรับปรุงการผลิต

ชูรัฐ แปลกสงวนศรี

บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมโคก่อนได้รับการปรับปรุงวิธีการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ของโรงงานผลิตนม วิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี อ.พัฒนานิคม จ.ลพบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2534-มกราคม 2535 รวมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ไซโครโทรปและโคลิฟอร์ม ระหว่าง 7.1 x 10^3-3.2 x 10^4, 2.7 x 10-1.9 x 10^2 และ 1.0-6.0 x 10 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ นมพาสเจอร์ไรส์ที่ผลิตได้มีอายุการเก็บมากกว่า 7 วัน แต่ไม่เกิน 15 วัน หลังจากปรับปรุงวิธีการผลิต โดยเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง จำนวน 144 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2535-กุมภาพันธ์ 2538 ผลที่ได้พบว่า นมพาสเจอร์ไรส์มีอายุการเก็บมากกว่า 21 วัน มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง 1.0 x 10-3.7 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ตรวจไม่พบเชื้อ ไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในน้ำนม 0.1 และ 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ ภายหลังการบรรจุมีระยะเวลาในการเปลี่ยนสี ของเมทธีลีนบลูระหว่าง 6-10 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์กรดระหว่าง 0.125-0.150 โปรตีนนมไม่ตกตะกอนกับเอทธิลแอลกอฮอร์ 75 เปอร์เซ็นต์ มีสภาพเป็นปกติตามลักษณะที่ทำขึ้น มีรสหวาน นมพาสเจอร์ไรส์นี้ผลิตมาจาก นมโคดิบที่มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ไซโครโทรปและโคลิฟอร์ม ระหว่าง 6.1 x 10^3-5.0 x 10^5, 4.0 x 10-1.7 x 10^4 และ 7.0 x 10-5.5 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่มีประสิทธิภาพ สามารถ ทำลายเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในนมโคดิบจนตรวจไม่พบในน้ำนม 0.1 และ 1.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลืออยู่ต่ำกว่า 1.0x10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร รวมทั้งมีการล้างทำความสะอาดในระบบการผลิตอย่างเหมาะสม และทำให้น้ำล้างเครื่องก่อนการผลิตตรวจไม่พบเชื้อกลุ่มไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในน้ำ 1 มิลลิลิตร และมีจำนวนต่ำกว่า 10 โคโลนี บนพื้นที่ 24 ตารางนิ้ว ที่ผิวด้านสัมผัสกับน้ำนมของถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนการผลิต รวมทั้งมีจำนวนต่ำกว่า 10 โคโลนี สำหรับถุงบรรจุความจุ 200 มิลลิลิตร ฤดูกาลไม่มีผลต่ออายุการเก็บของนมพาสเจอร์ไรส์ ถ้าเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสตลอดเวลา ถ้าหลังการบรรจุแล้วนำเข้าตู้แช่เย็นโดยเร็ว

คำสำคัญ : นมพาสเจอร์ไรส์, ปริมาณแบคทีเรีย, โคนม, คุณภาพนม

วิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี อ.พัฒนานิคม จ.ลพบุรี 15140

บทนำ

กระทรวงสาธารณสุข (2522 ก, ข) ได้ระบุว่า นมพาสเจอร์ไรส์ต้องวางจำหน่ายไม่เกิน 3 วัน นับแต่วันที่บรรจุลงในภาชนะบรรจุ โดยเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสตลอดเวลา การกำหนดเป็นเกณฑ์ดังกล่าว แสดงว่านมพาสเจอร์ไรส์ของไทยที่ผลิตได้เสียเร็ว เป็นอุปสรรคสำคัญในการจำหน่ายตามมา แต่จากการศึกษาของชูรัฐ (2534) พบว่า นมพาสเจอร์ไรส์มีอายุการเก็บมากกว่า 21 วัน ถ้ากระบวนการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์เป็นไปอย่างเหมาะสม

หลักการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ที่ดีคือ ต้องหาทางทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนลงไปในน้ำนมให้น้อยที่สุด และทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนลงไปในน้ำนมนั้นทวีจำนวนอย่างช้า ๆ กระบวนการทำความสะอาดและระบบการผลิตที่เหมาะสม จะทำให้นมพาสเจอร์ไรส์มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำ เพราะจะช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงไปในน้ำนม แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน การล้างทำความสะอาดที่ไม่ดีพอ การรวมนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนการบรรจุ เครื่องบรรจุ รวมทั้งท่อทางเดินนม และปั๊มสูบนมที่อยู่ถัดจากส่วนฆ่าเชื้อได้ การตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำล้างเครื่องที่ผ่านส่วนบรรจุก่อนการผลิต ถ้ากระบวนการล้างทำความสะอาดดี จะต้องตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในน้ำ 1 มิลลิลิตร (ชูรัฐ, 2531)

กระบวนการพาสเจอร์ไรส์สามารถทำลายเชื้อราและยีสต์ได้ทุกชนิด รวมทั้งเชื้อโรคที่ไม่มีสปอร์ แต่ไม่สามารถทำลายแบคทีเรียที่ทำให้นมบูดเสียบางชนิดได้ เช่นเชื้อ *Alcaligenes* ซึ่งเป็นพวกทนร้อน และเชื้อ *Bacillus* ซึ่งเป็นพวกที่มีสปอร์ (Cousin, 1982) การตรวจพบเชื้อ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นพวกไซโครโทรป (psychrotrophs) และเชื้อโคลิฟอร์ม (coliforms) ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ แสดงว่ากระบวนการฆ่าเชื้อของระบบการผลิตบกพร่อง และ/หรือมีการปนเปื้อนหลังการฆ่าเชื้อ (Varnam & Sutherland, 1994) เพราะเป็นเชื้อที่ไม่ทนต่อการพาสเจอร์ไรส์ การที่พบเชื้อหล่านี้ปนเปื้อนอยู่ในนมพาสเจอร์ไรส์จะมีผลทำให้นมพาสเจอร์ไรส์เสียเร็วตามมา เนื่องจากไม่มีระบบยับยั้งจุลินทรีย์ที่เรียกว่า ระบบแลคโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase system) เพราะถูกทำลายที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ และเจริญเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (ชูรัฐ, 2531) ดังนั้นการนำนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนการบรรจุและภายหลังการบรรจุมาตรวจสอบจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อจะได้ทราบว่ามีการปนเปื้อน ภายหลังการฆ่าเชื้อหรือกระบวนการผลิตบกพร่อง แต่ถ้ากระบวนการล้างทำความสะอาดในระบบการผลิตไม่เหมาะสม อาจจะทำให้การวิเคราะห์ผลผิดพลาดได้ เนื่องจากมีเชื้อติดค้างอยู่ในระบบของการผลิตนั่นเอง การศึกษาเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ของนมพาสเจอร์ไรส์เป็นสิ่งจำเป็น เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ประกอบการผลิตของโรงงานตามที่ต้องการ

วัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อต้องการทราบจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรป กลุ่มเมโซไฟล์ (mesophiles) และกลุ่มโคลิฟอร์มในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ และการเปลี่ยนแปลงทางด้านความคงตัวของโปรตีน ปริมาณกรดในน้ำนมและระยะเวลาในการเปลี่ยนสีของเมทธีลีนบลู ในกระบวนการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนและหลังการปรับปรุงการผลิต และผลของฤดูกาลที่มีต่อคุณภาพของน้ำนม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. โรงงานนม : โรงงานนมที่ศึกษาเป็นโรงงานนมขนาดเล็ก กำลังผลิต 2 ตัน/วัน มีระบบการผลิตแบบ

High Tempetature Short Time (HTST) ชนิด plate type heat exchanger ใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อระหว่าง 75-80 องศาเซลเซียส นานประมาณ 18 วินาที ที่โรงงานนมพาสเจอร์ไรส์ วิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2534-กุมภาพันธ์ 2538

2. การเก็บตัวอย่าง

2.1 เก็บตัวอย่างน้ำนมดิบก่อนผลิต น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนการบรรจุ และน้ำนมพาสเจอร์ไรส์หลังการบรรจุสัปดาห์ละครั้ง โดยแบ่งการทดลองก่อนมีการปรับปรุงตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2534-มกราคม 2535 ชนิดละ 12 ตัวอย่าง และหลังการปรับปรุงตั้งแต่เดือนมีนาคม 2535-กุมภาพันธ์ 2538 ชนิดละ 144 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างนมดิบรวมรสหวานพร้อมผลิต นมพาสเจอร์ไรส์ที่ยังไม่บรรจุ นมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุแล้ว น้ำล้างเครื่องโรงงานก่อนผลิต ความสะอาดของถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนผลิต โดยการ swab และความสะอาดของถุงบรรจุโดยการ rinse (Cannon et al., 1978) นำตัวอย่างดังกล่าวมาทดลองในวันเดียวกัน การเก็บตัวอย่างจะดำเนินการตามวิธีการของ Grace et al., (1992) แล้วนำมาตรวจสิ่งต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.1.1 ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์มาตรฐาน (standard plate count, SPG) ด้วยวิธีของ Houghtby et al (1992)

2.1.2 ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรป (psychrotrophs count) ด้วยวิธีของ Frank et al (1992)

2.1.3 ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม (coliforms count) ด้วยวิธีของ Christern et al (1992)

การตรวจสอบคุณภาพนมดิบและนมพาสเจอร์ไรส์ จะมีการตรวจสอบโดยหาเปอร์เซ็นต์กรด ความคงตัวของโปรตีนโดยใช้เอทธิลแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ และตรวจสอบโดยใช้ประสาทสัมผัส (organoleptic test) ด้วยวิธีการของทองยศ (2529)

3. นำข้อมูลที่ได้มาแปรผลเพื่อให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ

ผล

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างต่าง ๆ ก่อนมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตระหว่างเดือนพฤศจิกายน-มกราคม 2535 โดยเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้นชนิดละ 12 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นการแสดงคุณภาพน้ำนมทางด้านจุลินทรีย์ และในตารางที่ 2 ซึ่งแสดงถึงคุณภาพน้ำนมทางด้านเคมี ทางด้านกายภาพและอายุการเก็บของน้ำนม การที่นมพาสเจอร์ไรส์มีอายุการเก็บไม่เกิน 15 วัน เนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ภายหลังการฆ่าเชื้อจากส่วนต่าง ๆ ที่อยู่ในระบบการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 3

เมื่อมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตในเดือนกุมภาพันธ์ 2535 โดยออกไปให้คำแนะนำกับเกษตรกร ให้วิธีการรีดนมอย่างถูกสุขลักษณะเพื่อให้นมดิบมีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำ และปรับปรุงกระบวนการทำความสะอาดทั้งก่อนและหลังการผลิตโดยใช้น้ำฝนแทนน้ำใช้ในโรงงานซึ่งเป็นน้ำบาดาลที่มีจุลินทรีย์สูง ใช้น้ำยาคลอรีนร่วมล้างในการทำความสะอาดหลังการผลิต ปรับปรุงการล้างถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์และเครื่องบรรจุ ก่อนการผลิต ปรากฏว่านมพาสเจอร์ไรส์มีอายุการเก็บนานมากกว่า 21 วัน โดยมีคุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพเป็นปกติ (ตารางที่ 5)

ทั้งนี้เนื่องจากนมพาสเจอร์ไรส์รสหวานหลังการบรรจุ มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (mesophiles) ระหว่าง 1.0 x 10-3.7 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร และตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร รวมทั้งตรวจไม่พบเชื้อโคลิฟอร์ม ในน้ำนม 1 มิลลิลิตร และมีจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ระหว่าง 1.0 x 10-8.0 x 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร ตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์ม บนพื้นที่ 24 ตารางนิ้ว ของพื้นผิวถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์ และมีจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง 1.0 x 10-5.0 x 10^3 โคโลนี/1 ตารางนิ้ว และถุงบรรจุความจุ 200 มิลลิลิตร ก็ตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์ม โดยมีจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง <1.0 x 10-6.8 x 10 โคโลนี/มิลลิลิตร น้ำใช้ในโรงงานตรวจไม่พบเชื้อ ไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในน้ำ 1 มิลลิลิตร โดยมีจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง 5.0 x 10-4.6 x 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

เมื่อศึกษาถึงผลของฤดูกาลที่มีต่อคุณภาพนมพาสเจอร์ไรส์ ที่ผลิตได้ในแต่ละฤดูกาลของแต่ละปี จะเห็นได้ว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อคุณภาพนมพาสเจอร์ไรส์ที่ผลิตได้ เพราะยังมีอายุการเก็บที่นานมากกว่า 21 วัน (ตารางที่ 6) โดยมีจำนวนจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มในแต่ละฤดูกาลดังผลที่แสดงในตารางที่ 7 โดยใช้ตัวอย่างนมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุแล้วจำนวนละ 16 ตัวอย่าง ของแต่ละฤดูกาลของแต่ละปีโดยสุ่มตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

วิจารณ์

ถ้าพบว่ามีเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์มอยู่ในนมพาสเจอร์ไรส์ นมพาสเจอร์ไรส์จะเสียเร็ว เพราะสามารถเจริญเพิ่มจำนวนในน้ำนมที่เก็บรักษาไว้ (10 องศาเซลเซียส) ได้ เพราะเจริญเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า (Cousin, 1982) การหลีกเลี่ยงเพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงไปในนมเป็นสิ่งจำเป็น และสามารถป้องกันได้ถ้ากระบวนการผลิตเป็นไปอย่างเหมาะสม มีสุขลักษณะในการผลิตที่ดี การตรวจคุณภาพนมดิบและนมพาสเจอร์ไรส์ ไม่เพียงพอที่จะประเมินประสิทธิภาพการผลิตในแต่ละครั้งได้ จำเป็นต้องมีการตรวจสอบความสะอาดของส่วนที่นมดิบและนมพาสเจอร์ไรส์ที่ไปสัมผัสด้วย เพื่อหาทาง ปรับปรุงและป้องกันอย่างเหมาะสม

จากการศึกษาของชูรัฐ (2534) พบว่า นมพาสเจอร์ไรส์ที่มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำจะเสียช้า จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ จะค่อนข้างคงที่ในระยะแรก และจะเพิ่มจำนวนอย่างช้าๆ เมื่ออายุการเก็บของน้ำนมนานออกไป นมพาสเจอร์ไรส์ที่เสียช้านี้จะมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เทอร์โมดิวริก (thermodurics) และเทอร์โมไฟล์ (thermophiles) อยู่ระหว่าง 2.5 x 10-1.3 x 10^2, <1.0 x 10-4.5 x 10 และ 1.0 x 10-5.0 x 10 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร และตรวจไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำนม 1 มิลลิลิตร และเมื่อมีอายุการเก็บนานออกไปถึง 26 วัน จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรป จุลินทรีย์ทั้งหมด เทอร์โมดิวริก และเทอร์โมไฟล์เพิ่มขึ้นเป็น 1.0 x 10-4.0 x 10^4, 5.0 x 10-4.4 x 10^4, 1.0 x 10-1.8 x 10^2 และ <1.0 x 10-1.8 x 10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่ตรวจไม่พบเชื้อกลุ่มโคลิฟอร์มในน้ำนม 1 มิลลิลิตร และลักษณะทางกายภาพทางด้านเคมียังปกติอยู่ แต่ถ้ามีจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรป เมโซไฟล์ เทอร์โมดิวริก เทอร์โมไฟล์ เป็น <1.0 x 10-2.0 x 10^2, 1.6 x 10^2-1.6 x 10^3, 2.5 x 10-3.2 x 10^2 และ 3.0 x 10-7.8 x 10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเก็บไว้ประมาณ 6 วันที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส พบว่ามีเชื้อกลุ่มไซโครโทรป เมโซไฟล์ เทอร์โมดิวริก เทอร์โมไฟล์เพิ่มเป็น 3.0 x 10^3-7.1 x 10^8, 3.8 x 10^3-7.8 x 10^8, 2.5 x 10-1.6 x 10^3 และ 1.5 x 10-

2.0 x 10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยพบว่ามีบางตัวอย่างที่มีรสชาติและลักษณะทางเคมีผิดปกติไป แสดงว่าเป็นนมที่เสียแล้ว สรุปได้ว่านมพาสเจอร์ไรส์ที่ตรวจพบว่ามีเชื้อไซโครโทรปอยู่ด้วยจะเสียเร็ว

จากการศึกษาของ Salji et al (1988) ในประเทศซาอุดิอาระเบีย พบว่าเมื่อเก็บรักษานมพาสเจอร์ไรส์ไว้ที่ 7 องศาเซลเซียสนาน 3, 5, 7 และ 10 วัน โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและไซโครโทรปเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 x 10 โคโลนี/มิลลิลิตร จะมีจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มเป็น 4.0 x 10^3, 3.6 x 10^4, 6.0 x 10^6 และ 9.9 x 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ และกลุ่มไซโครโทรปเพิ่มเป็น 2.5 x 10^3, 3.6 x 10^4, 5.2 x 10^6 และ 8.7 x 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงว่านมพาสเจอร์ไรส์ที่มีเชื้อไซโครโทรปอยู่แม้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิเหมาะสม ก็สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ ถึงแม้ว่ามีจำนวนเริ่มต้นไม่มากนักก็ตาม จากการรวบรวมข้อมูลที่ได้จากการวิจัยของ Shah (1994) แสดงให้เห็นว่าเชื้อไซโครโทรปบางชนิดมีระยะเวลาในการทวีจำนวนที่สั้นมากคือน้อยกว่า 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิต่ำ และผลิตเอนไซม์ไลเปส โปรตีเอสรวมทั้งฟอดโฟไลเปสออกมา ซึ่งจะไปทำให้องค์ประกอบของน้ำนมเปลี่ยนแปลงจนคุณภาพน้ำนมเสียไป

จากผลการตรวจสอบที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่านมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุแล้วมีเชื้อไซโครโทรปอยู่ด้วยระหว่าง 2.7 x 10-1.9 x 10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร จึงไปมีผลทำให้นมพาสเจอร์ไรส์มีอายุการเก็บมากกว่า 7 วัน แต่ไม่ถึง 15 วัน (ตารางที่ 2) การที่ตรวจพบว่ามีเชื้อไซโครโทรปอยู่ในนมพาสเจอร์ไรส์ เนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของเชื้อไซโครโทรปจากสิ่งที่นมพาสเจอร์ไรส์ไปสัมผัส (ตารางที่ 3) แต่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในนมพาสเจอร์ไรส์เป็นไปตามมาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุข (2522 ก, ข) กำหนดคือต่ำกว่า 5.1 x 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร การตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มในนมพาสเจอร์ไรส์ แสดงว่าสุขลักษณะการผลิตไม่ดี มีการปนเปื้อนหลังการฆ่าเชื้อต้องปรับปรุง

ภายหลังจากที่มีการปรับปรุงพบว่ามีสุขลักษณะในการผลิตดีขึ้น เพราะตรวจไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำนม 1 มิลลิลิตร รวมทั้งตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร จากนมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุถุงแล้ว และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นไปตามมาตรฐานกำหนด (ตารางที่ 4) มีผลทำให้อายุการเก็บนมพาสเจอร์ไรส์นานมากกว่า 21 วัน ถึงมากกว่า 37 วัน (ตารางที่ 5) แสดงว่ามีการปนเปื้อนภายหลังการฆ่าเชื้อจากสิ่งที่นมพาสเจอร์ไรส์ไปสัมผัสต่ำ นอกจากนี้ประสิทธิภาพของเครื่องพาสเจอร์ไรส์มีประสิทธิภาพดี เพราะสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ ในน้ำนมดิบ จนมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นไปตามมาตรฐาน

จากผลการตรวจสอบแสดงให้เห็นว่า ถ้าต้องการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ให้เสียช้า มีอายุการเก็บมากกว่า 21 วันนั้น ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ ควรจะเป็นไปตามผลการทดสอบที่แสดงไว้ในตารางที่ 4 คือ ควรทำให้นมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุแล้วมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง 1.0 x 10-3.7 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร และตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร รวมทั้งตรวจไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำนม 1 มิลลิลิตร การที่จะได้นมพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณจุลินทรีย์ดังกล่าวนั้น นมดิบต้องมีระยะเวลาในการเปลี่ยนสีของเมทธีลีนบลูอยู่ระหว่าง 5-9 ชั่วโมง มีจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์ม อยู่ระหว่าง 6.1 x 10^3-5.0 x 10^5, 4.0 x 10-1.7 x 10^4 และ 7.0 x 10-5.5 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่มีประสิทธิภาพซึ่งสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ในนมดิบจนมีจุลินทรีย์ทั้งหมดในนมพาสเจอร์ไรส์ที่ยังไม่บรรจุเหลืออยู่ระหว่าง 2.0 x 10-6.0 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร โดยตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร และตรวจไม่พบเชื้อ

โคลิฟอร์มในน้ำนม 1 มิลลิลิตร ลักษณะทางเคมีและกายภาพของนมดิบและนมพาสเจอร์ไรส์ ควรจะเป็นไปตามผลการทดสอบที่แสดงไว้ในตารางที่ 5

การที่นมพาสเจอร์ไรส์เสียช้า นอกจากต้องผลิตจากนมดิบที่มีคุณภาพดีและผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่มีประสิทธิภาพแล้ว ยังต้องทำให้ส่วนที่นมพาสเจอร์ไรส์ไปสัมผัสมีจุลินทรีย์ต่ำ เพื่อลดการปนเปื้อนภายหลังการฆ่าเชื้อ โดยที่ระบบการผลิตต้องผ่านการล้างทำความสะอาดอย่างเหมาะสม จนทำให้น้ำล้างเครื่องโรงงานก่อนผลิตมีจุลินทรีย์ ทั้งหมดระหว่าง 1.0 x 10.-8.0 x 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร และตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในน้ำ 1 มิลลิลิตร นอกจากนี้ถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนผลิต ต้องผ่านการทำความสะอาดที่ดี จนทำให้พื้นผิวด้านที่นมพาสเจอร์ไรส์ไปสัมผัสมีจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง 1.0 x 10-5.3 x 10^3 โคโลนี/ตารางนิ้ว และมีเชื้อไซโครโทรปกับโคลิฟอร์มต่ำกว่า 10 โคโลนีบนพื้นที่ 24 ตารางนิ้ว กรณีถุงบรรจุต้องให้ความสำคัญเช่นกัน เพราะสัมผัสกับนมพาสเจอร์ไรส์ได้ ถึงบรรจุที่สะอาดเหมาะสมควรมีจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6.8 x 10 โคโลนี/ความจุ 1 มิลลิลิตร และมีเชื้อไซโครโทรปกับโคลิฟอร์มต่ำกว่า 10 โคโลนี/ความจุ 200 มิลลิลิตร การที่จะล้างระบบการผลิตให้เหมาะสม น้ำใช้ในโรงงานต้องตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในน้ำ 1 มิลลิตร มีจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 4.6 x 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร จากผลการตรวจสอบแสดงให้เห็นว่า ต้องให้ความสำคัญกับเชื้อกลุ่มไซโครโทรปและโคลิฟอร์มในกระบวนการผลิต

เมื่อพิจารณาถึงผลของฤดูกาล ที่มีต่อคุณภาพนมพาสเจอร์ไรส์ที่ผลิตได้จะพบว่า ฤดูกาลไม่มีผลต่อคุณภาพนมพาสเจอร์ไรส์ที่ผลิตได้ เพราะมีอายุการเก็บที่นานมากกว่า 21 วัน (ตารางที่ 6) ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มในแต่ละฤดูกาลของแต่ละปีเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด คือมีจำนวนต่ำกว่า 5.0 x 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร โดยตรวจไม่พบเชื้อไซโครโทรปในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร และตรวจไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำนม 1 มิลลิลิตร (ตารางที่ 7) เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสตลอดเวลา ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Craven and Macauley (1992) ที่พบว่า อายุการเก็บของนมพาสเจอร์ไรส์ไม่ขึ้นกับ ฤดูกาล แต่ขึ้นกับการสุขาภิบาลและการจัดการในโรงงานเป็นสำคัญ

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข 2522 ก. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง กำหนดนมโคเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต. ฉบับที่ 26 (2522).

กระทรวงสาธารณสุข 2522 ข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง กำหนดนมปรุงแต่งเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต. ฉบับที่ 35 (2522).

ชูรัฐ แปลกสงวนศรี 2531. การศึกษาชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการสุขาภิบาลฟาร์มโคนมและโรงงานนมพาสเจอร์ไรส์ขนาดเล็ก ที่จังหวัดเชียงราย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชูรัฐ แปลกสงวนศรี. 2534. การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่มีอายุการเก็บต่างกัน. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (สาขาวิทยาศาสตร์) 25(1) : 54-64.

ทองยศ อเนกะเวียง 2529. ปฏิบัติการนม. อมรการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 225 น.

Cannon, R.Y., Beckelheimer, C.E., Bengsch, H. and Vesley, D. 1978. Microbiological test for equipment, container, water and air. IN "Standard method for examination of dairy products. 14th ed. Marth, E.H. editor, American Public Health Association, Washingron D.C., p. 197-205.

Christen, G.L., Davidson, P.M., McAllister, J.S. and Roth, L.A. 1992. Coliform and other indicator bacteria. In "Standard method for examination of dairy products. 16th ed. Marshall, R.T. editor, American Public Health Association, Washington D.C., p. 247-269.

Cousin, M.A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy product : A review. J. Food Prot. 45 : 172-207.

Craven, H.m. and Macualey, B.J. 1992. Microorganisms in pasteurised milk after storage. 2. Seasonal variation. Aust. J. Dairy Technol. 47(1) : 46-49.

Frank, J.F., Christen, G.L. and Bullerman, L.B. 1992. Test for group of microorganisms. In "Standard method for examination of dairy products. 16th ed. Marshall, R.T. editor, American Public Health Association, Washington D.C., p. 271-286.

Grace, V., Houghtby, G.A., Rudnick, H., Whaley, K. and Lindamood. J. 1992. Sampling dairy and related product. In {Standard method for examination of dairy products. 16th ed. Marshall, R.T. editor, American Public Health Association, Washingron D.C., p. 59-83.

Houghtby, G.A., Maturin, L.J. and Koenig E.K. 1992. Microbiological count methods. In "Standard method for examination of dairy products. 16th ed. Marshall, R.T. editor, American Public Health Association, Washingron D.C., p. 213-246.

Sidji, J.P., Saadi, S.R. and Mashhadi, A. 1988. The shelf life of pasteurized fresh milk manufactured in Saudi Arabia. J. Food Prot. 51(12):976-978.

Shah, N.P. 1994. Psychrotrophs in milk : A review. Milchwissenschaft. 49(8):432-437.

Varnam, A.H. and Sutherland, J.P. 1994. Milk and Milk Product. Technology, Chemistry and Microbiology. Chapman & Hall, Inc. 458 p.

ตารางที่ 1 แสดงคุณภาพน้ำนมทางด้านจุลินทรีย์ จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้นตัวอย่างละ 12 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2534-มกราคม 2535

ตัวอย่าง (μ = 12)	time of methylene blue (Hr.)	Psychrotrophs (Colony/ml.)	Mesophiles (colony/ml.)	Coliforms (colony/ml.)
นมดิบก่อนผลิต	5-8	3.8×10^3-5.3×10^4	4.7×10^4-1.3×10^6	1.0×10^3-2.6×10^4
นมพาสเจอร์ไรส์ ก่อนการบรรจุ	5-7	1.4 x 10-5.5 x 10	6.2×10^3-9.4×10^3	ตรวจไม่พบ
นมพาสเจอร์ไรส์ หลังการบรรจุ	5-7	2.7 x 10-1.9 x 10^2	8.1×10^3-3.2×10^4	1.0 x 1-6.0 x 10

ตารางที่ 2 แสดงคุณภาพน้ำนมทางด้านเคมี ทางด้านกายภาพและอายุการเก็บของนมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุแล้ว จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้นตัวอย่างละ 12 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2534-มกราคม 2535

ตัวอย่าง (μ = 12)	acidity (%)	alcohol test	organoleptic			keeping quality (days)
			texture	odour	taste	
นมดิบก่อนผลิต	0.13-0.15	-ve	-ve	-ve	-ve	-
นมพาสเจอร์ไรส์ ก่อนการบรรจุ	0.13-0.15	-ve	-ve	-ve	-ve	-
นมพาสเจอร์ไรส์ หลังการบรรจุ	0.13-0.15	-ve	-ve	-ve	-ve	>7-<15

หมายเหตุ -ve : ปกติ

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับระบวนการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้นชนิดละ 12 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2534-มกราคม 2535

ตัวอย่าง (μ = 12)	Psychrotrophs colony/ml.)	Mesophiles (colony/ml.)	Coliforms (colony/ml.)
น้ำใช้ในโรงงาน	2.7 x 10-4.9 x 10^{2}	5.2 x 10^{2}-8.4 x 10^{3}	1.8 x 10-3.7 x 10
น้ำล้างเครื่องโรงงานก่อนผลิต	1.0 x 10-7.4 x 10^{2}	1.6 x 10^{3}-4.6 x 10^{4}	ตรวจไม่พบ
ความสะอาดถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนผลิต	1.0 x 10-3 x 10^{3**}	2.3 x 10^{3}-5.0 x 10^{3*}	1.0 x 10-4.3 x 10^{**}
ความสะอาดถุงบรรจุนมพาสเจอร์ไรส์	1.0 x 10-3.5 x 10^{****}	2.6 x 10-8.9 x 10^{***}	1.0 x 10-2.0 x 10^{****}

หมายเหตุ
* : หน่วยเป็น colony/inch^{2}
** : หน่วยเป็น colony/24 inch^{2}
*** : หน่วยเป็น colony/ความจุ 1 ml.
**** : หน่วยเป็น colony/ความจุ 200 ml.

ตารางที่ 4 แสดงคุณภาพน้ำนมและตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ทางด้านจุลินทรีย์ จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้นชนิดละ 144 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม 2535 - กุมภาพันธ์ 2538

ตัวอย่าง (μ = 144)	time of methylene blue (Hr.)	Psychrotrophs (colony/ml.)	Mesophiles (colony/ml.)	Coliforms (colony/ml.)
นมดิบก่อนผลิต	5-9	4.0 x 10-1.7 x 10^4	6.1 x 10^3-5.0 x 10^5	7.0 x 10-5.5 x 10^3
นมพาสเจอร์ไรส์ก่อนการบรรจุ	6-10	ตรวจไม่พบ***	2.0 x 10-6.0 x 10^3	ตรวจไม่พบ
นมพาสเจอร์ไรส์หลังการบรรจุ	6-10	ตรวจไม่พบ***	1.0 x 10-3.7 x $10.^3$	ตรวจไม่พบ
น้ำใช้ในโรงงาน	-	ตรวจไม่พบ	5.0 x 10-4.6 x 10^4	ตรวจไม่พบ
น้ำล้างเครื่องโรงงานโรงงานก่อนผลิต	-	ตรวจไม่พบ	1.0 x 10-8.0 x 10^4	ตรวจไม่พบ
ความสะอาดถังรวมนมพาสเจอร์ไรส์ก่อนผลิต	-	<1.0 x 10****	1.0 x 10-5.3 x 10^{3*}	<1.0 x 10****
ความสะอาดถุงบรรจุนมพาสเจอร์ไรส์	-	<1.0 x 10*****	<1.0 x 10-6.8 x 10**	<1.0 x 10*****

หมายเหตุ

* : หน่วยเป็น colony/inch^2

** : หน่วยเป็น colony/ความจุ 1 ml.

*** : หน่วยเป็น colony/0.1 ml.

**** : หน่วยเป็น colony/24 inch^2

***** : หน่วยเป็น colony/ความจำ 200 ml.

ตารางที่ 5 แสดงคุณภาพน้ำนมทางด้านเคมี ทางด้นกายภาพและอายุการเก็บของนมพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุแล้ว จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 144 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม 2535 - กุมภาพันธ์ 2538

ตัวอย่าง ($\mu = 12$)	acidity (%)	alcohol test	organoleptic test			keeping quality (days)
			texture	odour	taste	
นมดิบก่อนผลิต	0.120-0.150	-ve	-ve	-ve	-ve	-
นมพาสเจอร์ไรส์ ก่อนการบรรจุ	0.120-0.150	-ve	-ve	-ve	-ve	-
นมพาสเจอร์ไรส์ หลังการบรรจุ	0.125-0.150	-ve	-ve	-ve	-ve	>21->37

หมายเหตุ -ve : ปกติ

ตารางที่ 6 แสดงอายุการเก็บของนมพาสเจอร์ไรส์หลังการบรรจุ ในฤดูกาลต่าง ๆ โดยพิจารณาจากความคงตัวของโปรตีน (alcohol test) และลักษณะทางกายภาพ โดยใช้ประสาทสัมผัส (organoleptic test) จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 144 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม 2535 - กุมภาพันธ์ 2538

ช่วงเวลาที่ทำการทดลอง	keeping quality (days)	ช่วงเวลาที่ทำการทดลอง	keeping quality (days)	ช่วงเวลาที่ทำการทดลอง	keeping quality (days)
มี.ค. 35-มิ.ย. 35	>30- >37	มี.ค. 36-มิ.ย. 36	>30- >37	มี.ค. 37-มิ.ย. 37	>21- >37
ก.ค. 35-ต.ค. 35	>21- >37	ก.ค. 36-ต.ค. 36	>30- >37	ก.ค. 37-ต.ค. 37	>21- >37
พ.ย. 35-ก.พ. 36	>30- >37	พ.ย. 36-ก.พ. 37	>30- >37	พ.ย. 37-ก.พ. 38	>21- >37

หมายเหตุ อายุการเก็บของนมพาสเจอร์ไรส์ถือเอาวันที่ทำการทดสอบดูความคงตัวของโปรตีนด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ แล้วยังปกติอยู่ โดยที่ลักษณะทางกายภาพยังปกติอยู่เช่นกัน ถ้าผิดปกติถือว่าเสียหรือหมดอายุแล้ว

ตารางที่ 7 แสดงคุณภาพน้ำนมพาสเจอร์ไรส์หลังการบรรจุทางด้านจุลินทรีย์ ในฤดูกาลต่าง ๆ จากการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 144 ตัวอย่าง จากโรงงานนมวิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม 2535 - กุมภาพันธ์ 2538

ช่วงเวลาที่ทำการทดลอง	tine of methylene blue (Hr.)	Psychrotrophs (colony/01 ml.)	Mesophiles (colony/ml.)	Coliforms (colony/ml.)
ปี 2535-2536				
มี.ค. 35 - มิ.ย. 35	7-9	ตรวจไม่พบ	4.0 x 10-8.0 x 10^2	ตรวจไม่พบ
ก.ค. 35 - ต.ค. 35	6-9	ตรวจไม่พบ	2.0 x 10^2-3.0 x 10^3	ตรวจไม่พบ
พ.ย. 35 - ก.พ. 36	6-9	ตรวจไม่พบ	5.0 x 10-1.0 x 10^3	ตรวจไม่พบ
ปี 2536-2537				
มี.ค. 36 - มิ.ย. 36	6-9	ตรวจไม่พบ	2.0 x 10-8.0 x 10^2	ตรวจไม่พบ
ก.ค. 36 - ต.ค. 36	7-9	ตรวจไม่พบ	2.0 x 10^2-3.7 x 10^3	ตรวจไม่พบ
พ.ย. 36 - ก.พ. 37	8-10	ตรวจไม่พบ	5.1 x 10-8.5 x 10^2	ตรวจไม่พบ
ปี 2537-2538				
มี.ค. 37 - มิ.ย. 37	6-9	ตรวจไม่พบ	8.0 x 10-1.3 x 10^3	ตรวจไม่พบ
ก.ค. 37 - ต.ค. 37	7-9	ตรวจไม่พบ	8.0 x 10-1.7 x 10^3	ตรวจไม่พบ
พ.ย. 37 - ก.พ. 38	7-9	ตรวจไม่พบ	1.0 x 10-1.2 x 10^2	ตรวจไม่พบ
ช่วงที่พบตั้งแต่				
มี.ค. 35 - ก.พ. 38	6-10	ตรวจไม่พบ	1.0 x 10-3.7 x 103	ตรวจไม่พบ

Pasteurized Milk Quality Detection : Before and After the Processing Improvement

Churath Plaksanguansri

Abstract

Before the improvement of pasteurization processing of 12 cow's milk samples from Lop Buri Agricultural College dairy plant, Pattananikom district, Lop Buri province, during November 1991-January 1992, total count, psychrotrophs and coliforms were in the range of 8.1×10^3-3.2×10^4, 2.7 x 10-1.9×10^2 and 1.0-6.0 x 10 cfu/ml respectively. The milk can be stored more than 7 days but not more than 15 days. After the processing improvement, one hundred and fourty pasteurized milk samples were analyzed weekly during March 1992 to February 1995. It was found that shelf life of the pasteurized milk can be extended to more than 21 days under restricted controlled processing. Total count of the final product after being processed were in the range of 1.0 x 10-3.7×10^3 cfu./ml. with no psychrotroph and coliformin 1.0 and 0.1 ml, respectively. Methylene blue was reduced in 6-10 hours. Acidity was in the range of 0.125-0.150%. Protein was stable in 75% ethylalcohol. Organoleptic tests revealed normal in all characteristics including colour, texture, odour, with slight sweetness. Raw milk entering this process had total count, psychrotrophs and coliforms of 6.1×10^3-5.0×10^5, 4.0 x 10-1.7×10^4, 7.0 x 10-5.5×10^3 cfu./ml., respectively. When the raw milk was processed through a well controlled and efficient processing, it was found that no presence of psychrotroph and coliform in 0.1 and 1.0 ml. respectively, with total count less than 1.0×10^4 cfu/ml However, sanitation within the production process must include appropiate, pre-rinsing before operation so that neither psychrotrophs nor coliforms survived in 1 ml. of circulating washed water. The psychrotroph and coliform counts of storage pasteurized milk tank and filling plastic bag were lower than 10 cfu./24 $inch^2$ and 10 cfu/200 ml respectively. Deterioration of pasteurized milk was not depended on seasons if the milk was kept in storage which temperature below 10 °C at all time.

Key words : pasteurized milk, bacteria count, dairy cow. milk quality

Lop Buri Agricultural College, Pattananikom District, Lop Buri, Thailand.

บริษัท ยูนิตี้-ดีวีเอ็ม คอร์เปอเรชั่น จำกัด

ผู้แทนจำหน่าย ผลิตภัณฑ์คุณภาพจาก

ปีเตอร์แฮนด์ แอนนิมัล เฮลท์ (ประเทศอังกฤษ)

 # ซี ที ซี 100 , ซี ที ซี 150 ในสื่อ **คริสตาดอน**

(คลอเตตร้าซัยคลิน ฟีดเกรด ในรูปแคลเซี่ยม คอมเพล็กซ์)

 # ไทโลซิน การ์เทรต

(ปฏิชีวนะละลายน้ำ สำหรับสัตว์ปีก

 # ไทโลซิน 100

(ไทโลซิน ฟอสเฟต สำหรับผสมอาหาร)

 # ไทโลซิน/ซัลฟา-100/100

(ไทโลซิน ฟอสเฟต และซัลฟาดิมีดีน สำหรับผสมอาหาร)

 # แบมเบอร์มัยซิน 20

(สารเร่งการเจริญเติบโต สำหรับ สัตว์ปีก)

ซีไอดีไลน์ (ประเทศเบลเยี่ยม)

 # ซี ไอ ดี 20

(ยาฆ่าเชื้อ ประสิทธิภาพสูง)

"มุ่งมั่น พัฒนา เพื่อผลตอบแทนที่คุ้มค่า การลงทุน"

บริษัท ยูนิตี้-ดีวีเอ็ม คอร์เปอเรชั่น จำกัด

157 หมู่ 3 ถนนลำลูกกา-ธัญบุรี ต.รังสิต

อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110 โทร.5774420-4 แฟกซ์ 5774427

รายงานการประชุมใหญ่สามัญประจำปี 2538 (โดยย่อ) สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์

วันศุกร์ที่ 15 มีนาคม 2539

ณ ห้องกมลทิพย์ โรงแรมสยามซิตี้ กรุงเทพฯ

เริ่มประชุมเวลา 9.30 น.

มีสมาชิกเข้าร่วมประชุม 107 คน

วาระที่ 1 นายกสมาคมฯ กล่าวเปิดประชุม

นายสัตวแพทย์วิพิชญ์ ไชยศรีสงคราม นายกสัตวแพทยสมาคมฯ กล่าวเปิดการประชุม และต้อนรับสมาชิก

วาระที่ 2 การบรรยาย-เสวนาวิชาชีพสัตวแพทย์

2.1 "ก้าวหน้าของ พ.ร.บ. วิชาชีพการสัตวแพทย์ พ.ศ....."

โดย รศ.นายสัตวแพทย์สุวงศ์ ศาสตรวาหา กล่าวว่า สัตวแพทยสมาคมฯ ได้นำเรื่องวิชาชีพสัตวแพทย์ด้านวิชาชีพประกอบศิลปะ เสนอผ่านกรมปศุสัตว์ขึ้นไปอีกครั้งหนึ่ง แต่ยังไม่ประสบความก้าวหน้าเพิ่มเติม

2.2 วิชาการก้าวหน้า แนวทางศึกษาต่อปริญญาโท (ในประเทศ)

โดยคณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้แทนคณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในปี 2539 จะเปิด - พยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์
- สัตวแพทย์สาธารณสุข

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก. ปัจจุบันมีการเปิดสอนระดับบัณฑิตศึกษา ดังนี้
- วิทยาศสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาค
- วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพยาธิวิทยาทางสัตวแพทย์
- วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสรีรวิทยาทางสัตว์

นอกจากนี้อยู่ระหว่างดำเนินการ 2 หลักสูตร คือ
- วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
- สัตวแพทย์สาธารณสุขศาสตร์มหาบัณฑิต

วาระที่ 3 ติดตามเรื่องเดิมและพิจารณา

3.1 กิจกรรมประจำ

3.1.1 การประชุมคณะกรรมการบริหาร สพ.ส.ท.

นับจากการประชุมใหญ่ครั้งที่แล้วเมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม 2538 จนถึงปัจจุบัน คณะกรรมการบริหารฯ ได้มีการประชุมรวม 8 ครั้ง

3.1.2 วันสถาปนาสัตวแพทยสมาคมฯ

เมื่อวันที่ 4 สิงหาคม 2538 สัตวแพทยสมาคมฯ ได้ร่วมทำบุญถวายสังฆทานอุทิศส่วนกุศลให้แก่สมาชิกผู้ล่วงลับ ณ วัดชลประทานรังสฤษดิ์ และได้บริจาคเงินจำนวน 2,000.- บาท สมทบทุนจัดซื้อเครื่องมือแพทย์และเวชภัณฑ์ให้แก่ตึก 84 ปีปัญญา นันทะ และมีผู้ร่วมบริจาคอีก 2,200.- บาท รวมเป็นเงิน 4,200.- บาท

3.1.3 การมอบทุนการศึกษา ประจำปี 2538

สัตวแพทยสมาคมฯ ได้จัดสรรทุนการศึกษา ตามที่มีผู้มอบเป็นเงินกองทุนไว้ และให้สัตวแพทยสมาคมฯ ดำเนินการ จำนวนทั้งสิ้น 11 ทุน ดังนี้

1. ทุนหลวงชัยอัศวรักษ์ 1 ทุน 3,000.- บาท
2. ทุนวิจิตรพาหนการ 1 ทุน 3,000.- บาท (ทุนต่อเนื่อง 2 ปี)
3. ทุน ดร.อาร์.พี.โยนส์ 1 ทุน 3,000.- บาท
4. ทุนพระยาอาหารบริรักษ์ 1 ทุน 3,000.- บาท (ทุนต่อเนื่อง 2 ปี)
5. ทุน ดร.ทศพร สุทธิคำ 1 ทุน 3,000.- บาท
6. ทุน สรร อักษรานุเคราะห์ 3 ทุน ทุนละ 5,000.- บาท (ทุนต่อเนื่อง 2 ปี)
7. ทุนสำเนียง ศรมณี 1 ทุน 3,000.- บาท

8. ทุน ศ.ดร.เชื้อ ว่องส่งสาร 1 ทุน 3,000.- บาท

นอกจากนี้ ก. ทุนสนั่น เอกพจน์ฯ มีดอกผลไม่เพียงพอที่จะจัดสรรได้ในปีนี้

ข. ทุนอุดม-รำพึง ศิษย์ สพ.19 ได้แจ้งความประสงค์ให้เลื่อนจัดสรรในปีนี้ไปก่อน

ค. ทุน ศ.น.สพ.ดร.เชื้อ ว่องส่งสาร ได้รับบริจาคเพิ่มเติม

ง. ทุน ยังศักดิ์ฯ ยังไม่มีดอกผลที่สามารถนำมาจัดสรรได้ในปีนี้

3.1.4 งานเลี้ยงแสดงความยินดีแก่ สพ.บ. รุ่น 53

ได้จัดขึ้นเมื่อวันที่ 21 พฤศจิกายน 2538 ณ โรงแรมมารวยการ์เด้นท์ มีบัณฑิตซึ่งจบจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ สังกัด 3 มหาวิทยาลัย จำนวน 150 คน และมีรุ่นพี่ร่วมงานพอสมควร งานนี้ได้รับการสนับสนุนจาก บริษัท โรห์น เมอร์ริเออร์ จำกัด

3.1.5 งานเลี้ยงแสดงมุทิตาจิตแก่สมาชิกผู้เกษียณอายุราชการ

ได้จัดขึ้นเมื่อวันที่ 10 พฤศจิกายน 2538 ณ ราชตฤณมัยสมาคม มีสมาชิกผู้เกษียณอายุในปีนี้ที่สำรวจได้ 7 ท่าน คือ

1. รศ.นายสัตวแพทย์สุจินต์ ชลายนคุปต์
2. นายสัตวแพทย์เสมอ ทวีวิทยการ
3. นายสัตวแพทย์กมล อวัยวานนท์
4. นายสัตวแพทย์ไพศาล จุลฤกษ์
5. นายสัตวแพทย์ลพ ตรีถัน
6. นายสัตวแพทย์วิพิชญ์ ไชยศรีสงคราม
7. รศ.นายสัตวแพทย์สุวงศ์ ศาสตรวาหา

3.1.6 วารสารสัตวแพทยสาร

เป็นวารสารทางวิชาการ ซึ่งจัดพิมพ์เป็นประจำ ปัจจุบันเป็นปีที่ 46 ฉบับที่ 3 โดยมี สพ.ญ.ดร.ดรุณี ทันตสุวรรณ เป็นสารณียกรและยินดีรับการเสนอเรื่องจากสมาชิกและนักวิชาการทุกท่าน ในปีนี้วารสารสัตวแพทยสาร ขอเปลี่ยนแปลงอัตราค่าโฆษณา เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการจัดพิมพ์สูงขึ้น

3.1.7 งานของฝ่ายทะเบียน

ในรอบปีที่ผ่านมา มีสมาชิกเพิ่มขึ้น 25 คน ฝ่ายทะเบียนได้ทำการสำรวจข้อมูลของสมาชิกและที่อยู่ให้ถูกต้องและทันสมัย และขอความร่วมมือสมาชิกโปรดแจ้งการเปลี่ยนแปลงข้อมูล (ถ้ามี) ฝ่ายทะเบียนและเจ้าหน้าที่ศูนย์ทนเทศปศุสัตว์ฯ กรมปศุสัตว์ ได้พัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อใช้จัดระบบข้อมูลของสมาชิก ใช้ประมวลผลข้อมูลของสมาชิกได้รวดเร็วขึ้น

สมาคมฯ มีนโยบายที่จะแต่งตั้งผู้แทนของสัตวแพทยสมาคมฯ ประจำในแต่ละภาคของประเทศ เพื่อเป็นศูนย์กลางการส่งข่าวสารและข้อมูล

3.1.8 การคัดเลือกสัตวแพทย์ตัวอย่างประจำปี 2538

สัตวแพทยสมคมฯ เห็นสมควรให้มีการประกาศเกียรติคุณสัตวแพทย์ผู้บำเพ็ญประโยชน์แก่วิชาชีพสัตวแพทย์ สังคม ตลอดจนประเทศชาติ จนเป็นที่ยอมรับทั่วไป เพื่อเป็นการยกย่องและให้กำลังใจแก่ผู้อุทิศตนเพื่อวิชาชีพสังคมและประเทศชาติ สมควรที่จะได้รับการยกย่องให้ปรากฏแก่สาธารณชน ทั้งนี้สัตวแพทยสมาคมฯ มีนโยบายที่จะดำเนินการเป็นประจำทุกปี

3.2 กิจกรรมทางวิชาการ

3.2.1 การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ครั้งที่ 22

งานฯ ได้จัดขึ้นเมื่อวันที่ 20-22 พฤศจิกายน 2538 ณ โรงแรมมารวยการ์เด้นท์ โดยนายกสัตวแพทยสมาคมฯ เป็นประธานจัดงาน มีผู้เข้าร่วมประชุมทั้งสิ้น 400 คน ผู้เข้าประชุมส่วนมากมาจากหน่วยราชการ (81%) และเป็นสมาชิกของสมาคม (73%) สรุปความคิดเห็นจากผู้เข้าประชุมเห็นว่า อยู่ในระดับดีปานกลาง มีผู้เสนอผลงาน 47 เรื่อง เป็นการบรรยายพิเศษ 9 เรื่อง ได้รับการสนับสนุนจากบริษัทซึ่งร่วมแสดงผลิตภัณฑ์ 11 บูธ และได้รับการสนับสนุนจากมูลนิธิสัตวแพทย์ ทั้งค่าใช้จ่ายและร่วมจัดการบรรยาย นอกจากนี้ บริษัทโรห์นเมอร์ริเออร์ จำกัด ได้มอบวัคซีนให้แก่นิสิตปีสุดท้ายของคณะสัตวแพทยศาสตร์ ทุกมหาวิทยาลัย เนื่องในโอกาสครบ 100 ปี หลุยส์ปลาสเตอร์ ในวันเปิดการประชุมวิชาการของสมาคมฯ

ในการประชุมครั้งนี้ ได้ยกเว้นค่าลงทะเบียนให้แก่สมาชิก สพ.ส.ท. ผู้เกษียณอายุราชการด้วย

3.2.2 การร่วมเป็นเจ้าภาพการประชุม วทท. ครั้งที่ 21

ได้จัดขึ้นเมื่อวันที่ 18-20 ตุลาคม 2538 และสัตวแพทยสมาคมฯ ช่วยทำหน้าที่ประชาสัมพันธ์

3.2.3 การจัดสัมมนาร่วมกับ สสวทท. เรื่อง "สัตว์ปลอดโรค ผู้บริโภคปลอดภัย การแข่งขันของไทยสู่ตลาดโลก"

ได้จัดขึ้นเมื่อวันที่ 7 สิงหาคม 2538 ณ ห้องกิ่งทอง โรงแรมเอเชีย โดยมีผู้เข้าร่วมสัมมนาประกอบไปด้วยบุคลากรผู้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับงานโภชนาการ มาตรฐานอาหาร ยาสัตว์ การเลี้ยงสัตว์ และอื่นๆ มีข้อสรุปประเด็น ปัญหาและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานในด้านนี้

3.2.4 การเข้าร่วมประชุมสัตวแพทยศาสตร์ศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 1

สัตวแพทยสมาคมฯ ได้เข้าร่วมประชุมสัตวแพทยศาสตร์ศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 1 ของทบวงมหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 18-20 สิงหาคม 2538 ที่โรงแรมการ์เด้นบีช เมืองพัทยา ที่ประชุมได้พิจารณาใน 3 ประเด็น คือ ความต้องการบุคลากรในสาขาสัตวแพทยศาสตร์ การพัฒนาหลักสูตรการเรียนการสอน และการศึกษาต่อเนื่องตลอดจนงานวิจัยทางด้านสัตวแพทยศาสตร์

3.3 กิจกรรมทั่วไป

3.3.1 พ.ร.บ.วิชาชีพการสัตวแพทย์

สัตวแพทยสมาคมฯ ได้ประสานงานการนำเสนอร่าง พ.ร.บ. วิชาชีพการสัตวแพทย์ พ.ศ..... เพื่อให้มีการจัดตั้งสัตวแพทยสภา เนื่องจากการยุบสภาฯ เมื่อปี 2538 ทำให้ พ.ร.บ. ดังกล่าวซึ่งรอการบรรจุเข้าวาระประชุมของสภาผู้แทนราษฎรต้องชะงักไป

3.3.2 การปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติ

สัตวแพทยสมาคมฯ ได้ร่วมปลูกป่าถาวรเฉลิมพระเกียรติเนื่องในมหามงคลโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ทรงครองราชย์ครบ 50 ปี โดยได้ปลูกป่าที่สำนักสงฆ์สายใจธรรม จ.ฉะเชิงเทรา เมื่อวันที่ 8 กรกฎาคม 2538 และพระธรรมปิฎก (ประยุทธ ปยุตฺโต) ได้แสดงธรรมเรื่อง "คนไทยกับสัตว์ป่า"

3.3.3 กิจกรรมร่วมกับ สสวทท.

ได้ให้ความร่วมมือออกรายการกองทัพบกพบประชาชน ด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี ของ สสวทท. โดย รศ.สพ.ญ.ดร.อัจฉริยา ไศละสูต ได้เป็นผู้ประสานงาน

นอกจากนี้ ได้จัดสัมมนาโต๊ะกลมร่วมกับ สสวทท. เรื่อง "สัตว์ปลอดโรค ผู้บริโภคปลอดภัย การแข่งขันของไทยสู่ตลาดโลก" เมื่อเดือนกรกฎาคม และร่วมเข้าพบรัฐมนตรีว่าการกระทรวงวิทยาศาสตร์ฯ เพื่อรับทราบนโยบาย

3.3.4 กิจกรรมร่วมกับ FAVA

ได้เข้าร่วมประชุมคณะกรรมการบริหาร FAVA ซึ่งมีการประชุมพร้อมกับการประชุม World Veterinary Congress เมื่อวันที่ 6 กันยายน 2538 ที่เมืองโยโกฮามา ประเทศญี่ปุ่น การประชุมครั้งต่อไปจะจัดที่นิวซีแลนด์ และ FAVA Congress ครั้งที่ 10 ในปี 1977 จัดที่ออสเตรเลีย

นอกจากนี้ ร่วมสนับสนุนกิจกรรมการให้ทุนฝึกอบรม โดย Japanese Veterinary Medical Association เป็นเจ้าของทุนฝึกอบรม Veterinary Training Program เป็นประจำทุกปีสำหรับในปีนี้ เริ่มตั้งแต่ เมษายน 2539 ถึง มีนาคม 2540 และผู้ได้รับการคัดเลือกให้ได้รับทุนฝึกอบรม คือ นายสัตวแพทย์ประพฤกษ์ ตั้งมั่นคง และนายสัตวแพทย์ธเนศ ถวิลหวัง

กิจกรรมอีกส่วนหนึ่ง คือ โครงการแลกเปลี่ยนการฝึกอบรมบุคลากรทางสัตวแพทย์ ระหว่างประเทศสมาชิก ซึ่งสัตวแพทยสมาคมฯ กำลังขอความร่วมมือจากหน่วยงานภาคเอกชน

3.3.5 กิจกรรมร่วมกับ WAVFH

โดยมี รศ.น.สพ.สงคราม เหลืองทอง-คำ เป็นผู้แทนของสัตวแพทยสมาคมฯ แห่งประเทศไทยฯ ทั้งนี้ WAVFH ได้เสนอร่างข้อบังคับฉบับใหม่ และสัตวแพทยสมาคมฯ ให้ความเห็นชอบในหลักการ

3.3.6 การร่วมเป็นสมาชิกสมาพันธุ์ปศุสัตว์แห่งชาติ

กลุ่มสมาคมและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับกิจการสัตว์ได้ร่วมกันจัดตั้งสมาพันธุ์ปศุสัตว์แห่งชาติ เพื่อจัดทำกิจกรรมร่วมกัน โดยมี นายกสัตวแพทยสมาคมฯ ทำหน้าที่ประธานชั่วคราว และเชิญชวนการสมัครเป็นสมาชิกจากสมาคมต่างๆ ตั้งแต่ปีที่แล้ว ขณะนี้ไม่มีความคืบหน้า

3.3.7 กิจกรรมปัจฉิมนิเทศนิสิตสัตวแพทย์

นายกสัตวแพทยสมคมฯ ได้รับเชิญจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แนะนำกิจกรรมของสมาคมแก่นิสิตปีสุดท้าย ในกิจกรรมปัจฉิมนิเทศประจำปีการศึกษา 2538 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2539 และมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อวันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2539

ใบสั่งโฆษณา

หนังสือ "สัตวแพทยสาร" ของสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์

69/26 ซ.โรงภาพยนตร์เอเธนส์ ถ.พญาไท กรุงเทพฯ 10400 โทร. 2551309, 2528773 แฟกซ์. 2528773

เขียนที่.....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าในนามบริษัท / ห้าง / ร้าน.....

ยินดีให้ความอุปการะการพิมพ์หนังสือ "สัตวแพทยสาร" ดังนี้

เล่มที่ 1 เดือน มีนาคม 2539 ประจำปีที่ 47

เล่มที่ 2 เดือน มิถุนายน 2539 ประจำปีที่ 47

เล่มที่ 3 เดือน กันยายน 2539 ประจำปีที่ 47

เล่มที่ 4 เดือน ธันวาคม 2539 ประจำปีที่ 47

ด้วยข้อความตามที่แนบมา หรือความเรียงดังนี้.....

รวมทั้งสิ้นเป็นจำนวน.....เล่ม ต่อเนื่องกันเป็นจำนวนเงินรวม.....บาท (.....) ซึ่งข้าพเจ้าจะชำระเงินค่าโฆษณาแจ้งความกับเจ้าหน้าที่ของสมาคมฯ ที่นำใบเสร็จรับเงินและหนังสือ "สัตวแพทยสาร" มาให้ข้าพเจ้าถูกต้องแล้วเป็นจำนวน.....เล่ม ทุกครั้งที่พิมพ์เสร็จโดยไม่คิดมูลค่า

ลงนาม.....

( )

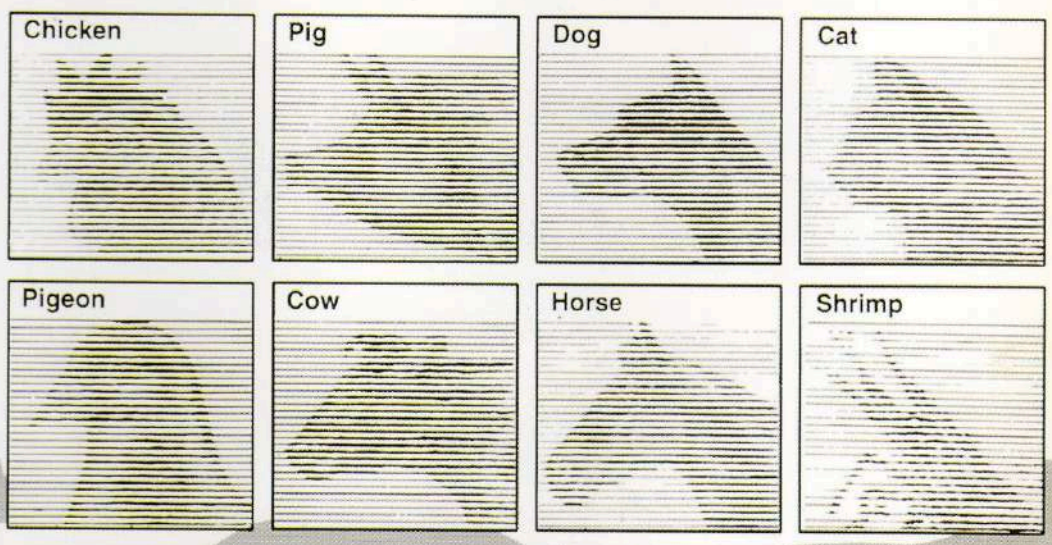
ตำแหน่ง.....

อัตราค่าลงโฆษณาแจ้งความใน "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
โฆษณาบนซอง	3,000.00	บาท

หมายเหตุ - ใบแทรกในฉบับ ผู้ลงโฆษณาจัดพิมพ์เองให้เรียบร้อย (ขนาด 8 หน้ายก)

ผลิตภัณฑ์ยาสัตว์



โซลเวย์ แอนิมัล เฮ็ลธ์

โซลเวย์ แอนิมัล เฮ็ลธ์ ไทยแลนด์, บริษัท เอส.เอ.เอช (ไทยแลนด์) จำกัด

61/5 ซอยนาวิน ถนนเชื้อเพลิง ช่องนนทรี ยานนาวา กทม. 10120 โทร. 2499986 (7 สาย) เทเลแฟ็กซ์ (662) 2498900

กำจัดเห็บและหมัด อย่างหมดสิ้น และ ออกฤทธิ์ปกป้องสัตว์เลี้ยงของท่านได้ยาวนาน

ด้วย ฟรอนท์ไลน์

หาซื้อได้ตามคลินิกรักษาสัตว์
และโรงพยาบาลสัตว์ทั่วประเทศ

ฟรอนท์ไลน์ ขนาด 250 มล.
สำหรับสุนัขพันธุ์ขนาดกลาง
และ พันธุ์ใหญ่

ฟรอนท์ไลน์ ขนาด 100 มล.
สำหรับแมว และสุนัขพันธุ์เล็ก

FRONTLINE®
กำจัดเห็บ, หมัด หมดสิ้นยาวนาน

RHÔNE MÉRIEUX

3195/8 อาคารวิบูลย์ธานี 1 ชั้น 3 ถนนพระราม 4 แขวงคลองตัน เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10110 โทร. 6613377 - 8 โทรสาร. 6613379