

*บทคัดย่อ*

**งานประชุมวิชาการ คณะสัตวแพทยศาสตร์  
ประจำปี 2547**

*วันที่ 20-21 พฤษภาคม 2547*

*ณ ห้องสาธิต อาคาร 60 ปี*

*คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

# การเก็บโอโอไซต์ด้วยการเจาะผ่านช่องคลอด โอฟีอุ ในแม่ กระบือปลักที่มีวงจรการเป็นสัดปกติและในแม่กระบือเลี้ยงลูก

มงคล เตชะกำพุ<sup>1\*</sup> เอกชาติ พรหมดิเรก<sup>1</sup> จินดา สิงห์ล่อ<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีเข็มดูดเจาะต่อกับเครื่องมือคลื่นความถี่สูงในกระบือปลักไทยในกระบือที่ไม่ตั้งท้องและกระบือหลังคลอด โดยศึกษาจำนวนโอโอไซต์และชนิดของโอโอไซต์ที่เก็บได้ และผลกระทบของการเจาะรังไข่ด้วยวิธี OPU ต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์ ทำการศึกษาในกระบือไม่ตั้งท้อง จำนวน 5 ตัว และกระบือหลังคลอดประมาณ 3 เดือน จำนวน 6 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่กระตุ้นด้วยฟอลลิเคิล สติมูเลติงฮอร์โมน ขนาด 400 มก. และกลุ่มที่ไม่ได้กระตุ้น ผลการศึกษาพบว่า การกระตุ้นด้วยฮอร์โมนทำให้ได้จำนวนโอโอไซต์ที่มากกว่าในกระบือทั้งสองชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับกระบือที่ไม่ได้ทำการกระตุ้น โดยได้ค่าเท่ากับ  $3.7 \pm 2.7$  ( $n=112$ ) เทียบกับ  $1.4 \pm 1.3$  ( $n=35$ ) โอโอไซต์ต่อตัว ( $P<0.05$ ) ในกลุ่มกระบือที่ไม่อุ้มท้องและเท่ากับ  $5.9 \pm 3.5$  ( $n=196$ ) เทียบกับ  $0.7 \pm 0.8$  ( $n=24$ ) โอโอไซต์ต่อตัว ( $P<0.05$ ) ในกลุ่มกระบือหลังคลอด โดยอัตราการเก็บโอโอไซต์ในกระบือทั้งสองกลุ่มเท่ากับ 50-60% โอโอไซต์ที่ได้มีลักษณะที่มีเซลล์นิวคลีอัสหุ้มรอบประมาณ 60-70% และจากการศึกษาผลกระทบหลังเจาะโดยติดตามการเจริญของฟอลลิเคิลทุกสัปดาห์ในกระบือ 4 ตัว พบว่าทุกสัปดาห์จะมีฟอลลิเคิลจำนวนหนึ่งที่เจริญขึ้นมาเท่ากับ  $2.40 \pm 1.30$  ( $n=75$ ) ฟอลลิเคิลต่อตัว และสามารถเจาะโอโอไซต์ได้ทุกสัปดาห์ เท่ากับ  $1.20 \pm 1.30$  ( $n=37$ ) โอโอไซต์ต่อตัว และจากการติดตามการทำงานของรังไข่โดยตรวจจากการเจริญของฟอลลิเคิลด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์หลังสิ้นสุดการเจาะโอโอไซต์พบว่ากระบือ 3 ใน 4 ตัว มีการแสดงการพัฒนาเป็นคลื่น มีการเกิดฟอลลิเคิลชนิดโดมิแนนท์ประมาณ 15-16 วัน แสดงให้เห็นว่ารังไข่ยังคงทำงานได้ตามปกติ จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าสามารถเจาะเก็บโอโอไซต์จากรังไข่ของแม่กระบือที่ไม่อุ้มท้องและหลังคลอด ทั้งกระตุ้นและไม่กระตุ้นด้วยฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รวมทั้งรังไข่มีฟอลลิเคิลที่เจริญปกติหลังหยุดการเจาะ

คำสำคัญ : แม่กระบือปลักไม่อุ้มท้อง แม่กระบือปลักหลังคลอด โอฟีอุ โอโอไซต์

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวบาลและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# OOCYTE RECOVERY USING A TRANSVAGINAL ULTRASOUND-GUIDED, FOLLICLE ASPIRATION TECHNIQUE IN CYCLIC SWAMP BUFFALO AND LACTATING BUFFALO COWS (*Bubalus bubalis*)

Mongkol Techakumphu<sup>1\*</sup> Akachart Promdireg<sup>1</sup> Jinda Singlor<sup>1</sup>

## Abstract

The objectives of the studies were to compare oocyte recovery rates and their quality using non-pregnant and postpartum swamp buffalo cows with and without gonadotropin stimulation. The effect of long term ultrasound-guided follicular aspirations OPU on ovarian function was investigated by daily ultrasonography. (OPUs) were performed on 5 non-pregnant and 6 early postpartum buffalo cows every two weeks. For the visualization of the ovaries and guidance of the aspiration needle, a 5.0 MHz transvaginal probe, attached to a probe carrier was inserted into the vagina. After penetration of the vaginal wall, the needle was inserted into the follicles. The follicular fluid in the oocytes was aspirated at a pressure of 80-100 mmHg. The buffaloes of both reproductive status were given 400 mg Follicle Stimulating Hormone (FSH) over three days on a decreasing scale and 100 µg Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) intramuscularly 24 h after the last FSH. Oocyte collection was performed for 6 sessions on FSH-treated animals in both non-pregnant and postpartum cows. After a 2 week rest period, OPU was restarted for another 6 sessions in non stimulated animals. In the non-pregnant group, recovered oocytes numbered  $3.70 \pm 2.70$  (n=112), more than in the nontreated animals,  $1.40 \pm 1.30$  (n=35) (P<0.05) while in the postpartum group, they were  $9.00 \pm 3.20$  (n=196), higher than non-stimulated group,  $0.70 \pm 0.80$  (n=24) (P<0.05). The oocyte recovery rate in both buffalo groups was around 50-60%. Sixty to seventy percent of recovered oocytes were classified as complex cumulus oocytes and single cumulus oocytes. After finishing OPU, it was found that follicle development continued normally in the observed animals with the appearance of a dominant follicle within 15-16 days post OPU. In this study, it was concluded that oocyte retrieval by OPU can be performed in both non-pregnant and early postpartum buffalo cows and the supplementation of FSH increases the number of aspirated oocytes. No significant effect on ovarian function was seen after long term OPU procedures in these buffaloes.

**Keywords :** non-pregnant, early postpartum, OPU, buffalo cows

<sup>1</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การพัฒนาเทคนิคการย้ายฝากเซลล์โซมาติกนิวเคลียส เพื่องานวิจัยทางการแพทย์และการเกษตร

มงคล เตชะกำฟู<sup>1\*</sup> ปราณีย์ นำชัยศรีคำ<sup>2</sup> รัฐจักร รังสิวิวัฒน์<sup>1</sup>  
สมชาย สุวจนกรณ<sup>2</sup> กำธร พุกขานานนท์<sup>2</sup> และประมวล วีรุตนเสน<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อพัฒนาเทคนิคการย้ายฝากเซลล์โซมาติกนิวเคลียสเพื่องานวิจัยทางการแพทย์และการเกษตร โดยใช้หนูถีบจักรและกระต่ายเป็นต้นแบบในการพัฒนา ซึ่งประกอบด้วยวิธีการเตรียมโอโอไซต์ตัวรับ วิธีการเตรียมนิวเคลียสตัวให้ วิธีการดูดสารพันธุกรรมออกจากเซลล์ตัวรับ การเชื่อมและการกระตุ้นเซลล์ให้หลอมรวมกัน การย้ายฝากเซลล์ตัวให้ไปยังเซลล์ตัวรับ และการเลี้ยงโคลนตัวอ่อนในหลอดทดลองจนถึงระยะมอรูลาและบลาสโตซิสต์ อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้เทคนิคการฉีดนิวเคลียสเข้าเซลล์ไม่เหมาะสมในการผลิตโคลนตัวอ่อนทั้งในหนูถีบจักรและกระต่าย งานวิจัยที่จะพัฒนาต่อไปคือการศึกษาชนิดของเซลล์ตัวให้ชนิดต่างๆ ต่อการพัฒนาของโคลนตัวอ่อน การศึกษาการโคลนตัวอ่อนข้ามสายพันธุ์สัตว์ การศึกษาด้านเซลล์ต้นแบบโดยร่วมกับเทคนิคการย้ายฝากนิวเคลียส รวมทั้งการศึกษาการย้ายฝากนิวเคลียสในสัตว์ที่ใกล้สูญพันธุ์

**คำสำคัญ :** การย้ายฝากนิวเคลียสด้วยเซลล์โซมาติก กระต่าย การพัฒนาในหลอดทดลอง

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE DEVELOPMENT OF A SOMATIC CELL NUCLEAR TRANSFER TECHNIQUE FOR BIOMEDICAL AND AGRICULTURAL RESEARCH

Mongkol Techakumphu<sup>1\*</sup> Pranee Numchaisrika<sup>2</sup> Ratajuk Rungsiwiat<sup>1</sup>  
Somchai Suvajanakorn<sup>2</sup> Kamtorn Prugsananon<sup>2</sup> Pramuan Virutamasen<sup>2</sup>

## Abstract

The objective of these studies was to develop somatic cell, nuclear transfer using mice and rabbits as a model for biomedical and agricultural research. The whole process of somatic nuclear transfer using the cell fusion technique was developed. This included recipient oocyte preparation, donor cell preparation, enucleation of recipient oocytes, fusion and activation, nuclear transfer and *in vitro* culture of cloned oocytes to the morula and blastocyst stage. A failure of *in vitro* development was observed when using intracytoplasmic, donor cell injection in both mice and rabbits. Further studies will focus on the type of donor cells, interspecies cloning, embryonic stem cell development and the application of nuclear transfer for endangered species.

---

**Keywords :** somatic cell nuclear transfer, rabbit, development

---

<sup>1</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ผลของสภาวะการเลี้ยงโอโอไอซ์ต่อการปฏิสนธิอกร่างกาย ของลูกโคก่อนวัยเจริญพันธุ์

มงคล เตชะกำพุ<sup>1\*</sup> นวเพ็ญ ภูติกนิษฐ์<sup>1</sup> วันเพ็ญ อุดยานุภาพ<sup>1</sup> จินดา สิงห์ล่อ<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาศักยภาพของรังไข่ลูกโคก่อนวัยเจริญพันธุ์ด้านการตอบสนองต่อการกระตุ้นการเจริญของฟอลลิเคิลหลายใบด้วยฮอร์โมนโกนาโดโทรปินจากภายนอก และศึกษาความเหมาะสมของสภาวะการเพาะเลี้ยงโอโอไอซ์ของลูกโคภายนอกอกร่างกาย รวมถึงศึกษาความเหมาะสมของระบบการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนที่ได้จากการปฏิสนธิอกร่างกายของโอโอไอซ์ของลูกโคจนถึงระยะพร้อมนำไปย้ายฝาก โดยทำการทดลองในลูกโค 3 ชุด คือ ลูกโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียนจำนวน 9 ตัว ลูกโคนมพันธุ์ผสม จำนวน 9 ตัว และลูกโคไทยพื้นเมือง จำนวน 8 ตัว อายุระหว่าง 6-12 เดือน โปรแกรมการกระตุ้นรังไข่มี 2 โปรแกรม โปรแกรมแรกใช้กับลูกโคชุดที่หนึ่งและสอง ทำการฝังฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนที่ได้ผิวหนังหลังไปนุหนาน 7 วัน ก่อนเริ่มให้ฮอร์โมนชนิด ฟอลลิเคิล สติมูเลติง ขนาด 120-180 มก.ต่อตัว ร่วมกับโกนาโดโทรปิน รีลีสซิง ฮอร์โมนขนาด 100 ไมโครกรัมต่อตัว โปรแกรมที่สองใช้กับลูกโคชุดที่สาม ใช้ฟอลลิเคิล สติมูเลติงฮอร์โมน ขนาด 120 มก. ต่อตัวเพียงอย่างเดียว เปิดผ่าช่องท้องลูกโคเพื่อดึงรังไข่ขึ้นมาับจำนวนฟอลลิเคิลภายหลังเสร็จสิ้นการให้ฮอร์โมนแล้ว 24 ชั่วโมง พบว่าจำนวนฟอลลิเคิลบนรังไข่มีการแปรปรวนไปในระหว่างลูกโคแต่ละตัว (8-121 ฟอลลิเคิลในลูกโคชุดแรก, 13-99 ฟอลลิเคิลในลูกโคชุดที่สอง และ 23-75 ฟอลลิเคิลในลูกโคชุดที่สาม) เส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลที่พบบนรังไข่ลูกโคชุดที่หนึ่ง สอง และ สาม เท่ากับ  $0.51 \pm 0.24$ ,  $0.64 \pm 0.28$  และ  $0.54 \pm 0.20$  ซม. ตามลำดับ พบว่าฟอลลิเคิลบนรังไข่ของลูกโคชุดที่สองมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยมากกว่าลูกโคชุดแรกและชุดที่สองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อัตราการเก็บโอโอไอซ์ที่ได้จากการเจาะเก็บด้วยวิธีใช้เข็มฉีดยาต่อกับกระบอกฉีดยาเจาะดูดจากฟอลลิเคิลโดยตรงเท่ากับ 24.5% ซึ่งต่ำกว่าการเจาะด้วยการใช้เข็มต่อกับเครื่องดูดสูญญากาศที่แรงดูด 120 มิลลิเมตรปรอทที่เก็บได้ 59.60% และการตัดรังไข่ออกทั้งสองข้างแล้วนำไปเจาะดูดโอโอไอซ์ในห้องปฏิบัติการที่เก็บได้ 56.30% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ชนิดของโอโอไอซ์ที่เจาะเก็บได้โดยรวม เป็นโอโอไอซ์ที่มีเซลล์ควมูตัสหุ้มหนาแน่น 33.40% มีเซลล์ควมูตัสหุ้มเพียงชั้นเดียวหรือบางส่วน 31.80% เซลล์ควมูตัสแผ่กระจาย 30.50% ไม่มีเซลล์ควมูตัสหุ้ม 2.30% และเป็นโอโอไอซ์ที่เสื่อมสภาพ 2.00% วิธีการเจาะเก็บโอโอไอซ์ที่มีผลต่อชนิดของโอโอไอซ์ที่ได้ การใช้เข็มฉีดยาเจาะดูดโอโอไอซ์จากฟอลลิเคิลโดยตรงจะได้โอโอไอซ์ชนิดที่มีเซลล์ควมูตัสแผ่กระจายมากที่สุด (41.80%) เช่นเดียวกับการเจาะเก็บโอโอไอซ์จากรังไข่ที่ถูกตัดออกจากตัวสัตว์แล้ว (36.70%) การใช้เครื่องดูดสูญญากาศที่แรงดูด 120 มิลลิเมตรปรอท จะได้โอโอไอซ์ชนิดที่มีเซลล์ควมูตัสหุ้มหนาแน่นมากที่สุด (42.50%)

โอโอไอซ์ที่มีเซลล์ควมูตัสแผ่กระจาย 29.40% มีโครโมโซมในระยะพร้อมปฏิสนธิทันทีที่เจาะเก็บได้ และมีอัตราการเสื่อมสภาพของโครโมโซมเพิ่มขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนานเกินกว่า 2 ชั่วโมง ส่วนโอโอไอซ์ที่ยังไม่พร้อมปฏิสนธิมีอัตราการพัฒนาสู่ระยะพร้อมปฏิสนธิสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 28 ชั่วโมง (24.20%) เมื่อเปรียบเทียบการพัฒนา ระหว่างโอโอไอซ์จากลูกโคกับโคโตเต็มวัยพบว่า โอโอไอซ์จากโคโตเต็มวัยมีการพัฒนาเร็วกว่าโอโอไอซ์ที่ได้จากลูกโคในชั่วโมงที่ 8 และ 16 ของการเพาะเลี้ยงเมื่อนำมาปฏิสนธิอกร่างกายพบว่าโอโอไอซ์สามารถเกิดการปฏิสนธิและแบ่งตัวได้โดยทดลองเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงชนิด TCM 199 ที่เติมซีรัม 20% และน้ำยาเพาะเลี้ยงชนิด B2 ที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์ VERO (37.40% กับ 34.60%) แต่ไม่มีตัวอ่อนพัฒนาถึงระยะมอรูล่าหรือบลาสโตซิส จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถกระตุ้นรังไข่ของลูกโคก่อนวัยเจริญพันธุ์ และเลี้ยงให้พร้อมปฏิสนธิได้ แต่อัตราการปฏิสนธิค่อนข้างต่ำและตัวอ่อนไม่สามารถพัฒนาได้ถึงระยะที่เหมาะสมในการย้ายฝากในโคตัวรับ

คำสำคัญ : โอโอไอซ์ การปฏิสนธิอกร่างกาย ก่อนวัยเจริญพันธุ์ ลูกโค

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ ระบุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE EFFECT OF *IN VITRO* CULTURE CONDITIONS ON PREPUBERTAL CALF OOCYTES AND *IN VITRO* FERTILIZATION

Mongkol Techakumphu<sup>1\*</sup> Nawapen Phutikanit<sup>1</sup> Wanpen Adulyanubap<sup>1</sup> Jinda Singlor<sup>1</sup>

## Abstract

The objective of this study was to evaluate the ovarian responses to gonadotropin treatment in prepubertal calves and to provide suitable conditions for *in vitro* maturation and embryo culture, after *in vitro* fertilization of the calf oocytes.

Two ovarian superstimulation programs were tested. The first program was carried out in crossbred dairy calves (n = 9) and crossbred native calves (n = 8). The calves received a progesterone ear implant, 7 days before starting the gonadotropin treatment. The calves were treated with 120-180 mg Follicle Stimulating Hormone (FSH), together with 100 ug Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH). The second program was used in Thai native calves (n = 9). The calves received only 120 mg FSH without progesterone and GnRH. All calves underwent surgery 24 hr after the last hormone injection, the ovaries were examined and the follicles were counted and measured. The number of follicles varied greatly (8-121 follicles per animal in crossbred dairy calves, 13-99 follicles per animal in crossbred native calves and 23-75 follicles per animal in Thai native calves). The average diameter of the follicles was  $0.51 \pm 0.24$ ,  $0.64 \pm 0.28$  and  $0.54 \pm 0.20$  cm in crossbred dairy, crossbred native and Thai native groups, respectively.

The oocyte recovery rate was evaluated for each of the three collecting methods; a) manual aspiration from follicles using a 19 G needle attached to a syringe, b) aspiration using a vacuum pump at 120 mmHg and c) the ovaries were removed and follicles were aspirated in the laboratory. Method a) provided the lowest recovery rate (24.5%) compared to method b) (59.6%) and c) (56.3%). The recovered oocytes were classified based on their cumulus appearance. The percentages were 33.4%, 31.8%, 30.5%, 2.3% and 2.0% for the compact layered cumulus, single and partial layered cumulus, expanded cumulus, denuded and degenerated oocytes, respectively. The oocytes collected by method a) were mostly expanded cumulus oocytes (41.8%) as were those collected by method c) (36.7%). Method b) provided the highest percentage of compacted cumulus oocytes (42.5%).

The chromosomal stage of the oocytes was examined after rapid staining. Almost 30% of the expanded cumulus oocytes showed chromosome of a matured stage, at the time of collection. The appropriate culture time *in vitro* for this group should not exceed 2 hours. The immature, oocyte cultures after 28 hours showed the highest percentage maturation (24.2%). The oocytes from adult cows developed faster than those from calves after being cultured *in vitro* for 8 and 16 hours.

The two embryo culture systems, after *in vitro* fertilization, were compared. The embryos cultured in TCM199 plus 20% FCS had a slightly higher cleavage rate than those cultured in B2 medium with a VERO cell line (37.4% vs 34.6%), but none reached morula or blastocyst stage.

In conclusion, it was possible to stimulate the ovary of prepubertal calves and their oocytes could be matured and fertilized *in vitro*. However, the *in vitro* embryo culture systems used in this study did not support embryo development to a transferable morula or blastocyst stage.

---

**Keywords :** oocyte, *in vitro* fertilization, prepuberty, calf

---

<sup>1</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330

\*Corresponding author

# การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแม่และลูกโคนม โดยใช้ดีเอ็นเอฟิงเกอร์พรินท์

วิสุทธิ นวลชื่น\* กิตติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ สุพิชญา เชษฐสิงห์ สัจวร อยู่สว่าง

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะดีเอ็นเอฟิงเกอร์พรินท์โดยศึกษา polymorphism ของแม่และลูกโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูงและต่ำในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟริเซียนของเกษตรกรอำเภอมหาลักษ์ จังหวัดสระบุรี จำนวน 40 ตัว แบ่งโคออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มโคที่ให้ผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยสูงกว่า 30 กก. เปรียบเทียบกับกลุ่มโคที่ให้ผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยต่ำกว่า 20 กก. ต่อตัวต่อวันต่อระยะการให้นม ซึ่งแต่ละกลุ่มจะใช้แม่โคนมที่กำลังให้ผลผลิตน้ำนม 10 ตัว และลูกโค 10 ตัว โดยการเจาะเลือดและแยกเม็ดเลือดขาวและใช้ bovine kappa-casein primers และใช้เอนไซม์ *HindIII* และ *HinfI* สำหรับตัดสายดีเอ็นเอในการทำ PCR-RFLP และตรวจสอบ polymorphism ของดีเอ็นเอโดยใช้วิธี agarose gel electrophoresis พบว่าแถบ ดี เอ็น เอ เท่ากับ 874 bp เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ *HindIII* พบแถบดีเอ็นเอ 3 รูปแบบคือ แบบที่ 1 มีขนาด 874 bp แบบที่ 2 มีขนาด 874, 521, 353 bp และแบบที่ 3 มีขนาด 521, 353 bp และการตัดด้วยเอนไซม์ *HinfI* พบแถบดีเอ็นเอ 3 รูปแบบ คือ แบบที่ 1 มีขนาด 360, 170, 150, 120, 74 bp แบบที่ 2 มีขนาด 434, 360, 170, 150, 120, 74 bp และแบบที่ 3 มีขนาด 434, 170, 150, 120 bp สรุปได้ว่าการทำ PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ *HindIII* และ *HinfI* ให้ผลรูปแบบแสดงลักษณะ polymorphism ของแม่และลูกโคนมตรงกันและสอดคล้องกันทั้งสองเอนไซม์ และ polymorphism ที่ตัดด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดจะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแม่และลูก คือ แถบดีเอ็นเอที่พบส่วนใหญ่จะมีขนาดเดียวกันและจากการเปรียบเทียบลักษณะ polymorphism พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มโคที่ให้ผลผลิตน้ำนมสูงกับกลุ่มโคที่ให้ผลผลิตน้ำนมต่ำ

คำสำคัญ : โคนม ดีเอ็นเอฟิงเกอร์พรินท์ พีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# A STUDY OF RELATIONSHIP BETWEEN DAIRY CALVES AND THEIR DAMS USING DNA FINGERPRINTING

Wisut Nualchuen\* Kitiya Srisakwattana Supitchaya Chethasing Sangwon Usawang

## Abstract

The objective of this study was to study the DNA fingerprint of 40 Holstein Friesians, with high and low milk yields and their calves, by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Each group of twenty cows included 10 milking cows and 10 calves. Total DNA was extracted from white blood cells and were subjected to PCR-RFLP, using bovine, kappa casein primers and two restriction enzymes *HindIII* and *HinfI*. The PCR product was 874 bp. Three types of polymorphism were identified by *HindIII* 874 bp ; 874, 521, 353 bp and 521, 353 bp. *HinfI* also showed three types of restriction patterns, 360, 170, 150, 120, 74 bp ; 434, 360, 170, 150, 120, 74 bp and 434, 170, 150, 120 bp. Both enzymes showed corresponding results in milking cows and their calves. Most of the milking cows and their calves showed the same restriction patterns with both enzymes. These preliminary results showed that there was no polymorphism difference between the high and low milk yield cows used in the program.

---

**Keywords :** dairy cattle, DNA fingerprint, PCR-RFLP

Research and Development Center for Livestock Production Technology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ผลของไนโตรเจนที่มีคุณสมบัติต่างกันในอาหารสำเร็จรูป ต่อไนโตรเจนและพิวรีนเมทาบอลิซึมในโคบราห์มัน

ทองสุข เจตนา\* วรรณวิภา สุทธิไกร สังวร อยู่สว่าง สุรียา กิจสำเร็จ<sup>1</sup>  
จิรพัฒน์ วงศ์พิพัฒน์<sup>2</sup> สรรเพชญ โสภณ

## บทคัดย่อ

ศึกษาผลของไนโตรเจนที่มีคุณสมบัติต่างกันในอาหารสำเร็จรูปต่อปริมาณการกินได้ ความสมดุลของไนโตรเจน ความเข้มข้นของยูเรีย น้ำตาลกลูโคสและอินซูลินในเลือด ความเข้มข้นของยูเรียและแอนแลนทอยในน้ำปัสสาวะและ ปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตจากกระเพาะรูเมน รวมทั้งประเมินการใช้อัตราส่วนระหว่างแอนแลนทอยในน้ำปัสสาวะที่เก็บ บางช่วงเวลาเพื่อเป็นตัวชี้วัดปริมาณแอนแลนทอยในน้ำปัสสาวะที่เก็บทั้งวัน ในโคบราห์มันเพศผู้ จำนวน 5 ตัวน้ำหนัก เริ่มต้นเฉลี่ย  $276 \pm 7.80$  กก. สัตว์ทดลองได้รับอาหารสำเร็จรูป 3 แบบกินอย่างเต็มที่ซึ่งประกอบด้วยใยสับประรดกับ อาหารชั้นที่มีสัดส่วนต่างๆ คือ 1) ใยสับประรด 0.8: อาหารชั้น 0.2 (TMR 0) 2) ใยสับประรด 0.6: อาหารชั้น 0.4 (TMR 1) และ 3) ใยสับประรด 0.8 : อาหารชั้น 0.2 + 2 % ยูเรีย (TMR 2) และการทดลองเป็นแบบ incomplete 3 x 5 Latin square design ผลการทดลองชี้ว่าปริมาณการกินของอาหาร(วัตถุดิบแห้ง สารอินทรีย์ และสารเยื่อใย) ปริมาณการย่อยได้ (วัตถุดิบแห้ง สารอินทรีย์ และไนโตรเจน) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ในสัตว์ทดลองที่ได้รับอาหารทั้งสามชนิด แต่ ปริมาณการย่อยได้ของสารเยื่อใยในสัตว์ที่ได้รับ TMR 1 ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ที่ได้รับ TMR 0 และ TMR 2 ปริมาณการกินได้ของไนโตรเจน ความสมดุลของไนโตรเจนในสัตว์ที่ได้รับ TMR 1 และ TMR 2 เพิ่มขึ้นอย่าง มีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ที่ได้รับ TMR 0 แต่ปริมาณไนโตรเจนในอุจจาระ ไนโตรเจนในปัสสาวะไม่ได้เพิ่มขึ้น ปริมาณยูเรียไนโตรเจนและครีอะตินินในปัสสาวะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ในสัตว์ทดลองที่ได้รับ อาหารทั้งสามชนิด ปริมาณแอนแลนทอยในน้ำปัสสาวะและค่าคำนวณผลผลิตของจุลินทรีย์ไนโตรเจนของสัตว์ที่ได้รับ TMR 1 และ TMR 2 สูงกว่าสัตว์ที่ได้รับ TMR 0 อัตราส่วนระหว่างแอนแลนทอยต่อครีอะตินินในน้ำปัสสาวะที่เก็บ บางช่วงเวลามีรูปแบบเดียวกับปริมาณของแอนแลนทอยในน้ำปัสสาวะทั้งวัน สัตว์ที่ได้รับ TMR 2 มีความเข้มข้นของ ยูเรียไนโตรเจนในเลือดสูงกว่าสัตว์ที่ได้รับอาหารทุกกลุ่มแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส อินซูลินในเลือดในสัตว์ที่ได้รับอาหาร TMR 1 สูงกว่าสัตว์ที่ได้รับ TMR 0 และ TMR 2 การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ไม่มีความแตกต่างกันในสัตว์ที่ได้รับ TMR 1 และ TMR 2 ทั้งไนโตรเจนเมทาบอลิซึมและผลผลิตจุลินทรีย์จากกระเพาะ รูเมน

คำสำคัญ : อาหารสำเร็จรูป (TMR) ความสมดุลของไนโตรเจน ยูเรียในเลือด ยูเรียในปัสสาวะ แอนแลนทอยในปัสสาวะ ครีอะตินิน โคบราห์มัน

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>1</sup>เอส เค ฟาร์ม 13/1 หมู่ 4 พัทยา บางละมุง ชลบุรี

<sup>2</sup>กลุ่มวิเคราะห์อาหารสัตว์และพืชอาหารสัตว์ กองวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปทุมธานี

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE EFFECT OF NITROGEN SOURCES IN A PREPARED MIXED RATION ON NITROGEN AND PURINE METABOLISM IN GROWING BRAHMAN CATTLE

Tongsuk Jetana\* Wanvipa Suthikrai Sangwon Usawang Suriya Kijamrej<sup>1</sup>  
Cheerapat Vongpipatana<sup>2</sup> Sunpetch Sophon

## Abstract

The experiment was conducted in five, male growing Brahman cattle (1 year old) with an average initial weight of  $276 \pm 7.8$  kg in order to study the effects of total mixed rations (TMR) containing various nitrogen sources, on feed intake, nitrogen balance, plasma urea, urinary urea, allantoin excretion, and microbial production in the rumen. The allantoin to creatinine ratio, in spot samples of urine, was used as an index of urinary allantoin excretion. Animals were fed *ad libitum* with 3 different mixed rations using three combinations of pineapple waste (P) and concentrate (C) in proportions of dry matter basis of 0.8:0.2 (P80:C20, TMR 0), 0.4:0.6 (P60:C40, TMR 1), and 0.2:0.78 (P78:C20) + 2% urea (TMR 2). The study used an incomplete 3 x 5 Latin Square design and each experimental period consisting of 20 days was divided into i) 10 days of dietary adaptation and ii) 10 days of sample collection. The results indicated that there was no significant ( $p > 0.05$ ) difference on feed intake (DM, OM and fibre) and whole tract, apparent (DM, OM and N) digestibility, in animals fed the diets. Whole tract, apparent digestibility of fibre in animals fed TMR 1 was significantly ( $p < 0.05$ ) decreased when compared to animals fed TMR 0 and TMR 2. Animals fed TMR1 and TMR 2 had significantly ( $p < 0.05$ ) increased N intake and N-balance when compared to animals fed TMR 0, but faecal N and urinary N did not increase ( $p < 0.05$ ). Urea-N and creatinine in the urine were not significantly ( $p < 0.05$ ) different in animals fed the diets. Allantoin excretion in the urine and the estimation of microbial N production were higher in animals fed TMR1 and TMR 2 than those fed TMR 0. The allantoin to creatinine ratio, in spot samples of urine, showed the same pattern as the total daily allantoin excretion. Animals fed TMR 2 had the highest plasma urea-N concentration (PUN), but showed no statistical difference. The concentrations of plasma glucose and insulin were higher in animals fed TMR 1 than those fed TMR 0 and TMR 2. The study demonstrated that there was no significant ( $p > 0.05$ ) differences, between animals fed TMR 1 and TMR 2 on their nitrogen metabolism and rumen microbial yield.

**Keywords :** total mixed ratio (TMR), nitrogen balance, plasma urea, urinary urea, urinary allantoin, creatinine, Brahman cattle

---

Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

<sup>1</sup>SK. Ranch, 13/1 Moo 4 Pattaya, Bang La-Mung, Chonburi, Thailand

<sup>2</sup>Feed and Forage Analysis Section, Animal Nutrition Division, Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperation, Phatumthani, Thailand

\*Corresponding author

# การศึกษาปัจจัยเสี่ยงระดับตัวโคที่มีผลต่อปัญหาเท้าของโครีดนมในฟาร์มขนาดใหญ่

สุกิจ ประทุมชัย<sup>1\*</sup> ไสว โสสว่าง<sup>1</sup> จารุณี เย็นจันทร์<sup>1</sup>  
ชัยเดช อินทร์ชัยศรี<sup>2</sup> กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร<sup>2</sup> ธนศักดิ์ บุญเสริม<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

การศึกษาหาความชุก ชนิดรอยโรคเท้า และปัจจัยเสี่ยงระดับตัวโคของปัญหาเท้าในโครีดนมในฟาร์มขนาดใหญ่ 3 ฟาร์ม (A, B และ C) โดยการศึกษาแบบ cross sectional case control study เก็บข้อมูลระดับตัวโค 2 ครั้ง ในเดือนเมษายนกับกรกฎาคม (ครั้งที่ 1 จำนวนโค 583 ตัว) และเดือนตุลาคม (ครั้งที่ 2 จำนวนโค 753 ตัว) ข้อมูลทั้ง 2 ครั้งถูกนำมาคิดหาอุบัติการณ์ของปัญหาเท้า รายงานความชุกของปัญหาเท้าจากชุดข้อมูลครั้งที่ 2 โดยแยกแยะตามรอยโรคและปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ฟาร์ม พันธุ์ อายุ ลำดับการให้นม ระยะรีดนม และ คะแนนความสมบูรณ์ พบว่าความชุกของปัญหาเท้าในฟาร์ม A, B และ C เท่ากับ 7.60% (10/132), 13% (20/154) และ 4.70% (22/467) ตามลำดับ ลักษณะการเกิดปัญหาเท้าใหม่ เรื้อรัง และ หาย เท่ากับ 59.5% (44/74), 10.8% (8/74) และ 29.7% (22/74) ตามลำดับ รอยโรคที่พบ ได้แก่ heel erosion, white line disease, sole ulcer, interdigital dermatitis, double sole และ laminitis เท่ากับ 27.14% (38/140), 24.28% (34/140), 22.14% (31/140), 17.86% (25/140), 7.14% (10/140) และ 1.43% (2/140) ตามลำดับ ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยระดับตัวโคและปัญหาเท้า พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม โคที่มีอายุมากขึ้นและมีรอบการให้นมที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับปัญหาเท้า โดยพบว่า ลำดับการให้นม (Lact no.) ที่มากกว่า 4 รอบพบปัญหาเท้ามากกว่าเปรียบเทียบกับลำดับการให้นมอื่นๆ ระยะรีดนมระยะกลาง (DIM ที่ 101-200) พบปัญหาเท้ามากกว่าระยะอื่นๆ คะแนนความสมบูรณ์ (BCS) น้อยมีความสัมพันธ์กับปัญหาเท้า ในการวิเคราะห์ข้อมูล Multivariate binary logistic regression พบว่า ลำดับการให้นม ระยะรีดนม และคะแนนความสมบูรณ์ มีความสัมพันธ์กับปัญหาเท้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

คำสำคัญ : โครีดนม ปัญหาเท้า ฟาร์มขนาดใหญ่ ความชุก รอยโรค

<sup>1</sup>นิสิตชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ <sup>2</sup>ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# A STUDY OF THE RISK FACTORS, AT COW LEVEL, CAUSING HOOF PROBLEMS IN LACTATING COWS IN LARGE DAIRY FARMS

Sukit Pratumchai<sup>1\*</sup> Sawai Sosawang<sup>1</sup> Jarunee Yenjun<sup>1</sup>  
Chaidate Inchaisri<sup>2</sup> Kittisak Ajariyakhajorn<sup>2</sup> Thanasak Boonserm<sup>2</sup>

## Abstract

A cross sectional, case control study was conducted to investigate the prevalence of hoof lesions and individual cow, risk factors of contracting hoof problem, in lactating cows on three large dairy herds (A, B and C). Individual cow data was collected over 2 periods (583 cows in 1<sup>st</sup> period in April and July 2003, 753 cows in the 2<sup>nd</sup> period during October 2003). The incidence of hoof problem was investigated in both periods. The evaluated factors were, breed (HF < 75% and HF ≥ 75%), age (months), lactation number (1,2,3 and ≥ 4), days in milk (DIM) and body condition score (BCS). The data was analyzed by binary logistic regression. The prevalence of hoof problem in farm A = 7.6% (10/122), farm B = 13% (20/134) and farm C = 4.7% (22/445), All cases were classified as either new cases = 59.5%, chronic = 10.8% or cured = 29.7%. The major lesions were heel erosion 27.14%, white line disease 24.28%, sole ulcer 22.14% and interdigital dermatitis 17.86%. Factors contributing to hoof problem was greatest on farm B (OR = 3.019 compared to farm C) and cause more problems than the others. Cows in lactation number ≥ 4 had more hoof problems than those in lactation numbers 1 - 3, and cows in the mid-period of lactation (day in milk =101-200) were also found to have hoof problems. As age increased, hoof problems also increased. When the body condition score was low, problems with hooves increased. The data analysis indicated that breed, lactation number, days in milk and body condition score were statistically associated to hoof problems ( $p < 0.05$ ).

---

**Keywords :** dairy cow, hoof problem, large dairy farm, prevalence, lesion

<sup>1</sup>The sixth year student , <sup>2</sup>Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การเปลี่ยนแปลงระดับโครงสร้างโอโอไซต์สุกร ภายหลังการแช่แข็ง ด้วยวิธี ultrarapid freezing

อดิศร อดิเรกถาวร<sup>1\*</sup> เกริญยศ สัจจเจริญพงษ์<sup>1</sup> ศิริเพ็ญ เวชการัญญ์<sup>3</sup>  
วิมล โปธิวงศ์<sup>1</sup> มงคล เตชะกำพู่<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการตรวจสอบรูปร่างลักษณะวิธีออร์แกนเนลภายในไซโทพลาสซึมของโอโอไซต์สุกรชนิดไม่พร้อมปฏิสนธิ และพร้อมปฏิสนธิเมื่อผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี ultrarapid freezing และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงผ่าน ทำการเจาะเก็บโอโอไซต์จากรังไข่สุกรที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ในจังหวัดนครปฐม โอโอไซต์ที่ได้ส่วนหนึ่งนำไปเลี้ยงในหลอดทดลอง นาน 44 ชั่วโมงในน้ำยาเลี้ยงจนอยู่ในสภาวะพร้อมปฏิสนธิที่อุณหภูมิ 39°C คาร์บอนไดออกไซด์ 5% และความชื้นเต็มที่ โอโอไซต์ที่ได้ทั้งหมดแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ โอโอไซต์ชนิดไม่พร้อมปฏิสนธิ (กลุ่มควบคุม) โอโอไซต์ชนิดพร้อมปฏิสนธิ (กลุ่มควบคุม) โอโอไซต์ชนิดไม่พร้อมปฏิสนธิและผ่านการแช่แข็ง (กลุ่มทดลอง) และกลุ่มสุดท้ายเป็นโอโอไซต์ชนิดพร้อมปฏิสนธิและผ่านการแช่แข็ง (กลุ่มทดลอง) หลังจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกันในโอโอไซต์ที่ผ่านการแช่แข็งทั้งสองชนิด (กลุ่มที่ 3 และ 4) ได้แก่ zona pellucida ตัดสีจางลง มีการเสื่อมสลายของไมโครวิลไล พบลักษณะคล้ายช่องว่างภายในไมโทคอนเดรีย และตัดสีจางลง ผนังหุ้มรอบนอกของเม็ดไขมันและ vacuole ไม่เรียบมีรอยหยักไปมา จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าการแช่แข็งด้วยวิธีนี้มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงในระดับโครงสร้างของออร์แกนเนลภายในไซโทพลาสซึมของโอโอไซต์สุกรทั้งชนิดไม่พร้อมปฏิสนธิ และพร้อมปฏิสนธิในลักษณะเดียวกัน

คำสำคัญ : สุกร โอโอไซต์ ultrarapid freezing กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

<sup>1</sup>ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ <sup>2</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ ระบุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330 <sup>3</sup>ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN PORCINE OOCYTES AFTER ULTRARAPID FREEZING

Adisorn Adirekthaworn<sup>1\*</sup> Kriengyot Sajjarengpong<sup>1</sup> Siripen Vethchagarun<sup>3</sup>  
Wimon Pothiwong<sup>1</sup> Mongkol Techakumphu<sup>2</sup>

## Abstract

The objective of the present study was to investigate ultrastructural changes in frozen porcine oocytes at germinal vesicle and *in vitro* maturation when using the ultrarapid freezing technique. The morphological changes were assessed by transmission electron microscopy (TEM). Immature oocytes were collected from pig ovaries at a local slaughter house in Nakorn Prathom province. Some oocytes were matured, *in vitro*, for 44 hours at 39 °C, 5% CO<sub>2</sub> and high humidity. The oocytes were divided into four groups; immature (control group), *in vitro* maturation (control group), frozen immature and frozen mature oocytes (treatment groups). Electron microscopy was used to examine the fine structure of the frozen oocytes (treatment groups). The freezing technique induced some ultrastructural changes; less electron-lucent of zona pellucida, more degeneration of the microvilli, extensive vacuolization, matrix density reduction of the mitochondria, and disruption of lipid droplets and the cytoplasmic vacuoles membrane. In conclusion, the study showed that this ultrarapid freezing technique causes similar morphological features at both the germinal vesicle and maturation stage.

---

**Keywords :** pig, oocyte, ultrarapid freezing, electron microscopy

---

<sup>1</sup>Department of Anatomy <sup>2</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 <sup>3</sup>Scientific and Technological Research Equipment Centre, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

\*Corresponding author

## ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนความสมบูรณ์รูปร่าง และความหนาไขมันสันหลังในแม่สุกร

ชัยณรงค์ ภูมิรัตนประพิณ<sup>1\*</sup> อรรถพร คุณาวงษ์กฤต<sup>2</sup> เผด็จ ธรรมรักษ์<sup>2</sup> วิชัย ทันทศุภารักษ์<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนความสมบูรณ์รูปร่าง (BCS) และความหนาไขมันสันหลัง (BF) ในแม่สุกรโดยศึกษาในฟาร์มสุกรที่ใช้แม่สุกรสองสาย 3 ฟาร์ม (ฟาร์ม 1, 2 และ 3) และฟาร์มแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ (ฟาร์มที่ 4) โดยการตรวจสอบคะแนนความสมบูรณ์ของรูปร่าง โดยการให้คะแนนเป็น 5 ระดับ เปรียบเทียบกับการวัดความหนาไขมันสันหลังเป็น มม. ที่วัดด้วยเครื่องความถี่สูงชนิด เอ-โหมด 3 แห่ง (ฟาร์ม 2, 3 และ 4) และชนิดเอ-โหมด และบี-โหมด 1 แห่ง (ฟาร์มที่ 1) โดยวัดแห่งละ 500 แม่ แล้วนำค่า BCS และค่า BF ที่วัดได้มาเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของค่าทั้งสองโดยเปรียบเทียบตามค่า BCS กับค่า BF และค่า BF ในแม่ที่มี BCS เป็น 3 กับลำดับการตั้งท้องและตรวจค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของค่า BCS และค่า BF ในแต่ละฟาร์มด้วย

ผลการศึกษาพบว่าจากการเปรียบเทียบค่า BCS และ BF พบว่า ฟาร์มที่ 1, 2 และ 4 มีความสอดคล้องและใกล้เคียงกันคือ ค่า BCS ในฟาร์มที่ 1, 2 และ 4 เท่ากับ  $2.62 \pm 0.56$ ,  $2.40 \pm 0.63$ , และ  $2.37 \pm 0.58$  และค่า BF เท่ากับ  $17.99 \pm 3.77$ ,  $17.60 \pm 3.79$ , และ  $17.30 \pm 2.51$  ตามลำดับ ส่วนฟาร์มที่ 3 มีความแปรปรวนมากกว่าและมีค่าเฉลี่ย BCS มากกว่า ( $2.80 \pm 0.51$ ) ทำให้ค่าเฉลี่ย BF สูงกว่าฟาร์มอื่น ( $20.73 \pm 4.16$ ) แต่ถ้าเรียงลำดับค่า BCS จากมากไปน้อย ค่า BF ในทุกฟาร์มมีความสอดคล้องกัน สำหรับการศึกษเปรียบเทียบค่า BF ของแม่สุกรที่มีค่า BCS เท่ากับ 3 เปรียบเทียบกับลำดับครอกของแม่พันธุ์ พบว่าแม่สุกรสาวจะมีค่า BF น้อยกว่าแม่สุกรนาง ความแตกต่างของการเปรียบเทียบการวัดค่า BF ในขณะที่การตัดสินค่า BCS ในระดับเดียวกัน โดยเครื่องความถี่สูง ชนิดเอ-โหมด ไม่พบความแตกต่างของค่า BF ( $17.99 \pm 3.77$  VS  $17.91 \pm 4.10$ ,  $P > 0.05$ ) ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่า BCS และค่า BF ในภาพรวมเป็นไปในทางเดียวกัน และมีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง ( $r = 0.527$ ,  $P < 0.05$ )

การศึกษานี้สรุปได้ว่าค่า BCS และค่า BF มีความสัมพันธ์ทางเดียวกันในระดับปานกลางและลำดับครอกมีผลต่อการประเมินค่า BCS และค่า BF ด้วย ดังนั้นค่าคะแนนความสมบูรณ์ของรูปร่างมีความแม่นยำไม่เพียงพอที่จะประมาณการความหนาของไขมันสันหลัง การตรวจสอบผลกระทบของระบบสืบพันธุ์ที่มีเนื่องจากอาหารหรือพลังงาน อาจจะต้องตรวจสอบด้วยค่าความหนาไขมันสันหลัง โดยตรงโดยไม่เกี่ยวพันกับค่าความสมบูรณ์ของรูปร่าง

คำสำคัญ : ความหนาไขมันสันหลัง สภาพความสมบูรณ์ของรูปร่าง แม่สุกร

<sup>1</sup>นิสิตบัณฑิตศึกษา <sup>2</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330  
\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE RELATIONSHIP BETWEEN BODY CONDITION SCORE AND BACKFAT THICKNESS IN SOWS

Chainarong Phumratanaprapin<sup>1\*</sup> Annop Kunavongkrit<sup>2</sup>

Padet Tummaruk<sup>2</sup> Wichai Tantasuparuk<sup>2</sup>

## Abstract

The aim of this study was to determine the relationship between body condition score (BCS) and backfat thickness (BF) in sows. Two thousand sows, from four breeding farms, (farms 1, 2, 3 and 4) were used in this study. Five hundred crossbred sows were examined in farms 1, 2 and 3 whereas the other five hundred, in farm 4, were purebred Landrace. All sows were examined for their body condition score which was divided into 5 levels (1-5) and also measured for backfat thickness (mm.), using an A-mode ultrasonic device. In farm 1 a B-mode ultrasonic detector was also used. The BCS and BF were compared and sows which had a BCS (level 3) were used to compare their BF across their parity number. A comparison was also made between A-mode and B-mode ultrasonic devices. Correlation coefficients (r) between BCS and BF for each farm were also determined.

The results from the study showed that the relationship between BCS and BF in farms 1, 2 and 4 were well correlated. Mean values of BCS in farms 1, 2 and 4 were  $2.62 \pm 0.56$ ,  $2.40 \pm 0.63$  and  $2.37 \pm 0.58$  whereas BF in those three farms were  $17.99 \pm 3.77$ ,  $17.60 \pm 3.79$  and  $17.30 \pm 2.51$  (mm.), respectively. Farm 3 had more variation in BCS values with a mean of  $2.80 \pm 0.51$  and a BF value higher than the others ( $20.73 \pm 4.6$ ). However, when comparing BF and BCS, according to BCS 1 to 5, BF in all farms maintained a good relationship. For sows which had the same BCS, BF was greater in the multiparous sows than that in gilts. There was no statistical significance ( $P > 0.05$ ) between the BF measured by the A-mode or the B-mode ultrasonic devices. The correlation coefficient (r) between BCS and BF was 0.527 ( $P < 0.05$ ).

It can be concluded that BCS and BF showed a positive although moderate correlation. Parity affected levels of BCS and BF BCS was not accurate enough to predict BF. Regarding the impact of nutrition or energy imbalance on reproductive performance, backfat thickness, appeared to give a more accurate assessment than body condition scoring.

---

**Keywords :** backfat thickness, body condition, sows

---

<sup>1</sup>Postgraduate student, <sup>2</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ไวรัสพ็อร์อาร์เอสในสุกรในประเทศไทย

รุ่งโรจน์ ฆนาวงษ์นุเวช<sup>1\*</sup> สันนิภา สุรทัตต์<sup>1</sup> สุदारัตน์ ดำรงค์วัฒนาโกคิน<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

ตัวอย่างไวรัสพ็อร์อาร์เอส จำนวนทั้งหมด 137 ตัวอย่าง จากงานบริการของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับการทดสอบจำแนกสายพันธุ์ได้เป็นสายพันธุ์อเมริกา (US) จำนวน 46 ตัวอย่าง (33.58%) และสายพันธุ์ยุโรป (EU) จำนวน 91 ตัวอย่าง (66.42%) รวมทั้งได้ทดสอบความไวของ nm RT-PCR พบว่าสามารถตรวจพบไวรัสที่ปริมาณไตเตอร์้อยที่สุดน้อยกว่า  $10^1$  TCID<sub>50</sub>/ml ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างของทั้งสองสายพันธุ์เพื่อนำมาถอดรหัสการเรียงตัวของลำดับเบสของ ORF-5 พบว่าตัวอย่างไวรัสพ็อร์อาร์เอส สายพันธุ์อเมริกาที่แยกได้ในประเทศไทยมีสายพันธุ์กรรมใกล้เคียงกับไวรัสพ็อร์อาร์เอสที่แยกได้จากประเทศแคนาดา ส่วนตัวอย่างไวรัสพ็อร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรป มีสายพันธุ์กรรมใกล้เคียงกับไวรัสพ็อร์อาร์เอส ต้นแบบของยุโรป บ่งบอกถึงการระบาดของไวรัสพ็อร์อาร์เอสในประเทศไทยอาจมาจากการนำเข้าสุกรพันธุ์จากประเทศดังกล่าว นอกจากนี้พบว่าการกระจายของไวรัสพ็อร์อาร์เอสในแต่ละท้องถิ่นไม่ขึ้นอยู่กัภูมิประเทศเนื่องจากมีความเหมือนของไวรัสพ็อร์อาร์เอสที่แยกได้แต่ละท้องถิ่นที่ห่างไกลกัน ไวรัสพ็อร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทยทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคได้ โดยพบว่าไวรัสพ็อร์อาร์เอส สายพันธุ์ US (01NP1) ก่อโรครุนแรงกว่าไวรัสพ็อร์อาร์เอส สายพันธุ์ EU (02SB3) และยังพบรอยโรคโรครุนแรงในสุกรที่ชันสูตรวันที่ 15 แต่พบแอนติเจนของไวรัสพ็อร์อาร์เอส สายพันธุ์ EU อาจแฝงตัวในสุกรได้นานกว่าและอาจมีผลให้เกิดภาวะ persistent infection ทำให้ยากต่อการกำจัดเชื้อออกจากฝูงสุกร นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของยีนที่สร้าง IL-10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จากเม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดียวในกระแสเลือดของสุกรที่ให้เชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอส ณ วันที่ 5 และ 12 หลังการให้เชื้อ นอกจากนี้ยังตรวจพบการเพิ่มขึ้นของยีนที่สร้าง IL-10 และ IFN- $\gamma$  ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจากน้ำล้างปอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เริ่มจากวันที่ 9 หลังได้รับเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอส แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ไวรัสในการเพิ่มขึ้นของยีนที่สร้าง cytokines ที่ทดสอบ ( $p > 0.05$ ) จากข้อมูลวิจัยชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มการสร้าง IL10 ในสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสอาจมีผลต่อการตอบสนองการสร้างภูมิคุ้มกันอย่างไม่มีประสิทธิภาพดังที่พบในกรณีของการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนในท้องที่

คำสำคัญ : สายพันธุ์ พยาธิกำเนิด ไวรัสพ็อร์อาร์เอส ประเทศไทย

<sup>1</sup>คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup>กลุ่มงานไวรัสวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ 10900

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS (PRRSV) IN THAILAND

Roongroje Thanawongnuwech<sup>1\*</sup> Sanipa Suradhat<sup>1</sup> Sudarat Damrongwattanapokin<sup>2</sup>

## Abstract

Of 137 Thai isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) that were obtained from the Chulalongkorn University-Veterinary Diagnostic Laboratory (CU-VDL), 66.42% belonged to the European genotype and 33.58% was the US genotype. ORF-5 products of the US genotype and the EU genotype were amplified for DNA sequencing. The US genotypes were clustered within the same group and are more closely related to the IAF-EXP91 from Canada, whereas the EU isolates were very similar to the EU prototype. This suggested that there was no geographic influence on the spread of PRRSV in Thailand. In order to compare the pathogenicity of the PRRSV isolates in Thailand, both the US (01NP1) and the EU (02SB3) genotypes were used. Both genotypes were able to induce the clinical signs and lesions within 15 days post infection (DPI). The US genotype appeared to be more virulent. However, more PRRSV antigen was detected in the EU-infected pigs. The results indicated that the EU genotype might persist in pigs longer than the US genotype. We also showed that both genotypes significantly upregulated the IL-10 gene expression in the PBMC of infected pigs from 5 DPI. In addition, upregulation of IL-10 and IFN $\gamma$  gene expression was observed in BALC starting from 9 DPI. The upregulation of cytokine gene expression in BALC was observed concurrent with an increased percentage of lymphocytes in the BALC population, suggesting a role for peripheral leukocytes in cytokine production in the lungs. The results demonstrated that PRRSV infection resulted in an upregulation of IL-10 gene expression in accord with the clinical signs. The data support the notion that induction of IL-10 production may be one of the strategies used by PRRSV to modulate the host's immune responses and this may contribute to the unique clinical picture observed after PRRSV infection.

---

**Keywords :** genotype, pathogenicity, PRRSV, Thailand

---

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

<sup>2</sup>Virology Section, National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การศึกษาพยาธิกำเนิดของไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส ที่แยกได้ในประเทศไทย

ศศิวิมล ตลุ่มमुख<sup>1</sup> จักรี รัตนารามิก<sup>1</sup> นิดา นพรัตน์ไกรลาศ<sup>1</sup>  
สว่าง เกษแดงสกุลวุฒิ<sup>2</sup> สุประดิษฐ์ หวังในธรรม<sup>2</sup> รุ่งโรจน์ ชนาวงษ์นุเวช<sup>2\*</sup>

## บทคัดย่อ

การศึกษาอาการทางคลินิก รอยโรคทางมหพยาธิวิทยา และรอยโรคทางจุลพยาธิจากสุกรหย่านมอายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 21 ตัว ที่ได้รับเชื้อไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (O1NP1) และสายพันธุ์ยุโรป (O2SB3) ที่แยกได้ในประเทศไทย โดยการหยอดจมูกและฉีดเข้ากล้ามเนื้อคอขนาด  $10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub> ต่อมิลลิลิตรตำแหน่งละ 1 มิลลิลิตร จดบันทึกอาการทางคลินิก ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง และทำการชันสูตรกลุ่มละ 3 ตัวยกเว้นสุกรกลุ่มควบคุมกลุ่มละ 1 ตัว ในวันที่ 5 9 และ 15 หลังได้รับเชื้อ โดยสุกรแสดงอาการซึม มีไข้ หายใจลำบาก พบว่ากลุ่มสุกรที่ได้รับเชื้อสายพันธุ์อเมริกาแสดงอาการรุนแรงกว่ากลุ่มสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสสายพันธุ์ยุโรปและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) จากการส่องตรวจทางมหพยาธิวิทยาพบลักษณะ diffuse pneumonia ที่ปอด ร่วมกับการขยายของต่อมน้ำเหลืองบริเวณขาหนีบและต่อมน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ในกลุ่มที่ได้รับเชื้อสายพันธุ์อเมริกา และกลุ่มที่ได้รับเชื้อสายพันธุ์ยุโรปโดยความรุนแรงของรอยโรคเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่วันที่ 5-15 หลังให้เชื้อ ซึ่งรอยโรคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่ทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบภาวะตกเลือดแบบจุดกระจายทั่วไปในไตของสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส โดยพบมากที่สุดในวันที่ 5 หลังให้เชื้อในทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาด้วยวิธีย้อมเนื้อเยื่อโดยใช้ฮีมาโตไซลีนและอีโอซิน พบรอยโรคที่ปอดเป็นอวัยวะหลัก คือ interstitial pneumonia ทั้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์อเมริกา และกลุ่มที่ได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์ยุโรปซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบรอยโรคที่ต่อมน้ำเหลือง คือ lymphoid depletion รอยโรคที่ลำไส้ คือ peyer's patch hyperplasia จากการศึกษาทางชีวะพยาธิวิทยาพบระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 5 และเริ่มให้ผลบวกตั้งแต่วันที่ 9 เป็นต้นไปทั้งสองสายพันธุ์ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ทั้งสองสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย ก่อให้เกิดความรุนแรงในสุกรทดลองได้โดยไวรัสสายพันธุ์อเมริกาเหนือก่อก่อให้เกิดความรุนแรงด้านอาการทางคลินิกมากกว่า แต่ไม่มีความแตกต่างด้านความรุนแรงของรอยโรคระหว่างสองสายพันธุ์

คำสำคัญ : ไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส พยาธิวิทยา สุกร ประเทศไทย

<sup>1</sup>นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์ <sup>2</sup>หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE PATHOGENESIS OF PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS: THAI ISOLATES

Sasivimon Talummug<sup>1</sup> Jagree Ratanaramig<sup>1</sup> Nida Noparatkrailas<sup>1</sup>  
Sawang Kesdaengsakonwut<sup>2</sup> Supradit Wangnaitham<sup>2</sup> Roongroje Thanawongnuwech<sup>2\*</sup>

## Abstract

Clinical signs, macroscopic lesions and microscopic lesions were studied in the lungs and other organs of 21, three-week-old pigs from a PRRSV-challenged model. Pigs were infected intranasally and intramuscularly with  $10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml of Thai PRRSV isolates, of US genotype (01NP1, n=9), of EU genotype (02SB3, n=9) or with media alone as a control (n=3). Significantly, more severe clinical signs ( $p<0.05$ ) were observed in the US group than other groups. Pathological and serological studies were done after necropsy, at 5, 9 and 15 days post infection (DPI). The macroscopic findings revealed diffuse pneumonia and lymphadenopathy (inguinal and mesenteric lymph nodes) with no significant differences apparent in both the PRRSV infected groups. The severity of the lesions increased up to 15 DPI. In addition, diffuse petechial hemorrhages were evident in the kidneys of PRRSV-infected pigs through out the experiment, more severe at 5 DPI. Microscopic findings demonstrated that the lung lesion scores were in accordance with the gross lesions. Lymphoid depletion was also found in the lymph nodes of both types of PRRSV-infected pigs. Serological findings, using a commercial ELISA test showed that antibody titers tended to increase by 5 DPI, but were positive by 9 DPI until 15 DPI in both infected groups. The results indicated that PRRSV isolated in Thailand, of both genotypes, was able to cause typical clinical signs and lung lesions. The US strain (01NP1) caused more severe symptoms but there were no differences in either the gross or the histopathological lesions when compared to the EU strain (02SB3).

---

**Keywords :** PRRSV, pathology, pig, Thailand

---

<sup>1</sup>Sixth year students, Academic year 2003, <sup>2</sup>Veterinary Pathology UNIT, Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ มัยโคพลาสมา กัลลิเซพติกู่ม ของแม่พันธุ์ และลูกไก่กระทางที่อายุ 1 และ 35-40 วัน ในฟาร์มการค้า

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ\* จิโรจ ศศิปรียจันทร์ ธวัช เล็กดำรงศักดิ์

## บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของสถานภาพการติดเชื้อเอ็มจีในฟาร์มแม่ไก่พันธุ์ ว่ามีการถ่ายทอดเชื้อสู่ลูกไก่แรกเกิด และสถานภาพของการติดเชื้อเอ็มจีในฟาร์มลูกไก่แรกเกิดรุ่นนี้จนถึงก่อนส่งขาย โดยทำการเก็บตัวอย่างจากฟาร์มที่ผลิตลูกไก่กระทางขายจำนวน 3 ฟาร์มๆ ละ 5 ฟอง ซึ่งแต่ละฟองนี้ ประกอบด้วย แม่ไก่พันธุ์ ลูกไก่กระทางอายุ 1 และ 35-40 วัน จำนวนฟองละ 15 ตัว ทำการเก็บตัวอย่างด้วยการใช้สำลีป้ายเชื้อจากร่องเพดานของไก่เพื่อนำมาเพาะแยกเชื้อ และพิสูจน์ยืนยันด้วยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (immunofluorescence) ว่าเป็นเอ็มจีและเลือดเพื่อนำมาตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเอ็มจี ด้วยวิธีซีรัมเพลทแอกกลูติเนชัน (serum plate agglutination; SPA) ผลพบว่าทุกฟาร์มสามารถพบเชื้อเอ็มจีในฟองของแม่ไก่พันธุ์ ไก่กระทางที่อายุ 1 และ 35-40 วัน คือ 6.7-27.0% 0-1.3% และ 17.0-50.0% ตามลำดับ จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่า แม่ไก่พันธุ์สามารถถ่ายทอดเชื้อเอ็มจีสู่ลูกไก่ได้ ฟองไก่กระทางที่อายุ 1 วัน ที่ติดเชื้อเอ็มจีนี้เมื่อเลี้ยงจนอายุ 35-40 วัน จะพบเชื้อเอ็มจีในไก่ 50.0% ขณะที่ฟาร์ม 2 และ 3 ซึ่งไม่พบเชื้อเอ็มจีในไก่กระทางที่อายุ 1 วัน จะมีโอกาสพบเชื้อเอ็มจีในไก่กระทางอายุ 35-40 วัน 17.0% และ 24.0% ส่วนฟองไก่ที่มีการตอบสนองแอนติบอดีต่อเชื้อเอ็มจีอาจจะพบการติดเชื้อเอ็มจีได้แต่ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

คำสำคัญ : ไก่ มัยโคพลาสมา กัลลิเซพติกู่ม อิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ ซีรัมเพลทแอกกลูติเนชัน

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE RELATIONSHIP OF *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* INFECTION BETWEEN HENS AND THEIR BROILER CHICKS AT 1, AND 35-40 DAYS OLD IN THREE COMERCIAL FARMS

Somsak Pakpinyo\* Jiroj Sasipreeyajan Thawat Lekdamrongsak

## Abstract

This study is to investigate the relationship of *Mycoplasma gallisepticum* (MG) infection status, between broiler breeder hens, their broiler chicks at 1 and 35-40 days old. Samples were collected from 3 integrated farms, 5 flocks in each farm and 15 birds in each flock. Choanal cleft swabs and sera were taken from broiler breeder hens, their broiler chicks at 1 and 35-40 days old. Choanal cleft swabs were cultured, and isolated samples identified as MG by an immunofluorescence test. The sera were tested for MG antibodies by serum plate agglutination (SPA). The results showed that broiler breeder hens, their broiler chicks at 1 and 35 -40 days old, on all farms were found to have MG infections, ranging from 6.7-27.0%, 0-1.3%, and 17.0-50.0%, respectively. The data indicated that broiler breeder hens could pass MG microorganisms onto their progeny. MG infections in 35-40 days old birds raised from infected progeny on farm 1 were found 50% infected, whereas MG infections of 35-40 days old birds, raised from the uninfected progeny on farms 2 and 3, were found to be 17.0% and 24.0%. Finally, in flocks showing MG antibody responses, which could possibly be MG infection no significant correlations were found ( $p>0.05$ ).

---

**Keywords :** chickens, *Mycoplasma gallisepticum*, immunofluorescence, serum plate agglutination

---

Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ชนิดเชื้อเป็นเมื่อให้ร่วมกับวัคซีนชนิดเชื้อตายที่เป็นวัคซีนเดี่ยว หรือวัคซีนรวมในไก่ไข่

ชนัญดา พุฒิปิทยาธร<sup>1</sup> ปริศนา ศิริสาคร<sup>1</sup> ปิยะณัฐ ประสมศรี<sup>1</sup> จิโรจ ศติปริยจันทร์<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

ไก่ไข่เพศผู้อายุ 5 สัปดาห์จำนวน 79 ตัว ถูกแบ่งออกเป็น 8 กลุ่ม กลุ่มละ 9-10 ตัว กลุ่ม 1 เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับวัคซีน กลุ่ม 2 3 และ 4 ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลชนิดเชื้อตาย (วัคซีน1) วัคซีนรวมระหว่างนิวคาสเซิลและหวัดหน้าบวม (วัคซีน2) และวัคซีนรวมระหว่างนิวคาสเซิล หลอดลมอักเสบติดต่อและไข่นิม (วัคซีน3) ตามลำดับ กลุ่ม 5 ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น กลุ่ม 6 7 และ 8 ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นร่วมกับวัคซีน 1 2 และ 3 ตามลำดับ ไก่ทั้งหมดได้รับการป้องกันไวรัสนิวคาสเซิลสเตรนท้องถิ่นที่อายุ 9 สัปดาห์และบันทึกอัตราการตาย ไก่ทั้งหมดซึ่งนำหนักที่อายุ 5 9 สัปดาห์ และ 10 สัปดาห์ 5 วัน ทำการเก็บเลือดไก่ที่อายุ 5 6 7 8 9 สัปดาห์ 9 สัปดาห์ 4 วัน 10 สัปดาห์ 1 วัน และ 10 สัปดาห์ 5 วัน ทำการตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลด้วยวิธีอีแมกกลูตินเนชัน-อินฮิบิชั่น (เอช-ไอ) ผลการทดลองพบว่าไก่ในกลุ่มควบคุมตายทั้งหมด อัตราการตายของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักของแต่ละกลุ่มที่อายุเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับเอช-ไอ ไตเตอร์ของไก่ที่ได้รับวัคซีนแต่ละกลุ่มสูงสุดอยู่ที่อายุ 7 8 หรือ 9 สัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าระดับเอช-ไอ ไตเตอร์ของแต่ละกลุ่มสูงกว่าในช่วงก่อนได้รับเชื้อพิษทับ

คำสำคัญ : ไก่ไข่เพศผู้ โรคนิวคาสเซิล วัคซีนเชื้อเป็น วัคซีนเชื้อตาย

<sup>1</sup>นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2546 <sup>2</sup>ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330.

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE EFFICACY OF A LIVE NEWCASTLE DISEASE VACCINE SIMULTANEOUSLY GIVEN WITH OTHER SINGLE OR COMBINED INACTIVATED VACCINES, TO LAYER-TYPE CHICKENS

Chanatda Puttipitayatorn<sup>1</sup> Pritsana Sirisakorn<sup>1</sup>

Piyanat Prasomsri<sup>1</sup> Jiroj Sasipreeyajan<sup>2\*</sup>

## Abstract

Seventy-nine, 5-week-old, male, layer-type chicken were divided into 8 groups, 9-10 birds in each. Group 1 were the non-vaccinated controls. Groups 2, 3 and 4 were vaccinated with an inactivated Newcastle disease (ND) vaccine (Vac1), combined ND and Infectious Coryza (IC) vaccine (Vac 2) and combined ND, Infectious Bronchitis (IB) and Egg Drop Syndrome (EDS) vaccine (Vac 3), respectively. Group 5 was vaccinated with a live ND vaccine. Group 6, 7 and 8 were vaccinated with the live vaccine, simultaneously with vac 1, vac2 and vac3, respectively. All birds were challenged with a local strain of ND virus (NDV) when 9-week-old. Mortality was recorded. All birds were weighed when 5, 9 and 10 weeks old, 5 day-old. Blood samples were collected when 5-, 6-, 7-, 8-, 9-week-old, 9 week-4day, 10 week-1day and 10 week-5day-old. Sera were tested for NDV antibodies by the Hemagglutination-Inhibition (HI) test. The results revealed that all non-vaccinated birds died. The mortality rate among vaccinated groups was not significantly different. The body weight of each group, of the same age, was not significantly different. The HI antibody titer of each group after vaccination was highest at 7-, 8 and 9-week-old. At the end of the experiment HI titers of each group was higher than before they were challenged.

---

**Keywords :** male layer-type chicken, Newcastle disease, live vaccine, killed vaccine

---

<sup>1</sup>Sixth-year veterinary student, academic year 2003, <sup>2</sup>Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การตรวจวินิจฉัยโรคไวรัส Psittacine Beak and Feather Disease (Pbfd) ในนกกลุ่มปากงุ้มเป็นตะขอ ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส

วิจิตร บรรณานารา<sup>1\*</sup> รชฎ ตันติเลิศเจริญ<sup>2</sup> สว่าง เกษแดงสกุลวุฒิ<sup>1</sup> ธวัช เล็กดำรงศักดิ์<sup>3</sup>  
 เกสรฯ ชุมพลภูหลวงศ์<sup>4</sup> กนกวรรณ แซ่โจ้ว<sup>4</sup> พรวิดี ยังสุขสถาพร<sup>4</sup>

## บทคัดย่อ

นกกลุ่มปากงุ้มเป็นตะขอชนิดต่างๆ จำนวน 105 ตัว เป็นนกที่มีความผิดปกติของขนหรือจงอยปาก 58 ตัว และเป็นนกปกติที่เลี้ยงร่วมกับนกที่มีความผิดปกติดังกล่าว 47 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดและขนเพื่อตรวจวินิจฉัยโรค Psittacine Beak and Feather Disease (Pbfd) ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (nested PCR) และจุลพยาธิวิทยา ผลการตรวจด้วยเทคนิค nested PCR พบว่าให้ผลบวก (positive) คิดเป็น 80.00% (84/105) ซึ่งเป็นผลบวกจากเลือด 68.13 (62/91) และจากขน 71.13% (69/97) ผลทางจุลพยาธิวิทยาของขนตรวจพบก้อนอินคลูชันบอดีสีม่วงแดงทั้งในไซโตพลาสซึมและนิวเคลียส (Amphophilic intracytoplasmic and intranuclear inclusion bodies) คิดเป็น 33.33% (23/69) โดยส่วนใหญ่พบก้อนอินคลูชันบอดีในไซโตพลาสซึมของเซลล์แมโครฟาจมากกว่าในนิวเคลียสของเซลล์เยื่อบุในรากขน การตรวจวินิจฉัยโรค Pbfd ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสนั้นมีความไวมากกว่าเทคนิคทางจุลพยาธิวิทยา และขนของนกที่มีความผิดปกติของขนและจงอยปากเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคมากกว่าเลือด

**คำสำคัญ :** โรคพีบีเอฟดี นกกลุ่มปากงุ้มเป็นตะขอ ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส

<sup>1</sup>ภาควิชาพยาธิวิทยา <sup>2</sup>หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ <sup>3</sup>ภาควิชาอายุรศาสตร์ <sup>4</sup>นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE DIAGNOSIS OF PSITTACINE BEAK AND FEATHER DISEASE (Pbfd) IN PSITTACINE BIRDS USING A NESTED POLYMERASE CHAIN REACTION

Wijit Banlunara<sup>1\*</sup> Rachod Tantileartcharoen<sup>2</sup> Sawang Kesdangsakulwut<sup>1</sup>

Thawat Lekdumrongsak<sup>3</sup> Kesara Chumpolkulwong<sup>4</sup>

Kanokwan Ngow<sup>4</sup> Pornwadee Youngsuksataporn<sup>4</sup>

## Abstract

Feather and blood samples were collected from a hundred and five psittacine birds, of which fifty-eight birds showed beak and feather abnormalities and forty-seven birds were normal birds. Psittacine Beak and Feather Disease (Pbfd) was diagnosed by a nested PCR method and histopathology. The nested PCR test revealed that 80.00% (84/105) of the birds were Pbfd-positive, 68.13% (62/91) were positive from blood samples and 71.13% (69/97) were positive from feather samples. Histopathology on feathers showed 33.33% (23/69) positive cases presenting more amphophilic intracytoplasmic bodies in their macrophages than intranuclear inclusion bodies in the epithelial cells. The results suggest that nested PCR is more sensitive than histopathology and that feather samples of the abnormal beak and feather birds was more suitable for diagnostics than a blood sample.

---

**Keywords :** Pbfd psittacine birds nested PCR

<sup>1</sup>Department of Pathology, <sup>2</sup> Veterinary Diagnostic Laboratory, <sup>3</sup>Department of Medicine, <sup>4</sup>Sixth year students of academic year 2003, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การศึกษาการใช้ใบหม่อนเพื่อการผลิตไก่อกระพง

วิสุทธิ นวลชื่น\* วรรณวิภา สุทธิไกร กิตติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ สรรพเพชญ์ โสภณ  
ทองสุข เจตนา สังวร อยู่สว่าง สุพิชญา เชนฐสิงห์

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการใช้ใบหม่อนระดับต่างๆ เสริมในอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไก่อกระพง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดในโรงเรือนปิดระบบระเหยความชื้นด้วยไอน้ำ ใช้ไก่อกระพงละเพศพันธุ์ รอสวัน จำนวน 160 ตัว ทดลองในช่วงอายุ 2-7 สัปดาห์ แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว อาหารที่ใช้ทดลอง เป็นอาหารอัดเม็ดสำเร็จรูป มีโปรตีน 22 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวม 4,100 กิโลแคลอรีต่อกก. และเสริมใบหม่อนที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อาหารอย่างเต็มที่ทุกกลุ่ม ผลการทดลองพบว่าไก่อกระพงที่ได้รับอาหารเสริมใบหม่อนที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ  $4.80 \pm 0.08$ ,  $4.64 \pm 0.04$ ,  $4.50 \pm 0.07$  และ  $4.60 \pm 0.06$  กก.ต่อตัว น้ำหนักตัวที่เพิ่มเท่ากับ  $2.04 \pm 0.04$ ,  $2.07 \pm 0.04$ ,  $2.13 \pm 0.04$  และ  $2.09 \pm 0.02$  กก.ต่อตัว ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเท่ากับ  $2.30 \pm 0.08$ ,  $2.23 \pm 0.05$ ,  $2.10 \pm 0.06$  และ  $2.20 \pm 0.03$  ต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวเท่ากับ  $18.74 \pm 0.66$ ,  $17.90 \pm 0.46$ ,  $16.84 \pm 0.53$  และ  $17.66 \pm 0.28$  บาทต่อกก. เปอร์เซ็นต์ไขมันในช่องท้องเท่ากับ  $3.19 \pm 0.22$ ,  $2.16 \pm 0.25$ ,  $1.89 \pm 0.34$  และ  $1.56 \pm 0.24$  และระดับฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบต้าในเลือดไก่อกระพงเพศผู้เท่ากับ  $7.08 \pm 1.66$ ,  $6.32 \pm 2.68$ ,  $4.72 \pm 2.35$  และ  $3.46 \pm 1.79$  พิโคกรัมต่อมล. ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และมีเปอร์เซ็นต์ซากเท่ากับ  $73.80 \pm 7.95$ ,  $77.47 \pm 7.01$ ,  $81.05 \pm 5.90$  และ  $70.75 \pm 6.87$  ระดับฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบต้าในเลือดไก่อกระพงเพศเมียเท่ากับ  $9.24 \pm 4.65$ ,  $11.20 \pm 3.63$ ,  $12.27 \pm 3.84$  และ  $14.09 \pm 6.76$  พิโคกรัมต่อมล. และมีเปอร์เซ็นต์ไขมันในเนื้อเท่ากับ  $3.04 \pm 1.41$ ,  $4.22 \pm 2.64$ ,  $3.82 \pm 1.71$  และ  $1.92 \pm 0.25$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) สรุปไก่อกระพงที่ได้รับอาหารเสริมใบหม่อนที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพการผลิตดีที่สุด

**คำสำคัญ :** ไก่อกระพง หม่อน ประสิทธิภาพการผลิต เอสตราไดออล 17-เบต้า

ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# A STUDY ON THE USE OF MULBERRY LEAVES (*Morus alba L.*) FOR BROILER PRODUCTION

Wisut Nualchuen\* Wanvipa Suthikrai Kitiya Srisakwattana

Sunpetch Sophon Thongsuk Jetana Sangwon Usawang Supitchaya Chethasing

## Abstract

The objective of these experiments was to study the effect of diets, which were supplemented with various amounts of mulberry leaves, for increasing the efficiency of RossI broiler production. The experimental design was completely randomized. The broilers were kept in evaporated cooled housing. Forty broilers, 2-7 weeks of age, were divided into 4 groups, each group had 4 replications and each replication had 10 birds. The protein and metabolizable energy content of the experimental diets were, 22% and 4,100 kcal/kg, respectively. The mulberry leaves included as a supplement at 0, 2.5, 5 and 7.5%. The feed intakes were 4.80±0.08, 4.64±0.04, 4.50±0.07 and 4.60±0.06 kg per animal, respectively. The live weight gains were 2.04±0.04, 2.07±0.04, 2.13±0.04 and 2.09±0.02 kg per animal, respectively. The feed conversion ratios were 2.30±0.08, 2.23±0.05, 2.10±0.06 and 2.20±0.03, respectively. The ratio between the feed cost and the live weight gains were 18.74±0.66, 17.90±0.46, 16.84±0.53 and 17.66±0.28 baht per kilogram, respectively. The percentage of abdominal fat were 3.19±0.22, 2.16±0.25, 1.89±0.34 and 1.56±0.24, respectively. The level of oestradiol 17-β in the blood of male broilers was 7.08±1.66, 6.32±2.68, 4.72±2.35 and 3.46±1.79 pg/ml. All those above values were statistically significant (P<0.05). Carcass quality was measured as 73.80±7.95, 77.47±7.01, 81.05±5.90 and 70.75±6.87, respectively. The level of oestradiol 17-β in the blood of female broilers was 9.24±4.65, 11.20±3.63, 12.27±3.84 and 14.09±6.76 pg/ml. The percentage of muscle fat was 3.04±1.41, 4.22±2.64, 3.82±1.71 and 1.92±0.25. All these values were statistically non significant (P>0.05). The results demonstrated that a mulberry leaf supplement at 5%, showed better efficiency in broiler production than at other levels.

---

**Keywords :** broiler, mulberry, efficiency production, oestradiol 17-β

---

Research and Development Center for Livestock Production Technology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ผลของสารสกัดบาราคอลต่อการจับหลังของ secretory immunoglobulin A ในการป้องกันการเคลื่อนผ่านของเชื้อ *Salmonella Enteritidis* เข้าสู่ร่างกายของหนูขาว

สุทธาสินี ปุญญโชติ\* อินทิรา กระหม่อมทอง<sup>2</sup> วารี นิยมธรรม<sup>2</sup> ฉัตรศรี เดชะปัญญา<sup>3</sup>

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการออกฤทธิ์ของบาราคอลซึ่งเป็นสารสกัดจากใบ และดอกขี้เหล็กต่อการเปลี่ยนแปลงการจับหลังของสารจับหลังภูมิคุ้มกันชนิดเอ (sIgA) ในการป้องกันการเคลื่อนผ่านของเชื้อ *Salmonella Enteritidis* เข้าสู่ลำไส้และม้ามของหนูขาว การทดลองครั้งนี้ใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้จำนวน 30 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1 (CON) เป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารใดๆ กลุ่มที่ 2 (NSS) ป้อนสารละลายที่ใช้เจือจางแบคทีเรียและฉีดน้ำเกลือ (0.9% NaCl 1 ml, i.p) กลุ่มที่ 3 (BK) ฉีดบาราคอล (50 mg/kg, i.p) กลุ่มที่ 4 (SE) ป้อนเชื้อ *Salmonella Enteritidis* serova Enteritidis serogroup D จำนวน  $10^9$  CFU/ml/ตัว กลุ่มที่ 5 (BK/SE) ได้รับการฉีดบาราคอลก่อนเป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยการป้อนเชื้อ SE กลุ่มที่ 6 (NSS/SE) ได้รับการฉีดน้ำเกลือก่อนเป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยการป้อนเชื้อ SE หลังจากหนูกลุ่ม 4-6 ได้รับการป้อนเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว หนูจากทุกกลุ่มจะถูกทำลายเพื่อเก็บลำไส้ส่วน Peyer's patch ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay ผลการศึกษาพบว่าหนูกลุ่ม BK หรือ BK/SE มีปริมาณ sIgA มากกว่า ( $299.1 \pm 68.6$  หรือ  $209.5 \pm 43.6$  ng/ml/mg cecal content) หนูกลุ่ม CON หรือ NSS ( $51.3 \pm 3.0$  หรือ  $62.1 \pm 1.7$  ng/ml/mg cecal content ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) อย่างไรก็ตามหนูกลุ่มที่ได้รับบาราคอล (BK หรือ BK/SE) มีปริมาณ sIgA ไม่แตกต่างจากหนูที่ได้รับการป้อนเชื้อ (SE หรือ NSS/SE) แสดงให้เห็นว่าทั้งบาราคอลและการป้อนเชื้อ SE สามารถกระตุ้นการจับหลัง sIgA ได้ จากผลเปรียบเทียบการเกาะกลุ่มของเชื้อ SE ในร่างกายพบว่าปริมาณเชื้อ SE ที่เพาะได้จาก Peyer's patch และม้ามของหนูกลุ่ม SE ( $4.6 \pm 0.2$  และ  $0.8 \pm 0.4$  logCFU/gm) หรือ NSS/SE ( $4.2 \pm 0.2$  และ  $0.7 \pm 0.4$  logCFU/gm) มีจำนวนมากกว่าที่เพาะแยกได้จาก Peyer's patch และม้ามของหนู BK/SE ( $1.8 \pm 0.7$  และ  $0.2 \pm 0.2$  logCFU/gm) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.005$ ) จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าบาราคอลซึ่งเป็นสารสำคัญจากใบและดอกขี้เหล็กมีผลในการเพิ่มการจับหลังของ sIgA และสามารถลดการเคลื่อนผ่านของเชื้อ *Salmonella Enteritidis* เข้าสู่ลำไส้และม้ามได้ ฤทธิ์ดังกล่าวอาจมีประโยชน์และสามารถนำมาใช้ในการป้องกันทางเดินอาหารจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนมากับอาหารของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงได้

คำสำคัญ : บาราคอล ซาลิโมเนลล่า สารจับหลังภูมิคุ้มกันชนิดเอ การเคลื่อนผ่าน

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตววิทยา <sup>2</sup>ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>3</sup>ภาควิชาสัตววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ 10110

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE EFFECT OF BARAKOL ON IMMUNOGLOBULIN A SECRETION AGAINST *SALMONELLA* ENTERITIDIS TRANSLOCATION TO THE SYSTEMIC ORGANS OF WISTAR RATS

Sutthasinee Poonyachoti<sup>1\*</sup> Inthira Kramomtong<sup>2</sup>

Waree Niyomtham<sup>2</sup> Chatsri Deachapunya<sup>3</sup>

## Abstract

Barakol, an active constituent extracted from *Cassia siamea*, has been shown to possess anxiolytic, hypertensive and laxative effects in animals and tissues. The study was to investigate the protective effect of Barakol on the modulation of secretory immunoglobulins A (sIgA) levels against *Salmonella* Enteritidis (SE) translocation to the small intestine and spleen of rats. Male Wistar rats were randomly divided into six groups with the following treatments: (1) received no treatment (CON), (2) fed with broth and 0.9% NaCl injection (NSS; 1 ml, i.p), (3) Barakol injection (BK; 50 mg/kg, i.p), (4) fed with *Salmonella enteritica serova* Enteritidis serogroup D  $10^9$  CFU/ml (SE), (5) Barakol injection 30 min before being fed with SE (BK/SE) and (6) 0.9% NaCl injection 30 min before fed with SE (NSS/SE). Twenty-four hours after being orally infected with SE, all rats were sacrificed and colonization of SE in the Peyer's patch and spleen was determined. The caecal contents were collected to measure the sIgA concentration. The results showed that the sIgA in BK or BK/SE ( $299.1 \pm 68.6$  or  $209.5 \pm 43.6$  ng/ml/mg cecal content) was significant higher than those of CON or NSS, the control groups ( $51.3 \pm 3.0$  or  $62.1 \pm 1.7$  mg/mg,  $p < 0.001$ ). However, there were no differences in sIgA between the BK-treated groups (BK or BK/SE) and SE-infected group (SE or NSS/SE). These results indicate that both barakol treatment and SE infection can stimulate sIgA secretion. In addition, the bacterial colonization of the intestinal Peyer's patch and spleen of SE ( $4.6 \pm 0.2$  or  $0.8 \pm 0.4$  logCFU/g) or NSS/SE ( $4.2 \pm 0.2$  and  $0.7 \pm 0.4$  logCFU/g) had a significantly larger number of bacteria than those of BK/SE ( $1.8 \pm 0.7$  and  $0.2 \pm 0.2$  logCFU/g,  $p < 0.005$ ). The results of the present study suggest that Barakol extracted from *Cassia siamea* has the potential to stimulate sIgA secretion and inhibit bacterial invasion and translocation to the systemic organs. This could provide beneficial effects when using Barakol to protect humans and animals from microbial infections.

**Keywords :** barakol, *Salmonella*, secretory immunoglobulin A, translocation

<sup>1</sup>Department of Physiology, <sup>2</sup>Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

<sup>3</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok 10110

\*Corresponding author

# การศึกษาฤทธิ์ของน้ำลูกยอต่อการคลายความกังวลในหนูขาว

สถุณี กลั่นทกานนท์<sup>1\*</sup> จันทริมา ปัทมทรนทกะ<sup>2</sup>  
ศิริเพ็ญ โกมลวานิช<sup>1</sup> สุทธาสินี ปุญญโชติ<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

น้ำลูกยอ หรือน้ำโนนิ เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากการสกัดน้ำจากผลยอสด โดยในปัจจุบัน มีการบริโภคน้ำโนนิอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้ผู้บริโภคเชื่อว่าน้ำโนนิมีสรรพคุณบำรุงสุขภาพ ลดความเครียด รักษาและป้องกันโรคมะเร็งรวมถึงการคิดเชื่อกันต่าง ๆ จากการวิจัยพบว่า น้ำโนนิ สามารถลดอัตราการเกิดมะเร็งในหนูทดลอง สำหรับคุณสมบัติอื่น ๆ มาจากการบอกเล่าของผู้บริโภคเป็นส่วนใหญ่ โดยไม่มีข้อมูลทางการแพทย์สนับสนุน การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเปรียบเทียบผลของการได้รับน้ำโนนิที่ได้รับ การบริโภคแพร่หลาย คือ Tahitian Noni® Juice (TNJ) เป็นน้ำลูกยอนำเข้าจากต่างประเทศ และ Siam Noni® (SNJ) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ในประเทศ จากการศึกษาพบว่าหนูทดลองที่ได้รับน้ำโนนิติดต่อกันเป็นเวลา 15 วัน มีผลในการ คลายความกังวลเมื่อทำการทดสอบทางพฤติกรรมด้วย elevated plus-maze ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบความกังวลที่เป็นที่ยอมรับ โดยหนูที่ได้รับน้ำโนนิใช้เวลาอยู่ในส่วนของ opened-arm มากกว่าหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.0001$ ) และไม่ต่างจากหนูที่ได้รับ diazepam (15mg/kg) ซึ่งเป็นยาหลักที่ใช้ในการลดความกังวลในทางการแพทย์ นอกจากนี้ ยังพบว่าอัตราส่วนของจำนวนครั้งที่หนูเข้าสู่ opened-arm เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนครั้งที่ทั้งหมด ที่หนูเข้าออกทั้ง opened-arm และ closed-arm หนูที่ได้รับ SNJ ติดต่อกัน 15 วัน มีอัตราการเข้าสู่ opened-arm สูงกว่าหนูกลุ่ม ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.0103$ ) และการได้รับน้ำโนนิติดต่อกัน 30 วันให้ผลไม่แตกต่างจาก 15 วัน นอกจากผลที่มีต่อ พฤติกรรมแล้ว การได้รับน้ำโนนิติดต่อกัน 30 วัน ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่หนูกินต่อวัน ตลอดจนระดับของสารเคมีและอิเล็กโทรไลต์ในเลือดที่ใช้เป็นดัชนีชี้วัดการทำงานของตับและไต

คำสำคัญ : ลูกยอ น้ำโนนิ ความกังวล elevated-plus maze หนูขาว

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup>นิสิตปริญญาเอกสาขาวิชาสัตววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# A STUDY ON THE ANXIOLYTIC EFFECT OF JUICE FROM THE FRUIT OF NONI (*Morinda citrifolia* L. Rubiaceae) ON WISTAR RATS

Sarinee Kalandakanond<sup>1\*</sup> Jantarima Pandaranandaga<sup>2</sup>

Siripen Komolvanich<sup>1</sup> Sutthasinee Poonyachoti<sup>1</sup>

## Abstract

Noni juice is a natural beverage produced from ripened-noni fruit. Presently, noni juice is popularly consumed as a health-promoting product, as an herbal drink to reduce stress and to prevent cancer and infections. It has been reported by a number of researchers that noni juice can reduce the risk of cancerous growth in laboratory rats: however, the other advantages were mostly reported by the consumers themselves. In this study, we compared the effect of noni juice, Tahitian Noni<sup>®</sup> Juice (TNJ), the imported noni to the local noni juice, Siam Noni<sup>®</sup> (SNJ). We looked at the anxiolytic effect in rats fed with either TNJ or SNJ for 15 days when tested in an elevated-plus maze, the standard test to assess anxiety-like behaviors in rats. The rats those received noni juice spent significantly more time ( $p=0.001$ ) in the opened-arm than control rats and were no different from rats that had received diazepam (15 mg/kg), the standard anxiolytic drug. Moreover, the percentage entering the open-arm was also higher in rats fed with SNJ for 15 days ( $p=0.0103$ ) than for the control. Interestingly, rats fed with noni juices for 30 days were no different from the 15-day treated animals. Further, weight gain, food consumption and clinical chemistry including SGPT, SGOT, alkaline phosphatase, blood urea nitrogen, creatinine, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> were not affected when taking noni juice for 30 days.

---

**Keywords :** anxiety, elevated-plus maze, noni juice, wistar rat

---

<sup>1</sup>Department of Physiology, Faculty of Veterinary Science, <sup>2</sup>Graduated student, Interdepartment of Physiology, Graduated school, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การศึกษาเปรียบเทียบการเลี้ยงกระต่ายในโรงเรือนระบบปิด (EVAPORATIVE COOLING SYSTEM) และระบบเปิด (CONVENTIONAL SYSTEM) และชนิดของอาหารต่อ คุณลักษณะการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโต

อุตรา จามิกร<sup>1\*</sup> สุวรรณมา กิจภากรณ์<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

กระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวกิ้งน้ำหนักเฉลี่ย 3 กก. เพศเมียจำนวน 36 ตัวและเพศผู้จำนวน 9 ตัวถูกนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบคุณลักษณะการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตเมื่อเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดและระบบเปิด และให้อาหารเม็ดเปรียบเทียบกับอาหารผง รูปแบบการทดลองเป็นแบบ Completely Randomized Design (CRD) อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของโรงเรือนระบบปิดอยู่ในช่วง  $28 \pm 1.3$  องศาเซลเซียส และ  $79 \pm 1.1\%$  ส่วนของโรงเรือนระบบเปิดอยู่ในช่วง  $27 \pm 1.6$  องศาเซลเซียส และ  $78 \pm 0.9\%$  อาหารทั้งสองชนิดมีคุณค่าทางอาหารจากการคำนวณใกล้เคียงกันยกเว้นปริมาณเยื่อใยซึ่งอาหารผงมีต่ำกว่า จึงเสริมเปลือกข้าวโพดฝักอ่อน 250 กรัมให้แม่กระต่ายที่ได้รับอาหารผงก่อนคลอดและเพิ่มเป็น 500 กรัม 2 สัปดาห์หลังคลอด กระต่ายถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดและได้รับอาหารเม็ด กลุ่มที่ 2 และ 3 เลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิดโดยกลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารเม็ดส่วนกลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารผง ให้อาหารวันละ 2 เวลา คือ 8.00 น. และ 15.30 น. มีน้ำให้กินตลอดเวลา การบันทึกข้อมูลเริ่มต้นเมื่อทำการผสมพันธุ์และสิ้นสุดหลังหย่านม 4 สัปดาห์ หย่านมลูกกระต่ายเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ข้อมูลของแม่กระต่ายที่ให้ลูก 2 ตัว/ครอกหรือน้อยกว่า แม่ขาเจ็บหรือไม่เลี้ยงลูกจะไม่ถูกนำมาวิเคราะห์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระต่ายกลุ่มที่ได้รับอาหารชนิดเดียวกันแต่เลี้ยงในระบบปิดกับระบบเปิด ไม่พบความแตกต่างในเรื่องคุณลักษณะการสืบพันธุ์ แต่พบความแตกต่างสำหรับคุณลักษณะการเจริญเติบโตของลูกกระต่ายหลังหย่านม โดยลูกกระต่ายที่เลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดมีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวช่วง สัปดาห์ที่ 7-10 สูงกว่า ( $P < 0.05$ ) ลูกกระต่ายที่เลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิด และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระต่ายกลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดกับอาหารผงที่เลี้ยงด้วยกันในโรงเรือนระบบเปิด พบว่าลูกกระต่ายที่ได้รับอาหารเม็ดมีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวช่วงอายุแรกเกิดถึงหย่านม ( $P < 0.001$ ) และหลังหย่านมจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ( $P < 0.003$ ) น้ำหนักตัว ( $P < 0.001$ ) และปริมาณอาหารที่กินหลังหย่านมจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ( $P < 0.03$ ) สูงกว่าลูกกระต่ายกลุ่มที่ได้รับอาหารผง ในภาพรวม กระต่ายกลุ่มที่ 1 มีแนวโน้มที่จะมีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กินและน้ำหนักตัวสูงที่สุด รองลงมา เป็นกระต่ายกลุ่มที่ 2 และ 3 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่พบจากการศึกษาครั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของรูปแบบของอาหารเป็นสำคัญ

คำสำคัญ : โรงเรือนระบบทำความเย็นด้วยการระเหยน้ำ โรงเรือนระบบเปิด อาหารเม็ด อาหารผง คุณลักษณะการสืบพันธุ์ คุณลักษณะการเจริญเติบโต

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# A COMPARATIVE STUDY ON THE EFFECTS OF RAISING RABBITS IN AN EVAPORATIVE COOLING SYSTEM VS A CONVENTIONAL SYSTEM AND THE EFFECT OF DIETARY TYPE ON REPRODUCTIVE AND GROWTH PERFORMANCES

Uttra Jamikorn<sup>1\*</sup> Suwanna Kijparkorn<sup>1</sup>

## Abstract

Thirty six doe and nine buck New Zealand white rabbits weighing approximately 3 kg, were used in a Completely Randomized Design (CRD) to study the effects of an evaporative cooling (EVAP) system vs a conventional system and the response to pellet vs powder diets on reproductive and growth performances. The rabbits were raised in the EVAP and conventional systems with a temperature and moisture of approximately  $28\pm 1.3^{\circ}\text{C}$  and  $27\pm 1.6^{\circ}\text{C}$  and  $79\pm 1.1\%$  and  $78\pm 0.9\%$ , respectively. Pellet and powder diets were formulated to have nearly the same nutritive values with one exception, for the crude fiber in the powder diet was less than the pellet diet. To balance this animals receiving the powder diet were supplemented with baby corn husk, 250 g, once a day after mating, increasing to 500 g 2 weeks after parturition. The treatments consisted of rabbits raised in the EVAP system receiving the pellet diet (trt 1), the conventional system receiving either the pellet (trt 2) or the powder diets (trt 3). The animals were fed twice a day at 8:00 am and 3:30 pm. Water was supplied ad libitum. Data collection began at the mating date and ended at four weeks after weaning. The kids were weaned at the end of week 6. Data of does which either gave birth fewer than 2 kids, had spayleg or didn't take care of her kids, was disregarded. No differences was seen in the reproductive performances of the does fed the same type of diet and raised in the EVAP system compared to the conventional system, while for the growth performances, the kids raised in the EVAP had an average daily gain (ADG) during weeks 7-10<sup>th</sup> greater ( $P<0.05$ ) than those raised in the conventional system. In addition, ADG from birth to weaning ( $P<0.001$ ), after weaning to the end of study ( $P<0.003$ ), body weight ( $P<0.001$ ) and feed intake (FI) ( $P<0.03$ ) from after weaning to the end of the study, for the animals raised in the conventional system and fed the pellet diet, were better than those fed the powder diet. Overall trt 1 appeared to have the greatest ADG, FI, and body weight followed by trt 2 and 3. A significant difference in reproductive and growth performance were observed when feeding different form of the diet, whereas the raising system did not shown any significant effect in either case.

**Keywords :** evaporative cooling system, conventional system, pellet diet, powder diet, reproductive performances, growth performances

<sup>1</sup>Department of Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การศึกษาการเคลื่อนไหวและการมีชีวิตของตัวอสุจิแช่เย็น ในสื่อโคร่งพันธุ์เบงกอลที่ละลายในสารละลายน้ำเชื้อ 2 ชนิด และมีวิธีการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน

สุพัฒนศักดิ์ สุภารัตน์\* พิชาน เทวทิวารักษ์\*  
สิริเพ็ญ แชนดร้า สุขะบุตร\* สุตสรร ศิริไวยพวงศ์\*\*

## บทคัดย่อ

การผสมเทียมในเลือดสามารถนำมาใช้เพื่อการอนุรักษ์ และกระจายพันธุกรรมของเลือดได้ การแช่เย็นน้ำเชื้ออสุจิเป็นวิธีการที่สามารถคงสภาพของตัวอสุจิได้ในระยะเวลาสั้นๆ ซึ่งเหมาะสำหรับการขนส่งน้ำเชื้อเพื่อนำไปใช้ในการผสมเทียมโดยที่มีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างต่ำกว่าการแช่แข็ง และสามารถปฏิบัติได้ง่าย การศึกษานี้จัดทำขึ้นเพื่อเปรียบเทียบสารละลายน้ำเชื้อ 2 ชนิดที่นำมาใช้ในการแช่เย็นน้ำเชื้อเลือด คือ egg yolk lactose และ egg yolk tris และการเก็บรักษาน้ำเชื้อด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ 1) การเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยไม่มีการเปลี่ยน หรือเติมสารละลายน้ำเชื้อลงไปใหม่ 2) การเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยการเปลี่ยนสารละลายน้ำเชื้อใหม่ทุกวัน และ 3) การเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยการเติมสารละลายน้ำเชื้อลงไปใหม่ทุกวัน โดยทำการรีดเก็บน้ำเชื้อเลือดโคร่งเบงกอลจำนวน 5 ตัว ด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้า นำน้ำเชื้อที่รีดได้มาปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อทำการแยกส่วนของตัวอสุจิออกจากน้ำเลี้ยงน้ำเชื้อแล้วเติมสารละลายน้ำเชื้อแต่ละชนิด แบ่งน้ำเชื้อที่ได้ทำการละลายด้วยสารละลายน้ำเชื้อแต่ละชนิดแล้วออกเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กันเพื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสด้วยวิธีการที่แตกต่างกันดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น จากการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อหลังจากที่ได้ทำการแช่เย็นที่วันที่ 0 (3-4 ชั่วโมงหลังแช่เย็น) 1 2 และ 3 โดยการดูค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และค่าร้อยละของการมีชีวิตของตัวอสุจิพบว่า เมื่อถึงวันที่ 2 ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และการมีชีวิตของตัวอสุจิที่ทำการละลายในสารละลายน้ำเชื้อ egg yolk tris มีอัตราการลดลงที่เร็วกว่าตัวอสุจิที่ทำการละลายในสารละลายน้ำเชื้อ egg yolk lactose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และค่าร้อยละของการมีชีวิตของตัวอสุจิที่ทำการเก็บรักษาด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธีนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาสรุปได้ว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่เย็นด้วยสารละลายน้ำเชื้อ egg yolk lactose โดยที่ไม่มีการเปลี่ยนหรือเติมสารละลายน้ำเชื้อลงไปใหม่เป็นวิธีที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อเลือดโคร่งเบงกอล โดยสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้นานถึง 4 วัน ส่วนสารละลายน้ำเชื้อ egg yolk tris สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้นาน 1-2 วัน โดยไม่มีความแตกต่างของคุณภาพอสุจิ

คำสำคัญ : เลือดโคร่ง อสุจิ แช่เย็น สารละลายน้ำเชื้อ วิธีการเก็บรักษา คุณภาพ

\*นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์ \*\*ภาควิชาสัตวศาสตร์ ระบุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*\* ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE MOTILITY AND VIABILITY OF BENGAL TIGER (*PANTHERA TIGRIS*) SPERMATOZOA, CHILLED IN 2 KINDS OF EXTENDERS AND USING DIFFERENT HANDLING METHODS

Supatsak Subharat\* Pichan Taveetivarak\* Siripen Sandra Sukhabutr\*  
Sudson Sirivaidyapong\*\*

## Abstract

Artificial insemination in tigers is useful for species conservation and genetic distribution purposes. The chilling of tiger semen at 5°C is one of the techniques used when transporting semen, it is less expensive and easier than freezing the semen. This study aimed to investigate the quality of tiger spermatozoa, after being extended in Egg yolk Lactose or Egg yolk Tris and handled by 3 methods i.e., 1) chilling semen at 5°C without changing or adding new extender, 2) chilling semen at 5°C with daily changing of new extender and 3) chilling semen at 5°C with the daily addition of new extender. Semen samples were collected from 5 Bengal tigers (*Panthera tigris*) using an electroejaculator, and processed by centrifugation at 300 x g (2,000 RPM) for 10 minutes, to remove excess prostatic fluid. Subsequently, each sample was divided into 2 aliquots each aliquot extended into each semen extender and handled differently as described. The sperms progressive motility and viability was assessed on day 0 (3-4 hours after chilling), 1, 2 and 3. On day 2, the percentage of progressive motility and sperm viability, extended in Egg yolk Tris, were significantly lower than those extended in Egg yolk Lactose (P<0.05). There were no significant differences in progressive motility and sperm viability between the 3 handling methods until day 3. The results indicated that using Egg yolk Lactose as a semen extender and chilling at 5°C, without changing or adding new extender, was able to preserve Bengal tiger spermatozoa for up to 4 days. Egg yolk Tris was also able to preserve tiger spermatozoa without significant changes in motility and viability for 1-2 days.

---

**Keywords :** Bengal tiger, sperm, chilled, semen extender, handling methods, quality

---

\*Sixth year student, Faculty of Veterinary Science, \*\*Department of Obstetrics Gynecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*\*Corresponding author

# การเปรียบเทียบระยะเวลาและน้ำยาเลี้ยงชนิด TCM199 และ DMEM ในการเลี้ยงโอโอไซต์ของแมวบ้านให้พร้อมปฏิสนธิ

รัฐจักร รังสิวิวัฒน์<sup>1</sup> ปราณี นำชัยศรีคำ<sup>2</sup> สุดสรร ติริไวทยพงศ์<sup>1</sup> มงคล เตชะกำพูน<sup>1\*</sup>

## บทคัดย่อ

ศึกษาเปรียบเทียบผลของน้ำยาเลี้ยงและระยะเวลาการเลี้ยงต่ออัตราการเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์แมว โดยทำการเก็บรังไข่แมวที่ผ่านการทำหมันจากหน่วยสูติกรรม โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำใส่ในกล่องที่มีน้ำแข็งขณะที่ทำการขนย้าย เก็บโอโอไซต์จากรังไข่ด้วยวิธีตัดดยอรังไข่ด้วยใบมีดผ่าตัด และเลี้ยงโอโอไซต์ในน้ำยาเลี้ยงชนิด TCM199 หรือ DMEM ปริมาณ 50  $\mu$ l ในสภาพ 5% CO<sub>2</sub> 38.5°C นาน 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ประเมินสภาพการเจริญพร้อมปฏิสนธิจากการพบ first polar body โดยใช้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่า โอโอไซต์ที่เลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงชนิด TCM 199 และ DMEM และเลี้ยงนาน 36 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญพร้อมปฏิสนธิสูงสุด (48.0% และ 48.1% ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับโอโอไซต์ในกลุ่มการทดลองอื่นๆ สรุปว่าโอโอไซต์แมวสามารถเลี้ยงในน้ำยาชนิด TCM199 หรือ DMEM ได้ นาน 36 ชั่วโมง จะให้อัตราการเจริญพร้อมปฏิสนธิสูงสุด

**คำสำคัญ :** การเจริญพร้อมปฏิสนธิ โอโอไซต์แมว น้ำยาเลี้ยงโอโอไซต์ ระยะเวลาเลี้ยงโอโอไซต์

<sup>1</sup>ภาควิชาสูติศาสตร์ เชนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup>หน่วยชีววิทยาการเจริญพันธุ์ ภาควิชาสูติศาสตร์ นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# A COMPARISON BETWEEN THE CULTURE MEDIA (TCM199 AND DMEMs) ON *IN VITRO* MATURATION OF DOMESTIC CAT OOCYTES

Rattachuk Rangsiwiwat<sup>1</sup> Pranee Numchaisrika<sup>2</sup> Sudson Sirivaidyapong<sup>1</sup>  
Mongkol Techakumphu<sup>1\*</sup>

## Abstract

The objective of the study was to compare the two culture media; TCM199 and DMEMs and culture duration on the *in vitro* maturation of domestic cat oocytes. The cat ovaries, obtained after ovariectomy, from the obtetrics Unit, Small Animal Hospital, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University were brought immediately to the laboratory transported in an insulated box. The oocytes were subsequently collected by ovarian mincing, washed and cultivated in 50 µl of TCM199 or DMEM at 38.5°C under 5%CO<sub>2</sub> for 24, 36 and 48 h. The oocytes with an extrusion of the 1<sup>st</sup> polar body and the appearance of metaphase II in the cytoplasm, after staining, were classified as having reached a matured stage. It was found that there was no statistical difference in the maturation rate between TCM 199 and DMEM (P>0.05), while the culture period of 36h was suitable for providing the highest maturation rates in both groups; 48.0% and 48.1% respectively. We concluded that cat oocytes can mature either in TCM199 or DMEM with the best results obtained for a 36 h culture period.

---

**Keywords :** *in vitro* maturation, cat oocyte, culture media, culture period

---

<sup>1</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

<sup>2</sup>Reproductive Unit, Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การแสดงออกของอองโคยีน *c-erbB-2* ในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ เนื้อเยื่อเต้านมที่อกขยาย และมะเร็งเต้านมในแมว

มาตยา ทวีชาติ<sup>1</sup> อรุมา สิริยานน<sup>1</sup> กฤษณรงค์ วงศ์บ้านดู<sup>1</sup>  
อนุเทพ รังสีพิพัฒน์<sup>2\*</sup> อัจฉริยา ไสละสูต<sup>2</sup> สุธสรร ศิริไวทยพงศ์<sup>3</sup>

## บทคัดย่อ

จุดประสงค์การศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ในเนื้องอกเต้านมแมวกับลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ค่าดัชนี PCNA (Proliferative cell nuclear antigen) ค่าดัชนี AgNORs (Argyrophilic organizer region) กับการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมแมวจากชิ้นเนื้อจำนวน 60 ตัวอย่าง ผลการศึกษาจำแนกมะเร็งเต้านมในแมวเป็นชนิด simple tubular adenocarcinoma ร้อยละ 40 (24/60) simple papillary adenocarcinoma ร้อยละ 23.33 (14/60) solid carcinoma ร้อยละ 25 (15/60) และ cribriform carcinoma ร้อยละ 11.67 (7/60) เมื่อทำการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี พบการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ในเซลล์เนื้องอกเยื่อเต้านมชนิด adenosis และ hyperplasia ส่วนในมะเร็งเต้านมพบตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ให้ผลเป็นบวกคิดเป็นร้อยละ 41.67 (25/60) ในกลุ่ม simple tubular adenocarcinoma ให้ผลบวกร้อยละ 25 (6/24) กลุ่ม simple papillary adenocarcinoma ให้ผลบวกร้อยละ 78.6 (11/14) กลุ่ม solid carcinoma ให้ผลบวกร้อยละ 26.7 (4/15) และกลุ่ม cribriform carcinoma ให้ผลบวกร้อยละ 57.14 (4/7) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ของการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ระหว่างมะเร็งชนิด simple tubular adenocarcinoma กับชนิด simple papillary adenocarcinoma และระหว่างชนิด simple papillary adenocarcinoma กับชนิด solid carcinoma ส่วนการแสดงออกของ *c-erbB-2* ในเนื้องอกที่มีระดับความรุนแรงเกรด I ให้ผลบวกร้อยละ 42.11 ส่วนเกรด II ให้ผลบวกร้อยละ 41.46 ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ค่าเฉลี่ยดัชนี PCNA เท่ากับ  $34.63 \pm 23.87$  และค่าเฉลี่ยดัชนี AgNORs เท่ากับ  $1.23 \pm 0.18$  โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยดัชนี PCNA และ AgNORs กับลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาและระดับความรุนแรงของมะเร็ง แต่พบว่าค่าเฉลี่ยดัชนี PCNA และ AgNORs มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่มีการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ซึ่งมีค่า  $26.52 \pm 18.68$  และ  $1.12 \pm 0.27$  ตามลำดับ กับกลุ่มที่ไม่พบการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* ซึ่งมีค่า  $39.43 \pm 26.24$  และ  $1.28 \pm 0.19$  ตามลำดับ จากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่าการแสดงออกของยีน *c-erbB-2* สามารถนำมาใช้ในการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมแมวในกลุ่ม adenocarcinoma ได้เช่นเดียวกับสุนัขและมนุษย์ แต่ควรใช้ร่วมกับลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา และตัวบ่งชี้การอกขยายของเซลล์มะเร็งชนิด PCNA และ AgNORs เพื่อให้การพยากรณ์โรคมมีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

คำสำคัญ : *c-erbB-2* อองโคยีน มะเร็งเต้านมแมว อิมมูโนฮิสโตเคมี

<sup>1</sup>นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์ <sup>2</sup>ภาควิชาพยาธิวิทยา <sup>3</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ เชนเวทวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

## THE EXPRESSION OF *C-ERBB-2* IN NORMAL, AND HYPERPLASIC MAMMARY TUMORS OF CATS

Mataya tawechart<sup>1</sup> On-Uma Sirayayon<sup>1</sup> Grisnarong Wongbandue<sup>1</sup>  
 Anudep Rungsipipat<sup>2\*</sup> Achariya Sailasuta<sup>2</sup> Sudson Sirividhayapong<sup>3</sup>

### Abstract

The study looked at the relationship between the expression of *c-erbB-2* oncogene, histological types, PCNA and AgNORs indices, in feline mammary tumors. Sixty, surgically resected, mammary tumors from cats were collected and histological processed. Tumors were classified as histological types, simple tubular adenocarcinomas (ACC), 40% (24/60), simple papillary ACC, 23.33% (14/60), solid carcinomas, 25% (15/60) and cribriform carcinomas, 11.67% (7/60). The expression of *c-erbB-2* oncogene was detected by immunohistochemistry and revealed benign hyperplasia, adenosis and malignanat groups. The *c-erbB-2* oncogene expression of malignant, feline mammary tumors was 41.67% (25/60) and divided into simple tubular ACC, 25% (6/24), simple papillary ACC, 78.6% (11/14), solid carcinoma, 26.7% (4/15) and cribriform carcinoma, 57.14% (4/7). There was statistically significantly differences ( $p<0.05$ ) in the expression of *c-erbB-2* oncogene between simple tubular ACC, compared with simple papillary ACC and simple papillary ACC and solid carcinomas. The expression of *c-erbB-2* oncogene in specimens, classified by a histological malignancy grade revealed grade I, 42.11% and grade II, 41.46% but there was no statistically significant difference. An evaluation of proliferative markers shown by a mean ( $\pm$ SD) of PCNA, was  $34.63\pm 23.87$  and the mean ( $\pm$ SD) of AgNORs was  $1.23\pm 0.18$ . There was no significantly difference between the PCNA and AgNORs index of both the histological types and the histological malignancy grades. However, a statistical difference of mean PCNA and AgNORs indices was noted in both *c-erbB-2* positive and *c-erbB-2* negative groups. The mean PCNA indices and AgNORs indices in *c-erbB-2* positives were  $26.52\pm 18.68$  and  $1.12\pm 0.27$  respectively, while *c-erbB-2* negatives were  $39.43\pm 26.24$  and  $1.28\pm 0.19$  respectively. In conclusion, *c-erbB-2* oncogene expression is supposed to be an effective prognostic factor for adenocarcinoma subtypes of feline mammary tumors as it is in human and canine cases. However, integration of all the parameters (*c-erbB-2* oncogene, PCNA index, AgNORs index, histological types and clinical data) may achieve a more precise prognosis in feline mammary tumor cases.

**Keywords :** *c-erbB-2*, feline mammary tumors, immunohistochemistry

<sup>1</sup>Sixth year student of academic year 2003, Faculty of Veterinary Science, <sup>2</sup>Department of Pathology, <sup>3</sup>Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# การใช้เยื่อหุ้มรกของมนุษย์เย็บปิดแผลหลุมลึกที่กระจกตาสุนัข

ทศวรินทร์ วิชญคุปต์<sup>1\*</sup> กษพร ชัยประกิจ<sup>1</sup> คุณทีรา วงศ์พิทยาดิศัย<sup>1</sup>

ภาสกร พดกษะวัน<sup>2</sup> กัมปนาท สุนทรวิภาต<sup>2</sup> ปราณิ์ ต้นติวณิช<sup>2</sup> วิลาวัณย์ พวงศรีเจริญ<sup>3</sup>

## บทคัดย่อ

การใช้เยื่อหุ้มรกของมนุษย์รักษาแผลหลุมที่กระจกตาสุนัขทดลองจำนวน 5 ตา ทำให้เป็นแผลหลุมที่กระจกตาลึกถึงชั้น stroma ด้วย trephine ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.45 เซนติเมตร นำเยื่อหุ้มรกมนุษย์เย็บปิดแผลที่กระจกตาและเย็บหนังตาที่ 3 ไว้เป็นเวลา 7 วัน จึงทำการเปิดตรวจตาทุกๆ 3 วัน ผลการทดลองพบว่าแผลที่กระจกตาหายทุกตัว มีสุนัขเพียงตัวเดียวที่มีเส้นเลือดมาเลี้ยงที่กระจกตา สุนัข 4 ตัวจาก 5 ตัวแสดงอาการเจ็บตาและกลัวแสง สุนัขทั้งหมด มีอาการเยื่อตาขาวอักเสบ สุนัขทุกตัวสามารถมองเห็นได้อย่างปกติ

คำสำคัญ : เยื่อหุ้มรก แผลหลุมที่กระจกตา สุนัข

<sup>1</sup>นิสิตชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ <sup>2</sup>คลินิกโรคตาสัตว์ ภาควิชาสัตตศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>3</sup>ภาควิชาจักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# THE USE OF HUMAN AMNIOTIC MEMBRANE FOR DEEP CORNEAL ULCER IN DOG

Tasavarin Wichayacoop<sup>1\*</sup> Khunteera Wongpithayadisai<sup>1</sup> Kasaporn Chaiprakti<sup>1</sup>  
Pasakorn Briksawan<sup>2</sup> Kumpanart Sunthronvipat<sup>2</sup> Pranee Tuntivanich<sup>2</sup>  
Vilavun Puangsrucharern<sup>3</sup>

## Abstract

This study was performed to evaluate the use of preserved human amniotic membranes to repair corneal ulcers in 5 eyes of experimental dogs. A 0.45 centimeter, diameter, trephine was used to create a corneal stroma wound which was covered with human amniotic membranes, and a third eyelid flap, for 7 days, when the sutures from the third eyelid flap were removed. Inspection took place every 3 days. After the first week, all dogs had a complete corneal epithelium, but conjunctivitis, photophobia and corneal vascularization were observed in dogs, 5, 4 and 1, respectively. All dogs returned to normal vision in due course.

---

**Keywords :** amniotic membranes, corneal ulcer, dog

---

<sup>1</sup>6<sup>th</sup> year student, Faculty of Veterinary Science, <sup>2</sup>Eye clinic, Department of Surgery, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

<sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

# ผลของการฉีดเคตามีนเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ของไขสันหลัง เพื่อระงับความรู้สึกของขาหลังในสุนัข

สมศักดิ์ วรรณะนิตย์<sup>1\*</sup> มาริษศักดิ์ กัลล์ประวิทย์<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการฉีดเคตามีนเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ของไขสันหลัง เพื่อระงับความรู้สึกของขาหลังในสุนัขทดลอง 20 ตัว ที่ได้รับยาเตรียมการสลบอะโทรปีน ขนาด 0.04 มก./กก. ร่วมกับไซลาซีน ขนาด 2 มก./กก. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และเอซโพรมาซีน ขนาด 0.2 มก./กก. ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ สุนัขแต่ละตัวได้รับเคตามีนขนาด 2 มก./กก. ที่ผสมกับน้ำเกลือ 0.9% ให้มีปริมาตร 1 มล./น.น.ตัว 4.5 กก. 7 วันก่อนหรือภายหลังได้รับน้ำเกลือ 0.9% 1 มล./น.น.ตัว 4.5 กก. ฉีดเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ฤทธิ์การระงับความรู้สึกประเมินจากการตอบสนองของสุนัขขณะผ่าตัดเข้าหาด้านในของกระดูก tibia วัดอัตราการหายใจ อัตราการเต้นของหัวใจ และความดันเลือดแดงก่อนให้ยาทุกชนิด และที่ 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาที ภายหลังฉีดเคตามีนและน้ำเกลือเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ของไขสันหลัง พบว่าสามารถทำการผ่าตัดเข้าหากระดูก tibia สุนัขทุกตัวที่ได้รับเคตามีนเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ในขณะที่ไม่สามารถทำการผ่าตัดสุนัข 19 จาก 20 ตัวที่ได้รับน้ำเกลือเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ได้ถ้าไม่ให้ยาไซโอเพนทอล เข้าหลอดเลือดดำหรือลิโดเคนเข้าใต้ผิวหนังรอบๆ บริเวณผ่าตัด ค่าเฉลี่ยอัตราการหายใจ อัตราการเต้นของหัวใจ และความดันเลือดแดงที่เวลาต่างๆ ของทั้งสองกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ยกเว้นค่าเฉลี่ยความดันเลือดแดง systolic ของสุนัขกลุ่มที่ได้รับเคตามีนที่ 120 นาที ภายหลังฉีดเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ซึ่งมีค่าต่ำกว่าของสุนัขที่ได้รับน้ำเกลือฉีดเข้าช่องเหนือเยื่อ dura และได้รับยาลิโดเคนที่บริเวณผ่าตัด จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการให้เคตามีนเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ของไขสันหลังมีฤทธิ์ระงับปวดสำหรับการผ่าตัดที่ขาหลังของสุนัข

คำสำคัญ : เคตามีน ช่องเหนือเยื่อ dura การระงับความรู้สึก สุนัข

<sup>1</sup>คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม 73170

<sup>2</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# AN ASSESSMENT OF EPIDURAL KETAMINE FOR HINDLIMB ANESTHESIA IN DOGS

Somsak Wattananit<sup>1\*</sup> Marissak Kalpravidh<sup>2</sup>

## Abstract

### THE EFFECT OF EPIDURAL KETAMINE FOR HINDLIMB ANESTHESIA IN DOGS

The effect of epidural ketamine was studied in 20 experimental dogs premedicated with 0.04 mg/kg atropine and 2 mg/kg xylazine, given intramuscularly with 0.2 mg/kg acepromazine, intravenously. Each dog received, epidurally, 2 mg/kg ketamine diluted in 0.9% normal saline (NSS) to a volume of 1 ml/4.5 kg 7 days before or after receiving NSS of the same volume and route of administration. Anesthesia was evaluated by obscuring the animals response to a surgical approach on the medial aspect of tibia. The respiratory rate, heart rate and arterial blood pressure were measured before premedication and at 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, and 120 min after epidural administration of either ketamine or normal saline. The tibia was able to be surgically approached in all dogs receiving epidural ketamine but only in one of the twenty dogs receiving epidural NSS. However, the surgical approach could be done in the latter dogs after the administration of intravenous thiopental or local lidocaine. The respiratory rate, heart rate and arterial blood pressure were not significantly different ( $p>0.05$ ) between the two groups, apart from a lower systolic pressure in the ketamine group, 120 min after epidural injection. According to this study epidural ketamine has been shown to have an analgesic effect enabling hindlimb surgery in dogs.

---

**Keywords :** ketamine, epidural, anesthesia, dogs

---

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Mahidol University, Nakorn Pathom 73170

<sup>2</sup>Department of Surgery, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author