ผลของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีด ต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม

นายปิยะณัฐ ประสมศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์สัตวแพทย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF INTRAMAMMARY ANTIBIOTIC INFUSION AT DRY OFF ON INTRAMAMMARY INFECTION

Mr. Piyanat Prasomsri

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Medicine

Department of Veterinary Medicine

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีด ต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม
โดย	นายปิยะณัฐ ประสมศรี
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์สัตวแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…….. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มงคล เตชะกำพุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

……. ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. เจนนุช ว่องธวัชชัย)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร)

……. กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ อัจฉรา ธวัชสิน)

……. กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. วิทยา สุริยาสถาพร)

ปิยะณัฐ ประสมศรี : ผลของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านม ต่อการติดเชื้อเขาสู่เต้านม (Effects of intramammary antibiotic infusion at dry off on intramammary infection) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร, 52 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบผลการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีดต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม ทั้งผลในการกำจัดเชื้อและป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม เต้านมในระยะพักรีด รวมทั้งต้องการทราบถึงความชุกและชนิดของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่พบ โดยทำการศึกษาในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ 1 ฟาร์มที่มีระบบการจัดการฟาร์มตามมาตรฐานของกรมปศุสัตว์ แม่โคพักรีดในช่วงระยะเวลาตั้งแต่เดือนมิถุนายน ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554 ถูกเก็บตัวอย่างน้ำนมด้วยวิธีการปลอดเชื้อที่ 7 วันก่อนพักรีด ในวันพักรีด และช่วง 1-7 วันหลังคลอด ตัวอย่างน้ำนมที่ได้ถูกนำไปตรวจหาจุลชีพที่ก่อโรคเต้านมอักเสบทางห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษาจากโคทั้งหมด 106 ตัว มีเต้านมรวมทั้งสิ้น 415 เต้า พบว่าความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่ 7 วันก่อนพักรีด ในวันพักรีด และในช่วง 1 – 7 วันก่อนคลอด เท่ากับร้อยละ 26 ร้อยละ 30.4 และร้อยละ 2.6 ตามลำดับ ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดสามารถกำจัดการติดเชื้อเดิมที่มีตั้งแต่ก่อนพักรีดได้ร้อยละ 100 และมีผลในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดได้ร้อยละ 97.39 โคพักรีดที่นำเข้ามาศึกษามีจำนวนวันพักรีดนมเฉลี่ย 66 (± 6.68 วัน) มีจำนวนวันรีดนมนับถึงวันพักรีดเฉลี่ย 329 (± 70.91 วัน) และมีฐานนิยมของรอบการให้นมคือ รอบที่ 1

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ.....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์สัตวแพทย์ ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา 2554

5275561731 : MAJOR VETERINARY MEDICINE

KEYWORDS : MASTITIS / DRY OFF / DRY COW / INTRAMAMMARY INFECTION

PIYANAT PRASOMSRI : EFFECTS OF INTRAMAMMARY ANTIBIOTIC INFUSION ON INTRAMAMMARY INFECTION. ADVISOR : ASSOC. PROF. KITTISAK AJARIYAKHAJORN, PhD., 52 pp.

The objectives of this study, were to determine the curative and preventive effects of intramammary antibiotic infusion at dry off on the intramammary infection (IMI). The IMI prevalence and type of associated pathogens were also investigated. Samples were collected from a large dairy farm posing the management in accordance to the Department of Livestock standard guidelines. All dry cows during June to December 2011 were included in the study. Milk samples were aseptically collected at 7 days before dry off, at dry off and during 1 – 7 days post calving. Milk samples were processed for bacteriological analysis

The results from 106 dry cows (415 quarters) showed that the IMI prevalence at 7 days before dry off, at dry off and during 1 – 7 days post calving were 26% 30.4% and 2.6%, respectively. The curative effect of intramammary antibiotic infusion at dry off were 100% and the preventive effect were 97.39%. The average dry period was 66 (± 6.68) days, the average day in milk was 329 (± 70.91) days and mode of lactation number was the first lactation.

Department : VETERINARY MEDICINE Student's Signature .....

Field of Study : VETERINARY MEDICINE Advisor's Signature .....

Academic Year : 2011 .....

กิตติกรรมประกาศ

การที่วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีนั้น ต้องขอขอบพระคุณ รศ.ดร. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่ได้ให้คำปรึกษาตลอดการทำวิทยานิพนธ์ ผศ.น.สพ. ธนศักดิ์ บุญเสริม สำหรับคำแนะนำตลอดการศึกษาสหกรณ์การเกษตรคุ้มเจริญ อ.ครบุรี จ.นครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์การเข้าไปเก็บข้อมูลและตัวอย่างน้ำนม น.สพ. นิรันดร์ ชันคุปต์ ที่ได้ช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลและตัวอย่างน้ำนมภายในฟาร์ม คุณสุกุมา สามงามนิ่ม นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ ภาควิชาอายุรศาสตร์ ที่ได้ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในกระบวนการทางห้องปฏิบัติการ และที่สำคัญที่สุดคือครอบครัวของผู้เขียนที่ให้กำลังใจตลอดมา

ทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้นนั้น มีส่วนสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการสนับสนุนให้การศึกษาครั้งนี้บรรลุวัตถุประสงค์และสำเร็จลงได้ จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 3

คำสำคัญ..... 3

คำถามสำหรับงานวิจัย..... 3

สมมติฐานการวิจัย..... 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

โรคเต้านมอักเสบ..... 5

ระยะพักรีดนมและการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม..... 8

การรักษาในช่วงพักรีด (Dry cow therapy)..... 10

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 14

ฟาร์มโคนม..... 14

โคพักรีดนม..... 14

ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างและข้อมูล..... 15

การเก็บตัวอย่างน้ำนม..... 15

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ..... 15

ข้อมูลอื่นๆ..... 17

บทที่ หน้า

การวิเคราะห์ข้อมูล..... 18

4 ผลการวิจัย..... 19

5 วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา..... 24

รายการอ้างอิง..... 30

ภาคผนวก..... 37

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 52

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1 ผลกระทบของโรคเต้านมอักเสบต่อคุณภาพน้ำนม..... 6
2 การแปลผล California mastitis test..... 8
3 การระบุนัยสำคัญของเชื้อที่ตรวจพบ..... 17
4 การติดเชื้อชนิดต่างๆเข้าสู่เต้านมในแต่ละช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง..... 20
5 รูปแบบการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมจำแนกตามผลการเพาะแยกเชื้อ..... 21
6 จำนวนวันพักรีด จำนวนวันรีดนมและรอบการให้นม..... 22
7 จำนวนเต้านมในแต่ละรอบการให้นม..... 22
8 ผลการตรวจคัดกรองเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มที..... 23

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1 กลไกการกำจัดเชื้อโรคในเต้านม..... 7
2 รูปแบบของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดนม..... 9
3 สรุปขั้นตอนการตรวจหาจุลชีพจากตัวอย่างน้ำนม..... 16

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในวงจรการเลี้ยงโคนมนั้นมีช่วงระยะเวลาที่หยุดรีดนมซึ่งเรียกว่า ระยะพักรีด หรือระยะแห้งนม (Dry period) โดยเรียกวันแรกที่หยุดรีดนมว่าวันพักรีด (Dry off) โคที่อยู่ในระยะนี้เรียกว่า โคพักรีด โคแห้งนม หรือโคดราย (Dry cow) โดยมีจำนวนวันพักรีดที่เหมาะสมคือ ประมาณ 60 - 70 วัน ก่อนครบกำหนดคลอด (Bachman and Schairer, 2003) ซึ่งเต้านมในระยะนี้มีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายวิภาคและทางสรีรวิทยา (Oliver and Sordillo, 1989) โคที่มีระยะพักรีดพบว่ามีประสิทธิภาพการผลิตทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณของน้ำนมในรอบการให้นม (Lactation number) ถัดไปดีกว่าในโคที่ไม่มีระยะพักรีดแต่ยังคงรีดนมต่อเนื่องไปจนถึงวันคลอด (Continuous milking) (Annen et al., 2004; Anderson et al., 2005; Gallo et al., 2008; Watter et al., 2008) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ต่อมสร้างน้ำนมมีกระบวนการปรับสภาพ (mammary gland involution) ทำให้เกิดการกำจัดเซลล์สร้างน้ำนม (alveolar epithelium cell) ที่ไม่มีประสิทธิภาพ และสร้างเซลล์สร้างน้ำนมใหม่ ทำให้มีประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมได้ดีขึ้นในรอบการให้นมถัดไป อย่างไรก็ตามในระยะพักรีดเป็นระยะที่พบว่ามีอัตราการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม (intramammary infection, IMI) สูงกว่าในระยะที่ให้นม (Smith et al., 1985[b]) โดยเฉพาะในระยะ 1-2 สัปดาห์หลังพักรีดนม และ 2 สัปดาห์ก่อนคลอด (Bradley and Green, 2004) เพราะในระยะดังกล่าวประสิทธิภาพการทำงานของเม็ดเลือดขาวในเต้านมลดลง ปริมาณอิมมิวโนโกลบูลินที่จำเป็นสำหรับการทำงานของเม็ดเลือดขาวลดลง และการปิดของรูหัวนม (teat canal) ซึ่งถือเป็นกลไกแรกในการป้องกันการติดเชื้อเข้าเต้านมเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์ (Capuco and Aker, 1999; Sordillo and Streicher, 2002; George et al., 2008) นอกจากนี้การเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการในช่วงหลังคลอด ส่วนใหญ่มักมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมตั้งแต่ในระยะพักรีด (Oliver and Mitchell, 1983; Smith et al., 1985[a]; Smith et al., 1985[b]; Todhunter et al., 1995; Bradley and Green, 2000) ซึ่งสาเหตุของการติดเชื้อในระยะพักรีดนั้นสามารถเกิดได้สองลักษณะคือ จากเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบเดิมที่มีอยู่แล้วในเต้านมตั้งแต่ก่อนพักรีดและ/หรือ เกิดจากการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด ดังนั้นในการจัดการสำหรับระยะพักรีด

จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อลดการติดเชื้อในเต้านมทั้งสองลักษณะ โดยแนวทางในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อในเต้านมในระยะพักรีดนมที่ได้รับการยอมรับและเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง คือการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเข้าเต้านม (Intramammary antibiotic infusion) ให้แก่โคทุกตัวและทุกเต้าในวันพักรีด (International Dairy Federation, 2001; National Mastitis Council, 2006)

ในส่วนของการศึกษาเกี่ยวกับผลของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเข้าเต้านมในโคพักรีดที่มีต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม พบว่าโคในกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดมีอัตราการติดเชื้อเข้าเต้านมในระยะพักรีดและหลังคลอดน้อยกว่าโคในกลุ่มที่ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะชนิดสอดเข้าเต้านมในวันพักรีด (Green et al., 2002[a]; Bradley and Green, 2004; Robert et al., 2006; Pantoja et al., 2009) แม้ว่ามีบางการศึกษาที่ให้ผลในทางตรงกันข้ามแต่เกิดจากการไม่ได้ใช้เทคนิคปลอดเชื้อในการสอดยาเข้าเต้านม (Browning et al., 1990) และจากการที่เชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ (Schultze, 1983) อย่างไรก็ตามข้อด้อยของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมคือยาส่วนใหญ่ที่มีใช้ ในรูปแบบการค้านั้น มีความเข้มข้นของยาในระดับที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (therapeutic dose) คงอยู่ในเต้านมได้ประมาณ 30- 45 วัน (Smith et al., 1985[b]; Oliver et al., 1990) ดังนั้นในระยะพักรีดช่วงท้ายที่เหลือจึงมีโอกาสเกิดการติดเชื้อใหม่เข้าเต้านมได้สูง นอกจากนี้การจัดการในโคพักรีดที่แนะนำให้สอดยาปฏิชีวนะเข้าเต้านมแก่โคทุกตัวและทุกเต้านั้นอาจทำให้เต้านมที่ไม่มีการติดเชื้อใดๆในวันพักรีดได้รับยาปฏิชีวนะโดยไม่จำเป็นและอาจส่งผลเสียตามมา เช่น พบว่าการสอดยาปฏิชีวนะในเต้านมที่ไม่มีการติดเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบ ส่งผลกระทบทำให้เชื้อแบคทีเรียบางตัวที่ช่วยป้องกันการติดเชื้อเข้าเต้านมลดลง ซึ่งการศึกษาของ Browning และคณะ (1990) พบว่า โคในกลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้อในเต้านมในวันพักรีด เมื่อได้รับยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมจะมีอัตราการติดเชื้อเข้าเต้านมสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยาถึง 50 เปอร์เซ็นต์

สำหรับข้อมูลการจัดการสุขภาพเต้านมในระยะพักรีดของประเทศไทย แม้ว่าไม่เคยมีรายงานอย่างเป็นทางการเกี่ยวกับวิธีการพักรีดนม แต่ข้อมูลที่ได้จากการทำงานในพื้นที่พบว่าฟาร์มโคนมในไทยส่วนใหญ่มีการจัดการในวันพักรีดโดยการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมให้แก่โคทุกตัวและทุกเต้า แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงผลของการใช้ยาปฏิชีวนะ ต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมมาก่อน ดังนั้นทางผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบผลของยาใช้ปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีด ที่มีต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม ในแง่ของการกำจัดเชื้อเดิมที่มีอยู่ในเต้านมตั้งแต่ก่อนพักรีด และการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด รวมทั้งเพื่อทราบความชุกและชนิดของการติดเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบในวันพักรีด และระยะหลังคลอดไม่เกิน 1 สัปดาห์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จะทำให้เห็นรูปแบบของการติดเชื้อในระยะพักรีดและใช้ประโยชน์ในการวางแผนการ

รักษา ควบคุม และป้องกันโรคเต้านมอักเสบได้ตรงตามสาเหตุที่แท้จริง ทำให้ช่วยลดความสูญเสียต่อผลผลิตน้ำนมในรอบการรีดนมถัดไปได้ นอกจากนี้ผลการศึกษาที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเพิ่มเติมในหัวข้อเกี่ยวกับระยะพักรีด เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับอ้างอิงในประเทศไทยได้อย่างเหมาะสมต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทราบผลของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีดต่อการกำจัดเชื้อเดิมที่อยู่ในเต้านมและการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านม
2. เพื่อทราบความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมและชนิดของเชื้อที่พบในวันที่ 7 ก่อนพักรีด ในวันพักรีด และในช่วง 1 – 7 วันหลังคลอด

คำสำคัญ

เต้านมอักเสบ	Mastitis
การพักรีด	Dry off
โคพักรีด	Dry cow
การติดเชื้อเข้าสู่เต้านม	Intramammary infection
ยาปฏิชีวนะสอดเต้านม	Intramammary antibiotic infusion

คำถามสำหรับงานวิจัย

1. การใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีด มีผลในการลดการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดหรือไม่อย่างไร
2. ในวันพักรีดนมและระยะหลังคลอดใหม่ๆ มีความชุกของการติดเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบเท่าใด และเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบที่จำแนกได้เป็นกลุ่มหรือชนิดใด

สมมติฐานการวิจัย

การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีดสามารถลดการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการศึกษาเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ทำให้ทราบรูปแบบและลักษณะของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในโคที่ได้รับการสอดยาปฏิชีวนะเข้าเต้านมทุกเต้าในวันพักรีด ซึ่งสามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดได้ในฟาร์มที่มีการจัดการคล้ายคลึงกันกับฟาร์มที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคเต้านมอักเสบ

โรคเต้านมอักเสบ ทำให้ผลผลิตน้ำนมและรายได้ลดลง (Kossaibati and Esslemont, 1997) เป็นปัญหาสำคัญอันดับต้นๆในอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมทั่วโลก (Bradley, 2002) สาเหตุของโรค เกิดจากการติดเชื้อจุลชีพหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสามารถแยกได้เป็นสองกลุ่ม (Blowey and Edmondson, 2010) คือ 1) เชื้อแบคทีเรียที่ติดจากโคสู่โค (Contagious bacteria) เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae* และ 2) แบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อม (Environmental bacteria) เช่น Coliforms และ *Corynebacterium bovis* เป็นต้น ในส่วนของลักษณะอาการของโรคเต้านมอักเสบนั้นมีสองรูปแบบ คือแบบแสดงอาการ (clinical mastitis) ที่สามารถวินิจฉัยได้จากอาการอักเสบของเต้านมและจากน้ำนมที่มีลักษณะผิดปกติไป และแบบไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis) ที่วินิจฉัยได้จากการตรวจพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนโซมาติกเซลล์ (somatic cell) ในน้ำนมเท่านั้น โรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการส่งผลกระทบต่อผลผลิตในฟาร์มโคนมมากกว่า เพราะสามารถพบโคในกลุ่มนี้อยู่เป็นจำนวนมากอยู่ภายในฝูงโครีดนม โดยที่เกษตรกรไม่สามารถสังเกตเห็นความผิดปกติภายนอกใดๆของเต้านม (Blowey and Edmonson, 2010) ซึ่งในขณะเดียวกันการติดเชื้อที่เกิดขึ้นในเต้านมทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลงทั้งคุณภาพ (ตารางที่ 1) และปริมาณ จนกลายเป็นปัญหาใหญ่ของฟาร์มต่อไปได้

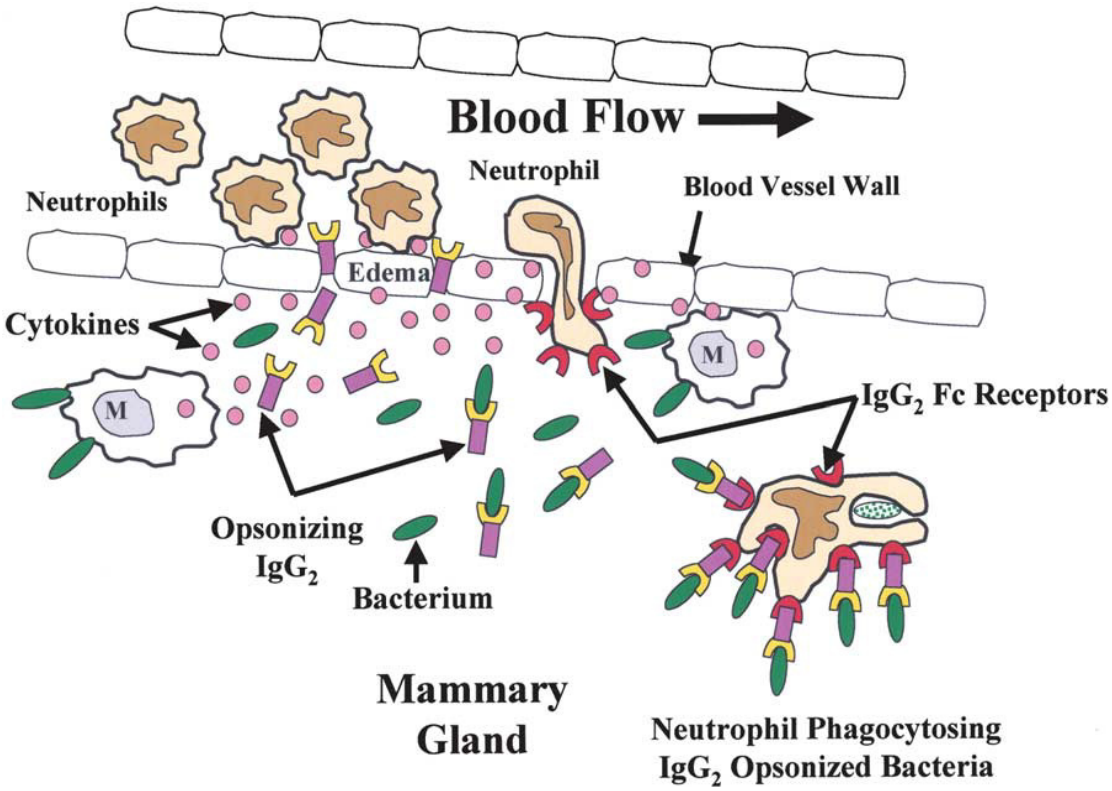
การตรวจวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการที่ดีที่สุดคือการนำตัวอย่างน้ำนมมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย เพราะสามารถจำแนกชนิดของเชื้อและประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคได้อย่างถูกต้อง แต่วิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงและใช้เวลานานเกินไปในการนำผลไปใช้แก้ปัญหาในฟาร์มได้ทันที วิธีการหนึ่งที่ช่วยให้สามารถประเมินโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้รวดเร็วขึ้นคือ การตรวจวัดจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนม

ตารางที่ 1 ผลกระทบของโรคเต้านมอักเสบต่อคุณภาพน้ำนม (ดัดแปลงจาก Blowey and Edmonson, 2010)

	องค์ประกอบน้ำนม	
	เต้านมปกติ	**เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ**
องค์ประกอบที่ต้องการ	โปรตีนรวม (Total protein)	ลดลงเล็กน้อย
	เคซีน (Casein)	ลดลงร้อยละ 8 – 20
	แลคโตส (Lactose)	ลดลงร้อยละ 5 – 20
	ของแข็งไม่รวมไขมัน (Solid not fat)	ลดลงได้สูงถึง ร้อยละ 8
	Butter fat	ลดลงร้อยละ 4 – 12
	แคลเซียม (Calcium)	ลดลง
	ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	ลดลง
	โพแทสเซียม (Potassium)	ลดลง
	ความคงตัว	ลดลง
	รสชาติ	มีความขมเพิ่มขึ้น
องค์ประกอบที่ไม่ต้องการ	พลาสมิน (Plasmin)	เพิ่มขึ้น
	ไลเปส (Lipase)	เพิ่มขึ้น
	อิมมิวโนโกลบูลิน (Immunoglobulin)	เพิ่มขึ้น
	โซเดียม (Sodium)	เพิ่มขึ้น

โซมาติกเซลล์ในน้ำนมส่วนใหญ่คือเซลล์เม็ดเลือดขาว (ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์) โดยในน้ำนมปกติมีเม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ (macrophage) เป็นส่วนใหญ่ เมื่อเต้านมมีเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมเข้าไป จะมีการตอบสนองซึ่งเกิดจากการทำงานร่วมกันของระบบภูมิคุ้มกันในเต้านม ได้แก่ ไซโตคายส์ (Cytokines) อิมมิวโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจในเต้านม (Tissue macrophage) และเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (Neutrophil) โดยเมื่อมีการติดเชื้อในเต้านม เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจในเต้านม mammary epithelial cell และ Blood vessel endothelial cell จะหลั่ง ไซโตคายส์ออกมากระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลเข้ามาในเต้านมมากขึ้น และกลายเป็นประชากรส่วนใหญ่ของเม็ดเลือดขาวในน้ำนม จากนั้นเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลจะเข้าจับและทำลายเชื้อโรคในเต้านมด้วยวิธีฟาโกซัยโตซิส

(Phagocytosis) (Burton and Erskine, 2003) (ภาพที่ 1) ซึ่งจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดว่ามีการติดเชื้อเกิดขึ้นในเต้านมคือ มากกว่า 200,000 เซลล์/มิลลิลิตร (Dohoo and Leslie, 1991) ดังนั้นจึงสามารถใช้เกณฑ์ดังกล่าวเป็นแนวทางการประเมินหรือวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้



ภาพที่ 1 กลไกการกำจัดเชื้อโรคในเต้านม (Burton and Erskine, 2003)

การประเมินจำนวนโซมาติกเซลล์เบื้องต้นที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในฟาร์ม คือวิธีตรวจด้วยน้ำยาซีเอ็มที (CMT: California Mastitis Test) เพราะสะดวก รู้ผลเร็ว มีความไวและความจำเพาะประมาณร้อยละ 72 และ 68 ตามลำดับ (Ajariyakhajorn et al., 2010) การประเมินโดยวิธีซีเอ็มทีนั้นสามารถแบ่งการให้คะแนนออกเป็น 4 เกรด ตามระดับการเกิดเจล (gel formation) หลังจากน้ำนมผสมกับน้ำยาซีเอ็มที คือ ผลลบ (negative), 1, 2 และ 3 (ตารางที่ 2) ซึ่งจำนวนเซลล์โซมาติกที่บ่งชี้การติดเชื้อเข้าเต้านมเทียบได้กับคะแนนซีเอ็มทีที่มากกว่าหรือเท่ากับ 1 ดังนั้นจึงสามารถใช้การตรวจด้วยซีเอ็มทีเพื่อประเมินโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้ (George et al., 2008)

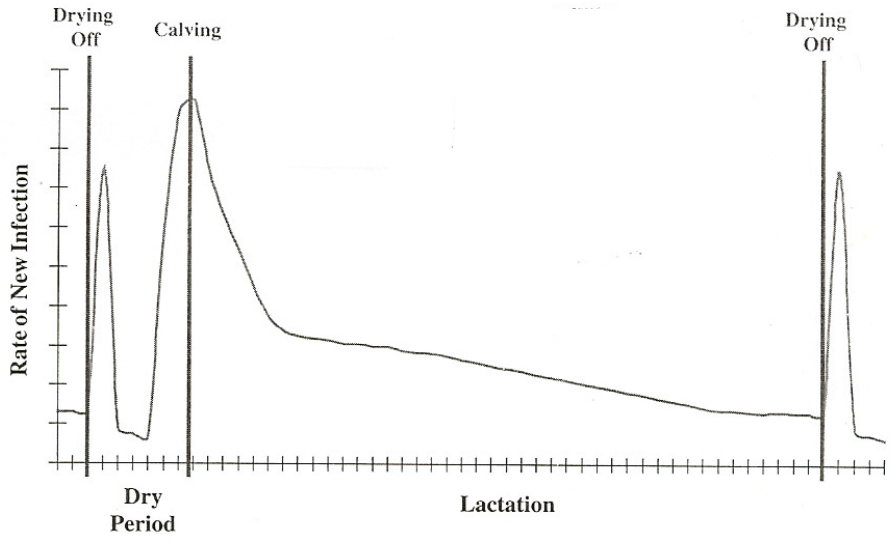
ตารางที่ 2 การแปลผลวิธีซีเอ็มที (ดัดแปลงจาก Ruegg, 2003)

คะแนน	ลักษณะน้ำนมเมื่อผสมกับน้ำยาซีเอ็มที	ช่วงของปริมาณโซมาติกเซลล์ (เซลล์/มิลลิลิตร)
ผลลบ	ไม่เปลี่ยนแปลง	0 – 200,000
1	ส่วนผสมตกตะกอน ยังไม่เห็นเป็นเจลชัดเจน	400,000 – 1,500,000
2	ส่วนผสมเกิดเป็นเจลทันที หนาตัวขึ้นแต่ยังไม่รวมตัวกันเป็นก้อน	800,000 – 5,000,000
3	กลุ่มเจลที่เกิดขึ้นจับตัวกันเป็นก้อน	มากกว่า 5,000,000

ระยะพักรีดนมและการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม

ในวงจรการผลิตของโคนมนั้นมีระยะหยุดรีดนมเรียกว่าระยะพักรีดหรือระยะแห้งนม (Dry period) การจัดการในระยะพักรีด เป็นช่วงที่มีความสำคัญต่อการผลิตน้ำนมไม่น้อยไปกว่าการจัดการช่วงอื่นๆ การกำหนดให้มีระยะพักรีดที่เหมาะสมช่วยให้ปริมาณน้ำนมในรอบการให้นมถัดไปดีขึ้น และเป็นการเตรียมความพร้อมสำหรับการคลอดลูกโค การศึกษาเกี่ยวกับการพักรีด พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในด้านปริมาณน้ำนมและคุณภาพน้ำนม รวมไปถึงลักษณะของเซลล์สร้างน้ำนม ระหว่างโคที่ไม่ได้พักรีด กับโคที่มีการพักรีด โดยในโคที่มีการพักรีดมีค่าดังกล่าวสูงกว่าโคอีกกลุ่ม ประมาณ 5 – 7 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Re'mond et al., 1992; Annen et al., 2004; Madsen et al., 2008) ประโยชน์ของการพักรีดไม่ได้จำกัดอยู่เพียงแค่สุขภาพเต้านม และผลผลิตน้ำนมเท่านั้น โคที่ได้พักรีดพบว่ามีปัญหาเกี่ยวกับโรคของระบบเมตาบอลึซึม (metabolic diseases) ปัญหาในช่วงใกล้คลอด และหลังคลอดระยะแรก น้อยกว่าโคที่ไม่มีการพักรีด (Anderson et al., 2005) ในส่วนของระยะเวลาการพักรีดนั้น พบว่าจำนวนวันที่พักรีดที่เหมาะสมคือ 60 - 70 วัน ก่อนครบกำหนดคลอด (Bachman and Schairer, 2003) การลดระยะพักรีดให้สั้นลงหรือเพิ่มจำนวนวันให้มากขึ้นกว่าจำนวนวันพักรีดที่เหมาะสม พบว่าในรอบการให้นมถัดไป แม่โคให้ผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยน้อยลง (Sørensen and Enevoldsen, 1991; Re'mond et al., 1992; Bachman and Schairer, 2003; Gulay et al., 2005; Pezeshki et al., 2007; Watters et al., 2008)

ในช่วงพักรีดสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะคือ ระยะ Active stage เริ่มตั้งแต่วันพักรีดไปจนถึงประมาณ 1-2 สัปดาห์หลังวันพักรีด ระยะ Steady stage ซึ่งเริ่มประมาณสัปดาห์ที่ 3 หลังวันพักรีดถึงประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนคลอด และระยะที่สาม คือ Colostogenesis ซึ่งเริ่มประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนคลอดไปจนถึงวันคลอด โดยที่ในระยะ Active stage และ Colostrogenesis มีอุบัติการณ์ของการติดเข้าสู่เต้านมมากที่สุด (Bradley and Green, 2004) (ภาพที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นระยะที่เต้านมมีปริมาณเม็ดเลือดขาวและอิมมิวโนโกลบูลินที่ลดต่ำลง ร่วมกับกลไกการปิดตัวของรูนม (teat canal) จะลดประสิทธิภาพลง (Capuco and Aker, 1999; Sordillo and Streicher, 2002; George et al., 2008) จากนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะให้นม (lactation period) อัตราการติดเชื้อเข้าเต้านมจะลดลงตามลำดับและเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งเมื่อเข้าสู่การพักรีดนมครั้งใหม่



ภาพที่ 2 รูปแบบของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดนม (Bradley and Green, 2004)

การติดเชื้อเข้าสู่เต้านมสามารถเกิดได้ทุกช่วงของวงจรการผลิต โดยในระยะพักรีดเป็นช่วงที่มีความสำคัญช่วงหนึ่งต่อการเกิดการติดเชื้อในเต้านม (Bradley and Green, 2000; Green et al., 2002[a]) สามารถส่งผลต่อไปยังสุขภาพเต้านม หรือการเกิดปัญหาเต้านมอักเสบในช่วงหลังคลอดได้ (Green et al., 2002[b] ; Bradley and Green, 2004) ซึ่งทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลงทั้งในแง่คุณภาพ และปริมาณ (Oliver and Calvinho, 1995) โดยเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบที่สำคัญมัก

จำแนกเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ติดต่อโคสู่โค หรือติดต่อระหว่างเต้านม (Contagious bacteria) เช่น *Staphylococcus aureus* *Streptococcus agalactiae* และเชื้อแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อม (Environmental bacteria) เช่น *Staphylococcus* spp. *Streptococcus* spp. และ แบคทีเรียในกลุ่ม Coliform ซึ่งการติดเชื้อดังกล่าวสามารถพบได้ในระยะพักรีด (Robert et al., 2006) ความสำคัญของระยะพักรีดกับการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมนั้นพบว่าในระยะนี้เต้านมมีความไวรับต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมมากที่สุด (Nickerson, 1985; Nickerson, 1989) และมีอัตราการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมสูงกว่าในระยะรีดนม (lactation stage) (Smith et al., 1985[b]; Bradley and Green, 2004)

การศึกษาเกี่ยวกับความชุกของการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมระยะพักรีดพบว่ามีค่าระหว่าง 5 – 23 เปอร์เซ็นต์ (Poutrel and Rainard, 1981; Eberhart, 1986; Harmon et al., 1986; Schukken et al., 1993; Green et al., 2002[a]; Berry and Hillerton, 2007) โดยพบว่าสาเหตุของการติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อม เพราะในโคที่พักรีดมีโอกาสสัมผัสกับแหล่งกักเก็บเชื้อเช่น พื้นคอกและวัสดุปูนอนที่ไม่สะอาด เป็นระยะเวลาที่นานขึ้นแต่เต้านมได้รับการทำความสะอาดและการดูแลลดลงกว่าในระยะรีดนม (Oliver and Sordillo,1989) รวมทั้งประกอบกับในระยะ Active stage และระยะ Colostrogenesis ของการพักรีดเต้านมจะมีกลไกในการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมลดลง ซึ่งรายงานข้อมูลการติดเชื้อเข้าเต้านม ในแง่ความชุกของการติดเชื้อ รวมทั้งชนิดหรือกลุ่มของเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบที่พบในระยะพักรีดยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย

การรักษาในช่วงพักรีด (Dry cow therapy)

วิธีในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด เรียกว่า dry cow therapy ซึ่งในปัจจุบันอาจหมายถึงการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านมเพื่อโดยมีวัตถุประสงค์ในการกำจัดเชื้อที่มีอยู่เดิมในเต้านมและป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านม หรือ อาจหมายถึงการใช้ internal และ external teat sealant ในการอุดรูนม (physical barrier) เพื่อหวังผลในการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมเพียงอย่างเดียว รวมทั้งอาจหมายถึงการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน (การสอดยาปฏิชีวนะร่วมกับ teat sealant) ในแง่ของประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมนั้น มีการศึกษาพบว่าการใช้ teat sealant มีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อใหม่ (new IMI) ได้ดีกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านม (Huxley et al., 2002; Huijps and Hogeveen, 2007) แต่มีข้อด้อยคือมักได้ผลดีกับฟาร์มที่มีความชุกของโรคเต้านมอักเสบในระดับต่ำ และเต้านมที่

เลือกใช้ต้องไม่มีการติดเชื้อ ซึ่งวิธีการตรวจคัดกรองหาเต้าที่นมที่ไม่ติดเชื้อนั้น ยังไม่มีวิธีที่แม่นยำและเหมาะสมเพียงพอสำหรับการประยุกต์ใช้ในฟาร์ม ดังนั้นการจัดการโดยใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านมทุกตัวและทุกเต้าในวันพักรีด จึงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันและใช้กันเป็นมาตรฐานในหลายประเทศทั่วโลก (International Dairy Federation, 2001) รวมทั้งในประเทศไทย โดยมีวัตถุประสงค์สองประการคือ 1) เพื่อรักษาการติดเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบที่มีอยู่เดิมในเต้านมตั้งแต่ก่อนวันพักรีด และ 2) เพื่อป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านม ซึ่งมีการศึกษาที่สนับสนุนผลของการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีด เช่น การศึกษาของ Berry และ Hillerton (2002[a]) พบว่าโคในกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมในวันพักรีดมีอัตราการติดเชื้อเข้าเต้านมต่ำกว่าโคในกลุ่มที่ไม่ได้รับยา แต่ข้อจำกัดคือยาที่ใช้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มเบต้า - แลคแตม ซึ่งออกฤทธิ์ได้ดีต่อแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น ซึ่ง Bradley และ Green (2001) ได้ศึกษาทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะสอดเต้านมเพื่อให้ออกฤทธิ์ได้กว้างครอบคลุมถึงแบคทีเรียแกรมลบ อย่างไรก็ตามปัญหาที่ยังพบอยู่คือการที่มีระยะการออกฤทธิ์ของยาที่ไม่ครอบคลุมตลอด 60 วันของระยะพักรีด ดังนั้นจึงเริ่มมีการใช้ internal teat sealant ในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าเต้านมในช่วงเวลาที่ระดับยาปฏิชีวนะลดต่ำลง (Østeras et al., 1999) ซึ่งพบว่าการใช้ teat sealant ร่วมกับ การสอดยาปฏิชีวนะมีอัตราการติดเชื้อเข้าเต้านมต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ teat sealant หรือการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมเพียงอย่างเดียว (Berry and Hillerton, 2002[b]; Godden et al., 2003) Teat sealant ที่มีการนำมาใช้ป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดนั้น มีสองลักษณะคือ Internal teat sealant และ external teat sealant โดย internal teat sealant เป็นการสอดหรือฉีด (infusion) สารเคมี เช่น bismuth subnitrite เข้าไปในรูนม (teat orifice และ teat canal) ในขณะที่ external teat sealant เป็นการใช้น้ำยาที่มีส่วนประกอบหลักเป็น acrylic หรือ ฟิล์มโพลิเมอร์ เคลือบภายนอกหัวนมโดยไม่ได้สอดหรือฉีดสารใดเข้าสู่ภายในรูนม

แนวคิดเกี่ยวกับการใช้ teat sealant ในการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดนั้น มีที่มาหลายประการ โดยเริ่มจากเหตุผลเกี่ยวกับลักษณะทางกายวิภาคและสรีรวิทยาของรูหัวนม โดยปกติแล้วจะมีการสร้าง keratin plug มาอุดบริเวณรูนมไว้เพื่อป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม แต่การศึกษา Williamson และ คณะ (1995) พบว่าในระยะ 10 วันแรกที่พักรีด รูนมจำนวนร้อยละ 50 ไม่มี keratin plug และพบว่ารูนมจำนวนร้อยละ 5 ไม่มี keratin plug ตลอดระยะเวลา 60 วันที่พักรีด นอกจากนี้เมื่อนำข้อมูลมาพิจารณาความสอดคล้องกับการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (clinical mastitis) ในช่วงต้นของระยะพักรีด (early dry period) พบว่าร้อยละ 97 ของเต้านมที่เกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ เป็นเต้านมที่รูนมไม่มี

keratin plug เกิดขึ้น ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Dingwell และคณะ (2002) ที่พบว่ารูนมที่ไม่มี keratin plug มีความเสี่ยงในการเกิดการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมมากกว่า รูนมที่มี keratin plug ถึง 1.8 เท่า

เหตุผลสำคัญอีกสองประการเกี่ยวกับแนวคิดในการใช้ teat sealant คือ ข้อด้อยของการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านม และลักษณะระบาดวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด โดยพบว่าการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมโคพักรีด มีความเข้มข้นของยาในเต้านมในระดับที่กำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ ไม่ครอบคลุมตลอดระยะพักรีด (60 – 70 วัน) นอกจากนี้รูปแบบของยาปฏิชีวนะสำหรับสอดเต้านมในโคพักรีดส่วนใหญ่นั้น มักประกอบด้วยตัวยาออกฤทธิ์หลักที่ออกฤทธิ์ได้ดีกับแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก (Bradley and Green, 2001) ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ พบว่ามักเป็นแบคทีเรียที่เกิดการติดเชื้อเรื้อรังมาตั้งแต่ในระยะรีดนม ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มที่มักถูกตรวจพบว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อเข้าไปใหม่ในระยะพักรีด คือกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ (Berry and Hillerton, 2007) ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากข้อมูลดังกล่าว การใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดมีแนวโน้มว่าไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดได้ดีเท่าที่ควรนั่นเอง

ในแง่ของการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของการใช้ teat sealant พบว่าในระยะแรกเป็นการใช้ external teat sealant ซึ่งมีการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างน้ำนมในวันคลอด มาตรวจหาเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบ พบว่าเต้านมที่ใช้ external teat sealant สามารถลดการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมได้ร้อยละ 68 (Timms, 1997) แต่การศึกษาในหัวข้อเกี่ยวกับ external teat sealant ได้ลดความสำคัญลง เนื่องจากการใช้วิธีดังกล่าวมีข้อจำกัดคือต้องเคลือบเต้านมซ้ำเป็นระยะ ซึ่งเป็นการเพิ่มแรงงาน และไม่สะดวกในการจัดการฟาร์มโดยเฉพาะฟาร์มที่มีจำนวนโคพักรีดจำนวนมาก ดังนั้นจึงเริ่มมีการประยุกต์ใช้ internal teat sealant ซึ่งจากการศึกษาของ Woolford และคณะ (1998) ที่ศึกษาโดยการ x-ray หัวนมเพื่อติดตามดูการคงอยู่ของ internal teat sealant ที่สอดเข้าไปในรูนม พบว่า internal teat sealant สามารถคงอยู่ในส่วนของรูนมได้นานถึง 100 วัน ส่วนในแง่ของประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมนั้น Godden และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบระหว่างเต้านมที่ใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้าอย่างเดียว กับเต้านมที่สอดยาปฏิชีวนะร่วมกับการสอด internal teat sealant ซึ่งผลการศึกษาพบว่า เต้านมที่ได้รับการสอดยาปฏิชีวนะร่วมกับ internal teat sealant มีความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในช่วงการรีดนมสามวันแรกต่ำกว่าเต้านมที่สอดยาปฏิชีวนะอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ามีจำนวนเต้านมที่เกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการในช่วงตั้งแต่วันพักรีดไปจนถึง 60 วันหลังคลอด น้อยกว่าเต้านมที่สอดยาปฏิชีวนะอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ Huxley

และคณะ (2002) ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านม ระหว่างเต้านมที่สอดยาปฏิชีวนะอย่างเดียว กับเต้านมที่สอด internal teat sealant อย่างเดียว ซึ่งผลการทดลองพบว่าการใช้ internal teat sealant อย่างเดียวสามารถป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมได้ดีกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านม

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. ฟาร์มโคนม

1.1 การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาในฟาร์มโคนมสหกรณ์การเกษตรคุ้มเจริญ มีขนาดพื้นที่ประมาณ 600 ไร่ ตั้งอยู่ที่อำเภอ ครบุรี จังหวัดนครราชสีมา จากการสำรวจจำนวนประชากรโคในวันที่ 27 สิงหาคม 2554 มีโคทั้งหมด 735 ตัว โดยแบ่งเป็นแม่โครีดนมประมาณ 326 ตัว และโคพักรีดนมประมาณ 89 ตัว ส่วนที่เหลือเป็นกลุ่มโคทดแทนซึ่งมีจำนวนประมาณ 340 ตัว

1.2 ภายในฟาร์มมีการแบ่งโรงเรือนตามแต่ละระยะของโคได้แก่ โรงเรือนโครุ่น โคอนุบาล โครีดนม โรงเรือนคลอด และโรงเรือนโคพักรีดและโคสาวรวมทั้งสิ้น 5 โรงเรือน โดยมีโรงรีดนมและโรงเก็บอาหารอีกอย่างละ 1 โรงเรือน ในส่วนของโรงเรือนโคพักรีดนั้นลักษณะพื้นคอกเป็นคอนกรีตไม่ขัดมันและลานดิน มีความหนาแน่นของโคพักรีดประมาณ 9 ตารางเมตรตัว มีการเลี้ยงแบบปล่อยอิสระในโรงเรือนและมีการทำความสะอาดพื้นโรงเรือนวันละสองครั้ง

1.3 ฟาร์มมีการจัดเก็บข้อมูลฟาร์มทั้งหมดในคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรม Excel และมีสัตวแพทย์ประจำฟาร์มสองคนทำหน้าที่ดูแลการจัดการสุขภาพโคและผลผลิตน้ำนม

2. โคพักรีดนม

การบันทึกข้อมูลของฟาร์มทำให้สามารถทราบกำหนดวันพักรีดของโคแต่ละตัวค่อนข้างแน่นอน เกณฑ์ในการพักรีดของฟาร์มคือกำหนดให้หยุดรีดนมที่ประมาณสองเดือนก่อนคลอดโดยที่ต้องมีปริมาณน้ำนมต่อวันต่ำกว่า 4 กิโลกรัม กรณีที่นอกเหนือจากเกณฑ์ดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของสัตวแพทย์ประจำฟาร์มในการยืดหยุ่นวันพักรีดต่อไป เมื่อโคถูกรีดนมมื้อสุดท้ายแล้วเสร็จ โคพักรีดทุกตัวได้รับยาปฏิชีวนะชนิดเดียวกัน สอดเต้านมทุกเต้าด้วยวิธีการปลอดเชื้อโดยยาปฏิชีวนะที่ใช้ประกอบไปด้วย Cloxacillin 500 มิลลิกรัม รวมกับ Ampicillin 250 มิลลิกรัม (Bovaclox DC; Norbrook) โคพักรีดที่ใช้ในการศึกษาควรมีจำนวนวันพักรีด 60 – 70 วัน และควรมีจำนวนวันรีดนมนับถึงวันพักรีดไม่น้อยกว่าค่าเฉลี่ยของฟาร์ม การศึกษานี้ทำการศึกษาระดับรายเต้านม (quarter) โดยต้องใช้จำนวนเต้านมอย่างน้อย 385 เต้า (รายละเอียดในภาคผนวก ก) นั่นคือต้องโคพักรีดประมาณ 100 ตัว

3. ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างและข้อมูล

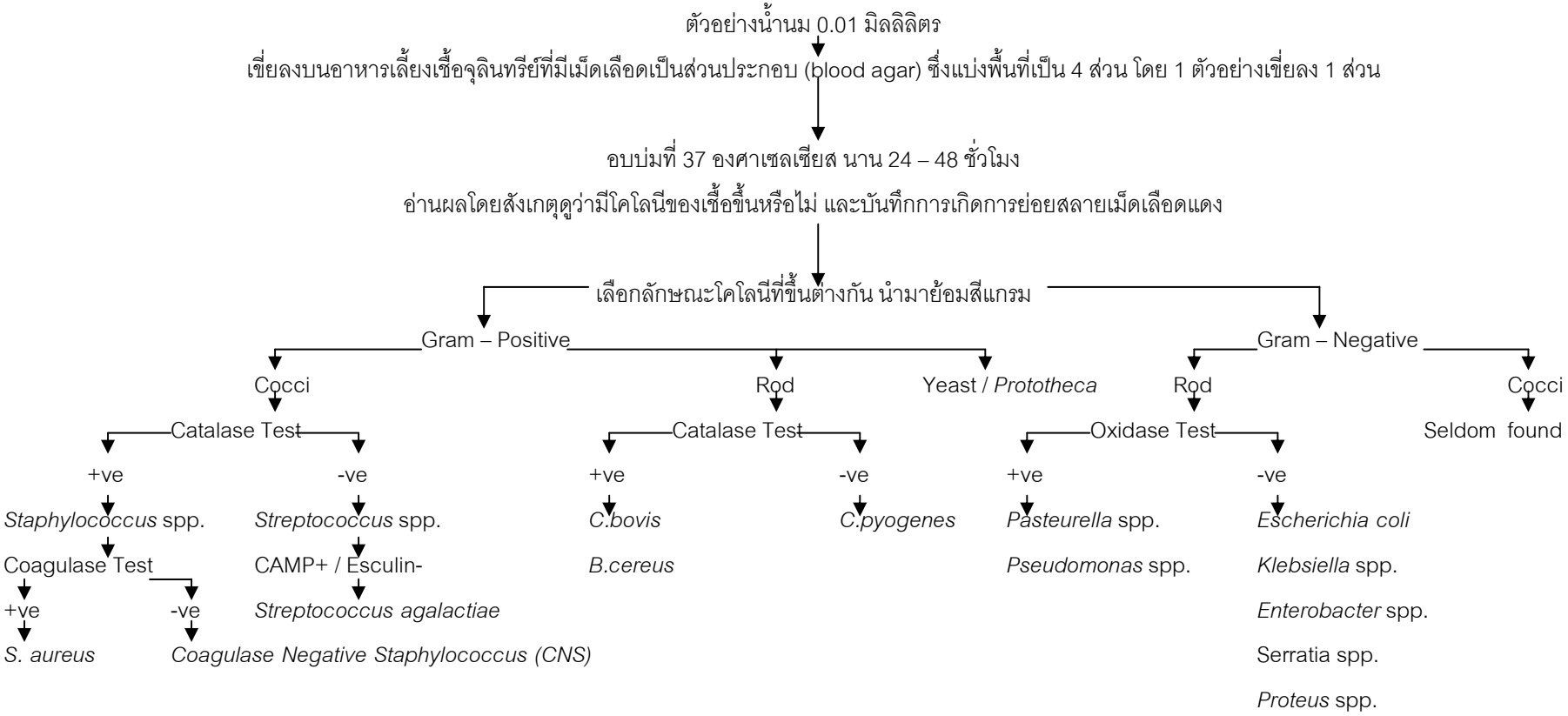
ในการศึกษานี้เริ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมและข้อมูลโคพักรีดตัวแรกในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2554 และไปสิ้นสุดที่ตัวสุดท้ายในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554 รวมระยะเวลาทั้งสิ้นประมาณ 10 เดือน

4. การเก็บตัวอย่างน้ำนม (NMC, 1999) (รายละเอียดในภาคผนวก ข)

โคพักรีดนมแต่ละตัวถูกเก็บตัวอย่างน้ำนมเป็นจำนวน 3 ครั้ง คือที่ 7 วันก่อนพักรีด ในวันพักรีด และช่วง 1 – 7 วันหลังคลอด โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมรายเต้าหลังรีดนม (post-milking quarter milk) ในการรีดนมรอบเย็นด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique) ปริมาณอย่างน้อยเต้าละ 5 มิลลิลิตรลงในภาชนะที่ปลอดเชื้อ หลังจากนั้นนำตัวอย่างน้ำนมไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 8 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปตรวจหาการติดเชื้อในน้ำนมในห้องปฏิบัติการต่อไป กรณีที่ไม่สามารถตรวจตัวอย่างน้ำนมได้ภายใน 24 ชั่วโมง ตัวอย่างน้ำนมจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส

5. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ (รายละเอียดในภาคผนวก ข)

ในการศึกษานี้ดำเนินตามวิธีปฏิบัติและวิธีการของ National Mastitis Counsil (NMC) (1999) ในการตรวจการหาเชื้อในน้ำนมและจำแนกชนิดของเชื้อที่พบ ใช้ตัวอย่างน้ำนมปริมาณ 0.01 มิลลิลิตร เกลี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิด tryptic soy agar (TSA) ที่มีเม็ดเลือดเป็นส่วนประกอบ (blood agar) และบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนและบันทึกลักษณะของโคโลนีที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จำแนกชนิดของเชื้อที่พบ (ภาพที่ 3) โดยย้อมแกรม (gram strain) แบคทีเรียแกรมบวกถูกทดสอบต่อด้วย Catalase test Coagulase test ในขณะที่แบคทีเรียแกรมลบถูกทดสอบต่อด้วย Oxidase test CAMP test และ Esculin test และแยกเชื้อลง MacConkey agar เพื่อดูลักษณะของโคโลนี และทดสอบใน Triple sugar iron Simmons Citrate agar และ Motility agar ต่อไป จากนั้นนำข้อมูลของชนิดเชื้อที่จำแนกได้ร่วมกับจำนวนโคโลนีที่บันทึกไว้มาพิจารณาระดับความสำคัญ (Significant level) ของเชื้อแต่ละชนิดที่พบตามวิธีการในตารางที่ 3 โดยที่ในการศึกษานี้เต้านมที่จะถูกวินิจฉัยว่ามีการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม ต้องมีระดับนัยสำคัญของการติดเชื้อที่พบไม่ต่ำกว่าระดับ 3



ภาพที่ 3 สรุปขั้นตอนการตรวจหาจุลชีพจากตัวอย่างน้ำนม (ดัดแปลงจาก NMC, 1999))

ตารางที่ 3 การระบุนัยสำคัญของเชื้อที่ตรวจพบ (ดัดแปลงจาก NMC, 1999)

จำนวนโคโลนีทั้งหมด	1	2 – 10			> 10		
ชนิดเชื้อ	1	1	2	>2	1	2	>2
S. agalactiae	4*	4	4	4	4	4	4
Group G streptococci	4	4	4	4	4	4	4
Streptococcal species	2	3	2	2	4	3	1
S. aureus	3	4	4	4	4	4	4
Staphylococcus species	1	2	2	2	4	2	1
E. coli							
Klebsiella							
Enterobacter	2	3	2	2	4	2	1
Serratia							
Pasteurella	4	4	4	4	4	4	4
Pseudomonas	2	3	2	2	4	4	2
Yeast mold & other fungi	2	3	1	1	4	2	1
Nocardia	2	3	2	2	4	3	3
Prototheca	2	3	3	2	4	3	3
C. bovis	1	2	2	2	4	3	3
C. pyogenes	2	3	3	3	4	3	3
C. ulcerans	2	4	3	2	4	4	3
Proteus	2	3	1	1	4	2	1

***ระดับนัยสำคัญของการวินิจฉัยว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ** (Degree of confidence in diagnosing an infection)
1 = **ไม่มีนัยสำคัญ** 2 = **ต้องสงสัย** 3 = **มีนัยสำคัญ** 4 = **มีนัยสำคัญสูง**

6. ข้อมูลอื่นๆ

โคพักรีดทุกตัวที่ถูกเก็บตัวอย่างน้ำนมและบันทึกข้อมูลผลการตรวจคัดกรองโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มที (California mastitis test; CMT)) (รายละเอียดในภาคผนวก ข) จำนวนวันที่พักรีด จำนวนวันรีดนมนับถึงวันพักรีด และรอบการให้นม

7. การวิเคราะห์ข้อมูล (ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17)

7.1 การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนา

7.1.1 คำนวณหาความชุก (prevalence) ของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม (intramammry infection; IMI) ในช่วงเวลาทั้งสามครั้งที่เก็บตัวอย่างคือ

7.1.1 ที่ 7 ก่อนพักรีด

7.1.2 ในวันพักรีด

7.1.3 ในช่วง 1-7 วันหลังคลอด

โดยคิดจาก เปอร์เซ็นต์ความชุกของ IMI = จำนวนเต้านมที่ติดเชื้อ x 100
จำนวนเต้านมทั้งหมดที่เก็บตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลา

7.1.2 รูปแบบ (pattern) ของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม ตลอดช่วงเวลาทั้งสามครั้งที่เก็บตัวอย่าง

7.1.3 ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของจำนวนวันพักรีดนม

7.1.4 ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของจำนวนวันรีดนมนับถึงวันพักรีด

7.1.5 ฐานนิยมของรอบการให้นม

7.1.6 ร้อยละของคะแนนซีเอ็มทีที่ประเมินในวันพักรีด

7.2 ประเมินผลของการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดสอดเต้านมต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม ดังนี้

7.2.1 ผลในการกำจัดการติดเชื้อในเต้านมที่เกิดขึ้นตั้งแต่ก่อนพักรีด (Curative effect)

โดย Curative effect

= จำนวนเต้านมที่พบการติดเชื้อที่ 7 วันก่อนพักรีดและในวันพักรีด แต่ไม่พบช่วงหลังคลอด x 100
จำนวนเต้านมที่พบการติดเชื้อที่ 7วันก่อนพักรีดและในวันพักรีด

7.2.2 ผลในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านม (Preventive effect)

โดย Preventive effect

= จำนวนเต้านมที่ไม่พบการติดเชื้อที่ 7 วันก่อนพักรีด ในวันพักรีด และในช่วงหลังคลอด x 100
จำนวนเต้านมที่ไม่พบการติดเชื้อที่ 7 วันก่อนพักรีดและในวันพักรีด

บทที่ 4
ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างน้ำนมและข้อมูลทั้งหมดพบว่ามีจำนวนเต้านมที่นำเข้ามาศึกษาทั้งสิ้น 415 เต้านม จากแม่โคพักรีด 106 ตัว ความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมเมื่อคำนวณจากจำนวนเต้านมที่พบการติดเชื้อ ต่อจำนวนเต้านมทั้งหมดในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างพบว่า ที่ 7 วันก่อนพักรีด ในวันพักรีด และในช่วง 1-7 วันหลังคลอดมีความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมเท่ากับร้อยละ 26 ร้อยละ 30.4 และร้อยละ 2.6 ตามลำดับ ซึ่งสามารถจำแนกเชื้อได้ตามตารางที่ 4 ทั้งนี้เชื้อที่จำแนกได้มากที่สุดนั้นคล้ายคลึงกันในทั้งสามครั้งที่เก็บตัวอย่างคือพบแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมมากที่สุด ซึ่งได้แก่ Coagulase negative staphylococci (CNS) *Corynebacterium bovis* และ *Streptococcus* species ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มที่ติดจากโคสู่โค (contagious bacteria) ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae* ซึ่งพบในวันที่ 7 ก่อนพักรีด ในวันพักรีด และในช่วง 1-7 วันหลังคลอดนั้น พบว่ามีจำนวนรวมเท่ากับร้อยละ 5.1 ร้อยละ 3.6 และร้อยละ 0.7 ตามลำดับ

เมื่อนำข้อมูลการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่ได้ มาจัดรูปแบบของการติดเชื้อโดยติดตามดูเต้านมเต้าเดิมคลอดทั้งสามครั้งที่เก็บตัวอย่าง จากตารางที่ 5 พบว่าเต้านมที่ไม่พบการติดเชื้อใดๆตลอดทั้งสามครั้งที่เก็บตัวอย่าง (รูปแบบที่ 1) มีจำนวนมากที่สุดคือ ร้อยละ 63.13 เต้านมที่มีการติดเชื้อที่ 7 วันก่อนพักรีดและในวันพักรีด แต่ไม่พบการติดเชื้อในช่วง 1 -7 หลังคลอด (รูปแบบที่ 2) มีจำนวนรองลงมาคือร้อยละ 17.11 มีเต้านมที่พบการติดเชื้อใหม่ในช่วง 1 – 7 วันก่อนพักรีด (รูปแบบที่ 3) ร้อยละ 8.91 ในขณะที่มีเต้านมที่ติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด (รูปแบบที่ 6) จำนวนร้อยละ 1.69 นอกจากนี้มีเต้านมที่มีการติดเชื้อที่ 7วันก่อนพักรีดแต่ไม่พบการติดเชื้อในวันพักรีด (รูปแบบที่ 4) เป็นจำนวนร้อยละ 4.34 ในส่วนของผลการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าเต้านมในวันพักรีดนั้นนั้นเมื่อนำข้อมูลรูปแบบของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมมาคำนวณหาผลในการกำจัดเชื้อที่มีอยู่เดิมตั้งแต่ก่อนพักรีด (Existing IMI) และผลในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด (New IMI) พบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 100 และร้อยละ 97.39 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 การติดเชื้อชนิดต่างๆเข้าสู่เต้านมในแต่ละช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง

ชนิดเชื้อ	การติดเชื้อเข้าสู่เต้านม					
	7 วันก่อนพักรีด		วันพักรีด		1-7 วันหลังคลอด	
	จำนวนเต้านม	ร้อยละ	จำนวนเต้านม	ร้อยละ	จำนวนเต้านม	ร้อยละ
No growth	307	74.0	289	69.6	404	97.4
CNS	49	11.8	53	12.8	5	1.2
C. bovis	19	4.6	42	10.1	0	0
Strep spp.	18	4.3	16	3.9	2	0.5
S. aureus	13	3.2	12	2.9	3	0.7
S. agalactiae	6	1.4	2	0.5	0	0
S. aureus + *Strep* spp.	2	0.5	0	0	0	0
C. bovis + *Strep* spp	1	0.2	0	0	0	0
C. bovis+ *S.agalactiae*	0	0	1	0.2	0	0
E.coli	0	0	0	0	1	0.2
รวม	415	100	415	100	415	100

ตารางที่ 5 รูปแบบการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมจำแนกตามผลการเพาะแยกเชื้อจากน้ำนมทั้ง 415 เต้า

รูปแบบ	ผลการเพาะแยกเชื้อ*			จำนวนเต้านม	ร้อยละ
	7 วันก่อนพักรีด	วันพักรีด	1 – 7 วันหลังคลอด		
1	-	-	-	262	63.13
2	+a	+a	-	71	17.11
3	-	+	-	37	8.91
4	+	-	-	18	4.34
5	+a	+b	-	12	2.89
6	-	-	+	7	1.69
7	+a	+a	+b	7	1.69
8	+a	-	+b	1	0.24
รวม				415	100

*ผลการเพาะแยกเชื้อแสดงผลด้วย “+” = ตรวจพบเชื้อ “ –“ = ตรวจไม่พบเชื้อ โดยมี a และ b เป็นสัญลักษณ์แทนชนิดเชื้อที่พบในแถวเดียวกัน

ข้อมูลเกี่ยวกับตัวโคที่เข้ามาศึกษา(ตารางที่ 6) ได้แก่จำนวนวันพักรีดนม (Dry period length) จำนวนวันรีดนม (Day in milk) และรอบการให้นมนั้น (Lactation number) พบว่าเมื่อวิเคราะห์แนวโน้มสู่ส่วนกลางของแต่ละค่าข้างต้น มีค่าเฉลี่ย (Mean $\pm$SD) ของจำนวนวันพักรีดนมและจำนวนวันรีดนมในกลุ่มโคที่ทำการศึกษาเท่ากับ 66.04 ($\pm$6.68) วัน และ 329.12 ($\pm$70.91) วันตามลำดับ ในขณะที่รอบการให้นมนั้นเนื่องจากเป็นข้อมูลลำดับขั้น จึงใช้ฐานนิยม (Mode) ในการหาแนวโน้มสู่ส่วนกลางของข้อมูลนี้ ซึ่งพบว่าโคในกลุ่มศึกษามีฐานนิยมของรอบการให้นมคือรอบที่ 1 โดยมีรายละเอียดของจำนวนเต้านมในแต่ละรอบการให้นมตามตารางที่ 7

ตารางที่ 6 จำนวนวันพักรีด จำนวนวันรีดนม และรอบการให้นม (N=106)

ข้อมูล (N=407)	**แนวโน้มสู่ส่วนกลาง***	**ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด**
จำนวนวันพักรีด (วัน)	66.04 (±6.68)**	49 – 81
จำนวนวันรีดนม (วัน)	329.12 (±70.91)**	241 – 599
รอบการให้นม (รอบ)	1	1 – 8

*การวัดแนวโน้มสู่ส่วนกลางของจำนวนวันพักรีดนม และจำนวนวันรีดนม ใช้ ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนรอบการให้นมใช้ ฐานนิยม (mode) **ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

ตารางที่ 7 จำนวนเต้านมในแต่ละรอบการให้นม

รอบการให้นม	**จำนวนเต้านม**	**ร้อยละ**
1	113	27.2
2	109	26.3
3	31	7.5
4	55	13.3
5	56	13.5
6	20	4.8
7	23	5.5
8	8	1.9
รวม	415	100

การตรวจคัดกรองโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มที (ตารางที่ 8) พบว่า จำนวนเต้านมเกินกึ่งหนึ่งให้ผลบวกต่อการตรวจด้วยวิธีซีเอ็มที กล่าวคือ ในวันที่ 7 ก่อนทำการพักรีดมีจำนวนเต้านมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 241 เต้า หรือคิดเป็นร้อยละ 58.1 ในทำนองเดียวกันพบว่า ในวันพักรีดมีจำนวนเต้านมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการเท่ากับ 260 เต้า หรือคิดเป็นร้อยละ 62.7 ในส่วนของช่วง 1-7 วันหลังคลอดนั้น น้ำนมส่วนใหญ่เป็นน้ำนมเหลือง (Colostrum) ดังนั้นจึงไม่สามารถประเมินโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มทีได้ จึงไม่มีผลการศึกษาในส่วนดังกล่าวในรายงานนี้

ตารางที่ 8 ผลการตรวจคัดกรองเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธี California mastitis test

คะแนนซีเอ็มที	**วันตรวจ**			
	7 วัน ก่อนการพักรีด		**ณ วันพักรีด**	
	จำนวนเต้านม	**ร้อยละ**	**จำนวนเต้านม**	**ร้อยละ**
ผลลบ	174	41.9	155	37.3
1	101	24.3	84	20.2
2	23	5.5	36	8.7
3	117	28.3	140	33.7
รวม	415	100	415	100

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในวันพักรีดที่พบในการศึกษานี้มีค่าเท่ากับร้อยละ 30.4 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานต่างประเทศที่พบความชุกที่ประมาณร้อยละ 5 – 30 (Oliver and Mitchell, 1983; Eberhart, 1986; Hormon et al., 1986; Schukken et al., 1993; Dingwell et al., 2002) โดยพบ Coagulase negative staphylococci และ *Corynebacterium bovis* เป็นส่วนใหญ่ จากที่ในการศึกษานี้ได้เข้าไปเก็บตัวอย่างน้ำนมที่ฟาร์มระหว่างเดือนมิถุนายนไปจนถึงเดือนธันวาคมซึ่งอยู่ในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว โดยข้อมูลสถิติข้อมูลอุตุนิยมวิทยาย้อนหลัง 30 ปี (ค.ศ. 1971 – 2000) (ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง) ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมาพบว่าในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคมมีจำนวนวันที่ฝนตกเฉลี่ยประมาณ 15 วันต่อเดือนโดยมีน้ำฝนเฉลี่ยต่อเดือนประมาณ 148.2 มิลลิเมตร ซึ่งสูงกว่าในเดือนพฤศจิกายนและธันวาคมมากซึ่งมีจำนวนวันฝนตกเพียงประมาณ 5 วันต่อเดือนโดยมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยต่อเดือนประมาณ 15 มิลลิเมตรเท่านั้น จากข้อมูลข้างต้นจึงมีแนวโน้มว่าฤดูกาลโดยเฉพาะในฤดูฝนอาจมีความสัมพันธ์กับความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม แต่เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมกับเดือนที่เก็บตัวอย่าง พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ ($p > 0.1$) โดยเฉพาะในช่วง 1 -7 วันหลังคลอดที่มีการเก็บตัวคร่อมทั้งในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติเช่นกัน (ภาคผนวก ค) ดังนั้นฤดูกาลที่เก็บตัวอย่างในการศึกษานี้อาจไม่มีผลต่อความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่พบ

แม้ว่าผลการศึกษาความชุกของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่ได้ในการศึกษานี้พบว่าในวันพักรีดเต้านมส่วนใหญ่ไม่มีการติดเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในช่วงระยะ 1-2 สัปดาห์หลังวันพักรีดหรือระยะ active stage มีอัตราการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่สูงมาก (Bradley and Green, 2004) ดังนั้นการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดจึงมีความจำเป็นและมีประสิทธิภาพที่ดีในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมโดยเฉพาะในระยะแรกของการพักรีดดังที่ได้กล่าวมา ซึ่งเห็นได้จากการที่พบรูปแบบของการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในจำนวนต่ำมาก (รูปแบบที่ 6 ในตารางที่ 5) ในขณะที่ผลในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะท้ายของการพักรีด (Colostrogenesis) คือเริ่มตั้งแต่ประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนคลอดไปจนถึงวันคลอดนั้น มีแนวโน้มว่าการออกฤทธิ์และตัวยาออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะสอดเต้านมที่ใช้ไม่คลอบคลุมการป้องกันการติดเชื้อในระยะดังกล่าว ทั้งนี้เนื่องจากยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดที่มีในรูปแบบ

การค้าที่มีใช้กันทั่วไป รวมถึงในประเทศไทยนั้น มีความเข้มข้นของยาในระดับที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (therapeutic dose) อยู่ในเต้านมได้ประมาณ 35 – 40 วันทำให้ไม่ครอบคลุมตลอดระยะพักรีด (Smith et al., 1985[b]; Oliver et al., 1990) ดังนั้นในระยะดังกล่าวนี้จึงเสี่ยงต่อการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมมากกว่าระยะแรกของการพักรีด ข้อมูลดังกล่าวสะท้อนให้เห็นว่าการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดมีผลในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดได้ดีมากโดยเฉพาะในระยะแรกของการพักรีดในขณะที่ระยะท้ายของการพักรีดมีแนวโน้มว่ามีโอกาสเกิดการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมได้ง่ายกว่าซึ่งเป็นผลจากระยะเวลาออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะแต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบรูปแบบของการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดที่ต่ำมากจึงมีแนวโน้มว่าเกิดจากการที่ทางฟาร์มมีการจัดการในโคพักรีดที่ดีคือมีโรงเรือนและคอกสำหรับโคพักรีดโดยเฉพาะ มีความหนาแน่นของโคที่เหมาะสม และมีการทำความสะอาดโรงเรือนและคอกสม่ำเสมอทำให้ลดการสะสมของแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจทำให้เกิดการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดง่ายขึ้นได้ (Smith et al.,1985[b]; Oliver and Sordillo, 1989)

ในส่วนของผลการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดที่มีต่อการกำจัดการติดเชื้อที่มีอยู่เดิมซึ่งเกิดขึ้นมาตั้งแต่ก่อนพักรีดนั้น (Existing IMI) พบว่าสามารถกำจัดเชื้อที่มีอยู่เดิมได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Natzke (1981) ที่รายงานว่าผลในการรักษาจะอยู่ในช่วงร้อยละ 70 – 98 ขึ้นอยู่กับชนิดของการรักษา และระบาดวิทยาของการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในแต่ละฟาร์ม การที่การยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดมีผลในการกำจัดเชื้อที่มีอยู่เดิมดีมากเกิดจากในระยะแรกหลังจากสอดยาความเข้มข้นของยาอยู่ในระดับที่สูงจึงทำให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีนอกจากนี้ ชนิดของยาปฏิชีวนะที่มีใช้ในรูปแบบการค้าโดยทั่วไปรวมถึงที่ใช้ในการศึกษานี้ใช้ออกฤทธิ์ได้ดีกับแบคทีเรียแกรมบวก (Bradley and Green, 2001) โดยเฉพาะในกลุ่มแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อม เช่น Coagulase negative staphylococci (CNS) เป็นต้น (Schultze and Mercer, 1976) ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษานี้ที่พบว่าเชื้อที่พบในวันพักรีดส่วนใหญ่คือ CNS ดังนั้นจากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นจึงทำให้ผลในการกำจัดเชื้อที่มีอยู่เดิมได้ผลดีมากนั่นเอง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลในการกำจัดการติดเชื้อเดิมที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม contagious ที่สำคัญ เปรียบเทียบกับอัตราการหายจากการติดเชื้อ Coagulase negative staphylococci พบว่ามีค่าต่ำกว่ามากคือประมาณร้อยละ 55 – 80 และ 75 – 99 ตามลำดับ (Pearson and Wright, 1969; Postel and Netzke., 1974; Schultze and Mercer, 1976) รวมทั้งการศึกษาของ Browning และคณะ. (1990) และ Østeras et al (1994) ที่ได้ผลในการกำจัดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในระยะพักรีดประมาณร้อยละ 63 - 65 โดยข้อมูลข้างต้นสอดคล้องกับผลในการศึกษานี้ที่พบว่ายาปฏิชีวนะมี

ผลในการกำจัดการติดเชื้อเดิมที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. aureus* ในระดับต่ำมากเช่นกันคือร้อยละ 25 ทั้งนี้ความแตกต่างของผลในการกำจัดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ขึ้นอยู่กับลักษณะชนิด (Strain) ของเชื้อในฟาร์ม และชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ การศึกษาของ Schultze และ Mercer (1976) ได้รายงานประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดที่มีต่อการติดเชื้อ *S. aureus* พบว่าปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมให้ยามีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อในเต้านมมากขึ้นนั้นคือต้องมีความเข้มข้นของยาสูงและตัวยาต้องสามารถจับกับน้ำนมและเนื้อเยื่อในเต้านมได้ดีเพื่อความสูญเสียจากการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ต้องมีสื่อที่เหมาะสมซึ่งช่วยให้ยาคงอยู่ในเต้านมได้นาน ซึ่งส่วนใหญ่สื่อที่ใช้คือน้ำมัน (oil-based suspension)

กลุ่มโคที่นำเข้ามาการศึกษามีรอบการให้นมส่วนใหญ่คือรอบที่ 1 ซึ่งเต้านมมีความต้านทานต่อการติดเชื้อใหม่มากกว่าโคที่อายุมากหรือมีรอบการให้นมที่มากขึ้น (Ward and Schultz, 1974; Oliver and Mitchell., 1983) แม้ว่าในการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างกับรอบการให้นม ($p > 0.1$) (ภาคผนวก ง) แต่จากการศึกษาของ Dingwell และคณะ (2004) ซึ่งมีโคส่วนใหญ่อยู่ในรอบการให้นมรอบที่ 1 เช่นกัน พบว่าจำนวนเต้านมที่พบการติดเชื้อใหม่เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 14 ในโคที่มีรอบการให้นมที่ 1 ไปเป็นร้อยละ 31 ในกลุ่มโคที่มีรอบการให้นม 4 รอบขึ้นไป สาเหตุเพราะในรอบการให้นมที่ 1 ปริมาณน้ำนมของโคยังอยู่ในระดับต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับในรอบการให้นมที่ 3 หรือ 4 ซึ่งถือว่าเป็นระยะที่ให้นมสูงสุด การที่มีปริมาณน้ำนมในเต้านมน้อยส่งผลให้แรงดันภายในเต้านมต่ำช่วยให้ลดการรั่วไหลของน้ำนมออกมาทางรูนม ทำให้แบคทีเรียผ่านเข้าสู่เต้านมทางรูนมยากขึ้น (Cousins et al., 1980) นอกจากนี้การที่มีปริมาณน้ำนมไม่มากทำให้ ปัจจัยที่ช่วยป้องกันการติดเชื้อในเต้านม (natural protective factors) เช่น แลคโตเฟอริน (lactoferrin) อิมมิวโนโกลบิน (immunoglobulin) และ ฟาโกซัยติกเซลล์ (Phagocytic cell) ไม่ถูกเจือจางไปทำให้คงความเข้มข้นอยู่ในระดับที่ป้องกันการติดเชื้อได้ตามปกติ (Bushe and Oliver, 1987; Paape et al., 1992)

ในการศึกษานี้แม่โคที่เข้าสู่การศึกษามีค่าเฉลี่ยจำนวนวันพักรีดนมคือ 66 วัน (49 – 81 วัน) ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติคือประมาณ 60 – 70 วัน (Bachman and Schairer, 2003) ถ้ามีจำนวนวันพักรีดน้อยเกินไปสามารถส่งผลให้ปริมาณน้ำนมในรอบการให้นมถัดไปลดลง (Sørensen and Enevoldsen, 1991; Re'mond et al., 1992; Bachman and Schairer, 2003; Gulay et al., 2005; Pezeshki et al., 2007; Watters et al., 2008) รวมทั้งถ้ามีระยะพักรีดนมที่นานเกินไปส่งผลให้ต้นทุนในการเลี้ยงเพิ่มขึ้นและผลผลิตสะสมในระยะยาวลดลง (Hurley, 1989) สาเหตุที่ปริมาณน้ำนมในรอบถัดไปลดลงในโคที่ไม่มีการพักรีดนม หรือมีระยะพักรีดนมที่สั้นเกินไปเกิดจาก

การปรับสภาพภายในเต้านม (Mammary gland involution) เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ โดยปกติ เซลล์เยื่อบุถุงนม (Alveolar epithelium cell) ซึ่งเป็น secretory cell ชนิดหนึ่ง ทำหน้าที่หลักในการผลิตน้ำนม เมื่อมีอายุมากขึ้นจะถูกกำจัดออกไปด้วยกระบวนการ Apoptosis และมีการสร้างเซลล์เยื่อบุถุงนมชุดใหม่ขึ้นมาซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตน้ำนมดีกว่า ทั้งนี้ขั้นตอนและกระบวนการ involution ในเต้านมนั้นจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ใช้เวลาในการพักรีดนมนานประมาณ 60 – 70 วัน ดังนั้นหากมีจำนวนวันพักรีดที่สั้นลงจะกระทบกระบวนการดังกล่าวได้

การประเมินโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการไม่สามารถประเมินจากการตรวจตัวอย่างน้ำนมในช่วง 1-7 วันหลังคลอด เพราะน้ำนมเหลืองมีปริมาณโซมาติกเซลล์มากกว่าน้ำนมปกติอาจทำให้เกิดผลบวกลวง (False positive) ซึ่งตามรายงานของ Maunsell และคณะ (1998) พบว่าในน้ำนมเหลืองที่ได้จากเต้านมที่ไม่พบการติดเชื้อและให้ผลลบต่อการตรวจด้วยวิธีซีเอ็มทีมีค่าเฉลี่ยของจำนวนโซมาติกเซลล์เท่ากับ 891,000 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ferdowski Nia และคณะ (2009) ที่พบว่าในน้ำนมเหลืองมีจำนวนโซมาติกเซลล์อยู่เท่ากับ 960,000 – 5,051,000 เซลล์/มิลลิลิตร ในขณะที่น้ำนมปกติที่ให้ผลลบต่อการตรวจซีเอ็มทีควรจะมีปริมาณโซมาติกเซลล์ต่ำกว่า 200,000 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งถือว่าเป็นช่วงที่วิธีซีเอ็มทีมีความไวและความจำเพาะต่อการติดเชื้อในเต้านมสูง (Dohoo and Leslie, 1991) ดังนั้นการแปลผลหรือการประเมินเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มทีในน้ำนมเหลืองจึงไม่สามารถใช้เกณฑ์ของน้ำนมปกติในการประเมิน แต่อย่างไรก็ตามถ้ามีการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม น้ำนมเหลืองที่ได้จะมีจำนวนโซมาติกเซลล์ที่สูงกว่าน้ำนมเหลืองที่ได้จากเต้านมที่ไม่มีการติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อนับจำนวนโซมาติกเซลล์โดยตรงด้วยเครื่อง Automated Fossomatic (Muansell et al., 1998) ซึ่งจำนวนโซมาติกเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนี้ไม่สามารถตรวจพบความแตกต่างได้โดยวิธีซีเอ็มที

ผลการประเมินเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มที ที่ 7 วันก่อนพักรีดและในวันพักรีด (ตารางที่ 8) ให้ผลการตรวจในทำนองเดียวกันคือเต้านมส่วนใหญ่อักเสบแบบไม่แสดงอาการ (ร้อยละ 58.1 และ 62.7 ตามลำดับ) และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการกับการติดเชื้อในเต้านม ในวันที่ 7 ก่อนการพักรีด และในวันพักรีด (ภาคผนวก จ) พบว่ามีเต้านมที่มีการอักเสบแบบไม่แสดงอาการโดยที่ไม่มีการติดเชื้อจำนวนมากคือร้อยละ 36.6 และ 38.3 ตามลำดับ สาเหตุเป็นเพราะโคที่ประเมินทั้งหมดอยู่ในช่วงการรีดนมระยะท้าย (Late lactation) ใกล้พักรีดนม โดยมีจำนวนวันรีดนมเฉลี่ยประมาณ 329 วัน ซึ่งช่วงนี้ปริมาณน้ำนมจะลดต่ำลงและมีจำนวนโซมาติกเซลล์เพิ่มสูงขึ้น (Braund and Schultz, 1963; Hortel et al., 1999) ทำให้เมื่อตรวจเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มทีจึงมีเต้านมที่ให้ผลบวก

เป็นจำนวนมาก ในขณะที่จำนวนเต้านมที่ไม่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการและไม่มีการติดเชื้อในเต้านมนั้นจะเป็นข้อมูลสะท้อนให้เห็นว่าเต้านมในช่วงวันพักรีดนั้นมีสุขภาพที่ดี ไม่พบการอักเสบและติดเชื้อในเต้านม มีจำนวนใกล้เคียงกันกับจำนวนเต้านมที่อักเสบโดยไม่พบการติดเชื้อ ข้อมูลที่ได้สะท้อนให้เห็นว่าผลการประเมินโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการด้วยวิธีซีเอ็มทีที่ 7 วันก่อนพักรีดและในวันพักรีดไม่มีความถูกต้องเพียงพอในการนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการแยกเต้านมที่มีการติดเชื้อออกจากเต้านมที่ไม่มีการติดเชื้อ Ajariyakhajorn และคณะ (2010) ได้ศึกษาหาความสามารถของการใช้ซีเอ็มทีและโซมาติกเซลล์ในการตรวจหาการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม พบว่า การใช้ซีเอ็มทีจะมีความไว (Sensitivity) ร้อยละ 72.17 และมีความจำเพาะร้อยละ 67.78 ซึ่งสอดคล้องกับค่าความไวและความจำเพาะที่ได้จากการนับจำนวนโซมาติกเซลล์ด้วยเครื่องนับอัตโนมัติ (Coulter Counter) ในขณะที่การศึกษาของ McDermott และคณะ (1982) Dohoo และLeslie (1991) รวมทั้ง Schepers และคณะ (1997) ได้ค่าความไวและความจำเพาะของการใช้โซมาติกเซลล์ในการตรวจหาการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมที่สูงกว่าคือ มีความไวอยู่ในช่วงร้อยละ 73 – 89 และมีความจำเพาะอยู่ในช่วงร้อยละ 75 – 90 โดยสาเหตุที่ทำให้ได้ค่าความไวและความจำเพาะต่างกันในแต่ละการศึกษานั้นเกิดจากระบาดวิทยาของชนิดเชื้อที่พบต่างกัน โดยพบว่าแบคทีเรียกลุ่ม contagious ทำให้แม่โคมีการตอบสนองของโซมาติกเซลล์ในเต้านมที่สูงกว่ากลุ่มแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อม (Berkema et al., 1999; Schukken et al,. 2003) ดังนั้นในการใช้โซมาติกเซลล์เป็นเครื่องมือในตรวจหาการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมต้องคำนึงถึงลักษณะระบาดวิทยาของชนิดเชื้อที่พบในแต่ละฟาร์ม และช่วงของการให้นม (stage of lactation)

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้พบว่าผลของการใช้ยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดต่อการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม ให้ผลที่ดีมากทั้งในการกำจัดเชื้อเดิมที่มีมาตั้งแต่ก่อนพักรีด (Existing Intramammary infection) และในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีด (New Intramammary infection) ในการป้องกันการติดเชื้อใหม่เข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดนั้น ยาปฏิชีวนะที่สอดเต้านมในวันพักรีดจะมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อในระยะแรกของการพักรีด (1 – 2 สัปดาห์หลังวันพักรีด) ในขณะที่ระยะท้ายของการพักรีด (2 – 3 สัปดาห์ก่อนคลอดถึงวันคลอด) ความสามารถในการป้องกันการติดเชื้อต้องอาศัยการจัดการฟาร์มที่ดี โดยเฉพาะความสะอาดของคอกที่แม่โคพักรีดอาศัยอยู่ เนื่องจากยาปฏิชีวนะสอดเต้านมในวันพักรีดมีแนวโน้มว่าไม่สามารถออกฤทธิ์ได้คลอบคลุมตลอดระยะพักรีดทั้งหมด ในฟาร์มที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีโรงเรือนสำหรับโคพักรีด ซึ่งมีความสะอาดของคอกและวัสดุปูนอนที่ดี สภาพส่วนใหญ่ในคอกจะแห้งแม้ว่าอยู่ในช่วงที่ฝนตกต่อเนื่องหลายวันเนื่องจากมีการระบายน้ำที่ดี รวมทั้งมีความหนาแน่นของโคในคอกที่เหมาะสมคือประมาณ 9 ตารางเมตรต่อตัว การจัดการต่างๆเหล่านี้จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องการการติดเชื้อใหม่ ในระยะท้ายของการพักรีดดังที่ได้กล่าวมา

ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมในระยะพักรีดในฟาร์มที่มีลักษณะการจัดการที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือเป็นฟาร์มขนาดใหญ่ที่มีการจัดการฟาร์มพื้นฐานที่ดี และมีนายสัตวแพทย์คอยดูแลการจัดการสุขภาพและผลผลิตประจำฟาร์ม ในขณะที่อาจไม่สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ไปประยุกต์ใช้ในฟาร์มรายย่อยซึ่งเป็นลักษณะของฟาร์มส่วนใหญ่ของประเทศไทย เนื่องมาจากมีความแตกต่างในเรื่องของการจัดการค่อนข้างมากระหว่างฟาร์มขนาดใหญ่และรายย่อย ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในฟาร์มรายย่อยจึงเป็นสิ่งที่น่าจะมีประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงส่วนใหญ่โดยสามารถใช้ผลการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานได้

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เติมศรี ชำนิจารกิจ. 2544. สถิติประยุกต์ทางการแพทย์.พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 213 หน้า.

ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง. 2555. สถิติข้อมูลอุตุนิยมวิทยา 30 ปี. [Online] Available: http://www.ubonmet.tmd.go.th/main.php.

.

ภาษาอังกฤษ

Ajariyakhajorn, K., Samngamnim, S., Seankum, N., Dechgrajang, S. and Wongthipkongka, S. 2010. Abilities of California MastitisTest and Quarter Milk Somatic Cell Count for identifying the intramammary infection in small dairy holders. ICVS Proceedings.

Andersen, J.B., Madsen, T.G., Larsen, T., Ingvartsen, K.L., and Nielsen, M. O. 2005. The Effects of Dry Period Versus Continuous Lactation on Metabolic Status and Performance in Periparturient Cows. J.Dairy Sci. 88:3530–3541.

Annen, E. L., Collier, R.J., McGuire, M.A. and Vicini, J. L. 2004. Effects of Dry Period Length on Milk Yield and Mammary Epithelial Cells. J. Dairy Sci. 87:(E Suppl.):E66–E76.

Bachman, K.C. and Schairer, M.L. 2003. *Invited Review*: Bovine Studies on Optimal Lengths of Dry Periods. J. Dairy Sci. 86:3027–3037.

Barkema, H.W., Deluyker, H.A., Schukken, Y.H., Lam, T.J.G.M. 1999. Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving. Prev. Vet. Med. 38:1–9.

Berry, E.A. and Hillerton, J.E. 2002[a]. The Effect of Selective Dry Cow Treatment on New Intramammary Infections. J. Dairy Sci. 85:112–121.

Berry, E.A. and Hillerton, J.E. 2002[b]. The Effect of an Intramammary Teat Seal on New Intramammary Infections. J. Dairy Sci. 85:2512–2520.

Berry, E. A. and Hillerton, J. E. 2007. Effect of an Intramammary Teat Seal and Dry Cow Antibiotic in Relation to Dry Period Length on Postpartum Mastitis. J. Dairy Sci. 90:760–765.

Blowey, R.W. and Edmondson, P. W. 2010. Mastitis control in dairy herds. Ipswich Farming Press. UK. 274 pp.

Bradley, A.J. 2002. Bovine Mastitis: An Evolving Disease. Vet. J. 164: 116-128.

Bradley, A. J. and Green, N.J. 2000. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. J. Dairy Sci. 83:1957–1965.

Bradley, A. J. and Green, M. J. 2001. An Investigation of the Impact of Intramammary Antibiotic Dry Cow Therapy on Clinical Coliform Mastitis. J. Dairy Sci. 84:1632–1639.

Bradley, A. J. and Green, M. J. 2004. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infectionand strategies for prevention. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 20:547–568.

Braund, D.G. and Schultz, L.H. 1963. Physiological and Environmental Factors Affecting the California mastitis test under Field Conditions J. Dairy Sci. 46:197-203.

Browning, J.W., Mein, G.A. and Barton, M. 1990. Effect of antibiotic therapy at drying off on mastitis in the dry period and early lactation. Aus. Vet. J. 67:440-442.

Burton, J.L. and Erskine, R.J. 2003. Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease. Vet. Clin. Food Anim. 19:1-45.

Bushe, T. and Oliver, S.P., 1987. Natural protective factors in bovine mammary secretions following different methods of milk cessation. J. Dairy Sci. 70:696–704.

Capuco, A.V. and Aker, R.M. 1999. Mammary Involution in Dairy Animals. J. Mam Gland. Bio. Neo, 4:137-144.

Cousins, C L, Higgs, T.M., Jackson, E.R., Neave, F.K. and. Dodd,F.H. 1980. Susceptibility of the Bovine Udder to Bacterial Infection in the Dry Period. J. Dairy Research. 47:11-18.

Dingwell, R. T., Duffield, T.F., Leslie, K.E. and Keefe, G.P. 2002. The efficacy of intramammary Tilmicosin at drying-off, and other risk factors for the prevention of new intramammary infections during the dry period. J Dairy Sci. 85:3250-3259.

Dingwell, R.T., Leslie, K.E., Schukken, Y.H., Sargeant, J.M., Timms, L.L., Duffield, T.F., Keefe, G.P., Kelton, D.F., Lissemore, K.D. and Conklin, J. 2004. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. Prev. Vet. Med. 63:75-89.

Dohoo, I. R., and Leslie, K. E. 1991. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. Prev. Vet. Med. 10:225–237.

Eberhart, R.J. 1986. Management of dairy cows to reduce mastitis. J. Dairy Sci. 69:1721-1732.

Ferdowsi Nia, E., Ghorbani, G. R., Rahmani, H. R., Alikhani, M., Mohammad Alipour, M. and Nikkhah, A. 2009. Increased colostral somatic cell counts reduce pre-weaning calf immunity, health and growth. J. of Animal Physiology & Animal Nutrition. 94:628-634.

Gallo, L., Contiero, B., De Marchi, M., Carnier, P., Cassandro, M. and Bittante, G. 2008. Retrospective analysis of dry period length in Italian Holstein cows. Ital.J.Anim.Sci. Vol.7:65-76.

George, L.W., Drivers, T.J. and Welcome, F.L. 2008. Diseases of Teats and Udder. Rebhun's Diseases of Dairy cattle. 2nd edition. Elsevier Inc. St Louis. Missouri. USA.327 – 394.

Godden, S., Rapnicki, P., Stewart, S., Fetrow, J., Johnson, A. Bey, R., and Farnsworth. R. 2003. Effectiveness of an Internal Teat Seal in the Prevention of New Intramammary Infections During the Dry and Early-Lactation Periods in Dairy Cows when used with a Dry Cow Intramammary Antibiotic. J. Dairy Sci. 86:3899–3911.

Green, M.J., Green, L.E., Medley, G.F., Schukken, Y.H. and Bradley, A. J. 2002[a]. Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows. J. Dairy Sci. 85:2589–2599.

Green, M.J., Huxley, J.N. and Bradley, A.J. 2002[b]. A rational approach to dry cow therapy 1- Background and current perspectives. In practice. 24(10):582-587.

Gulay, M.S., Hayen, M.J., Head, H.H., Wilcox, C.J. and Bachman, K.C. 2005. Milk Production from Holstein Half Udders After Concurrent Thirty- and Seventy-Day Dry Periods. J. Dairy Sci. 88:3953–3962.

Harmon, R.J., Crist, W.L. and Hemken, R.W. 1986. Prevalence of minor pathogens after intramammary dry treatment. J. Dairy Sci. 69:843-849.

Hortet, P., Beaudeau, F., Seegers, H. and Fourichon, C. 1999. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600 000 cells /ml in French Holstein cows without clinical mastitis Livestock Production Sci. 61:33–42.

Huijps, K. and Hogeveen, H. 2007. Stochastic Modeling to Determine the Economic Effects of Blanket, Selective, and No Dry Cow Therapy. J. Dairy Sci. 90:1225–1234.

Hurley, W.L. 1989. Mammary function during involution. J. Dairy Sci. 72:1637-1646.

Huxley, J.N., Green, M.J., Green, L.E. and Bradley, A.J. 2002. Evaluation of the Efficacy of an Internal Teat Sealer During the Dry Period. J. Dairy Sci. 85:551–561.

International Dairy Federation, 2001. Mastitis control in member countries. Mastitis Newsletter no. 24. Bulletin of the IDF. 11-24.

Kossaibati, M.A. and Esslemont, R. J. 1997. The costs of production diseases in dairy herds in England. Vet. J.154:41-51.

McDermott, M.P., Erb, H.N. and Natzke, R.P. 1982. Predictability by somatic cell counts related to prevalence of intramammary infection within herds. J. Dairy Sci. 65:1535–1539.

Madsen, T.G., Nielsen, M.O., Andersen, J.B., and Ingvartsen, K.L. 2008. Continuous Lactation in Dairy Cows: Effect on Milk Production and Mammary Nutrient Supply and Extraction. J. Dairy Sci. 91:1791–1801.

Mausell, F.P., Morin, D.E., Constable, P.D., Hurley, W.L., McCoy, G.C., Kakoma, I. and Isaacson, R.E. 1998. Effects of Mastitis on the Volume and Composition of Colostrum Produced by Holstein Cows. J. Dairy Sci. 81:1291–1299.

National Mastitis Council, 1999. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis.WI. USA. 222 pp.

National Mastitis Council, 2006. “Dry cow therapy”. NMC Factsheet. [Online] Available: http://www.nmconline.org/drycow.htm.

Natzke, R.P. 1981. Elements of mastitis control. J. Dairy Sci. 64:1431–1442.

Nickerson, S.C. 1985. Immune mechanisms of the bovine udder: an overview. J. Am. Vet. Med. Assoc. 187:41-45.

Nickerson, S.C. 1989. Immunological aspects of mammary involution. J. Dairy Sci. 72:1665-1678.

Oliver, S.P. and Calvinho, L.F. 1995. Influence of Inflammation on Mammary Gland Metabolism and Milk Composition. J. Anim. Sci. 73:18-33.

Oliver, S.P. and Mitchell, B.A. 1983. Susceptibility of bovine mammary gland to infections during the dry period. J. Dairy Sci. 66:1162-1166.

Oliver, S.P. and Sordillo, L.M. 1989. Approaches to the manipulation of mammary involution. J. Dairy Sci. 72:1647-1664

Oliver, S.P., Lewis, T.M. and Lewis, M.J. 1990. Persistance of antibiotics in bovine mammary secretions following intramammary infusion at cessation of milking. Prev. Vet. Med. 9:301-311.

Osteras, O., Edge, V.L. and Martin, S.W. 1999. Determinants of Success or Failure in the Elimination of Major Mastitis Pathogens in Selective Dry Cow Therapy. J. Dairy Sci. 82:1221–1231.

Osteras, O., Sandvik, L., Aursjø, J., Gjul, G.G. and Jorstad, A. 1994. Effect of dry cow therapy on subclinical mastitis an evaluation of long-acting and short-acting injectors. J. Vet. Med. 41:529–540.

Paape, M.J., Miller, R.H., Young, M.D. and Peters, R.R., 1992. Influence of involution on intramammary phagocytic defense mechanisms. J. Dairy Sci. 75:1849–1856.

Pantoja, J.C.F., Hulland, C. and Ruegg, P.L. 2009. Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across the dry period. Prev. Vet. Med. 90:43–54.

Pearson, J.K.L., Wright, C.L. 1969. Dry cow therapy as a means of controlling bovine mastitis, Vet. Rec. 84:294–298.

Pezeshki, A.J.. Mehrzad, Ghorbani, G.R., Rahmani, H.R., Collier, R.J. and Burvenich, C. 2007. Effects of Short Dry Periods on Performance and Metabolic Status in Holstein Dairy Cows. J. Dairy Sci. 90:5531–5541.

Postle, D.S. and Natzke, R.P. 1974. Efficacy of antibiotic treatment in the bovine udder as determined from field studies,Vet. Med. Small. Anim. Clin. 69:1535–1539.

Poutrel, B. and Rainard, P. 1981.California Mastitis Test Guide of Selective Dry Cow Therapy. J. Dairy Sci. 64:241-248..

Re´mond, B., Ollier, A. and Miranda, G. 1992. Milking cows in late pregnancy: Milk production during this period and during the succeeding lactation. J. Dairy Res. 59:233–241.

Robert, A., Seegers, H. and Bareille, N. 2006. Incidence of intramammary infections during the dry period without or with antibiotic treatment in dairy cows – a quantitative analysis of published data. Vet. Res. 37:25–48.

Ruegg, P.L. 2003. Investigation of mastitis problems on farms. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 19:47-73.

Schepers, A.J., Lam, T.J., Schukken, Y.H., Wilmink, J.B. and Hanekamp, W.J. 1997. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. J. Dairy Sci. 80:1833–1840.

Schukken, Y.H., Wilson, D.J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., Gonzales, R.N. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. Vet. Res. 34:579–596.

Schukken, Y. H., Vanvliet, J., Vandegeer, D. and Grommers, F.J. 1993. A randomized blind trial on dry cow antibiotic infusion in a low somatic cell count herd. J. Dairy Sci. 76:2925–2930.

Schultze, W.D. 1983. Effects of a selective regimen of dry cow therapy on intramammary infection and on antibiotic sensitivity of surviving pathogens. J. Dairy Sci. 66:892-903.

Schultze, W.D. and Mercer, H.D. 1976. Non lactating cow therapy with a formulation of penicillin and novobiocin: mammary irritation and residues, Am. J. Vet. Res. 37:1281–1284.

Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Schoenberger, P.S. 1985[a]. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. J. Dairy Sci. 68:1531-1553.

Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Schoenberger, P.S. 1985[b]. Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. J. Dairy Sci. 68:402-417.

Sordillo, L.M. and Streicher, K.L. 2002. Mammary Gland Immunity and Mastitis Susceptibility. J. Mam Gland. Bio. Neo, 7:135-146.

Sorensen, J. T. and Enevoldsen, C. 1991. Effect of dry period length on milk production in subsequent lactation. J. Dairy Sci. 74:1277–1283.

Timms, L.L. 1997. Field trial evaluation of a persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period. J. Dairy Sci.80 (Suppl. 1):225.

Todhunter, D.A., Smith, K.L. and Hogan, J.S. 1995. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. J. Dairy Sci. 78:2366-2374.

Ward, G.E. and Schultz, L.H. 1974. Incidence and control of mastitis during the dry period. J. Dairy Sci. 57:1341–1349.

Watters, R.D., Guenther, J.N., Brickner, A.E., Rastani, R.R., Crump, P.M., Clark, P.W. and Grummer,R. R. 2008. Effects of Dry Period Length on Milk Production and Health of Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 91:2595–2603.

Williamson, J. H., Woolford, M.W. and Day, A.M. 1995. The prophylactic effect of a dry cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. N.Z. Vet. J. 43:228 – 243.

Woolford, M.W., Williamson, J.H., Day, A.M. and Copeman, P.J.A. 1998. The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. N.Z. Vet. J. 46:12-19.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

เนื่องจากตัวอย่างในการวิจัยนี้เป็นตัวอย่างชุดเดียว กล่าวคือไม่ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบกันระหว่างตัวอย่างสองกลุ่ม และมีการวัดค่าตัวแปรออกมาเป็นค่าสัดส่วน (Proportion) จึงเลือกใช้สูตร $n = (Z\alpha^2 PQ) / d^2$; $Q = 1-P$ (เติมศรี, 2544)

โดย n = จำนวนตัวอย่างที่ต้องในการวิจัยนี้

$Z\alpha^2$ = ค่าจากตาราง Z ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ต้องการ ยกกำลังสอง โดยในที่นี้ใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ซึ่งทำให้ได้ค่านี้เท่ากับ 1.96^2

P = ความชุกของการติดเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบรายเต้าของโคนมในระยะพักรีด โดยในการคำนวณขนาดตัวอย่างในงานวิจัยนี้กำหนดให้มีความชุกเท่ากับ 50%

d^2 = ค่า maximum error ยกกำลังสอง ซึ่งในที่นี้กำหนดให้เท่ากับ $\pm 5\%$ ดังนั้นได้ค่าเท่ากับ $\pm 5^2$

แทนค่าในสูตรได้ดังนี้

$n = ((1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5)/0.0025$

ได้จำนวนตัวอย่างที่ต้องใช้ในงานวิจัยนี้ (n) จากการคำนวณ

= อย่างน้อย 385 เต้า (quarter) แต่เพื่อความสะดวก จึงปัดตัวเลขให้เป็นจำนวน 400 เต้า ซึ่งต้องใช้โคพักรีดในการวิจัยนี้จำนวน 100 ตัว

ภาคผนวก ข

การเก็บตัวอย่างและตรวจตัวอย่างน้ำนมทางห้องปฏิบัติการ

การเก็บตัวอย่างน้ำนม

วัสดุและอุปกรณ์

1. ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างน้ำนมขนาด 30 มิลลิลิตร จำนวน 500 ขวด
2. สำลีก้อนชุบแอลกอฮอล์ 70% จำนวน 2 กระปุก
3. น้ำยาซีเอ็มที 2 แกลลอน ปริมาตร 8 ลิตร
4. ถาดทดสอบซีเอ็มที 4 ถาด
5. ก้อนน้ำแข็งจำนวน 2 ก้อน
6. ใบบันทึกผลตรวจซีเอ็มที
7. ปากกาชนิดกันน้ำและปากกาลูกลื่น 4 ด้าม
8. กล่องโฟมเก็บความเย็น 3 กล่อง

วิธีปฏิบัติก่อนทำการรีดนม : ตรวจกรองเต้านมอักเสบเบื้องต้นรายเต้านมภายหลังจากการเตรียมเต้านมก่อนทำการรีดนม จากนั้นทดสอบซีเอ็มทีดังนี้

1. คลำตรวจบริเวณเต้านมโค เพื่อตรวจหาภาวะเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ
2. รีดน้ำนม 2-3 สายแรกทิ้ง จากนั้นรีดน้ำนมลงในถาดทดสอบซีเอ็มที
3. สังเกตลักษณะของน้ำนมที่รีดได้ว่ามีความผิดปกติที่มีลักษณะของเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการหรือไม่
4. เอียงถาดทดสอบซีเอ็มทีให้น้ำนมมีปริมาตรเท่ากันใน 4 หลุมทดสอบ โดยจะมีปริมาณน้ำนมประมาณ 2 – 3 มิลลิลิตร
5. ใส่น้ำยาซีเอ็มทีลงในถาดทดสอบในอัตราของน้ำนมต่อน้ำยาซีเอ็มทีคือ 1 ต่อ 1
6. แกว่งถาดซีเอ็มทีเพื่อให้น้ำนมและน้ำยาซีเอ็มทีผสมเข้ากันโดยใช้เวลาประมาณ 15 – 20 วินาที
7. เอียงถาดไปมา ซ้าย ขวา ในการอ่านผล โดยมีลักษณะผลบวกของการทดสอบดังนี้
   7.1 +1 น้ำนมมีลักษณะเป็นเมือกบริเวณก้นถาด
   7.2 +2 น้ำนมมีลักษณะเป็นวุ้นหรือเจลที่สามารถเคลื่อนตัวไปมาบริเวณก้นถาดได้

7.3 +3 น้ำนมมีลักษณะวุ้นหรือเจลที่ค่อนข้างรวมกันเป็นก้อนไม่สามารถเคลื่อนตัวไปมาได้ จะติดอยู่บริเวณก้นถาด

8. จดบันทึกผลภายหลังการทดสอบลงในแบบบันทึก
9. เมื่อการรีดนมเสร็จแล้ว ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบรายเต้านม ดังนี้

วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำนมรายเต้านมด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (NMC, 1999)

1. เขียนชื่อโคหรือหมายเลขโค ตำแหน่งเต้านม ลงบนขวดพลาสติกที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างน้ำนม
2. ทำความสะอาดหัวนมโดยใช้ผ้าสะอาดเช็ดบริเวณหัวนมและเต้านม
3. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์หมาดๆ เช็ดบริเวณหัวนม เน้นให้เช็ดจนบริเวณรูนมสะอาด โดยเริ่มจากเต้าที่อยู่ไกลตัว เข้ามาหาเต้าที่อยู่ใกล้ตัว จากนั้นรอจนหัวนมแห้ง
4. เช็ดมือข้างที่จะใช้รีดนมด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ให้สะอาด
5. เริ่มเก็บตัวอย่างจากเต้านมที่อยู่ใกล้ตัวออกไปหาเต้านมที่อยู่ไกลตัว (ตรงข้ามกับขั้นตอนการเช็ดทำความสะอาดเต้านม) เปิดฝาขวดเก็บตัวอย่างด้วยมือข้างที่ไม่ได้เช็ดแอลกอฮอล์ โดยไม่ควรให้ฝาขวดหงายขึ้น เอียงขวดประมาณ 45 องศากับหัวนม ไม่ควรให้ปากขวดสัมผัสกับหัวนมจากนั้นทำการรีดนมลงในขวดเก็บตัวอย่างให้ได้ปริมาตรอย่างน้อย 5 มิลลิลิตร
6. จุ่มเต้านมทุกเต้าด้วยน้ำยาจุ่มเต้า ภายหลังการเก็บตัวอย่าง
7. ตัวอย่างน้ำนมที่ได้ทั้งหมดจะถูกเก็บใส่กล่องโฟมรักษาความเย็นและนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

การเพาะเชื้อเพื่อหาสาเหตุของเต้านมอักเสบ (NMC, 1999)

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องอบความดันไอน้ำ
2. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิตอล
3. ตู้อบบ่ม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
4. โถใส่จานเพาะเชื้อ
5. จานเพาะเชื้อ
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) ปริมาณ 16 กรัม
8. น้ำกลั่น
9. ขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 400 มิลลิลิตร จำนวน 1 ขวด
10. เลือดที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ปริมาตร 16 มิลลิลิตร
11. เครื่องกวนสารละลายให้ความร้อน
12. กระดาษฟอยด์และสำลี
13. ห่วงถ่ายเชื้อขนาด 0.01 มิลลิลิตร
14. ตะเกียงแอลกอฮอล์
15. แผ่นสไลด์แก้ว
16. สารละลายย้อมสีแกรม
17. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% สำหรับการทดสอบ Catalase test
18. Coagulase plasma สำหรับทดสอบ Caagulass test
19. เชื้อ *Staphylococcus aureus* สำหรับการทดสอบ CAMP test
20. สารละลาย Esculin
21. อาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar
22. Triple Sugar Iron
23. Simmons Citrate agar
24. Motility agar

ขั้นตอนการเพาะแยกเชื้อจุลชีพที่เป็นสาเหตุของเต้านมอักเสบ

1. ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่มีเม็ดเลือดแดงเป็นส่วนประกอบ 1 จาน สามารถใช้ลงตัวอย่างน้ำนมได้ 1 ตัว หรือ 4 เต้านม โดยแบ่งพื้นที่ของจานเพาะเชื้อออกเป็น 4 ส่วน เขียนหมายเลขโค และตำแหน่งเต้านมลงบนจานเพาะเชื้อ
2. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อขนาด 0.01 มิลลิลิตร ที่ผ่านการเผาไฟและเย็นตัวแล้วจุ่มลงในตัวอย่างน้ำนมที่เก็บได้ให้เต็มห่วงถ่ายเชื้อ จากนั้นเขี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยตัวอย่างน้ำนม 1 ตัวอย่างใช้พื้นที่ ¼ ของจานเพาะเชื้อ
3. สำหรับตัวอย่างน้ำนมจากเต้านมที่อักเสบแบบแสดงอาการให้ใช้พื้นที่ลงตัวอย่าง ½ ของจานเพาะเชื้อ
4. นำจานเพาะเชื้อที่เขี่ยตัวอย่างน้ำนมแล้ว เข้าตู้อบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อทำการวินิจฉัยแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบต่อไป
5. เมื่ออบบ่มเชื้อครบ 24 ชั่วโมง สังเกตการณ์เจริญเติบโตของจุลชีพบนจานเพาะเชื้อและวินิจฉัยแยกเบื้องต้น โดยการย้อมสีโคโลนี หรือใช้สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อแยกแบคทีเรียแกนมบวกกับแกรมลบ
6. แบคทีเรียแกรมบวกจะทดสอบ catalase test โดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นตัวทดสอบ วัตถุประสงค์เพื่อแยกแบคทีเรียกลุ่ม Streptococci ออกจาก แบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci
7. แบคทีเรียกลุ่ม Streptococci Staphylococci และ แบคทีเรียแกรมลบ จะถูกแยกเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเม็ดเลือดแดงเป็นส่วนประกอบบนจานเพาะเชื้อใหม่ และนำเข้าตู้อบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 24 ชั่วโมง ให้ได้โคโลนีเดี่ยว เพื่อนำไปจำแนกชนิดเชื้อที่พบด้วยการทดสอบทางชีวเคมีต่อไป

การทดสอบทางชีวเคมีเพื่อวินิจฉัยแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบ (ดัดแปลงจาก NMC, 1999)

แบคทีเรีย	ผลการทดสอบ	Presumptive result
Streptococci	ให้ผลบวกปฏิกิริยา CAMP และ Esculin hydrolysis (C+,E+)	*Streptococcus uberis*
	ให้ผลบวกปฏิกิริยา CAMP แต่ Esculin hydrolysis เป็นลบ (C+,E-)	*Streptococcus agaalctiae*
	ให้ผลลบปฏิกิริยา CAMP และ Esculin hydrolysis (C+,E-)	*Streptococcus spp.*
	ให้ผลลบปฏิกิริยา CAMP แต่ Esculin hydrolysis เป็นบวก (C,E+)	*Streptococcus spp.*
Staphylococci	ให้ผลบวกกับการทดสอบ Coagulase test	*Staphylococcus aureus*
	ให้ผลลบกับการทดสอบ Coagulase test	*Coagulase negative staphylococci*
Gram negative bacteria	โคโลนีสีชมพูและมี bile precipitate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ให้ผลลบกับการทดสอบ Simmoms Citrate agar มีการเคลื่อนที่บน Motility agar และบนTriple sugar iron ให้ผลเป็น A/A,G	*Escherichia coli*
	โคโลนีสีชมพู เหลือง และมีลักษณะเป็น mucoid บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ให้ผลบวกกับการทดสอบ Simmoms Citrate agar ไม่มีการเคลื่อนที่บน Motility agar และบน Triple sugar iron ให้ผลเป็น A/A,G	*Klebsiella spp.*
	โคโลนีสีชมพู บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ให้ผลบวกกับการทดสอบ Simmoms Citrate agar มีการเคลื่อนที่บน Motility agar และบน Triple sugar iron ให้ผลเป็น A/A,G	*Enterobacter spp.*
	โคโลนีใส หรือมี red pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ให้ผลบวกหรือลบกับการทดสอบ Simmoms Citrate agar มีการเคลื่อนที่บน Motility agar และบน Triple sugar iron ให้ผลเป็น K/A	*Serratia spp.*
	โคโลนีแวววาว ใส แบบ metallic sheen บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ให้ผลบวกหรือลบกับการทดสอบ Simmoms Citrate agar มีการเคลื่อนที่บน Motility agar และบน Triple sugar iron ให้ผลเป็น K/K	*Pseudomonas spp.*
	โคโลนีใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ให้ผลบวกหรือลบกับการทดสอบ Simmoms Citrate agar มีการเคลื่อนที่บน Motility agar และบน Triple sugar iron ให้ผลเป็น K/AS+	*Proteus spp.*

ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง

1. ที่ 7 วันก่อนพักรีด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
imi7ch * M7BF	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

imi7ch * M7BF Crosstabulation

Count

		M7BF				Total
		มิถุนายน	สิงหาคม	กรกฎาคม	กันยายน	
imi7ch	IMI negative	82	83	92	50	307
	IMI positive	18	31	41	18	108
Total		100	114	133	68	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.026(a)	3	.170
Likelihood Ratio	5.241	3	.155
Linear-by-Linear Association	2.680	1	.102
N of Valid Cases	415		

a 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 17.70.

2. ในวันพักรีด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
imiofch * MDOFF	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

imiofch * MDOFF Crosstabulation

Count

		MDOFF				
		มิถุนายน	สิงหาคม	กรกฎาคม	กันยายน	Total
imiofch	imi negative	76	74	90	49	289
	imi positive	24	40	43	19	126
Total		100	114	133	68	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.551(a)	3	.314
Likelihood Ratio	3.606	3	.307
Linear-by-Linear Association	.350	1	.554
N of Valid Cases	415		

a 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 20.65.

3. ในช่วง 1-7 วันหลังคลอด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
IMICLAVC * MCALVE	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

IMICLAVC * MCALVE Crosstabulation

Count

	MCALVE						Total
	สิงหาคม	กรกฎาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม	
IMI negative	6	68	119	134	69	8	404
IMI positive	0	2	3	3	3	0	11
Total	6	70	122	137	72	8	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1.164(a)	5	.948	.933		
Likelihood Ratio	1.449	5	.919	.965		
Fisher's Exact Test	1.700			.905		
Linear-by-Linear Association	.097(b)	1	.755	.777	.434	.108
N of Valid Cases	415					

a 6 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .16.
b The standardized statistic is .312.

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมกับรอบการให้นม

1. ที่ 7 ก่อนพักรีด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
imi7ch * lactation number	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

imi7ch * lactation number Crosstabulation

Count

	lactation number								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	
IMI negative	78	86	23	44	43	10	17	6	307
IMI positive	35	23	8	11	13	10	6	2	108
Total	113	109	31	55	56	20	23	8	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	10.054(a)	7	.186	.184		
Likelihood Ratio	9.383	7	.226	.254		
Fisher's Exact Test	9.521			.207		
Linear-by-Linear Association	.010(b)	1	.920	.932	.469	.023
N of Valid Cases	415					

a 1 cells (6.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.08.
b The standardized statistic is .100.

2. ในวันพักรีด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
imiofch * lactation number	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

imiofch * lactation number Crosstabulation

Count

	lactation number								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	
imi negative	79	81	22	41	37	9	15	5	289
imi positive	34	28	9	14	19	11	8	3	126
Total	113	109	31	55	56	20	23	8	415

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	8.267(a)	7	.310	.311		
Likelihood Ratio	7.775	7	.353	.379		
Fisher's Exact Test	8.095			.319		
Linear-by-Linear Association	2.452(b)	1	.117	.120	.063	.006
N of Valid Cases	415					

a 1 cells (6.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.43.
b The standardized statistic is 1.566.

3. ในช่วง 1 – 7 วันก่อนคลอด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
IMICLAVC * lactation number	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

IMICLAVC * lactation number Crosstabulation

Count

	lactation number								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	
IMI negative	110	107	31	54	54	19	23	6	404
IMI positive	3	2	0	1	2	1	0	2	11
Total	113	109	31	55	56	20	23	8	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	17.997(a)	7	.012	.028		
Likelihood Ratio	9.735	7	.204	.224		
Fisher's Exact Test	9.580			.111		
Linear-by-Linear Association	2.137(b)	1	.144	.160	.089	.021
N of Valid Cases	415					

a 8 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .21.

b The standardized statistic is 1.462.

ภาคผนวก จ

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมกับผลตรวจซีเอ็มที

1. ที่ 7 วันก่อนพักรีด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
imi7ch * cmt7ch	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

imi7ch * cmt7ch Crosstabulation

Count

		cmt7ch		
		negative	positive	Total
imi7ch	IMI negative	155	152	307
	IMI positive	19	89	108
Total		174	241	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	35.508(b)	1	.000		
Continuity Correction(a)	34.170	1	.000		
Likelihood Ratio	38.410	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	35.423	1	.000		
N of Valid Cases	415				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 45.28.

2. ในวันพักรีด

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
imiofch * cmtofch	415	100.0%	0	.0%	415	100.0%

imiofch * cmtofch Crosstabulation

Count

		cmtofch		
		negative	positive	Total
imiofch	imi negative	129	160	289
	imi positive	26	100	126
Total		155	260	415

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	21.602(b)	1	.000		
Continuity Correction(a)	20.589	1	.000		
Likelihood Ratio	22.860	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	21.550	1	.000		
N of Valid Cases	415				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 47.06.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายปิยะณัฐ ประสมศรี เกิดเมื่อวันที่ 24 ธันวาคม พ.ศ. 2523 ที่อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี จบการศึกษาระดับปริญญาตรีจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2547 ผู้เขียนมีความสนใจด้านโคนม หลังจบการศึกษาจึงเข้าทำงานเป็นพนักงานมหาวิทยาลัย ตำแหน่งนายสัตวแพทย์ ปฏิบัติหน้าที่ที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ จังหวัดนครปฐม มีหน้าที่หลักในการดูแลรักษาโคนมและให้คำแนะนำแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมด้านการป้องกันและควบคุมโรคและการเพิ่มผลผลิต จากนั้นในปี พ.ศ. 2549 ได้เข้าทำงานเป็นพนักงานมหาวิทยาลัย ตำแหน่งอาจารย์ ประจำภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาอายุรศาสตร์สัตวแพทย์ ที่ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2552