จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รายงานผลงานวิจัย
ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2538

การแก้ไขปัญหาการผสมซ้ำในโคนม โดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยสารน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ

(Uterine flushing therapy in repeat breeder dairy cows using normal saline and antibiotic solution.)

โดย

ปราจีน วีรกุล
สันติ ประสิทธิ์ผล
จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร

วพ
สพ 15
009453

มิถุนายน 2540

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วท
ส-02-18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รายงานผลงานวิจัย
ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2538

การแก้ไขปัญหาการผสมซ้ำในโคนมโดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ

(Uterine flushing therapy in repeat breeder dairy cows using normal saline and antibiotic solution)

โดย

ปราจีน วีรกุล
สันติ ประสิทธิ์ผล
จุฬา สิงห์ลอ
จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร

มิถุนายน 2540

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

23 ธ.ค. 2541
I19949650

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ..... i

Abstract..... ii

สารบัญตาราง..... iii

สารบัญภาพ..... iv

กิตติกรรมประกาศ..... v

1. บทนำ..... 1

2. วิธีการวิจัย..... 3

3. ผลการวิจัยและการวิเคราะห์ข้อมูล..... 12

4. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 24

5. เอกสารอ้างอิง..... 28

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ : การแก้ไขปัญหาการผสมซ้ำในโคนม โดยวิธีชะล้างมดลูก ด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ

ผู้วิจัย : ปราจีน วีรกุล สันติ ประสิทธิ์ผล จุฬา สิงห์ลอ จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร

เดือนและปีที่วิจัยเสร็จ มิถุนายน 2540

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์ เพื่อศึกษาวิธีการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ และผลต่ออัตราการผสมติดหลังการรักษาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (การทดลองที่ 1 ฟาร์มโคนมรายย่อย) โคนมผสมซ้ำที่ได้รับการรักษาโดยวิธีนี้ สามารถติดตั้งท้องภายหลังการผสมเทียมแล้ว 3 ครั้งมากกว่ากลุ่มเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กล่าวคือ โคกลุ่มรักษา จำนวน 39 ตัว ตั้งท้อง 22 ตัว (56.4%) และโคกลุ่มควบคุม จำนวน 39 ตัว ตั้งท้อง 12 ตัว (30.8%) ผลการทดลองแก้ไขการผสมซ้ำในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ (การทดลองที่2) ให้ผลการรักษาได้ดีไม่แตกต่างเช่นกัน โคนม 12 ใน 19 ตัว (63.2%) พบตั้งท้องภายหลังได้รับการผสมเทียม3 ครั้งหลังการรักษา

ผลเพาะเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ พบเชื้อแบคทีเรียจำนวนทั้งสิ้น 77 เสตรน ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non-pathogenic organisms) และพบว่ายาปฏิชีวนะที่เชื้อแบคทีเรียไวต่อการทดสอบดี ได้แก่ Oxytetracycline, Gentamicin, Neomycin, ส่วนยาปฏิชีวนะที่เชื้อไวต่อการทดสอบไม่ดี ได้แก่ Tetracycline, Penicillin, Colistin sulfate และ Streptomycin

การวิจัยครั้งนี้แสดงว่าวิธีการรักษาโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำโดยวิธีการชะล้างมดลูก ด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ สามารถแก้ไขให้โคนั้นสามารถติดตั้งท้องได้ดีภายหลังที่ได้รับการผสมเทียม และเหมาะสมในการปฏิบัติภาคสนาม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำสำคัญ : **โคนม / ปัญหาการผสมซ้ำ / การชะล้างมดลูก**

Project title: **Uterine flushing therapy in repeat breeder dairy cows using normal saline and antibiotic solution.**

Name of investigators: Prachin Virakul , Santi Prasithiphol , Chula Singlor and Junpen Suwimoltheerabutr

Year: June 1997

ABSTRACT

This study was conducted to demonstrate the outcome in term of pregnancy rate in repeat breeding cows after treatment with normal saline combined with antibiotic by uterine flushing technique (trial #1, small farm holders). Twenty two out of 39 (56.4%) treated repeat breeding cows became pregnant within three artificial inseminations. Whereas 12 out of 39 (30.8%) non-treated cows (control) became pregnant within three artificial inseminations. The pregnancy rate in treated cows was statistically higher than the control ones ($P<0.05$). Similar finding on pregnancy rate was also observed in a large dairy farm (trial #2). Twelve out of 19 repeat breeding cows (63.2%) became pregnant within 3 inseminations after the treatment.

Seventy seven, non-pathogenic bacterial strains were isolated from uterine content of all experimented cows. Most of them were sensitive to oxytetracycline, gentamicin and neomycin. However, low sensitivity test were also observed with tetracycline, penicillin, colistin sulfate and streptomycin. These findings indicate the benefit in term of pregnancy rate by using normal saline combine with antibiotic for uterine flushing in repeat breeding cows.

KEY WORDS : DAIRY COW / REPEAT BREEDER / UTERINE FLUSHING

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงอำเภอและจำนวนโคที่มีปัญหาผสมซ้ำที่ใช้ในการศึกษา(การทดลองระยะที่ 1 และ 2)..... 13
2. แสดงจำนวนครั้งที่ให้ลูกและผสมเทียมก่อนการทดลอง ในโคกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม (การทดลองระยะที่ 1 และ 2)..... 13
3. เปรียบเทียบผลการตั้งท้องในโคผสมซ้ำ ภายหลังการผสมเทียม 3 ครั้ง ระหว่างกลุ่มรักษาและควบคุม (การทดลองระยะที่ 1 และ 2)..... 14
4. ผลการตั้งท้อง จากการผสมเทียม 3 ครั้ง (การทดลองระยะที่ 1 และ 2) ในโคกลุ่มรักษาและควบคุมจำนวน 34 ตัว..... 14
5. ผลการตั้งท้อง ภายหลังผสมเทียม 3 ครั้ง ในแม่โค 34 ตัว แบ่งแยกตามจำนวนครั้งที่ผสมเทียมในโคกลุ่มรักษาและควบคุม (การทดลองระยะที่ 1และ2)..... 14
6. แสดงจำนวนและร้อยละของชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มรักษา จำนวน 19 ตัว ก่อนการชะล้างมดลูก (การทดลองระยะที่1)..... 16
7. แสดงจำนวนและร้อยละของชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มรักษา ก่อนและหลังการรักษา จำนวน 20 ตัว (การทดลองระยะที่2)..... 16
8. แสดงจำนวนและร้อยละของชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มควบคุม จำนวน 20 ตัว (การทดลองระยะที่2) 18
9. แสดงชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม จำนวน 20 ตัว (ก่อนทำการผสมเทียมครั้งที่ 1) โดยเปรียบเทียบการตั้งท้อง (การทดลองระยะที่ 2)..... 18
10. ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรีย ในโคที่ตั้งท้อง จำนวน 17 ตัว (กลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม) และจำนวนครั้งผสมเทียมต่อการตั้งท้อง (การทดลองระยะที่ 2)..... 19
11. ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างที่เก็บจากมดลูกโค 77 เสตรน ต่อยาปฏิชีวนะทดสอบ 14 ชนิด..... 21
12. แสดงจำนวนและประวัติโคที่ทำการทดลองก่อนรักษาและผลการตรวจการตั้งท้องภายหลังทำการแก้ไขโดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ..... 23
13. ผลการตรวจท้องโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำที่ผ่านการรักษาโดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะที่อุ้มท้องจำนวน 12 ตัว 23

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. ชุดชะล้างมดลูกโค..... 4
2. การใช้ชุดชะล้างมดลูกโค แสดงวิธีต่อ Foley catheter เมื่ออัดลม ส่วน balloon (ศรชี้) ต่อกับท่อยาง Silicone 4
3. ส่วนประกอบของชุดเครื่องมือเก็บตัวอย่างมดลูกโค..... 6
4. การเก็บตัวอย่างจากมดลูกโคเพื่อส่งเพาะเชื้อแบคทีเรียและทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ..... 6

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขหมู่ จฬ
สพ 15
เลขทะเบียน 009453
วัน,เดือน,ปี ๘ ๓.ค. ๔๑

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ของสำนักงานปศุสัตว์ จังหวัดสุพรรณบุรี ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงานในพื้นที่ภาคสนาม อุดม-อดุลย์แดรี่ฟาร์ม อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี และเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมจังหวัดสุพรรณบุรี ที่ให้ความร่วมมือและความสะดวกในการวิจัย

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนวิจัยด้วยงบประมาณแผ่นดินปีงบประมาณ 2538 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

อาชีพการเลี้ยงโคนมของเกษตรกร ได้รับการส่งเสริมและสนับสนุนจากรัฐบาลอย่างต่อเนื่อง ทำให้มีเกษตรกรจำนวนมากหันมาเลี้ยงโคนมเป็นอาชีพหลัก เพราะสามารถขายน้ำนมดิบได้ราคาดี และปริมาณน้ำนมดิบภายในประเทศไม่เพียงพอกับความต้องการภายในประเทศ แต่อย่างไรก็ตาม เกษตรกรที่เลี้ยงโคนมมักประสบปัญหาที่ก่อให้เกิดความสูญเสีย คือ การผสมติดยาก คุณภาพอาหารที่ไม่ได้มาตรฐานตามความต้องการของโค ตลอดจนการจัดการและป้องกันโรค (พีระศักดิ์ จันทรประทีป, 2535) ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการแนะนำดูแลจากเจ้าหน้าที่ของ รัฐอย่างใกล้ชิด รวมทั้งจะต้องมีการประเมินประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมของเกษตรกรด้วย โดยพิจารณาได้จากวันท้องว่างเฉลี่ยของแม่โคในฝูง ฟาร์มโคนมที่มีประสิทธิภาพการผลิตที่ดี แม่โคควรมีวันท้องว่าง 100-120 วัน ในประเทศไทยแม่โคนมมีวันท้องว่าง ประมาณ 194 วัน (Chantaraprateep *et al.* 1990) ซึ่งถ้าวันท้องว่างของแม่โคนมยิ่งมาก จะก่อให้เกิดความสูญเสียกับเกษตรกร เพราะเกษตรกรต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงแม่โคนมที่ไม่ได้ให้ผลผลิต และขาดรายได้จากการขายน้ำนมดิบที่ควรจะได้จากแม่โคนั้น สาเหตุที่ทำให้แม่โคมีวันท้องว่างนานขึ้น เนื่องมาจากปัญหาผสมติดยากหรือปัญหาผสมซ้ำ

จังหวัดสุพรรณบุรี เป็นจังหวัดหนึ่งที่มีการส่งเสริมให้ชาวนาเปลี่ยนอาชีพมาเลี้ยงโคนม ตามโครงการส่งเสริมการเลี้ยงโคนม พ.ศ. 2535-37, และโครงการแผนปรับโครงสร้างและระบบการผลิตการเกษตร พ.ศ. 2537-39 (กิจกรรมส่งเสริมการเลี้ยงโคนม) ทั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นและพัฒนาการเลี้ยงโคนมให้เป็นอาชีพหลักต่อไป ปัจจุบันมีเกษตรกรเลี้ยงทั้งสิ้น 271 ราย มีโคนมจำนวน 2,145 ตัว เป้าหมายเมื่อสิ้นสุดโครงการปี 2539 จะมีเกษตรกรรวม 370 ราย จำนวนโคนมเพิ่มเป็น 3,050 ตัว โดยเกษตรกรเริ่มต้นเลี้ยงแม่โคสาวตั้งท้อง รายละ 5 ตัว ได้รับเงินกู้จากธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์ อัตราดอกเบี้ยต่ำ, ไม่ต้องชำระเงินต้นและดอกเบี้ยในระยะเริ่มต้นของโครงการ และได้รับสนับสนุนปัจจัยการผลิต ได้แก่ อาหารโคนมและอาหารแร่ธาตุ แต่อย่างไรก็ตาม ในการติดตามการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ผสมเทียม พบว่าเกษตรกรที่เลี้ยงโคนมมักจะประสบปัญหาผสมซ้ำ รายละ 2-4 ตัว มีโคผสมซ้ำ ประมาณ 30% (600 ตัว) โคบางตัวมีการผสมมากกว่า 10 ครั้ง ยังไม่ตั้งท้อง ก่อให้เกิดความสูญเสียต่อเกษตรกรซึ่งกู้เงินมาเลี้ยง ซึ่งต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายเลี้ยงดูโคซึ่งไม่มีนมให้รีด จำเป็นต้องได้รับความช่วยเหลือโดยเร่งด่วน

การศึกษาปัญหาการผสมซ้ำในโคนมครั้งนี้ ผู้วิจัยดำเนินงานที่จังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งเป็นฟาร์มโคนมรายย่อยซึ่งมีสภาพการจัดการแตกต่างกัน (การทดลองที่1) และ ทำการแก้ไขปัญหาในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ ที่มีสภาพการจัดการและการให้อาหารเหมือนกัน (การทดลองที่ 2) โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อนำข้อมูลไปช่วยในการแก้ไขโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำให้ผสมติดตั้งท้อง

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีการและผลของการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ ต่ออัตราการผสมติดหลังการรักษา เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (การทดลองที่ 1) และการปฏิบัติแก้ไขในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ (การทดลองที่ 2)
2. เพื่อนำข้อมูลไปช่วยในการแก้ไขโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำให้ผสมติดตั้งท้อง

สมมุติฐานในการวิจัย

อัตราการผสมติดของโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ ภายหลังการรักษาโดยวิธีการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ จะสูงกว่าอัตราการผสมติดของโคนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำที่ไม่ ได้ทำการรักษา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลการรักษาโดยเพิ่มอัตราการผสมติดตั้งท้อง ในโคนมที่มีปัญหาผสมติดยาก
2. ใช้เทคนิคและผลการวิจัยในการฝึกอบรมนักวิชาการ เพื่อนำไปแก้ไขโคนมที่มีปัญหาผสมติดยาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1 ฟาร์มโคนมรายย่อย

1. **ประชากรและตัวอย่าง** (Population and sample)

1.1 โคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ เลือกจากฟาร์มเกษตรกร ในอำเภอต่าง ๆ 7 อำเภอ ของจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 78 ตัว ดังนี้

1.1.1 อำเภอเมือง	4	ตัว
1.1.2 อำเภอเดิมบางนางบวช	4	ตัว
1.1.3 อำเภอบางปลาม้า	6	ตัว
1.1.4 อำเภอศรีประจันต์	26	ตัว
1.1.5 อำเภอดอนเจดีย์	10	ตัว
1.1.6 อำเภออู่ทอง	16	ตัว
1.1.7 อำเภอหนองหญ้าไซ	12	ตัว
รวม	78	ตัว

2. **เกณฑ์การเลือกตัวอย่าง** (Inclusion criteria)

2.1 เลือกโคนมที่มีประวัติการผสมหลังคลอดมากกว่า 3 ครั้ง แล้วยังไม่ตั้งท้อง โดยพิจารณาจากรายละเอียดในใบสมัครโครงการแก้ไขปัญหาโคนมที่มีปัญหาการผสมติดยาก

2.2 โคที่ทำการศึกษา มีอายุระหว่าง 2-7 ปี เท่านั้น

2.3 ต้องเป็นโคที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง และได้รับการตรวจโลหิตทางห้องปฏิบัติการว่าไม่เป็นโรคแท้งติดต่อ (Brucellosis)

2.4 ต้องเป็นโคนมที่มีรังไข่ ลักษณะรูปทรงปกติทั้ง 2 ข้าง โดยการตรวจด้วยวิธีล้วงคลำผ่านทางช่องทวารหนัก (Rectal palpation)

3 **ระยะเวลาในการศึกษา**

ระยะที่ 1 เดือนตุลาคม 2537 - เดือนเมษายน 2538

ระยะที่ 2 เดือนตุลาคม 2539 - เดือนเมษายน 2540

ภาพที่ 1 ชุดชะล้างมดลูกโค

ภาพที่ 2 การใช้ชุดชะล้างมดลูกโค แสดงวิธีต่อ Foley catheter เมื่อถอดลมส่วน balloon (ศรชี้) ต่อกับท่อยาง Silicone

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. วิธีการศึกษา

4.1 จับคู่โค

แยกเป็นโคนมกลุ่มรักษา และกลุ่มควบคุมกลุ่มละ 39 ตัว โดยเลือกโคที่มีประวัติการผสมหลังคลอดมากกว่า 3 ครั้งแล้วยังไม่ตั้งท้อง ในทุกๆ ฟาร์มที่จะทำการศึกษา ต่อจากนั้นใช้วิธีจับฉลากว่าโคนมตัวใดจะได้อยู่ในกลุ่มรักษา หรือกลุ่มควบคุม โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้

4.1.1 แยกจับฉลากเป็นแต่ละอำเภอ รวม 7 อำเภอ

4.1.2 ในฟาร์มที่มีโคนมที่จะทำการศึกษาเป็นเลขจำนวนคู่ จะทำการจับฉลากภายในฟาร์มนั้น ได้กลุ่มรักษา และกลุ่มกลุ่มควบคุม จำนวนเท่าๆ กัน

4.1.3 ในฟาร์มที่มีโคนมที่จะทำการศึกษาเป็นเลขจำนวนคี่ และมีจำนวน มากกว่า 1 ตัว จะทำการจับฉลากในฟาร์มนั้นก่อน ได้กลุ่มรักษา และกลุ่มควบคุม จำนวนเท่าๆ กัน และได้โคที่จะทำการศึกษาเหลืออีก 1 ตัว ซึ่งจะนำไปจับฉลากรวมกับฟาร์มที่มีโคที่จะทำการศึกษาเพียง 1 ตัว ต่อไป

4.1.4 ในฟาร์มที่มีโคนมที่จะทำการศึกษา เพียง 1 ตัว จะนำมาจับฉลากรวมกันได้เป็นกลุ่มรักษา และกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกัน

4.2 โคนมกลุ่มรักษา

4.2.1 ทำการเก็บตัวอย่างจากมดลูกด้วย uterine swab ก่อนทำการรักษา และนำตัวอย่างที่ได้ส่งห้องปฏิบัติการ เพื่อเพาะหาเชื้อแบคทีเรีย ชนิดที่ต้องการอ๊อกซิเจนในการเจริญเติบโต และทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ (สาโรช งามขำ, 2537)

4.2.2 ชุดอุปกรณ์ใช้สำหรับชะล้างมดลูกโค แสดงไว้ในภาพที่ 1 ประกอบด้วยสายยางซิลิโคน (Dura®) 2 เส้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 10 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 7 มิลลิเมตร, ยาว 1.0 และ 1.10 เมตร ตามลำดับ ต่อด้วย Y-connector ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร, Foley catheter NO 18, ชุดขยายคอมดลูกมด (cervical dilator), K-Y jelly 1 หลอด, กระบอกฉีดยาทำด้วยพลาสติก ขนาด 20 มล. 1 อันสำหรับอัดลมในท่อ Foley catheter, และ forceps 3 อันสำหรับหนีบท่อสายยางซิลิโคน ชะล้างมดลูกโคด้วยน้ำเกลือ 0.9 % (NaCl 0.9 %) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 1 ลิตร ผสมด้วยยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline Hydrochloride (ชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน 20 %) ปริมาตร 5 มล. (1 กรัม) โดยวิธีสอดท่อ Foley catheter # 18 ผ่านคอมดลูก (cervix) โดยที่ให้ Balloon (ภาพที่ 2) อยู่ที่บริเวณ internal os ของคอมดลูก เพื่อทำการชะล้างพร้อมกันทีเดียวทั้งสองปีกมดลูก (ภาพที่ 5)

4.2.3 เหนี่ยวนำให้เป็นสัด ด้วยโปรสต้าแกลนดิน เอฟ ทู อัล ฟา (Lutalyse®) 25 มิลลิกรัม โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ในระยะที่รังไข่คลำพบก้อนเหลือง (corpus luteum)

4.2.4 ทำการเก็บตัวอย่างจากมดลูกด้วย uterine swab ก่อนทำการผสมเทียม และนำตัวอย่างที่ได้ส่งห้องปฏิบัติการ เพื่อเพาะหาเชื้อแบคทีเรีย ชนิดที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต และทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

ภาพที่ 3 ส่วนประกอบของชุดเครื่องมือเก็บตัวอย่างมดลูกโค

ภาพที่ 4 การเก็บตัวอย่างจากมดลูกแม่โค เพื่อส่งเพาะเชื้อแบคทีเรียและทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

4.2.5 ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อโคแช่แข็ง ผลิตจากพ่อโคตัวเดียวกัน และใช้เจ้าหน้าที่ผสมเทียมคนเดียวกัน ในแต่ละคู่ (pair) ชั่วโมงที่ 72 และ 96 หลังฉีดฮอร์โมนโปรสต้าแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา น้ำเชื้อโคแช่แข็งที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ผลิตจากพ่อโคพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนพันธุ์แท้ บรรจุในหลอดขนาด 0.5 มล. การละลายน้ำเชื้อ ละลายในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 35° ซ นาน 30 วินาที น้ำเชื้อที่ละลายแล้วมี motility rate ไม่ต่ำกว่า 70%

4.2.6 ตรวจท้องแม่โคนม ที่ไม่แสดงอาการกลับสัด หลังผสมเทียม 60 วัน โดยวิธีล้วงคลำผ่านทางทวารหนัก (rectal palpation) ในกรณีที่แม่โคแสดงอาการกลับเป็นสัดตั้งแต่ผสมเทียมครั้งแรก จะทำการผสมเทียมครั้งต่อไป ในทุกรอบที่แม่โคแสดงอาการกลับสัดอีก อย่างน้อย 2 ครั้ง ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อโคตัวเดิม และใช้เจ้าหน้าผสมเทียมคนเดิม

4.3 โคนมกลุ่มควบคุม

4.3.1 เหนี่ยวนำให้เป็นสัด ด้วยโปรสต้าแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา (Lutalyse®) 25 มิลลิกรัม โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ในระยะที่รังไข่คลำพบก้อนเหลือง

4.3.2 ทำการเก็บตัวอย่างจากมดลูกด้วย Uterine swab ก่อนทำการผสมเทียม (การทดลองที่ 2) และนำตัวอย่างที่ได้ส่งห้องปฏิบัติการ ต่อจากนั้นดำเนินการเช่นเดียวกับ 4.2.4, 4.2.5 และ 4.2.6 ในโคกลุ่มรักษา

4.4 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างมดลูกเพื่อทำการเพาะเชื้อ (ภาพที่ 3)

4.4.1 เครื่องมือเก็บตัวอย่างจากมดลูกเพื่อทำการเพาะเชื้อ ทำด้วยท่อเหล็กปลอดสนิม ขนาดความยาว 41.5 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. ปลายด้านหนึ่งปิดตันและโค้งมน จากปลายด้านนี้ประมาณ 1.5 ซม. เจาะเป็นช่องขนาด 1.5 x 0.5 ซม. ปลายอีกด้านหนึ่งเจาะเป็นรูเล็ก ๆ ด้านเดียวกับด้านที่เจาะช่อง เพื่อเป็นจุดสังเกตขณะเก็บตัวอย่าง

4.4.2 ท่อพลาสติกสำหรับการผสมเทียม (Plastic breeding sheath) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. ปลายด้านหนึ่งเจาะเป็นช่องขนาด 1.5 x 0.5 ซม. เช่นเดียวกับท่อเหล็กปลอดสนิม และปลายอีกด้านทำเครื่องหมายเพื่อเป็นจุดสังเกตขณะเก็บตัวอย่างเช่นกัน

4.4.3 ไม้พันสำลี (cotton swab) ใช้สำลีชนิดสำเร็จรูป ก้านทำด้วยพลาสติกยาว 7 ซม. ปลายด้านหนึ่งพันด้วยสำสีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 ซม. ซึ่งสอดอยู่ในท่อพลาสติกสำหรับการผสมเทียม และมีผิวด้านหนึ่งโผล่ตรงช่องที่เจาะได้

4.4.4 ซองพลาสติก (sanitary sheath) ของบริษัทของ IMV ประเทศฝรั่งเศส ใช้สำหรับสวมเครื่องมือทั้งหมด ขณะสอดผ่านช่องคลอด ก่อนเข้าสู่คอมดลูก เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียจากช่องคลอด

4.4.5 หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ (transport media) ใช้ Thioglycolate broth และ Transport media (Difco) เพื่อเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างนำส่งห้องปฏิบัติการ

4.4.6 กระติกน้ำแข็ง เพื่อใช้ใส่หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เก็บตัวอย่างส่งตรวจห้องปฏิบัติการ

4.5 วิธีการเก็บตัวอย่าง

4.5.1 ทำความสะอาดบริเวณรอบ ๆ อวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก ด้วยน้ำและน้ำผสมน้ำยาฆ่าเชื้อ (Savlon®) และเช็ดให้แห้งด้วยกระดาษฟาง

4.5.2 เตรียมเครื่องมือที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ท่อเหล็กปลอดสนิม) ด้วยวิธี Sterilization อุณหภูมิ 121 ° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตร. ซม. นาน 20 นาที ส่วนท่อพลาสติกสำหรับผสมเทียม (4.4.2) และก้านสำลี (4.4.3.) ฆ่าเชื้อด้วยแสงอุลตร้าไวโอเล็ต

4.5.3 การเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการปลอดเชื้อ และใช้เทคนิคเช่นเดียวกับการผสมเทียม (ภาพที่ 4) กล่าวคือมือข้างหนึ่งจะล้วงผ่านทวารหนักเพื่อจับคอมดลูก และมืออีกข้างหนึ่งจับเครื่องมือสอดผ่านเข้าปากช่องคลอด และการเตรียมเครื่องมือก่อนการเก็บตัวอย่างให้ช่องที่เจาะที่ท่อเหล็กปลอดสนิมและช่องที่เจาะที่ท่อพลาสติกอยู่ตรงข้ามกัน ดังนั้นผิวด้านหน้าของก้อนสำลีจะไม่สัมผัสกับภายนอก เครื่องมือจะสวมด้วยซองพลาสติกเมื่อสอดผ่านช่องคลอด ซองพลาสติกจะช่วยป้องกันไม่ให้เครื่องมือปนเปื้อนจากช่องคลอดได้เมื่อถึงคอมดลูกด้านนอก (external cervical os) ดันเครื่องมือให้ทะลุผ่านซองพลาสติกผ่านเข้าคอมดลูก จนถึงตัวมดลูก แต่เมื่อสอดเครื่องมือผ่านถึงส่วนของตัวมดลูกแล้ว จะหมุนท่อพลาสติกจากปลายด้านนอกที่ทำเครื่องหมายไว้ให้ตรงกับช่องที่เจาะที่ท่อเหล็กปลอดสนิม ดังนั้นช่องที่เจาะของท่อเหล็กปลอดสนิมกับช่องที่เจาะของท่อพลาสติกก็จะตรงกัน ผิวด้านนอกของก้อนสำลีก็จะสัมผัสกับผนังด้านในของมดลูก ใช้มือที่ล้วงคลำผ่านทางทวารหนักจับตัวมดลูกให้สัมผัสกับเครื่องมือประมาณ 1 นาที จากนั้นหมุนปลายด้านนอกของท่อพลาสติก ให้ตรงที่ทำเครื่องหมายอยู่ตรงข้าม กับรูที่เจาะที่ท่อเหล็กปลอดสนิม ก็จะทำให้ช่องที่เจาะของท่อเหล็กปลอดสนิมและช่องที่เจาะท่อพลาสติกอยู่ตรงข้ามกัน เวลาดึงเครื่องมือออกจากช่องคลอดโค ก้านสำลีก็จะไม่สัมผัสอวัยวะส่วนอื่น

4.5.4 ดึงท่อเหล็กปลอดสนิม ออกจากท่อพลาสติกผสมเทียม และใช้กรรไกรตัดท่อพลาสติก เพื่อดึงก้านสำลีออกมา เก็บในหลอดเก็บเชื้อ Thioglycolate broth และ Transport media นำหลอดเก็บเชื้อทั้ง 2 หลอด แช่ในกระติกบรรจุน้ำแข็ง และนำไปเก็บในตู้เย็น อุณหภูมิ ประมาณ 2-8 ° ซ นำตัวอย่างที่เก็บไว้แล้ว ส่งห้องปฏิบัติการ ภายใน 24 ชั่วโมง เพื่อเพาะหาเชื้อแบคทีเรียชนิดต้องการอ๊อกซิเจนในการเจริญเติบโต และหาอัตราความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะต่อไป

4.6 การเพาะเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

4.6.1 การเพาะเชื้อ

ก้านสำลีเก็บตัวอย่าง (swab)

↓

Primary Isolation: เกลี่ย (streak) บนอาหารเลี้ยงเชื้อวุ้นผสมเลือด (blood agar) และอาหารแมคคองกี้ส์ (Mac Conkeys) (อบเพาะที่ 37 ° ซ. 18-24 ชม.)

↓

Purification: ศึกษาลักษณะของหมวดหมู่แบคทีเรียที่พบบนอาหาร คัดเอาหมวดหมู่ที่พบว่ามีปริมาณมากที่สุดและรองลงมาถ่ายลงบนอาหารวุ้นผสมเลือด (อบเพาะที่ 37 ° ซ. 18-24 ชม.)

↓

Stock Culture: เขี่ยเชื้อที่บริสุทธิ์และเพาะลงบน blood agar slant (อบเพาะที่ 37 ° ซ. 18-24 ชม.)

↓

Primary test: เชื้อทั้งหมดที่เก็บไว้นำไปเพาะใหม่บนอาหารวุ้นผสมเลือด (อบเพาะที่ 37 ° ซ. 18-24 ชม.) ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีตามวิธีของ Cowan และ Steel (1974)

↓

Secondary test: โดยวิธีข้างต้นจะทราบว่าแบคทีเรียเพาะได้จัดอยู่ในตระกูล (Genus) อะไร แล้วทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป เพื่อจำแนกสายพันธุ์ (Species) ตามวิธีของ Cowan และ Steel (1974)

Antibiotic Sensitivity Test

(ทำตามวิธีของ Kirby and Bauer, 1966)

นำเชื้อแยกบริสุทธิ์ 1-2 โคโลนี

↓

ใส่ใน Tryptic soy broth

↓ เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ° ซ นาน 2-3 ชม.

ใช้ sterile cotton swab จุ่มเชื้อเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าของ Muerller - Hinton agar plate

↓

วางกระดาษยาปฏิชีวนะ (sensitivity disc)

↓ เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 12-18 ชม.

อ่านผลโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนใส (Inhibition zone) รอบกระดาษยา จดบันทึกแล้วนำไปเทียบกับตารางมาตรฐาน

Standard Sensitivity discs ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่

1.	Ampicillin	10	mcg
2.	Bacitracin	10	mcg
3.	Colistin	10	mcg
4.	Erytrhomycin	15	mcg
5.	Gentamicin	10	mcg
6.	Kanamycin	30	mcg
7.	Neomycin	30	mcg
8.	Nitrofuratoin	300	mcg
9.	Oxytetracycline	30	mcg
10.	Penicillin	10	mcg
11.	Polymyxin - B	300	mcg
12.	Streptomycin	10	mcg
13.	Sulfamethoxazole - Trimethoprim	125	mcg
14.	Tetracycline	30	mcg

1-13 เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปของ Oxoid (Unipath Limited Company, England)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด เสตรน ทดสอบการตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด การอ่านผลเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด การอ่านผลเชื้อแบคทีเรียที่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ คือวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนใสรอบกระดาษยาอยู่ในระยะ susceptible เชื้อแบคทีเรียที่ไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ คือ วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนใสรอบกระดาษยาในระยะ resistant และ intermediate รวบรวมผลการตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียแต่ละชนิด ต่อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดแสดงผลเป็นร้อยละ

5. การรักษา

ดูระยะเวลาหลังการรักษาถึงผสมติดในโคนมกลุ่มรักษาและโคนมกลุ่มควบคุม คิดเป็นอัตราการผสมติด (%) ภายใน 60 วัน หลังการรักษา

6. วิเคราะห์ผลการทดลอง

โดยเปรียบเทียบอัตราการผสมติด 60 วัน หลังการรักษา ในโคนมกลุ่มรักษา และโคนมกลุ่มควบคุม โดยใช้ Chi-Square test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1 รายละเอียดประวัติโคกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม

การดำเนินงานวิจัยระยะที่ 1 (ต.ค. 2537 - เม.ย. 2538) ศึกษาในโคนมของเกษตรกร สายพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน และซาฮีวาล ฟรีเชี่ยน จำนวน 38 ตัว แบ่งเป็นโคกลุ่มรักษา 19 ตัว โคกลุ่มควบคุม 19 ตัว จำนวนครั้งที่ให้ลูกและจำนวนครั้งที่ผสมเทียม เมื่อวิเคราะห์พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม กล่าวคือ โคกลุ่มรักษามีประวัติการผสมเทียมตั้งแต่ 3-13 ครั้ง (เฉลี่ย 6.78 ± 2.38 ครั้ง) มีประวัติให้ลูกมาแล้ว 1-5 ตัว (เฉลี่ย 1.58 ± 1.07 ตัว) โคกลุ่มควบคุมมีประวัติการผสมเทียมตั้งแต่ 4-20 ครั้ง (เฉลี่ย 6.89 ± 3.98 ครั้ง) มีประวัติการให้ลูกมาแล้ว 1-4 ตัว (เฉลี่ย 1.63 ± 0.96 ตัว) (ตารางที่ 2)

การดำเนินงานวิจัยระยะที่ 2 (ต.ค. 2539 - เม.ย. 2540) ศึกษาในโคนมของเกษตรกร สายพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน และซาฮีวาล ฟรีเชี่ยน จำนวน 40 ตัว แบ่งเป็นโคนมกลุ่มรักษา 20 ตัว โคกลุ่มควบคุม 20 ตัว จำนวนครั้งที่ให้ลูกและจำนวนครั้งที่ผสมเทียม เมื่อวิเคราะห์พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม กล่าวคือ โคกลุ่มรักษามีประวัติการผสมเทียมตั้งแต่ 3-10 ครั้ง (เฉลี่ย 5.30 ± 2.10 ครั้ง) มีประวัติการให้ลูกมาแล้ว 1-5 ตัว (เฉลี่ย 1.90 ± 0.97 ตัว) โคกลุ่มควบคุมมีประวัติการผสมเทียมตั้งแต่ 3-9 ครั้ง (เฉลี่ย 4.60 ± 1.73 ครั้ง) มีประวัติการให้ลูกมาแล้ว 1-4 ตัว (เฉลี่ย 1.95 ± 1.10 ตัว) (ตารางที่ 2)

2. ผลการผสมติดตั้งท้องภายหลังการรักษา

การรักษาโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ โดยวิธีการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ สามารถติดตั้งท้องภายหลังการผสมเทียม 3 ครั้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กล่าวคือ ในโคกลุ่มรักษา จำนวน 39 ตัว มีโคตั้งท้องภายหลังการผสมเทียมแล้ว 3 ครั้ง จำนวน 22 ตัว (56.41%) ไม่ตั้งท้อง จำนวน 17 ตัว (43.59%) และในโคกลุ่มควบคุม จำนวน 39 ตัว มีโคตั้งท้องภายหลังการผสมเทียมแล้ว 3 ครั้ง จำนวน 12 ตัว (30.77%) ไม่ตั้งท้อง จำนวน 27 ตัว (69.23%) (ตารางที่ 3)

โคที่ตั้งท้อง จำนวนทั้งสิ้น 34 ตัว เป็นโคกลุ่มรักษา จำนวน 22 ตัว (64.8%) และโคกลุ่มควบคุม จำนวน 12 ตัว (35.2%) และแยกเป็นการทดลองระยะที่ 1 มีโคกลุ่มรักษาตั้งท้อง จำนวน 11 ตัว (32.4%) โคกลุ่มควบคุมตั้งท้อง จำนวน 6 ตัว (17.6%) และการทดลองระยะที่ 2 มีโคกลุ่มรักษาตั้งท้อง จำนวน 11 ตัว (32.4%) โคกลุ่มควบคุมตั้งท้อง จำนวน 6 ตัว (17.6%) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 แสดงอำเภอและจำนวนโคที่มีปัญหาผสมซ้ำที่ใช้ศึกษา
(การทดลองระยะที่ 1 และ 2)

อำเภอที่ทดลอง	โคที่มีปัญหาผสมซ้ำที่ใช้ศึกษา (คู่)		
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 1+2
1. อ.เมือง	1	1	2
2. อ.เดิมบางนางบวช	1	1	2
3.อ.บางปลาม้า	0	3	3
4. อ.ศรีประจันต์	10	3	13
5. อ.ดอนเจดีย์	3	2	5
6. อ.อู่ทอง	4	4	8
7. อ.หนองหญ้าไซ	0	6	6
รวม	19	20	39

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนครั้งที่ให้ลูกและผสมเทียมก่อนการทดลอง ในโคกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม
(การทดลองระยะที่ 1 และ 2)

	กลุ่มรักษา		กลุ่มควบคุม	
การทดลองที่ 1	จำนวนครั้งที่ให้ลูก (ตัว)	จำนวนครั้งผสมเทียม (ครั้ง)	จำนวนครั้งที่ให้ลูก (ตัว)	จำนวนครั้งผสมเทียม (ครั้ง)
ค่าพิสัย	1 - 5	3 - 13	1 - 4	4 - 20
ค่าเฉลี่ย $\bar{X} \pm$ SD	1.58 ± 1.07^a	6.78 ± 2.38^b	1.63 ± 0.96^a	6.89 ± 3.98^b
การทดลองที่ 2				
ค่าพิสัย	1 - 5	3 - 10	1 - 4	3 - 9
ค่าเฉลี่ย $\bar{X} \pm$ SD	1.90 ± 0.97^a	5.30 ± 2.10^b	1.95 ± 1.10^a	4.60 ± 1.73^b

a ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

b ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลการตั้งท้องในโคนมผสมซ้ำ ภายหลังการผสมเทียม 3 ครั้ง ระหว่างกลุ่มรักษาและควบคุม (การทดลองระยะที่ 1 และ 2)

	ผลการรักษา		
	ตั้งท้อง (ตัว)	ไม่ตั้งท้อง (ตัว)	รวม
กลุ่มรักษา	22[a]	17	39
กลุ่มควบคุม	12[b]	27	39
รวม	34	44	78

a,b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลการตั้งท้อง จากการผสมเทียม 3 ครั้ง (การทดลองระยะที่ 1 และ 2) ในโคกลุ่มรักษาและควบคุม จำนวน 34 ตัว

	โคตั้งท้องจากการผสมเทียม 1-3 ครั้งหลังการรักษา (ตัว) N=34			
	โคกลุ่มรักษา (ตัว)	(ร้อยละ)	โคกลุ่มควบคุม (ตัว)	(ร้อยละ)
การทดลองที่ 1	11	(32.4)	6	(17.6)
การทดลองที่ 2	11	(32.4)	6	(17.6)
รวม	22	(64.8)	12	(34.2)

ตารางที่ 5 ผลการตั้งท้อง ภายหลังผสมเทียม 3 ครั้ง ในแม่โค 34 ตัว แบ่งแยกตามจำนวนครั้งที่ผสมเทียม ในโคกลุ่มรักษาและควบคุม (การทดลองระยะที่ 1 และ 2)

	โคตั้งท้อง (N=34)											
	โคนมกลุ่มรักษา (ตัว)						โคนมกลุ่มควบคุม (ตัว)					
	จำนวนครั้งการผสมเทียม						จำนวนครั้งการผสมเทียม					
	1	(ร้อยละ)	2	(ร้อยละ)	3	(ร้อยละ)	1	(ร้อยละ)	2	(ร้อยละ)	3	(ร้อยละ)
การทดลองที่ 1	5	(14.7)	3	(8.8)	3	(8.8)	3	(8.8)	3	(8.8)	0	(0)
การทดลองที่ 2	4	(11.8)	6	(17.6)	1	(2.9)	5	(14.7)	1	(2.9)	0	(0)
รวม	9	(26.5)	9	(26.5)*	4	(11.8)**	8	(23.5)	4	(11.8*)	0	(0)**

● , ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 5 แสดงผลรายละเอียดโคที่ตั้งท้องแบ่งแยกตามจำนวนครั้งที่ทำการผสมเทียม โคกลุ่มรักษาที่ตั้งท้อง จำนวน 22 ตัว (64.8%) แยกเป็นโคที่ได้รับการผสมเทียม 1 ครั้ง จำนวน 9 ตัว (26.5%) ได้รับการผสมเทียม 2 ครั้ง จำนวน 9 ตัว (26.5%) และได้รับการผสมเทียม 3 ครั้ง จำนวน 4 ตัว (11.8%) สำหรับโคกลุ่มควบคุมที่ตั้งท้อง จำนวน 12 ตัว (35.2%) เป็นโคที่ได้รับการผสมเทียม 1 ครั้ง จำนวน 8 ตัว (23.5%) ได้รับการผสมเทียม 2 ครั้ง จำนวน 4 ตัว (11.8%) และไม่มีโคตั้งท้องภายหลังการผสมเทียมครั้งที่ 3 จะเห็นได้ว่าภายหลังการผสมเทียม 3 ครั้งแล้ว มีแม่โคตั้งท้อง 34 ตัว ซึ่งพบว่า อัตราการตั้งท้องภายหลังผสมเทียมครั้งที่ 1 ในกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (9 ตัว 8 ตัว) แต่ในการผสมเทียมครั้งที่ 2 และ 3 พบว่า กลุ่มรักษามีอัตราการตั้งท้องสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด (13 ตัว VS 4 ตัว)

3. ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรีย

การทดลองระยะที่ 1

ผลการเก็บตัวอย่างจากมดลูกโค ในโคกลุ่มรักษา (เฉพาะก่อนการชะล้างมดลูก) จำนวน 19 ตัว พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 18 ตัว (94.7%) ไม่พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 1 ตัว (5.3%) พบเชื้อแบคทีเรีย 20 เสตรน ซึ่งมีโค 2 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด โค 16 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว ซึ่งแยกเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก 14 เสตรน ได้แก่ *Aerococcus viridans* 6 เสตรน (30.0%) *Micrococcus luteus* 4 สเตรน (20.0%) *Staphylococcus spp.* 2 เสตรน (10%) *Staphylococcus epidermidis* 1 สเตรน (5%), และ *Streptococcus spp.* 1 เสตรน (5%). แยกเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ 8 เสตรน ได้แก่ *Acinetobacter iwoffii* 3 สเตรน (15%) *E.coli* 1 สเตรน (5%) และ *Moraxella spp* 2 เสตรน (10%) (ตารางที่ 6)

การทดลองระยะที่ 2

ผลการเก็บตัวอย่างจากมดลูก ในโคกลุ่มรักษา (ก่อนทำการชะล้างมดลูก) จำนวน 20 ตัว พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 17 ตัว (85%) ไม่พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 3 ตัว (15%) พบเชื้อแบคทีเรีย 19 สเตรน ซึ่งมีโค 2 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด โค 15 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียว ซึ่งแยกเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก 13 เสตรน ได้แก่ *Bacillus spp.* 5 เสตรน (26.3%) *Staphylococcus epidermidis* 4 สเตรน (21.1%) *Corynebacterium spp.* 2 เสตรน (10.5%) *Aerococcus viridans* 1 เสตรน (5.3%) และ *Streptococcus spp.* 1 เสตรน (5.3%) แยกเป็นแบคทีเรียแกรมลบ 6 เสตรน ได้แก่ *E. coli* 5 เสตรน (26.3%) และ *Moraxella spp.* 1 เสตรน (5.3%) (ตารางที่ 7)

I19943650

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนและร้อยละของชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มรักษา จำนวน 19 ตัว (ก่อนการชะล้างมดลูก) (การทดลองระยะที่ 1)

เชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรียที่ตรวจพบ	โคกลุ่มรักษา * (ก่อนการชะล้างมดลูก)	
		จำนวน (เสตรน)	ร้อยละ
แกรมบวก	*Aerococcus viridans*	6	30.0
	Micrococcus luteus	4	20.0
	Staphylococcus spp	2	10.0
	Staphylococcus epidermidis	1	5.0
	Streptococcus spp	1	5.0
แกรมลบ	*Acinetobactor iwoffi*	3	15.0
	E. coli	1	5.0
	Moraxella spp	2	10.0
รวม		20	100

* ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย 1 ตัวอย่าง

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนและร้อยละของชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มรักษาก่อนและหลังการรักษา จำนวน 20 ตัว (การทดลองระยะที่ 2)

เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบ	ก่อนการรักษา *		หลังการรักษา **	
		จำนวน (สเตรน)	ร้อยละ	จำนวน (สเตรน)	ร้อยละ
แกรมบวก	*Aerococcus viridans*	1	5.3	3	14.3
	Bacillus spp.	5	26.3	2	9.5
	Corynebacterium spp	2	10.5	2	9.5
	Staphylococcus epidermidis	4	21.1	2	9.5
	Streptococcus faecalis	-	-	3	14.3
	Streptococcus spp	1	5.3	1	4.8
แกรมลบ	*Citrobacter spp*	-	-	1	4.8
	E. coli	5	26.3	4	19.0
	Flavobacterium spp	-	-	1	4.8
	Klebsiella spp	-	-	1	4.8
	Moraxella spp	1	5.3	-	-
	Pseusomonas spp	-	-	1	4.8
รวม		19	100	21	100

* ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย 3 ตัวอย่าง , ** ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย 5 ตัวอย่าง

ผลการเก็บตัวอย่างมดลูกจากโคกลุ่มรักษา (หลังทำการชะล้างมดลูก) จำนวน 20 ตัว พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 15 ตัว (75%) ไม่พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 5 ตัว (25%) พบเชื้อแบคทีเรีย 21 เสตรน ซึ่งมีโค 6 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด, โค 9 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียว ซึ่งแยกเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก 13 เสตรน ได้แก่ *Aerococcus viridans* 3 เสตรน (14.3%) *Streptococcus fecalis* 3 เสตรน (14.3%) *Bacillus spp.* 2 เสตรน (9.5%) *Corynebacterium spp.* 2 เสตรน (9.5%) *Staphylococcus epidermidis* 2 เสตรน (9.5%) *Streptococcus spp.* 1 เสตรน (4.8%) แยกเป็นแบคทีเรีย ชนิดแกรมลบ 8 เสตรน ได้แก่ *E. coli* 4 เสตรน (19.0%) *Citrobacter spp.* 1 เสตรน (4.8%) *Flavobacterium spp.* 1 เสตรน (4.8%) *Klebsiella spp.* 1 เสตรน (4.8%) *Pseudomonas spp.* 1 เสตรน (4.8%) (ตารางที่ 7)

ผลการเก็บตัวอย่างมดลูกจากโคกลุ่มควบคุม จำนวน 20 ตัว พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 13 ตัว (65%) ไม่พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 7 ตัว (35%) พบเชื้อแบคทีเรีย 17 เสตรน ซึ่งมีโค 1 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด โค 2 ตัว ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด โค 10 ตัว พบเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียว ซึ่งแยกเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก 13 เสตรน ได้แก่ *Bacillus spp.* 4 เสตรน (23.5%) *Staphylococcus epidermidis* 4 เสตรน (23.5%) *Corynebacterium spp.* 3 เสตรน (17.6%), *Aerococcus veridans* 2 เสตรน (11.6%) แยกเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ 4 เสตรน ได้แก่ *E.coli* 2 เสตรน (11.8%) *Acinetobacter iwoffii* 1 สเตรน (5.9%) *Flavobacterium spp.* 1 เสตรน (5.9%) (ตารางที่ 8)

4. ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบและการผสมติดตั้งท้องของโค

จากตารางที่ 10 พบว่าขณะก่อนทำการผสมเทียมทั้งในกลุ่มรักษาและควบคุม พบเชื้อแบคทีเรียจำนวนหนึ่ง ซึ่งส่วนใหญ่เป็น non-pathogenic organisms และอาจมีผลต่อการผสมติดและผสมไม่ติด กล่าวคือ ในโคกลุ่มรักษาที่ผสมครั้งเดียวติดตั้งท้อง ได้แก่ โคที่พบเชื้อ *Bacillus spp. E. coli* และ *Streptococcus spp.* ในโคกลุ่มควบคุมที่ตั้งท้องและผสมครั้งแรก พบเชื้อ *Staphylococcus epidermidis Aerococcus viridans Corynebacterium spp.* และในโคกลุ่มควบคุม 7 ตัว ซึ่งไม่พบเชื้อแบคทีเรีย ผสมติดตั้งท้อง เพียง 2 ตัว (จากการผสมเทียม ครั้งที่ 1 จำนวน 1 ตัว, ครั้งที่ 2 จำนวน 1 ตัว) จึงน่าจะสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบนี้ ไม่ได้เป็นสาเหตุหลักของการเกิดปัญหาผสมซ้ำในแม่โคกลุ่มทดลองนี้ ส่วนในโคกลุ่มรักษา มีโค 3 ตัว จาก 5 ตัว ผสมติดตั้งท้อง เมื่อตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียหลังการชะล้างมดลูก ซึ่งเป็นข้อสังเกตที่น่าสนใจว่า ในโคกลุ่มรักษาภายหลังการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ แล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย มีโอกาสผสมติดตั้งท้องสูงกว่า โคกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ชะล้างมดลูกและไม่พบเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนและร้อยละของชนิดแบคทีเรียที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มควบคุม จำนวน 20 ตัว (การทดลองระยะที่ 2)

เชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรียที่ตรวจพบ	จำนวน (เสตรน)	ร้อยละ
แกรมบวก	*Aerococcus viridans*	2	11.8
	Bacillus spp.	4	23.5
	Corynebacterium spp	3	17.6
	Staphylococcus epidermidis	4	23.5
แกรมลบ	*Acinetobactor iwoffi*	1	5.9
	E. coli	2	11.8
	Flavobacterium spp	1	5.9
รวม		17	100

* ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย 7 ตัวอย่าง

ตารางที่ 9 แสดงชนิดแบคทีเรีย ที่ตรวจพบจากมดลูกโคกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม จำนวน 20 ตัว (ก่อนทำการผสมเทียมครั้งที่ 1) โดยเปรียบเทียบผลการตั้งท้อง (ในการทดลองระยะที่ 2)

แบคทีเรียที่ตรวจพบ	กลุ่มรักษา (20 ตัว)		กลุ่มควบคุม (20 ตัว)	
	ตั้งท้อง	ไม่ตั้งท้อง	ตั้งท้อง	ไม่ตั้งท้อง
แกรมบวก				
Aerococcus viridans	3	-	1	1
Bacillus spp.	1	1	1	3
Corynebacterium spp.	1	1	1	2
Staphylococcus epidermidis	2	1	1	3
Streptococcus faecalis	1	-	-	-
Streptococcus spp.	2	1	-	-
แกรมลบ				
Acinetobactor iwoffi	-	-	-	1
Citrobacter spp.	1	-	-	-
E. coli	2	2	-	2
Klebsiella spp.	1	-	-	-
Flavobacterium spp.	-	-	-	1
Pseudomonas spp.	1	-	-	-
No growth	3	2	2	5

ตารางที่ 10 ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรีย ในโคที่ตั้งท้อง จำนวน 17 ตัว (โคกลุ่มรักษาและกลุ่มควบคุม) และจำนวนครั้งผสมเทียมต่อการตั้งท้อง (การทดลองระยะที่ 2)

ลำดับที่	กลุ่มวิจัย	เชื้อแบคทีเรียที่พบ		จำนวนครั้งผสมเทียมต่อการตั้งท้อง
		ก่อนการรักษา	หลังการรักษา	
1	รักษา1	*α-Streptococcus gr.D non enterococci*	*Bacillus spp.* *Citrobacter spp.*	1
2	รักษา2	*E.coli*	*E.coli* *Streptococcus faecalis*	2
3	รักษา4	No growth	*Hemolytic E.coli*	1
4	รักษา5	*Staphylococcus epidermidis*	*Klebsiella spp.*	2
5	รักษา7	*Bacillus spp.*	*Pseudomonas spp.*	2
6	รักษา8	*Bacillus spp.*	No growth	1
7	รักษา9	*Bacillus spp.*	No growth	3
8	รักษา12	*Staphylococcus epidermidis* *E. coli*	*α -Streptococcus gr.D non enterococci*	1
9	รักษา13	*E.coli*	No growth	2
10	รักษา14	*Staphylococcus epidermidis*	*α -Streptococcus gr.D non enterococci*	2
11	รักษา16	*Corynebacterium spp.*	*Corynebacterium spp.* *Aerococcus viridans*	2
12	ควบคุม1	*	*Staphylococcus epidermidis*	1
13	ควบคุม4	*	*Aerococcus viridans.*	1
14	ควบคุม8	*	No growth	1
15	ควบคุม9	*	No growth	2
16	ควบคุม14	*	*Corynebacterium spp.*	1
17	ควบคุม16	*	*Corynebacterium spp.* *Bacillus spp.* *E. coli*	1

* ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างเพาะเชื้อแบคทีเรีย

5. ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ

ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 77 เสตรน ที่ตรวจพบในงานวิจัยครั้งนี้ ต่อยาปฏิชีวนะ 14 ชนิดพบว่า ยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline เป็นยาที่มีเชื้อแบคทีเรียตอบสนองต่อการทดสอบมากที่สุด (84.2%), Gentamicin มีเชื้อแบคทีเรียตอบสนองต่อการทดสอบเป็นอันดับ 2 (83.1%) และ Neomycin มีเชื้อแบคทีเรียตอบสนองต่อการทดสอบเป็นอันดับ 3 (74.0%) และยาปฏิชีวนะที่มีเชื้อแบคทีเรียตอบสนองต่อการทดสอบน้อย ได้แก่ Tetracycline (20.0%), Penicillin (27.3%), Colistin sulfate (37.7%) และ Streptomycin (41.6%) (ตารางที่ 11)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรีย ที่แยกได้จากตัวอย่างที่เก็บจากมดลูกโค 77 เสตรน ต่อยาปฏิชีวนะทดสอบ 14 ชนิด

ลำดับที่	ชื่อยาปฏิชีวนะ	จำนวนเสตรนที่ทดสอบ	ผลการทดสอบ		
			Resistant	Intermediate	Sensitive
1	Oxyteracycline 30 μg	57	9 (15.8%)	0 (0%)	48 (84.2%)
2	Gentamicin 10 μg	77	11 (14.3%)	2 (2.6%)	64 (83.1%)
3	Neomycin 30 μg	77	11 (14.3%)	9 (11.7%)	57 (74.0%)
4	Kanamycin 30 μg	77	19 (24.7%)	5 (6.5%)	53 (68.8%)
5	Polymyxin B 300 μg	77	9 (11.7%)	17 (22.1%)	51 (66.2%)
6	Sulfamethoxazole Trimethoprim 25 μg	77	26 (33.8%)	2 (2.6%)	49 (66.6%)
7	Ampicillin 10 μg	77	24 (31.2%)	6 (7.8%)	47 (61.0%)
8	Nitrofurantoin 300 μg	77	23 (29.9%)	7 (9.1%)	47 (61.0%)
9	Erythromycin 15 μg	77	32 (41.5%)	4 (5.2%)	41 (53.2%)
10	Bacitracin 10 μg	77	24 (31.2%)	14 (18.2%)	39 (50.6%)
11	Streptomycin 10 μg	77	33 (42.8%)	12 (15.6%)	32 (41.6%)
12	Colistin sulfate 10 μg	77	32 (41.5%)	16 (20.8%)	29 (37.7%)
13	Penicillin 10 μg	77	45 (58.4%)	11 (14.3%)	21 (27.3%)
14	Tetracycline 30 μg	20	13 (65.0%)	3 (15.0%)	4 (20%)

การทดลองที่ 2 การทดลองในฟาร์มขนาดใหญ่

การทดลองนี้ทำในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ มีจำนวนโครีดนมประมาณ 200 ตัว ทำการคัดเลือกโค จำนวน 19 ตัว ที่มีปัญหาผสมซ้ำ 18 ตัว และโคที่มีระยะเวลาหลังคลอดมากกว่า 150 วัน (1ตัว) (ตารางที่ 12) มาทำการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือ 1 ลิตร ผสมยาปฏิชีวนะ oxytetracycline จำนวน 1 กรัม วิธีเดียวกับการทดลองที่ 1 (ฟาร์มโคนมรายย่อย) การทดลองนี้ไม่ได้เก็บตัวอย่างจากมดลูกเพื่อทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย การปรับการเป็นสัดครั้งแรก ทำโดยการฉีด PGF2 alpha 25 มก. เข้ากล้ามเนื้อ ทำการผสมเทียมเมื่อแม่โคแสดงอาการเป็นสัด ยืนนิ่งให้โคตัวอื่นขี่โดยเจ้าหน้าที่คนเดียว และใช้น้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อโคตัวเดียวกัน ทำการตรวจท้องโดยวิธีล้วงคลำมดลูกผ่านทวารหนัก เมื่อแม่โคไม่แสดงการเป็นสัด 55 - 60 วันหลังผสม

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การรักษาโคที่มีประวัติผสมซ้ำ (18 ตัว) และโคที่มีระยะหลังคลอดมากกว่า 150 วัน (1 ตัว) พบว่ามีโคที่ ติดตั้งท้องหลังจากได้รับการผสมเทียม แล้ว 1-3 ครั้งจำนวน 12 ตัว (63.2%) จำแนกเป็นโคที่ผสมครั้งเดียวแล้วอุ้มท้อง 6 ตัว (50%) ผสม2 ครั้งอุ้มท้องจำนวน 3 ตัว (25%) และ ผสม 3 ครั้งแล้วอุ้มท้องจำนวน 3 ตัว (25%) ตารางที่ 13

แม่โคที่มีปัญหาผสมซ้ำ จำนวน 19 ตัว มีระยะเฉลี่ยนับจากหลังคลอด จนถึงวันรักษาเท่ากับ 297 วัน (พิสัย 125 - 618 วัน) มีประวัติได้รับการผสมเทียมมาแล้วเฉลี่ย 6.75 ครั้ง (พิสัย 2 - 17 ครั้ง) จำแนกเป็นแม่โคให้นมครั้งแรก 12 ตัว ให้นมครั้งที่ 2 , 1 ตัว ให้นมครั้งที่ 3, 2 ตัว และให้นมมากกว่าหรือเท่ากับ 4 ครั้ง , 4 ตัว

ระยะเฉลี่ยในกลุ่มโคที่ตั้งท้องหลังรักษา คิดเป็นระยะ 47.75 วัน โดยระยะสั้นที่สุดเท่ากับ 5 วัน และยาวที่สุด 157 วัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงจำนวนและประวัติโคที่ทำการทดลองก่อนรักษาและผลการตรวจการตั้งท้อง ภายหลังทำการแก้ไขโดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ

โคตัวที่	ให้นมครั้งที่	จำนวนครั้งที่ผสมเทียมก่อนรักษา	ระยะเวลาหลังคลอด (วัน) ถึงวันรักษา	ผลการรักษา จำนวนครั้งที่ผสมเทียม/วัน
1	1	12	431	P (1, 5)
2	1	8	287	P (1, 4)
3	1	9	355	P (1, 21)
4	1	17	618	P (2, 45)
5	5	7	387	P (2, 46)
6	1	9	409	P (1, 16)
7	1	7	267	P (1, 38)
8	1	6	252	P (2, 46)
9	4	8	418	P (1, 10)
10	5	4	253	P (3, 71)
11	3	3	194	P (3, 157)
12	1	2	151	P (3, 104)
13	1	13	464	NP
14	1	7	252	NP
15	2	7	224	NP
16	3	3	125	NP
17	1	6	306	NP
18	4	2	222	NP
19	1	6	174	NP

* คิดภายหลังผสมเทียมต่ำกว่า 3 ครั้ง P = ท้อง, NP = ไม่ท้อง

ตารางที่ 13 ผลการตรวจท้องโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ ที่ผ่านการรักษาโดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ ที่อุ้มท้องจำนวน 12 ตัว

	จำนวนโค	ระยะเวลาหลังรักษา-อุ้มท้อง (วัน) (เฉลี่ย)
ผสม 1 ครั้งอุ้มท้อง	6 (50%)	5-21
ผสม 2 ครั้งอุ้มท้อง	3 (25%)	45-46
ผสม 3 ครั้งอุ้มท้อง	3 (25%)	71-157

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

โคกลุ่มรักษา ซึ่งเป็นโคที่มีปัญหาผสมซ้ำ มากกว่า 3 ครั้งแล้ว ยังไม่ติดตั้งท้อง จำนวน 39 ตัว หลังจากได้รับการรักษาโดยวิธีการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะแล้ว ทำการผสมเทียม 1-3 ครั้ง สามารถติดตั้งท้อง จำนวน 22 ตัว (56.4%) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือปริมาตร 3 ลิตรในโคผสมซ้ำ ทำให้โค 10 ตัว (50%) ติดตั้งท้องภายใน 30 วันหลังการรักษา (Coe, 1984)

การอธิบายกลไกการรักษาของวิธีนี้ ยังไม่เข้าใจชัดเจนนัก มีการคาดคะเนว่าจำนวนโคผสมซ้ำที่สูงมากขึ้น อาจเกิดจากการอักเสบเรื้อรังของคอมดลูก มดลูกหรือท่อนำไข่ ซึ่งไม่สามารถรักษาให้หายโดยวิธีการรักษาทั่วไป หรือแม่โคอาจหายได้เองหลังจากการเป็นสัดผ่านไปแล้วหลาย ๆ ครั้ง จนสามารถผสมติดและตั้งท้องได้ (Casida, 1961; Zemjanis, 1980)

ทั้งนี้มีรายงานการรักษาโคนมผสมติดยาก โดยฉีด $PGF_{2\alpha}$ 25 มิลลิกรัม ในช่วง Luteal phase พบว่าโคนม 10 ตัว จาก 13 ตัว สามารถผสมพันธุ์ติดตั้งท้องได้ (Zaayer and van der Horst, 1986) ฉนั้นในงานวิจัยนี้ การเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดด้วย $PGF_{2\alpha}$ ในโคทั้งสองกลุ่ม มีผลทำให้โคทั้งสองกลุ่มตั้งท้องได้ ภายหลังการรักษาโดยวิธีชะล้างด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มรักษา 9 ตัว เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม 8 ตัว) แต่ต่อมาเมื่อผสมเทียมซ้ำอีก 1-2 ครั้ง กลุ่มที่ได้รับการชะล้างมดลูก จะมีอัตราการผสมติดดีขึ้นอย่างเด่นชัด (กลุ่มรักษา 11 ตัว เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม 3 ตัว) ซึ่งน่าจะมีผลโดยตรงต่อการรักษา (ตารางที่ 5) ดังนั้นการนำวิธีชะล้างมดลูกโค ด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ ไปรักษาโคที่มีปัญหาผสมซ้ำนั้น อาจจะได้พิจารณาการรักษาโดยวิธีการฉีด $PGF_{2\alpha}$ ให้โคนั้นก่อน 1 ครั้ง เพื่อลดปัญหาเรื่องการตรวจการเป็นสัด และกำหนดเวลาผสมเทียมได้แม่นยำขึ้น ซึ่งจะเพิ่มอัตราการผสมติดให้ดีขึ้นได้

Coe (1984) ได้ศึกษาโดยการตรวจ Microscopic examination น้ำเกลือซึ่งไม่ได้ผสมยาปฏิชีวนะที่ไหลผ่านออกมาจากมดลูกโคพบ Clumps of bacteria, Polymorphonuclears, Leucocytes และ Tissue macrophages ในการวิจัยครั้งนี้ การตรวจสอบน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะที่ไหลผ่านกลับมาจากการชะล้างมดลูกโคเบื้องต้นด้วยสายตา พบว่าน้ำเกลือไม่ใสเหมือนเดิม มีความขุ่น และมีเศษเนื้อเยื่อลอยอยู่ในน้ำเกลือ เมื่อเก็บตัวอย่างจากมดลูกด้วยวิธีการ swab พบเชื้อแบคทีเรียหลายเสตรน ทั้งก่อนและหลังการชะล้าง การที่ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียหลังการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะนั้น อธิบายได้ว่าขนาดของยาปฏิชีวนะ (Oxytetracycline ชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน 1 กรัม/ลิตร) ที่ใช้ในงานวิจัย ไม่ใช่ขนาดยาที่แนะนำสำหรับการรักษามดลูกอักเสบ แต่เป็นขนาดสำหรับการควบคุมเชื้อจากการปนเปื้อนเท่านั้น ทั้งนี้มีข้อ

สังเกตว่า มีโค 5 ตัว ที่ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียหลังการชะล้างมดลูก สามารถผสมติดตั้งท้อง 3 ตัว ฉนั้น อาจกล่าวได้ว่าการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือปริมาณมากผสมยาปฏิชีวนะ จะช่วยทำให้พวกเชื้อแบคทีเรีย และสิ่งสกปรกต่าง ๆ ตลอดจนพวก Antisperm antibodies ถูกขับออกมา จึงมีผลทำให้การอักเสบของผนังมดลูก ปีกมดลูกลดลง การเดินทางของตัวอสุจิ และไข่เป็นปกติ สามารถเกิดการผสมติดตั้งท้องได้ สอดคล้องกับผลการทดลองย้ายฝาก คัพภะในโคผสมซ้ำมีอัตราการรอดต่ำ ซึ่งมีสาเหตุจากสภาพมดลูกไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคัพภะ (Albihn *et al.*, 1989.; Kobayashi and Lohachit, 1989) และการทดลองของ O' Farrell และ Hartigan (1989) ทำการชะล้างคัพภะในโคปกติและในโคที่มีประวัติผสมซ้ำ ภายหลังการกระตุ้นให้ตกไข่หลายใบ ยืนยันสมมุติฐานว่าสภาพมดลูกไม่พร้อมต่อการดำรงชีวิตของคัพภะหลังปฏิสนธิเช่นกัน

อย่างไรก็ตามการชะล้างมดลูกโคผสมซ้ำนี้ เป็นวิธีการที่ต้องอาศัยเทคนิคและความชำนาญเฉพาะในการปฏิบัติงาน การตรวจอวัยวะสืบพันธุ์ของแม่โคโดยวิธีล้วงคลำผ่านทางทวารหนักก่อนทำการชะล้างจะทำให้ผู้ปฏิบัติงานคาดการณ์ผลการรักษาให้กับเกษตรกรทราบได้ เทคนิคการชะล้างวิธีนี้ มีขั้นตอนและใช้เวลามากกว่าการรักษาวิธีอื่น ๆ แต่เกษตรกรที่ประสบปัญหาผสมซ้ำ ต้องการความช่วยเหลืออย่างมาก และมีความเชื่อว่าการรักษาโดยวิธีนี้ ดีกว่าการรักษาวิธีอื่นๆ ที่เคยได้รับมาก่อน ภายหลังการรักษาโคจนผสมติดตั้งท้องได้ ทำให้เกษตรกรมีความมั่นใจในอาชีพการเลี้ยงโคนมเพิ่มมากขึ้น สำหรับโคตัวที่ยังผสมไม่ติดหลังการรักษา เกษตรกรบางรายตัดสินใจคัดทิ้ง เพื่อเปลี่ยนโคตัวใหม่เข้ามาเลี้ยงทดแทน ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าเห็นใจเกษตรกรที่ประสบปัญหานี้ เพราะโคบางตัวนั้น ได้รับการผสมเทียมและผสมโดยพ่อโคมาแล้ว 15-20 ครั้ง ก็ยังไม่ตั้งท้อง ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้อย่างมาก ฉนั้น การตัดสินใจคัดทิ้งโคที่มีปัญหามาก ๆ ออกบ้าง ก็เป็นสิ่งจำเป็นที่ควรแนะนำให้เกษตรกรได้ทราบด้วย จึงควรมีการศึกษาถึงพยาธิสภาพของมดลูกและท่อนำไข่ของแม่โคนมผสมซ้ำต่อไป

ผลการเก็บตัวอย่างจากมดลูกโค ในโคกลุ่มรักษา (ก่อนการชะล้างมดลูก) จำนวน 39 ตัว พบเชื้อแบคทีเรียจากโค 35 ตัว (89.7%) พบเชื้อแบคทีเรีย 39 เสตรน ซึ่งแยกเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก 27 เสตรน (69.9%) และแบคทีเรียชนิดแกรมลบ 12 เสตรน (30.8%) ทั้งนี้ในการศึกษาของ Dholakia และคณะ (1987) พบเชื้อแบคทีเรียในโคผสมซ้ำ 400 ตัว จากโคผสมซ้ำ 520 ตัว คิดเป็น 76.9 % และเชื้อแบคทีเรียที่พบ คือ Gram negative bacilli (37.3 %) mixed culture (15.4%) *Staphylococci spp.* (8.2%) *Bacillus spp.* (7.6%) *Streptococcus spp.* (7.1%), และ Corynebacterium spp. (5.1%) เชื้อแบคทีเรียที่พบเหมือนกับการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp. Corynebacterium sp.*และ *Streptococcus spp.*

ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ 14 ชนิด พบว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline เป็นยาที่มีเชื้อแบคทีเรียตอบสนองต่อการทดสอบมากที่สุด (84.2%) และรองลงมาได้แก่

Gentamicin (83.1%) Neomycin (74.0%) และยาปฏิชีวนะที่มีเชื้อแบคทีเรียตอบสนองต่อการทดสอบน้อย ได้แก่ Tetracycline (20%) Penicillin (27.3%) Streptomycin (41.1%) สอดคล้องกับการศึกษาของ Mani, (1992) รายงานยาปฏิชีวนะที่มีเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบจากโคผสมซ้ำ และตอบสนองต่อการทดสอบ ได้แก่ Septran (72%) Chloramphenicol (64%) และ Gentamicin (68%) Tetracycline (20%) Pencillin (12%) Streptomycin (10%)

5.2 สรุปผลการวิจัย

ในการวิจัยการทดลองที่ 1 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมภายในจังหวัดสุพรรณบุรี เข้าร่วมโครงการ จำนวน 44 ราย และโคนม จำนวนทั้งสิ้น 78 ตัว โดยแยกเป็นโคกลุ่มรักษา จำนวน 39 ตัว โคกลุ่มควบคุม จำนวน 39 ตัว ดำเนินงานวิจัยที่ฟาร์มของเกษตรกรที่มีปัญหาโคนมผสมซ้ำ มากกว่า 3 ครั้งแล้ว ยังไม่ตั้งท้อง ใช้เวลาในการดำเนินงานวิจัย รวม 2 ปี 7 เดือน (ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2537 ถึงเดือนเมษายน 2540)

ผลการวิจัย พบว่าการรักษาโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ โดยวิธีชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ สามารถติดตั้งท้องภายหลังการผสมเทียมแล้ว 3 ครั้ง มากกว่ากลุ่มเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กล่าวคือ ในโคกลุ่มรักษา ตั้งท้อง 56.4% (22/39 ตัว) และในโคกลุ่มควบคุม ตั้งท้อง 30.8% (12/39 ตัว) สรุปได้ว่า วิธีการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะนี้สามารถปฏิบัติในท้องที่ได้อย่างสะดวกและแก้ไขปัญหาผสมซ้ำในโคนมของเกษตรกรรายย่อยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากมดลูกโคที่มีปัญหาผสมซ้ำ พบเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non-pathogenic bacteria) จำนวน 77 เสตรน เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 53 เสตรน ได้แก่ *Aerococcus viridans* 15.6% *Bacillus spp.* 14.3% *Staphylococcus epidermidis* 14.3% *Corynebacterium spp.* 10.4% *Micrococcus luteus* 5.2% *Streptococcus faecalis* 3.9% *Staphylococcus spp.* 2.6% *Streptococcus spp.* 2.6% และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 24 เสตรน ได้แก่ *E. coli* 15.6% *Acinetobacter iwoffi* 5.2% *Moraxella spp.* 3.9% *Flavobacterium spp.* 2.6% *Citrobacterium spp.* 1.3% *Klebsiella spp.* 1.3% *Pseudomonas spp.* 1.3% ผลทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวะนะ 14 ชนิด พบว่ายาปฏิชีวนะที่มีเชื้อแบคทีเรียไวต่อการทดสอบมาก ได้แก่ Oxytetracycline Gentamycin Neomycin ส่วนยาปฏิชีวนะที่มีเชื้อแบคทีเรียไวต่อการทดสอบน้อย ได้แก่ Tetracycline Penicillin Colistin sulfate และ Streptomycin

5.3 ข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยจากการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ทำให้ทราบว่าการรักษาโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำโดยวิธีชะล้างมดลูกโคด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ สามารถเพิ่มอัตราการผสมติดในโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำได้ แต่อย่างไรก็ตามปัญหาโคนมผสมซ้ำหรือผสมติดยากมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องอีกมากมาย ซึ่งควรทำการศึกษาถึงสาเหตุอื่น ๆ และหาวิธีแก้ไขที่เหมาะสมในทางปฏิบัติในท้องที่ต่อไป

ผลการศึกษาในการวิจัยครั้งนี้ สรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในแม่โคที่มีปัญหาผสมซ้ำไม่ใช่เป็นสาเหตุหลักของปัญหาผสมซ้ำในกลุ่มแม่โคนมที่ทำการทดลอง และยังพบว่าแม่โคนมที่ได้รับการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะ มีอัตราการผสมติดดีกว่าแม่โคนมที่ไม่ได้ชะล้าง ฉะนั้นควรทำการศึกษาต่อไป เพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงของปัญหาการผสมซ้ำของโคนม เช่น การศึกษา Uterine wash เพื่อตรวจหาส่วนประกอบของ debris, ชนิดของ leucocytes, antibody ที่อาจมีผลต่อตัวอสุจิ, และระดับของ IgG (non-specific) ว่ามีส่วนเป็นสาเหตุร่วมของการเกิดปัญหาผสมซ้ำในโคนมด้วยหรือไม่ นอกจากนี้แม่โคนมที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ควรได้รับการตรวจพยาธิสภาพของมดลูกและท่อนำไข่ เพื่อพิจารณาการตัดสินใจคัดทิ้งต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

พีระศักดิ์ จันทรประทีป. 2535. บทบาทวิชาชีพสัตวแพทย์กับกิจการปศุสัตว์ไทย. สัตวแพทย์สาร ปีที่ 43 (มิถุนายน): 9-11.

สาโรช งามขำ. 2537. เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดมดลูกอักเสบของโคนม 30 วันหลังคลอดและผลตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Albihn, A.; Gustafsson, H.; Rodigues, M.H. and Larsson, K. 1989. Development of day 7 bovine demi-embryo transferred into virgin and repeat-breeder heifers. Ani. Reprod. Sci. 21(3-4): 161-176.

Casida, L.E. 1961. Present status of the repeat breeder cow problem. Journal of Dairy Science 44: 2323-2339.

Chantaraprateep, P.,Humbert, J.M. Krit B. and Sinhachan, S. (1990) Reproductive disorder control and herd health monitoring program for improvement of dairy production in Thailand II. Investigation on fecundity. ISBN: 974-560-666-9. P.7

Coe, P.H. 1984. Uterine flush as therapy for repeat breeder cows. Agri - Practice 5(2): 29-32.

Cowan, S.T., and Steel, K.J. 1974. In: Manual for the identification of medical bacteria, 2nd ed., Cambridge University Press.

Dholakia, P.M.; Shah, N.M.; Purohit, J.H. and Kher, H.N. 1987. Culture and antibiotic sensitivity studies on organisms causing repeat breeding in dairy cattle. Indian vet. J. 64: 637-640.

Kirby, W.M.M. and Bauer, A.W. 1966. Standard disc-agar plate method for determining susceptibility to antibiotics. Antibiotic Annual 45: 498.

Kobayashi, G. and Lohachit, P. 1989. Embryo transfer using repeat breeder cows in Thailand. J. of Vet. Med No.816: 47-49.

O' Farrell, K. and Hartigan, P. J. 1989. Superovulation and non-surgical egg recovery from normal and repeat breeding dairy cows. Irish Vet. J. 42(4-5): 53-55.

Zaayer, D., and van der Horst, C.J.G. 1986. Non-fertility in cows: treatment with $PGF_{2\alpha}$ and investigation of uterine biopsies. Cytobios 45 : 55-70.

Zemjanis, R. 1980. "Repeat-breeding" or conception failure in cattle. In: Current Therapy in Theriogenology, Morrow, D.A. (ed.), Philadelphia : W.B. Saunders. pp. 205-213.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย