



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

ปริญญา

คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ปัจจัยที่มีผลต่อระดับโปรตีน และอิมมูโนโกลบูลินจีในซีรัมของลูกโคนมที่เลี้ยงในฟาร์ม
เกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย

Factors Affecting Serum Protein and Immunoglobulin G Levels in Dairy Calves Raised
in Small Holder Farms in Thailand

นามผู้วิจัย นางสาวสุภาดา คณานับ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิพัฒน์ อรุณวิภาส, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ธีระ รักความสุข, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อุประกรินทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับโปรตีน และอิมมูโนโกลบูลินจีในซีรัมของลูกโคนม
ที่เลี้ยงในฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย

Factors Affecting Serum Protein and Immunoglobulin G Levels in Dairy Calves
Raised in Small Holder Farms in Thailand

โดย

นางสาวสุปภาดา คณานับ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

พ.ศ. 2553

สุภภาดา คณานับ 2553: ปัจจัยที่มีผลต่อระดับโปรตีน และอิมมูโนโกลบูลินจีในซีรัม
ของลูกโคนมที่เลี้ยงในฟาร์มเกษตรกรรมรายย่อยในประเทศไทย ปรินญาวิทยาสาสตร
มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์) สาขาวิชาคลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์ โครงการ
สหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์
พิพัฒน์ อรุณวิภาส, Ph.D. 58 หน้า

เก็บตัวอย่างนม น้ำเหลือง และเลือดจากแม่และลูกโคนมจำนวน 51 คู่ ในจังหวัด
นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี เพื่อวิเคราะห์ระดับโปรตีนในซีรัม และ IgG ของลูกโคนม และ
เก็บข้อมูลจากแบบสอบถามเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคนม ผลของการศึกษา
พบว่า ระดับโปรตีนในซีรัมและ IgG ของลูกโคมีการเปลี่ยนแปลงในทิศทางเดียวกัน คือ ช่วงแรก
เกิดลูกโคอยู่ในภาวะ hypoinmoglobulinemia หลังจากลูกโคได้รับนม น้ำเหลืองระดับโปรตีน
ในซีรัมและ IgG ของลูกโคจะเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่อายุ 2 วัน ระดับโปรตีนในซีรัมและ IgG มีค่า
ลดลงในวันที่ 7 และ 14 หลังคลอด ส่วนของนม น้ำเหลืองซึ่งทำการวัด total Ig และ IgG พบว่า ทั้ง
total Ig และ IgG ได้ผลไปในทางเดียวกัน คือ total Ig และ IgG จะสูงที่สุดในวันคลอด และลดลง
อย่างรวดเร็ว และอยู่ในระดับต่ำมากในวันที่ 7 และ 14 หลังคลอด ปัจจัยที่มีนัยสำคัญต่อระดับ IgG
ของลูกโคอายุ 1 วัน คือ คุณภาพของนม น้ำเหลือง และอายุของลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก
โดยลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดี (≤ 50 mg/ml) มีโอกาสได้รับ IgG ต่ำเป็น 5.14 เท่าเมื่อ
เทียบกับลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดี (> 50 mg/ml) และลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองช้ากว่า
6 ชั่วโมงหลังคลอด จะมีโอกาสได้รับ IgG ต่ำ 5.85 เท่าเมื่อเทียบกับลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลือง
ภายใน 6 ชั่วโมงหลังคลอด นอกจากนี้ คุณภาพของนม น้ำเหลืองและอายุของลูกโคเมื่อได้รับนม
น้ำเหลืองครั้งแรกเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมกัน โดยลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีและช้ากว่า
6 ชั่วโมงหลังคลอด จะมีโอกาสที่ได้รับ IgG ต่ำ 11 เท่า เมื่อเทียบกับลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลือง
คุณภาพดีภายใน 6 ชั่วโมงหลังคลอด ($P < 0.05$) จะเห็นได้ว่าการจัดการลูกโคควรให้ความสนใจใน
เรื่องคุณภาพของนม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับ และอายุของลูกโคเมื่อได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก

Suppada Kananub 2010: Factors Affecting Serum Protein and Immunoglobulin G Levels in Dairy Calves Raised in Small Holder Farms in Thailand. Master of Science (Veterinary Clinical Studies), Major Field: Veterinary Clinical Studies, Interdisciplinary Graduate Programme. Thesis Advisor: Assistant Professor Pipat Arunvipas, Ph.D. 58 pages.

Samples, colostrum and blood, were taken from 51 dairy cows and their calves in Nakhon pathom, Ratchaburi and Kanchanaburi that used evaluate serum protein and immunoglobulin G (IgG) levels of calves. Questionnaires were used to evaluate affecting factors that associated calve's IgG levels. This study found IgG and serum protein levels of calves were similar result. Calves at birth were hypimmunoglobulinemia. IgG and serum protein levels were increased after calves received colostrum, maximum levels in second day after calving. Serum protein and IgG levels were decreased in seventh and fourteenth day after calving. Total Ig and IgG levels in colostrum were similar pattern, maximum levels in calving day and rapidly decreased. Low level of total Ig and IgG were in seventh and fourteenth day after calving. In this study found that quality of colostrums and calve's age at first feeding affecting significantly IgG level's one-day calves. Calves that received low quality colostrum (≤ 50 mg/ml) were more likely to 5.14 times to low IgG level in one day age compare to calves that received high quality colostrum (>50 mg/ml). Calves that received colostrums delay to 6 hours after birth were more likely to 5.85 times to low IgG level in one day age caompare to calves that received colostrums early 6 hours after birth. Besides, calves that received low quality colostrum and delay to 6 hours after birth were more likely to 11 times to low IgG level in one day age compare to calves that received high quality colostrum and early to 6 hours after birth ($p < 0.05$). So neonatal calves management should emphasize quality of colostrums and calve's age at first feeding.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.น.สพ.ดร. พิพัฒน์ อรุณวิภาส อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ รศ.น.สพ.ดร. ชีระ รักความสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ ทั้งการศึกษา งานวิจัย การตรวจและการแก้ไขข้อบกพร่องในการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จ ลุล่วง

ขอขอบพระคุณ เกษตรกรทุกคนที่ยินดีให้ความร่วมมือ และสนับสนุนการเก็บตัวอย่าง ขอขอบพระคุณนายสัตวแพทย์ประจำโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน โรงพยาบาลสัตว์หนองโพทุกท่าน ที่ช่วยเหลือการเก็บตัวอย่าง ทำให้งานทุกอย่างลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณนางศรีสมัย วิริยารัมภะ นางสาวจุริย์ ปานกำหนดและนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านประจำภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขศาสตร์ และการบริการวินิจฉัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่คอยให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในการตรวจทางห้องปฏิบัติการจนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณนางพัชรินทร์ คณานับ และนางสาวทิพย์นิภา คณานับ คุณแม่และพี่สาวที่เป็นที่รักยิ่ง ที่เป็นกำลังใจในการศึกษา การดำเนินชีวิต รวมถึงนายเจือ คณานับ คุณพ่อผู้ล่วงลับ ถึงแม้ร่างกายจะไม่อยู่ แต่คุณพ่อก็เป็นกำลังใจหนึ่งที่สำคัญตลอดมา

สุปภาดา คณานับ

เมษายน 2553

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	17
อุปกรณ์	17
วิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	22
สรุปและข้อเสนอแนะ	35
สรุป	35
ข้อเสนอแนะ	37
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	38
ภาคผนวก	48
ภาคผนวก ก แบบสอบถาม	49
ภาคผนวก ข วิธีการตรวจ	54
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	58

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของนม น้ำเหลือง	5
2	การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบน้ำนมจากการรีดครั้งที่ 1, 2, 3 และน้ำนมปกติ	6
3	ค่าเฉลี่ยระดับ Immunoglobulin G ในซีรัมของลูกโค จากการเก็บตัวอย่างวันคลอด วันที่ 1, 2, 7 และ 14 หลังคลอด ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี single radial immunodiffusion	25
4	ปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี unconditional logistic regression	29
5	ปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน ในโมเดลสุดท้ายของการวิเคราะห์ด้วยวิธี multiple logistic regression	34
6	การวิเคราะห์ค่าปฏิสัมพันธ์ต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วันด้วยวิธี logistic regression	34

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างพื้นฐานของ immunoglobulin	8
2	การขนส่งสารต่างๆเข้าเซลล์เด็นม	9
3	การดูดซึม immunoglobulin ของลูกโค	11
4	เปอร์เซ็นต์การรอดของลูกโคที่เกิดและไม่เกิดภาวะ failure passive transfer (FPT) ในช่วงอายุต่างๆ	13
5	ระดับ immunoglobulin G และ total Ig ในน้ำนม ทำการวิเคราะห์ด้วย single radial immunodiffusion และ colostrometer ตามลำดับ	23
6	ระดับ immunoglobulin G ในซีรัมแม่โคจากการตรวจด้วย single radial immunodiffusion	24
7	ความสัมพันธ์ระหว่าง immunoglobulin G ในซีรัมลูกโค และระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโค	26
8	ความแตกต่างของระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคที่ได้รับนมน้ำเหลืองคุณภาพดีและไม่ดี	27
9	การกระจายตัวของระดับ Immunoglobulin G ของลูกโคที่อายุ 1 วัน	28
10	สีของนมน้ำเหลืองที่มีคุณภาพแตกต่างกัน	36
ภาพผนวกที่		
1	การอ่านผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี single radial immunodiffusion	56
2	การวิเคราะห์ total immunoglobulin ด้วย colostrometer	57

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

dl	=	decilitre
CLDs	=	cytoplasmic lipid droplets
ELISA	=	enzyme-linked immunosorbent assay
Fab	=	variable region of immunoglobulin
Fc	=	constant region of immunoglobulin
FcRn	=	constant region receptor of immunoglobulin
FPT	=	failure passive transfer
g	=	gram
HPLC	=	high-performance liquid chromatographic
IgA	=	immunoglobulin A
IgG	=	immunoglobulin G
IgM	=	immunoglobulin M
kg	=	kilogram
MFG	=	membrane bound milk fat globule
mg	=	milligram
ml	=	millilitre
SDS-PAGE	=	sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis
sRID	=	single radial immunodiffusion

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับโปรตีน และอิมมูโนโกลบูลินจีในซีรัมของลูกโคนมที่เลี้ยงในฟาร์ม
เกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย

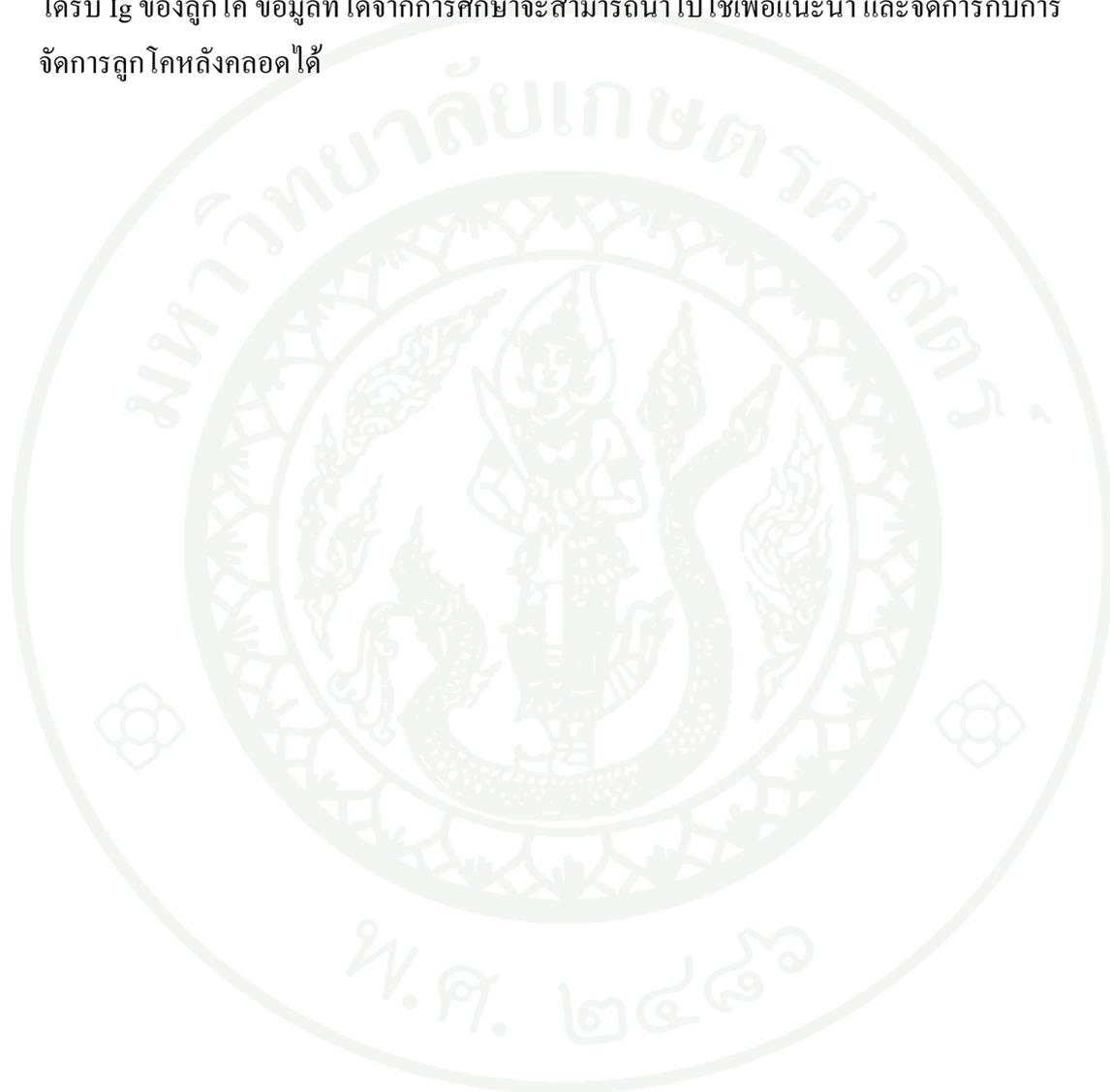
Factors Affecting Serum Protein and Immunoglobulin G Levels in Dairy Calves
Raised in Small Holder Farms in Thailand

คำนำ

การเลี้ยงโคนมเป็นอาชีพเกษตรกรรมอาชีพหนึ่งที่ทำกันอยู่มาก ปัจจุบันการเลี้ยงโคนมจะมุ่งเน้นให้มีคุณภาพและมาตรฐานในการจัดการฟาร์มที่ดีขึ้น โดยมีความร่วมมือจากหลายๆ ส่วนในการศึกษาค้นคว้าและพัฒนารูปแบบในการจัดการในฟาร์มโคนมที่เหมาะสมกับการเลี้ยงในประเทศไทย เพื่อให้ได้ผลผลิตที่เต็มประสิทธิภาพและมีคุณภาพ โดยเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมสามารถเข้าใจและลงมือปฏิบัติได้ง่าย ซึ่งองค์ประกอบหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการจัดการฟาร์มแต่เกษตรกรยังละเลย คือ การดูแลสุขภาพของลูกโค เนื่องจากลูกโคเป็นกลุ่มที่จะเจริญมาเป็นวัวสาวทดแทนในอนาคต ความสูญเสียจากการตายของลูกโคหรือการเจริญเติบโตช้า แคระแกรน จะส่งผลกระทบต่อฟาร์มทำให้เกิดการสูญเสียโคสาวทดแทนหรือได้โคสาวที่ด้อยคุณภาพในอนาคต ดังนั้นการจัดการลูกโคให้มีความสุขดีตั้งแต่แรกเริ่มจะส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตที่ดีในช่วงเป็นโคสาว

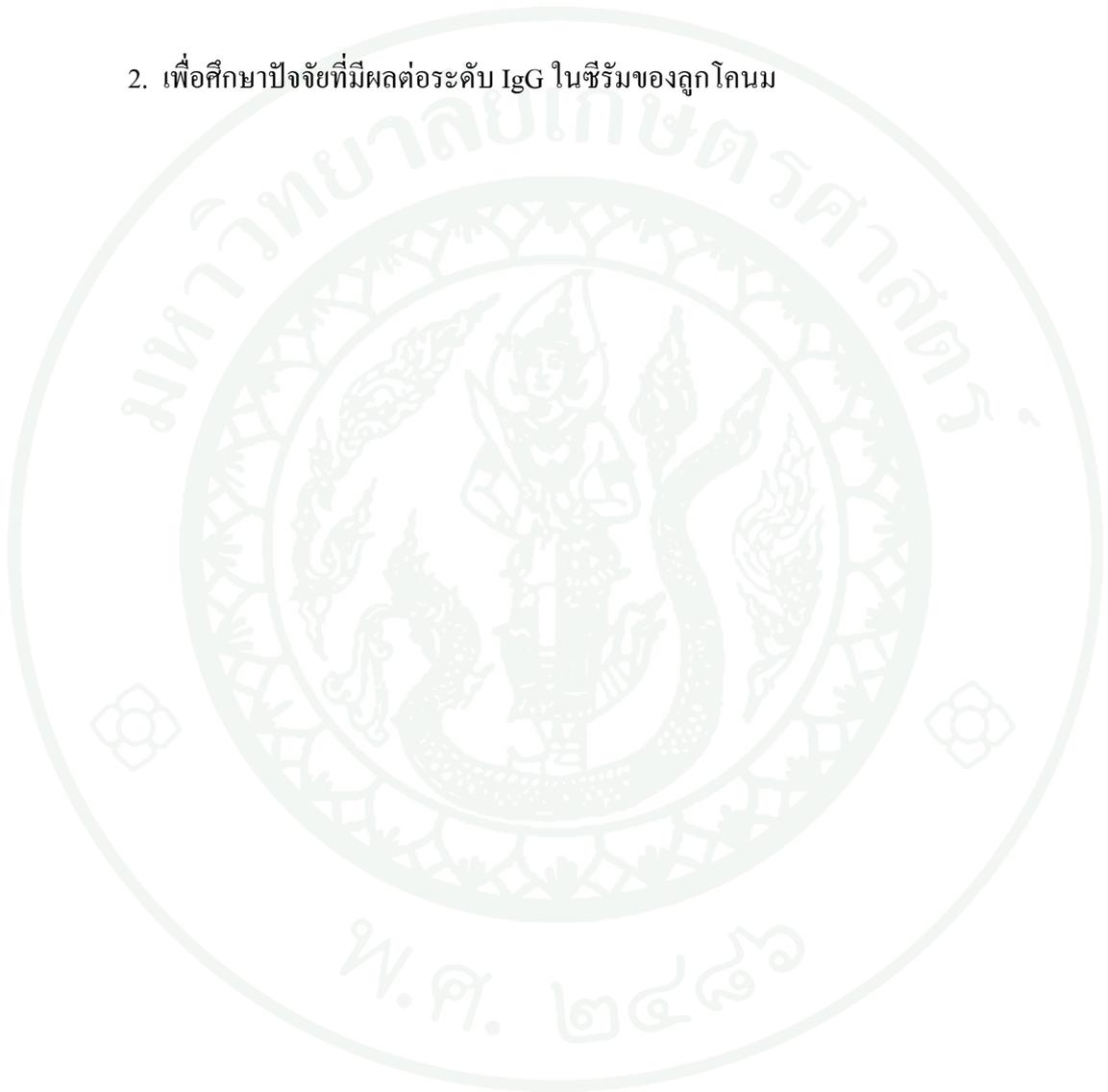
เนื่องจากรกของโคจะไม่ยอมให้ immunoglobulins (Ig) ผ่านจากแม่โคมาสู่ลูกโคได้ ดังนั้นลูกโคจะได้รับ Ig ผ่านจากนม น้ำเหลืองเป็นทางหลัก รวมถึงเป็นแหล่งของพลังงานแรกที่ลูกโคจะได้รับหลังคลอดด้วย ในนม น้ำเหลืองจะมีภูมิคุ้มกันที่สำคัญ คือ IgG, IgM, IgA การที่ระดับ Ig ที่ลูกโคได้รับอยู่ในระดับที่ไม่เพียงพอ จะมีผลทำให้ลูกโคมีสุขภาพไม่แข็งแรง ง่ายต่อการติดเชื้อต่างๆ และการเกิดโรคอื่นๆ ที่สำคัญในลูกโคตามมา เช่น ปอดบวม ท้องเสีย ดังนั้นปริมาณนม น้ำเหลืองที่จะทำให้ลูกโคได้รับ Ig ที่เพียงพอสามารถป้องกันการติดเชื้อของลูกโคได้ ควรมีปริมาณ 10% ของน้ำหนักตัว แต่เนื่องจากการดูดซึม Ig ของลำไส้ลูกโคจะลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด ทำให้การจัดการลูกโคจำเป็นต้องให้ลูกโคได้รับนม น้ำเหลืองในปริมาณที่เพียงพอ และรวดเร็วที่สุด เพื่อให้ทันต่อความสามารถในการดูดซึมที่ลดลง ปริมาณของภูมิคุ้มกันที่ลูกโคได้รับนั้นนอกจากจะมีผลสืบเนื่องมาจากระยะเวลาและปริมาณที่ลูกโคได้รับแล้ว ยังเป็นผลมาจากปัจจัยด้านอื่นๆ ด้วย เช่น คุณภาพของน้ำนมเหลือง น้ำหนักแรกคลอดของลูกโค การจัดการลูกโค

ฟาร์ม โคนมจะประสบความสำเร็จได้จะต้องมาจากหลายๆปัจจัยร่วมกัน ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและมีผลต่อเนื่องถึงผลผลิตในอนาคตของฟาร์ม คือ สุขภาพของลูกโค จากที่กล่าวมาแล้วจะเห็นได้ว่าสุขภาพของลูกโคจะดีได้นั้น มีผลสืบเนื่องมาจากการได้รับ Ig จากนมแม่เหลืองในปริมาณที่เพียงพอตั้งแต่แรกคลอด จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาถึงระดับและปัจจัยที่มีผลต่อการได้รับ Ig ของลูกโค ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะสามารถนำไปใช้เพื่อแนะนำ และจัดการกับการจัดการลูกโคหลังคลอดได้



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับ โปรตีนในซีรัมของลูก ไคนมและ immunoglobulin G (IgG) ตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 2 สัปดาห์
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ในซีรัมของลูก ไคนม



การตรวจเอกสาร

เนื่องจากรกของสัตว์เคี้ยวเอื้องจะไม่มีสารส่งผ่าน Ig จากแม่ไปสู่ลูกในระหว่างการตั้งท้อง (Robinson *et al.*, 1988) ลูกโคในช่วงแรกเกิดจึงอยู่ในสภาวะที่ไม่มี immunoglobulin (Ig) หรือที่เรียกว่า agammaglobulinemia (Bernard, 2006; Roberts and Anthony, 1994) และภูมิคุ้มกันของลูกโคที่สร้างขึ้นเองจะไม่อยู่ในระดับที่สามารถป้องกันตัวเองได้จนกระทั่งอายุ 2 อาทิตย์ และภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นจะสูงสุดที่อายุ 2-3 เดือน (House *et al.*, 2008; Robinson *et al.*, 1988) ทำให้ลูกโคในช่วงแรกเกิดนี้ไวต่อการติดเชื้อต่างๆจากสิ่งแวดล้อม การได้รับนม น้ำเหลืองของลูกโคจึงมีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวถ่ายทอด Ig ให้กับลูกโค

นม น้ำเหลืองโคและความสำคัญ

นม น้ำเหลือง คือ นมที่แม่โคผลิตได้ในช่วงหลังคลอด ระยะเวลาที่บ่งชี้การเป็นนม น้ำเหลืองมีตั้งแต่ นม น้ำเหลืองคือนมที่ได้จากการรีดครั้งแรกหลังคลอด (Lang, 2008; McGuirk, 1999; Bovine Alliance on Management and Nutrition [BAMN], 1992; Ontsouka, 2003) ไปจนถึงนมที่ผลิตได้ในช่วง 5-7 วันแรก องค์ประกอบในนม น้ำเหลืองและน้ำนมธรรมชาติจะแบ่งออกได้เป็นพวกที่ใช้เป็นสารอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน แลคโตส กรดไขมันจำเป็น และ amino acids และพวกที่ไม่ใช่สารอาหาร เช่น biologically active substances ต่างๆ (immunoglobulins (Igs), enzymes, hormones, growth factors เป็นต้น) (Georgiev, 2008; Kehoe *et al.*, 2007) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของนมแม่เหลือง

Item	n	Mean	SE	Minimum	Maximum
Fat (%)	54	6.7	4.16	2	26.5
Protein (%)	55	14.92	3.32	7.1	22.6
Lactose (%)	55	2.49	0.65	1.2	5.2
Total solids (%)	55	27.64	5.84	18.3	43.3
Ash (%)	55	0.05	0.01	0.02	0.07
IgG ₁ (mg/ml)	55	34.96	12.23	11.8	74.2
IgG ₂ (mg/ml)	55	6	2.82	2.7	20.6
IgA (mg/ml)	55	1.66	0.99	0.5	4.4
IgM (mg/ml)	55	4.32	2.84	1.1	21
Lactoferrin (mg/ml)	55	0.82	0.54	0.1	2.2

ที่มา: Kehoe *et al.*, 2007

นมแม่เหลืองจะมีประโยชน์ต่อลูกโค โดยจะเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญของลูกโค (Quigley and Drewry, 1998) Igs ซึ่งทนต่อการย่อย แต่เนื่องจากมีปริมาณมากในนมแม่เหลือง จึงถูกใช้ให้เป็นแหล่งของ amino acids ที่สำคัญของลูกโค เพื่อนำไปผลิตโปรตีน และใช้ในกระบวนการ gluconeogenesis มีส่วนสำคัญต่อ homeostasis ของลูกโค นอกจากนั้นแล้วการได้รับนมแม่เหลืองยังมีผลต่อการควบคุมอุณหภูมิร่างกายของลูกโคด้วย (Dividich *et al.*, 1991; Pettigrew, 1981; Quigley and Drewry, 1998) แต่ผลของนมแม่เหลืองต่อลูกโคที่สำคัญ คือ การป้องกันลูกโคจากการติดเชื้อ โดยเฉพาะการป้องกันลูกโคจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Smith and Little, 1922) ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของ biologically active substances โดย Immunoglobulin G (IgG) และ Immunoglobulin M (IgM) จะถูกดูดซึมเพื่อไปทำหน้าที่ในการต่อต้านเชื้อในระบบร่างกาย (systemic infection) และ Immunoglobulin A (IgA) จะทำหน้าที่ต่อต้านเชื้อบนผิวเยื่อของลำไส้ (Muller and Ellinger, 1981)

คุณสมบัติที่บอกถึงความแตกต่างของนมแม่เหลืองและน้ำนมธรรมดา ได้แก่ องค์ประกอบของน้ำนม พบว่านมแม่เหลืองจะมีปริมาณของแข็งรวม ไขมัน โปรตีน วิตามิน และ biologically active substances ที่มากกว่าน้ำนมธรรมดา แต่จะมี casein และแลคโตสที่น้อยกว่าน้ำนมธรรมดา

(Georgiev., 2008; Ontsouka *et al.*, 2003) องค์ประกอบต่างๆของนม น้ำเหลืองจะเปลี่ยนแปลงไปตามจำนวนครั้งของการรีด แต่จะลดลงอย่างรวดเร็วที่สุดภายในวันแรกหลังคลอด และประมาณวันที่ 4 หลังคลอด องค์ประกอบจึงจะเป็นน้ำนมธรรมชาติ (FoIey and Otterby, 1978; BAMN, 1992) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบน้ำนมจากการรีดครั้งที่ 1, 2, 3 และน้ำนมปกติ

Item	Milking Number			
	1	2	3	Milk
Specific gravity	1.056	1.040	1.035	1.032
Solids (%)	23.9	17.9	14.1	12.9
Protein (%)	14	8.4	5.1	3.1
Casein (%)	4.8	4.3	3.8	2.5
IgG (mg/ml)	48	25	15	0.6
Fat (%)	6.7	5.4	3.9	3.7
Lactose (%)	2.7	3.9	4.4	5.0
Vitamin A (µg/L)	2950	1900	1130	340
Vitamin D (IU/g fat)		0.9 to 1.8		0.4
Riboflavin (µg/ml)	4.8	2.7	1.9	1.5
Choline (mg/ml)	0.70	0.34	0.23	0.13

ที่มา: FoIey and Otterby, 1978

จากตารางที่ 1 และ 2 จะเห็นว่าองค์ประกอบหลักในนม น้ำเหลือง คือ โปรตีน การศึกษาของ Quigley ในปี 2001 พบว่าโปรตีนในนมที่รีดได้ในช่วง 7 วันแรกหลังคลอด ส่วนมากจะอยู่ในรูปของ Ig ในโคจะพบ Ig ในนม น้ำเหลืองได้ตั้งแต่ 2-15% (20-150 g/l) เฉลี่ย 5-6% (50-60 g/l) (Lang, 2008) Ig ที่พบจะแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ IgG (สามารถแบ่งย่อยได้อีก 2 ชนิด คือ IgG₁ และ IgG₂), IgM และ IgA ปริมาณของ Ig แต่ละชนิดที่พบในนม น้ำเหลือง คือ IgG₁ 35.0 mg/ml, IgG₂ 6.0 mg/ml, IgM 4.3 mg/ml และ IgA 1.7 mg/ml (Kehoe *et al.*, 2007) ซึ่งคิดเป็นสัดส่วนของ IgG, IgM และ IgA ในนม น้ำเหลืองเท่ากับ 85%–90%, 5%–10% and 5%–10% (Butler, 1969a; Lang.

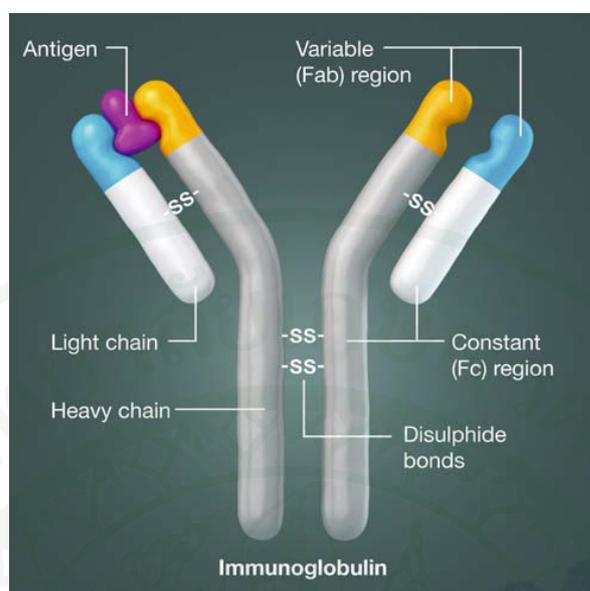
2008) จะเห็นได้ว่าในนม น้ำเหลือง โค IgG โดยเฉพาะ IgG₁ จะมีปริมาณมากที่สุด (Husband *et al.*, 1972) ซึ่งต่างจากสัตว์อื่นๆ ที่ Ig สามารถส่งผ่านจากแม่ไปสู่ลูกได้ทางรก เช่น มนุษย์ สุนัข ในนม น้ำเหลืองจะพบปริมาณ IgA มากกว่า (Gapper *et al.*, 2007a; Wheeler *et al.*, 2007a) ในโคเมื่อกล่าวถึง IgG (IgG₁ และ IgG₂) หรือ IgG₁ จึงมักจะหมายถึงรวม Ig ทั้ง 3 ชนิด ในการทดลองจึงมักวัดระดับ IgG หรือ IgG₁ เป็นตัวแทนเพื่อบอกถึงระดับ total Ig

โครงสร้างและหน้าที่ของ Immunoglobulin G (IgG)

โครงสร้างของ Immunoglobulin โดยทั่วไป จะประกอบด้วย

1. Heavy และ Light chain โดยจะประกอบด้วย heavy และ light chain อย่างละ 2 สาย เป็นโครงสร้างพื้นฐานของอิมมูโนโกลบูลินทุกชนิด
2. Disulfide bond เป็นส่วนที่จะเชื่อมระหว่าง heavy กับ light chain, เชื่อมระหว่าง heavy chain ทั้ง 2 สาย และเชื่อมระหว่างสายของ polypeptide
3. Variable (Fab) และ constant (Fc) region จะอยู่บนทั้ง heavy และ light chain ความแตกต่างของลำดับเบสบนสาย จะเป็นตัวแยกส่วน Fab และ Fc โดย Fab จะทำหน้าที่เป็นส่วนที่จับกับแอนติเจน และ Fc จะเป็นส่วนที่ไปจับกับ Fc receptor บนเซลล์
4. Hinge region เป็นจุดเชื่อมต่อของส่วนแขนของ immunoglobulin ทำให้ immunoglobulin เกิดเป็นโครงสร้างรูปตัว Y โดยในส่วนนี้จะมีโมเลกุลบางตัวที่ยึดหยุ่นได้

IgG มีลักษณะโครงสร้างเป็น monomer คือ ประกอบด้วยองค์ประกอบพื้นฐานเพียงตัวเดียว ดังเช่นภาพที่ 1 การแบ่งชนิดย่อยของ IgG จะแบ่งตามจำนวนของ disulfide bond และความยาวของ hinge region (Mayer, 2009) หน้าที่ของ IgG จะมีหลายอย่าง เช่น IgG จะจับกับเซลล์ที่มี Fc receptor ต่อ Fc region ของ IgG เช่น macrophage, monocyte และ polymorphonuclear อื่นๆ การจับของ IgG กับเซลล์เหล่านี้จะทำให้เซลล์เหล่านี้สามารถทำลายหรือจับกิน antigen ได้ดีขึ้น การจับกันของ IgG กับ Fc receptor ที่เซลล์ชนิดอื่นนอกจากนี้ ยังมีผลกระตุ้นการทำงานอื่นๆ อีกด้วย (Mayer, 2009; Gapper *et al.*, 2007b)



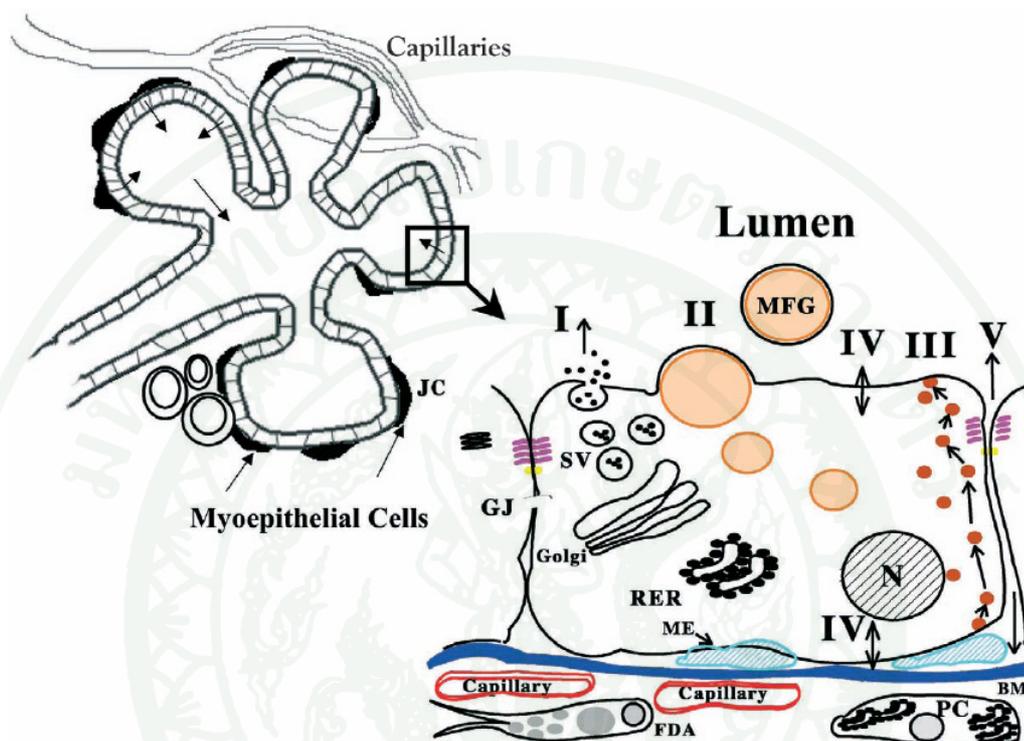
ภาพที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของ immunoglobulin

ที่มา: Gapper *et al.*, 2007a

กระบวนการขนส่ง Immunoglobulin G เข้าสู่มน้ำเหลือง

สารต่างๆที่พบในมน้ำเหลืองจะมาได้จาก 2 แหล่ง คือ การส่งผ่านจากกระแสเลือดเข้าสู่เต้านม และการผลิตได้เองจากเซลล์ของต่อมน้ำนม เนื่องจากการศึกษาที่พบพลาสมาเซลล์จำนวนมากในต่อมน้ำนมในช่วงก่อนคลอด (Butler, 1969d) แต่ในบางการศึกษา Ig ในกระแสเลือดลดลงช่วงก่อนคลอด แต่เพิ่มขึ้นในเต้านม (Blakemore and Garner, 1956) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า IgA จะถูกผลิตจากเซลล์ของต่อมน้ำนม แต่ IgG จะถูกส่งผ่านมาจากกระแสเลือด (Wheeler *et al.*, 2007a; Georgiev, 2008) ซึ่งปกติแล้วในกระแสเลือดของแม่โคจะมีปริมาณ IgG₁ และ IgG₂ ที่ใกล้เคียงกัน แต่ในมน้ำเหลือง พบว่า IgG₁ จะมีปริมาณมากกว่า IgG₂ ถึง 5-10 เท่า แสดงให้เห็นว่า receptor ในเซลล์เต้านมจะจำเพาะกับ IgG₁ มากกว่า (Butler, 1969b; Barrington *et al.*, 2001) ในช่วง 2-3 อาทิตย์ก่อนคลอดจะพบ IgG₁ ในกระแสเลือดของแม่โคลดลง ซึ่งต่างกับน้ำนมที่จะพบเพิ่มขึ้น (Brandon, 1971) ปริมาณ IgG₁ ที่ส่งผ่านไปสู่น้ำนมจะมากที่สุดในช่วง 1-3 วันก่อนคลอด และลดลงอย่างรวดเร็วจากการรีดครั้งแรก (Delouis, 1978b) จนหยุดขนส่งในช่วงหลังคลอด 2 วัน (Delouis, 1978a) IgG₁ receptor อยู่บริเวณ basolateral membrane ของ secretory epithelial cell ของ

เซลล์เต้านม (Barrington *et al.*, 2001; Wheeler *et al.*, 2007c) และอาศัยการขนส่งแบบ transcytotic pathway ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การขนส่งสารต่างๆเข้าเซลล์เต้านม

ที่มา: McManaman and Neville, 2003a

หมายเหตุ I = Exocytotic pathway เป็นการขนส่งพวก โปรตีน แลคโตส แคลเซียม และสารอื่นๆ ในน้ำนมที่ไม่ใช่ของแข็ง II = Lipid secretion pathway เป็นการขนส่งพวกไขมัน โดยสร้างเป็น cytoplasmic lipid droplets (CLDs) ซึ่งจะเคลื่อนที่ไปสู่ apical membrane และถูกขับออกในรูป membrane bound milk fat globule (MFG) III = Transcytosis pathway เป็นการขนส่งพวก immunoglobulins IV = Membrane transport pathways เป็นการขนส่งพวก monovalent ions, น้ำและกลูโคส โดยสารเหล่านี้สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง V = Paracellular pathway เป็นการขนส่งพวกเซลล์เม็ดเลือดขาว กระบวนการขนส่งนี้จะเกิดเฉพาะในช่วงการตั้งท้อง ช่วงพักท้อง และเกิดการอักเสบของเต้านม เช่น ในช่วงการเกิดเต้านมอักเสบ

เมื่อ IgG₁ จับกับ receptor จะถูกส่งผ่านเข้าไปในเซลล์ในรูป endocytic vesicles หลังจากนั้นจะถูกขนส่งเข้าไปสู่ apical membrane ของเซลล์ หลังจากนั้น vesicle จะเข้าไปรวมกับผนังด้านใน ส่วน apical membrane และปล่อย Ig เข้าสู่ alveolus (McManaman and Neville, 2003b) กระบวนการการขนส่ง IgG ไปสู่น้ำนมนี้ เกิดขึ้นจากการควบคุมของฮอร์โมน ฮอร์โมนที่สำคัญ คือ estrogen, progesterone และ prolactin (Barrington *et al.*, 2001) 17 β -estradiol และ progesterone หลังมาจากรังไข่และรก ทำหน้าที่ใน 2 ส่วน คือ

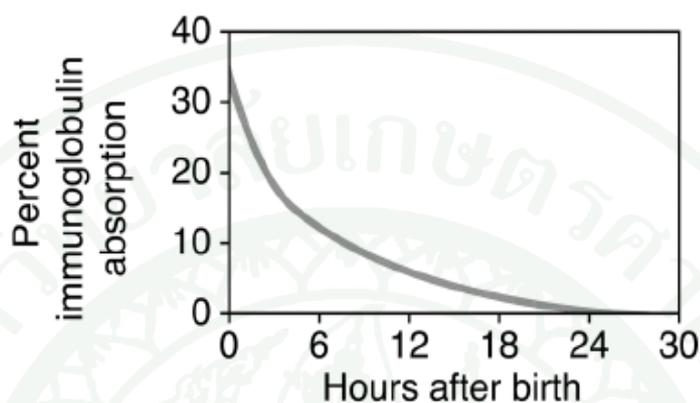
1. กระตุ้นให้สร้าง โครงสร้าง lobulo-alveolus ของเนื้อเยื่อเต้านมในระหว่างช่วงการตั้งท้อง
2. เพิ่มความสามารถของเต้านมในการสะสมองค์ประกอบต่างๆของนม น้ำเหลือง

ในช่วงก่อนคลอด 2-3 สัปดาห์ ฮอร์โมน progesterone จะเริ่มลดลง เป็นช่วงเดียวกับที่ IgG₁ receptor มีความสามารถในการจับ IgG₁ จากกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์เต้านมมากขึ้น ทำให้มี IgG₁ เพิ่มขึ้นในน้ำนม และปริมาณ IgG₁ จะถูกส่งผ่านเข้าสู่เซลล์เต้านมสูงสุดช่วงที่เกิดการคลอด ซึ่งระดับ progesterone ลดลงอย่างรวดเร็ว ช่วงเวลาเดียวกันที่ฮอร์โมน progesterone ลดลง ระดับฮอร์โมน prolactin จะเพิ่มขึ้น พบว่า receptor ของ prolactin จะอยู่ที่ basement membrane เหมือนกับ IgG₁ receptor ซึ่งน่าจะเป็นผลทำให้เกิด endocytosis และสร้าง vesicle ของ IgG₁ ลดลง เมื่อมีระดับ prolactin เพิ่มขึ้นช่วงหลังคลอด จึงพบ IgG₁ ได้น้อยลง (Birkinshaw and Falconer, 1972; Delouis, 1978a) โดยปริมาณ IgG ในนม น้ำเหลืองจะสูงที่สุดในการรีดครั้งแรกหลังคลอด และจะลดลงตามจำนวนครั้งของการรีด (Andrews, 2000; Foley and Otterby, 1978; Hostetler *et al.*, 2003)

การดูดซึม Immunoglobulin (Ig) ของลูกโค

ในลูกโคแรกเกิดจะมี protease activity ในทางเดินอาหารที่ต่ำ อีกทั้งในนม น้ำเหลืองจะมี trypsin inhibitor ที่ทำให้โปรตีนในนม น้ำเหลืองไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหาร และส่งผ่านไปยังลำไส้เล็ก เมื่อ Ig ภายใต้นม น้ำเหลืองจับกับ Fc receptor (FcRn) ที่อยู่บนผิวเยื่อผนังลำไส้แล้ว Ig จะถูกส่งผ่านเยื่อผนังลำไส้เล็กโดยวิธี endocytosis หลังจากนั้นจะเคลื่อนตัวเข้าสู่กระแสเลือดต่อไป (สันนิภา, 2549) โดยการดูดซึม Ig ของลูกโคนั้นจะสูงสุดในช่วง 12 ชั่วโมงแรกหลังคลอด

(Godson *et al.*, 2003; Lang, 2008) หลังจากนั้นการดูดซึมจะลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วง 24-36 ชั่วโมงหลังคลอด การดูดซึมจะเกิดได้น้อยหรือไม่มีการดูดซึมเลย (Andrews, 2000) ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การดูดซึม immunoglobulin ของลูกโค

ที่มา: Lang, 2008

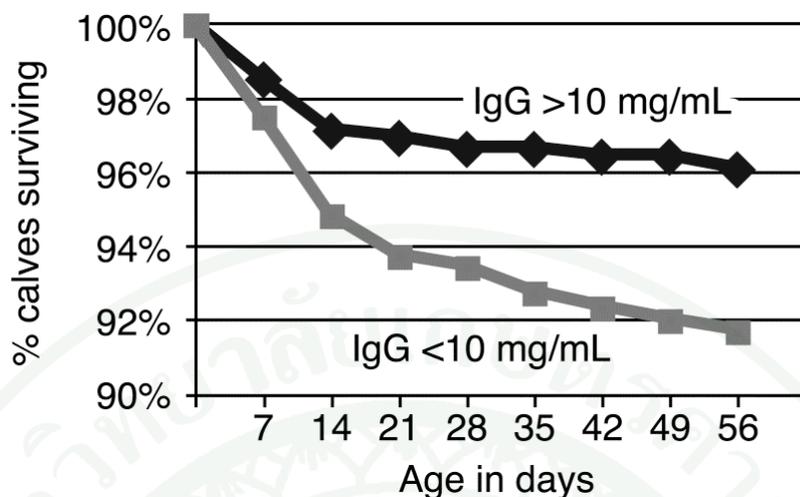
ปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องกับการดูดซึม Ig ของลูกโคนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ปัจจัยหลักคือ

1. องค์ประกอบของนมแม่หรือปริมาณ Ig ในนมแม่ที่จะบ่งบอกถึงคุณภาพของนมแม่ที่ลูกโคได้รับ ปริมาณ Ig ในนมแม่จะมีปัจจัยที่เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น สายพันธุ์ของแม่โค ลำดับท้อง ระยะเวลาการพักท้อง สภาวะโภชนาการในช่วงก่อนคลอด และภาวะการคลอดยากของแม่โค (Andrew, 2000)
2. ปริมาณนมแม่ที่ลูกโคได้รับ ปริมาณนมแม่ที่เพียงพอต่อการส่งผ่าน Ig ให้แก่ลูกโค คือ 3-5 ลิตร ภายใน 24 ชั่วโมงแรกหลังคลอด หรือคิดเป็นประมาณ 10% ของน้ำหนักตัวลูกโค (Andrew, 2000)

3. ความสามารถในการดูดซึมของลำไส้ลูกโค การดูดซึมได้ของลำไส้ลูกโคจะสูงสุดภายใน 12 ชั่วโมงหลังคลอด พบว่าลูกโคที่ได้รับนมแม่เหลืองครั้งแรกที่ 6 ชั่วโมงหลังคลอดจะมีการดูดซึมได้ 65.8% ของปริมาณ IgG ทั้งหมดที่ได้รับ และปริมาณการดูดซึมจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อลูกโคได้รับนมแม่เหลืองครั้งแรกที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมงหลังคลอด อยู่ในระดับ 46.9%, 11.5%, 6.7% และ 6.0% ตามลำดับ (Matte *et al.*, 1982) นอกจากนั้นสายพันธุ์เพศ และน้ำหนักของลูกโค ก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมของลำไส้ลูกโค

4. การจัดการของเกษตรกร การแยกลูกโคจากแม่โค วิธีการให้นมแม่เหลืองจะมีผลต่อระดับ Ig ที่ลูกโคดูดซึมได้ (Quigley and Drewry, 1998; Stott and Fellah, 1983)

ระดับ Ig ในกระแสเลือดของลูกโค ที่แสดงถึงการดูดซึมได้ของลูกโคที่เพียงพอต่อการป้องกันลูกโคจากการติดเชื้อ คือ 10 mg/ml เมื่อลูกโคอายุ 1-2 วัน ลูกโคที่มีระดับ Ig ในกระแสเลือดที่ต่ำกว่า 10 mg/ml จะถือว่าอยู่ในภาวะ Failure of passive transfer (FPT) จากภาพที่ 4 จะแสดงให้เห็นว่าลูกโคที่เกิดภาวะ FPT นี้จะมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่น้อยกว่าลูกโคที่ไม่เกิดภาวะ FPT (BAMN, 1992) นอกจากนั้นลูกโคที่เกิดภาวะ FPT จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปอดอักเสบ (pneumonia) และภาวะท้องเสีย (diarrhea) รวมถึงมีอัตราการตายสูงกว่าลูกโคที่ไม่อยู่ในสภาวะ FPT (Donovan *et al.*, 1998; BAMN, 1992) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Virtalaa *et al.* ในปี 1999 ที่พบว่าลูกโคที่มีปริมาณ IgG ในเลือดต่ำจะมีโอกาสเป็น โรคปอดอักเสบเป็น 2 เท่าของลูกโคที่มีปริมาณ IgG สูง ส่วนลูกโคที่ป่วยแล้วกลับมาหายนั้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่ดีและผลผลิตในช่วงหลังคลอดก็จะต่ำกว่าลูกโคที่ไม่เคยป่วย (Bernard, 2006) แต่บางการศึกษาพบว่าระดับ Ig ที่ลูกโคดูดซึมไม่มีผลต่อการเกิดโรคและการเพิ่มน้ำหนักของลูกโค (Ishikawa and Konishi, 1982)



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์การรอดของลูกโคที่เกิดและไม่เกิดภาวะ failure passive transfer (FPT) ในช่วงอายุต่างๆ

ที่มา: BAMN, 1992

การวัดระดับ Immunoglobulin (Ig)

การวัดระดับ Ig ทำได้ทั้งกับนม น้ำเหลือง และซีรัม วิธีการตรวจสามารถแบ่งได้ตามหลักการที่ใช้ในการตรวจ คือ separation-base techniques, immune-base techniques และ physical techniques

1. Separation-base techniques

หลักการนี้จะประกอบด้วย 2 วิธี คือ

1. high-performance liquid chromatographic (HPLC) ซึ่งวิธีนี้ไม่สามารถใช้แยก IgG ปกติจาก IgG ที่ถูกทำลายด้วยความร้อนได้ ดังนั้นเราจะได้ค่าที่มากกว่าความเป็นจริงได้ ในการวัดระดับ IgG จากน้ำนมที่ผ่านความร้อนแล้วด้วยวิธี HPLC

2. electrophoresis techniques ซึ่งจะใช้ได้ทั้ง gel electrophoresis และ capillary electrophoresis โดย gel electrophoresis เป็นวิธีมีประสิทธิภาพในการใช้แยกโปรตีน โดยใช้หลักของความต่างศักย์ไฟฟ้า ทำให้โมเลกุลวิ่งจากขั้วหนึ่งไปยังอีกขั้วหนึ่ง และจากการที่ใส่ตัวกลางเป็นเนื้อวุ้น จะทำให้เราสามารถแยกโมเลกุลตามขนาดได้ วิธี sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) IgG จะถูกย่อยด้วย SDS ให้เป็น light และ heavy chains ก่อน ทำให้ไม่สามารถแยก IgG ปกติจาก IgG ที่ถูกทำลายด้วยความร้อนได้ (Gapper *et al.*, 2007a)

2. Immune-base technique

Immune-base technique จะใช้การจับกันของแอนติเจนและแอนติบอดี ประกอบด้วย

1. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) แอนติบอดีที่ใช้จะจำเพาะต่อ bovine IgG และใช้การวัดระดับสีที่เกิดขึ้นจาก antibody-enzyme conjugate และนำมาเปรียบเทียบกับ standard curve การตรวจด้วยวิธี ELISA ไม่สามารถแยกโปรตีนที่ถูกทำลายด้วยความร้อนได้เช่นกัน เนื่องจากการเกิด oligomerisation จากความร้อน จะทำให้ปริมาณที่วัดได้มากกว่าความเป็นจริง (Rumbo *et al.*, 1996)

2. Single radial immunodiffusion (sRID) เป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้ในการอ้างอิง วิธีการจะใส่ตัวอย่างลงในหลุมของเนื้อวุ้น ซึ่งมีแอนติบอดีต่อ bovine IgG แอนติเจนในตัวอย่างจะแพร่ผ่านเนื้อวุ้น เกิดเป็น precipitation ring ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ precipitation ring ที่ได้จะนำมาเทียบกับ standard curve ที่ได้จาก bovine IgG ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน การวัดระดับ IgG ด้วยวิธีนี้จะไม่เกิดความผิดพลาดจาก oligomers ในนมที่ผ่านความร้อน เนื่องจากโครงสร้าง oligomers เคลื่อนตัวได้ช้ากว่าโครงสร้างแบบ monomers ไม่เกิดการขัดขวางการเคลื่อนตัวของ IgG แต่ความผิดพลาดจากการตรวจด้วยวิธีนี้สามารถเกิดขึ้นได้ ในกรณีที่ antiserum หรือ standard ที่ใช้เป็น IgG ที่ไม่จำเพาะ (Li-Chan and Kummer, 1997) ต่อ IgG ในตัวอย่าง โดยปกติแล้วในนม น้ำเหลือง และนมปกติของโคจะมี IgG₁ มากกว่า IgG₂ มีสัดส่วนประมาณ 90:10 และในเลือดจะอยู่ที่ประมาณ 55:45 (Butler, 1969c) ซึ่ง standard ที่ขายอยู่ในท้องตลาดมักสกัดด้วยวิธี salt fractionation หรือ ion-exchange chromatography และผลที่ได้ส่วนมากจะเป็น IgG₂ รวมถึง antiserum ที่เป็น IgG₂ จะทำให้การวัดระดับได้สูงกว่าความเป็นจริง (IDBiotech, n.d.) ความผิดพลาดที่เกิดขึ้นได้อีกอย่างจากการวัดระดับ IgG ด้วยวิธี sRID เกิดจากการสร้าง standard curve เนื่องจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง

ของ precipitation ring ของ standard เมื่อนำมาสร้างกราฟ อาจจะต้องพิจารณาว่าจะควรใช้ log-log regression หรือ linear regression ซึ่งจะแตกต่างกันไปแล้วแต่บริษัทผู้ผลิต (Collin *et al.*, 2002)

3. Surface Plasmon Resonance เป็นวิธีที่ให้โปรตีนเข้าจับกับแอนติบอดีซึ่งเคลือบอยู่บน sensor surface และจะวัดการสะท้อนที่เกิดขึ้น (refractive index) เทียบกับ standard ผลของ refractive index จะแสดงให้เห็นได้ทันที วิธีนี้สามารถใช้ได้กับน้ำนมที่ผ่านความร้อน แต่ข้อเสียของวิธีนี้ คืออุปกรณ์มีราคาแพง

3. Physical techniques

Physical techniques เป็นการวัดระดับโปรตีนรวมเพื่ออ้างอิงถึงระดับ Ig โดยใช้หลักของความสัมพันธ์ระหว่าง physical parameter เช่น ความหนาแน่น, ความถ่วงจำเพาะ และ ความขุ่น กับ ความเข้มข้นของ Ig

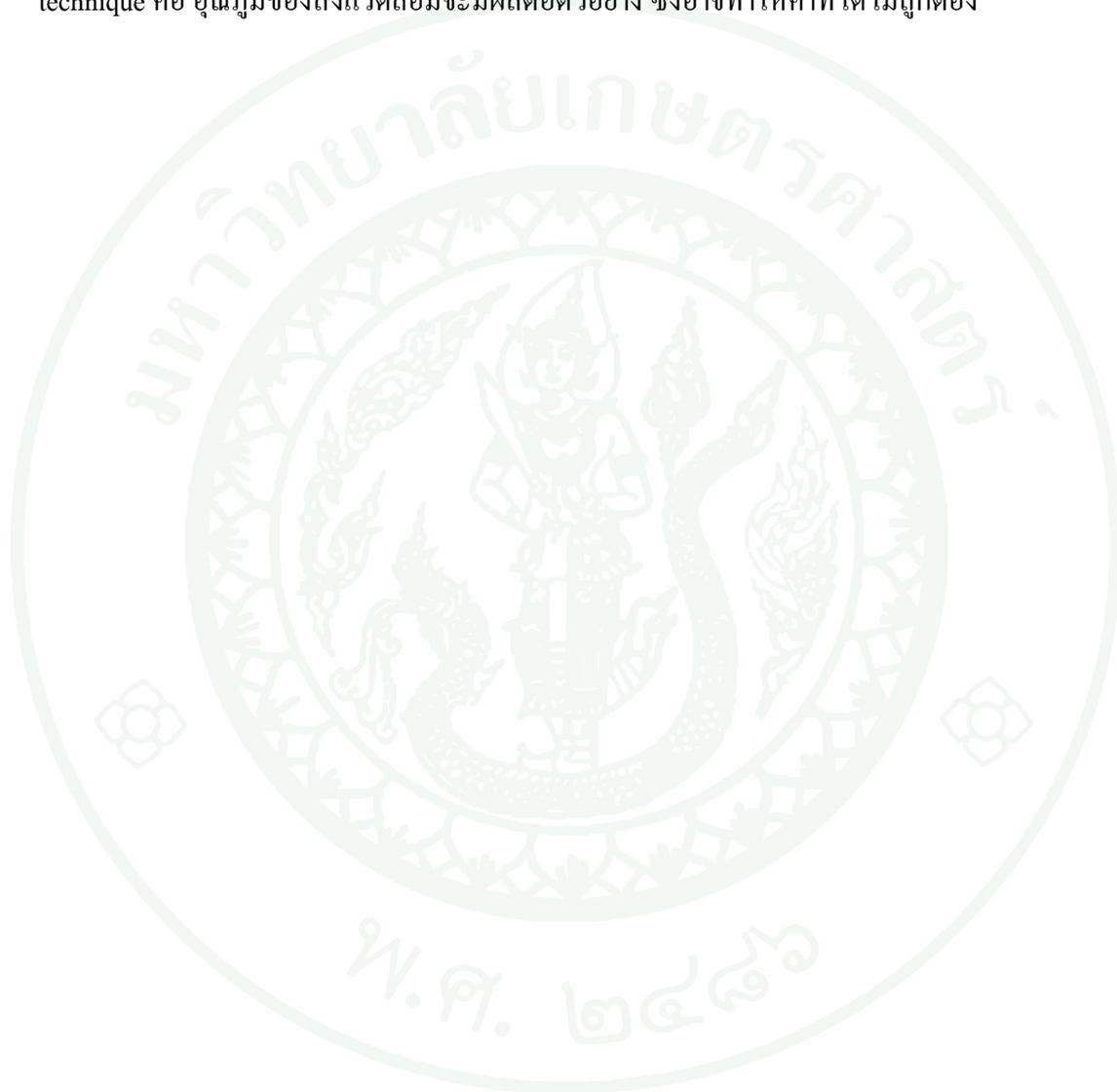
1. Hydrometer เป็นวิธีในการวัดระดับ Ig จากการอ้างอิงจากความถ่วงจำเพาะ มีการพัฒนาหลักการนี้มาเป็นเครื่องมือที่เรียกว่า colostrometer สำหรับใช้ในฟาร์ม เพื่อเป็นการประเมินคุณภาพของนม น้ำเหลืองก่อนที่จะให้แก่ลูกโค (Fleenor and Stott, 1980a)

2. Zinc sulphate turbidity reaction (ZST) ใช้หลักการการทำปฏิกิริยาของ Ig กับ zinc sulfate ความขุ่นที่เกิดขึ้นจะถูกวัดด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 590 nm นำมาเปรียบเทียบกับ standard curve

3. Glutaraldehyde coagulation test จะอ้างอิงระดับ Ig จากการเกิด coagulation ของ glutaraldehyde กับ Ig ระยะเวลาที่เริ่มเกิดปฏิกิริยาการจับตัวเป็นก้อนจะนำมาเปรียบเทียบกับ ปริมาณมาตรฐาน

4. Refractometer เป็นการวัดระดับโปรตีนในซีรัม นำมาอ้างอิงถึงระดับ Ig (Sedlinska *et al.*, 2005) เนื่องจากในช่วง 1-7 วันแรกหลังคลอด Ig จะเป็นส่วนประกอบหลักของโปรตีนใน กระแสเลือดของลูกโค (Nocek *et al.*, 1984; Quigley, 2001) และจากการศึกษาของ Bagger and Eriksen ในปี 2003 พบว่าระดับโปรตีนในซีรัมมีความสัมพันธ์กับ IgG ในเลือดของลูกโค การวัด

ระดับโปรตีนในซีรัมจะใช้ refractometer ซึ่งอาศัยหลักการเปลี่ยนของ light refraction index การใช้วิธีนี้ถูกแนะนำให้ใช้ในการประเมินระดับภูมิคุ้มกันที่ถูกละเมิดได้ เนื่องจากทำได้ง่าย ประหยัด การวัดระดับโปรตีนในซีรัมเพื่ออ้างอิงถึงระดับ Ig ในเลือดมี sensitivity: 94.11, specificity: 83.30 and predictive value: 88 (Sedlinska *et al.*, 2005) ข้อเสียของการใช้ physical technique คือ อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมจะมีผลต่อตัวอย่าง ซึ่งอาจทำให้ค่าที่ได้ไม่ถูกต้อง



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับการเก็บตัวอย่างเลือดและนม น้ำเหลือง
 - 1.1 เข็มเบอร์ 18 ขนาด 1.5 นิ้ว และเข็มเบอร์ 20 ขนาด 1 นิ้ว
 - 1.2 กระบอกฉีดขนาด 5 มิลลิลิตร
 - 1.3 หลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด
 - 1.4 Microtube สำหรับเก็บซีรัม
 - 1.5 Centrifuge
 - 1.6 ขวดเปล่าขนาด 350 และ 30 มิลลิลิตร
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บข้อมูลลูกโคและแม่โค
 - 2.1 แบบสอบถาม
 - 2.2 สายวัดน้ำหนักโค
 - 2.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก
3. อุปกรณ์สำหรับการวัดระดับ IgG ด้วยวิธี Single radial immunodiffusion (sRID)
 - 3.1 Sodium barbital
 - 3.2 Barbital
 - 3.3 Sodium azide
 - 3.4 Deionized water
 - 3.5 Agarose gel
 - 3.6 Rabbit anti-bovine IgG
 - 3.7 Bovine IgG standard

4. อุปกรณ์สำหรับวัด Total immunoglobulin ในนม น้ำเหลือง และวัดระดับโปรตีนในซีรัม

4.1 Colostrometer

4.2 Refractrometer



วิธีการ

1. การสุ่มคัดเลือกฟาร์ม

ทำการสุ่มคัดเลือกฟาร์ม โคนมรายย่อยที่อยู่ในความดูแลของโรงพยาบาลสัตว์กำแพงแสน และหนองโพ ซึ่งอยู่ในเขตจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และนครปฐม จำนวนทั้งหมด 40 ฟาร์ม เพื่อขออนุญาตจากเจ้าของฟาร์มในการทำการเก็บตัวอย่าง มีฟาร์มยินยอมให้เข้าเก็บตัวอย่างทั้งหมด 22 ฟาร์ม จำนวน 51 ตัวอย่าง เป็นฟาร์มในเขตจังหวัดราชบุรี 5 ฟาร์ม จำนวน 10 ตัวอย่าง จังหวัดกาญจนบุรี 9 ฟาร์ม จำนวน 21 ตัวอย่าง และนครปฐม 8 ฟาร์ม จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยให้เจ้าของฟาร์มโทรแจ้งเมื่อมีแม่โคคลอด

2. การเก็บตัวอย่างภายในฟาร์ม

2.1 แม่โคจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดและน้ำนม ทั้งหมด 5 ครั้ง คือ วันแรกหลังคลอด วันที่ 1, 2, 7 และ 14 หลังคลอด โดยวันแรกหลังคลอด วันที่ 1 และ 2 หลังคลอด จะเป็นตัวอย่างนม น้ำเหลือง และวันที่ 7 และ 14 หลังคลอด จะเป็นตัวอย่างน้ำนม ส่วนการเก็บตัวอย่างเลือดจากแม่โค ทั้ง 5 ครั้ง จะเก็บครั้งละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำไปปั่นโดยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2500 รอบ/นาที ภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่างเพื่อแยกเอาแต่ซีรัม ซีรัมที่ได้เก็บไว้ที่ -20°C เพื่อรอทำการวิเคราะห์ภายหลัง ตัวอย่างน้ำนมในวันแรกในช่วงหลังคลอด หลังคลอด 1 และ 2 วันจะเก็บ 350 มิลลิลิตร และในวันที่ 7 และ 14 จะเก็บ 30 มิลลิลิตร แต่ตัวอย่างน้ำนมทั้ง 5 ครั้ง จะถูกเก็บไว้ที่ -20°C ปริมาณ 30 มิลลิลิตร เพื่อการวิเคราะห์ภายหลัง

2.2 ลูกโคจะถูกเก็บตัวอย่างเลือด ทั้งหมด 5 ครั้ง คือ วันแรกหลังคลอดก่อนที่ลูกโคจะได้รับนม น้ำเหลือง หลังคลอด 1, 2, 7 และ 14 วัน ตัวอย่างเลือดที่เก็บจากลูกโคจะเก็บครั้งละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำไปปั่นโดยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2500 รอบ/นาที ภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่างเพื่อแยกเอาแต่ซีรัม ซีรัมที่ได้เก็บไว้ที่ -20°C เพื่อรอทำการวิเคราะห์ภายหลัง

2.3 ทำการเก็บข้อมูลฟาร์มในส่วนข้อมูลทั่วไปของฟาร์ม การจัดการแม่โคก่อนคลอด การจัดการลูกโคหลังคลอดของฟาร์ม ข้อมูลเฉพาะของแม่โค และข้อมูลลูกโค ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อระดับอิมมูโนโกลบูลินที่ลูกได้รับต่อไป

3. การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

3.1 ตัวอย่างน้ำนมจากการเก็บครั้งที่ 1, 2 และ 3 จะถูกนำมาวิเคราะห์หาระดับ total immunoglobulin (total Ig) ด้วย colostrometer (Biogenics, 1980) นำมาแบ่งตามคุณภาพโดยใช้เกณฑ์ 50 mg/ml (Fleenor and Stott, 1980b) ถ้านมมีน้ำเหลืองวัดระดับ total IgG ได้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 mg/ml จะถือว่าคุณภาพไม่ดี และถ้าวัดระดับ total IgG ได้มากกว่า 50 mg/ml จะถือว่าคุณภาพดี ตัวอย่างน้ำนมที่เก็บมาทั้ง 5 ครั้ง จะนำมาวิเคราะห์ระดับ immunoglobulin G (IgG) ด้วยวิธี single radial immunodiffusion (sRID)

3.2 ตัวอย่างซีรัมของแม่โคจะถูกนำมาวิเคราะห์หาระดับ IgG ด้วยวิธี sRID

3.3 ตัวอย่างซีรัมของลูกโคจะถูกนำมาวิเคราะห์หาระดับ โปรตีนในซีรัมด้วย refractrometer และหาระดับ IgG ด้วยวิธี sRID

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

4.1 ระดับโปรตีนในซีรัม total Ig และ IgG จะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา และหาความแปรปรวนในการวัดซ้ำด้วยวิธี repeated measure ANOVA

4.2 ระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคที่ได้รับนมมีน้ำเหลืองคุณภาพต่างกันจะถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้ t-test

4.3 นำผลลัพธ์ที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน จำนวน 13 ตัวแปร เช่น จำนวนวันพักท้อง (พักท้องน้อยกว่า 60 วัน หรือพักท้องเท่ากับหรือมากกว่า 60 วัน) ระยะเวลาที่แม่โคตั้งท้อง (ตั้งท้องน้อยกว่า 275 วัน หรือตั้งท้องมากกว่าหรือเท่ากับ 275 วัน) สภาวะการคลอดของแม่โค (คลอดปกติหรือคลอดยาก) น้ำหนักแรกคลอดของลูกโค (น้อย

กว่าหรือเท่ากับ 20 กิโลกรัม หรือมากกว่า 20 กิโลกรัม) วิธีการให้นมน้ำเหลือง (ขวด หรือ ถัง) อายุ ลูกโคเมื่อได้รับนมน้ำเหลืองครั้งแรก (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 6 ชั่วโมง หรือมากกว่า 6 ชั่วโมง) ความรู้ ของเกษตรกรต่อปริมาณที่นมน้ำเหลืองที่ต้องให้ลูกโคแรกคลอด (กำหนดปริมาณให้กิน 1-3 ลิตร หรือให้กินจนกว่าลูกโคจะอิ่ม) ระยะเวลาตั้งแต่คลอดถึงลูกโคลุกยืน (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 3 ชั่วโมง หรือมากกว่า 3 ชั่วโมง) คุณภาพนมน้ำเหลืองจากการวัดโดย colostrometer (คุณภาพดี หรือคุณภาพ ไม่ดี) ระดับ IgG ที่วัดได้จากวิธี sRID (IgG น้อยกว่า 50 mg/ml หรือ IgG มากกว่าหรือเท่ากับ 50 mg/ml) ปริมาณนมน้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับในครั้งแรก (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ลิตร หรือมากกว่า 2 ลิตร) เพศของลูกโค (ผู้หรือเมีย) และช่วงเวลาที่ลูกเกิด (เช้า ตั้งแต่ 6.00-18.00 หรือ กลางคืน ตั้งแต่ 18.00-6.00) โดยมีการกำหนดระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน ไว้ที่ 50 mg/ml ลูกโคอายุ 1 วัน ที่มี ระดับ IgG มากกว่า 50 mg/ml ถือว่าเป็นลูกโคที่ได้รับ IgG สูง และลูกโคที่มีระดับ IgG น้อยกว่า 50 mg/ml ถือว่าเป็นลูกโคที่ได้รับ IgG ต่ำ จากนั้นทำโดยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Stata version 8.2 (2003) ด้วยวิธี Unconditional logistic regression ซึ่งกำหนดค่า $P < 0.1$ นำปัจจัย ดังกล่าวที่มีนัยสำคัญมาทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Multiple logistic regression เพื่อศึกษาถึงค่า Odds ของโมเดลของปัจจัยเหล่านั้น

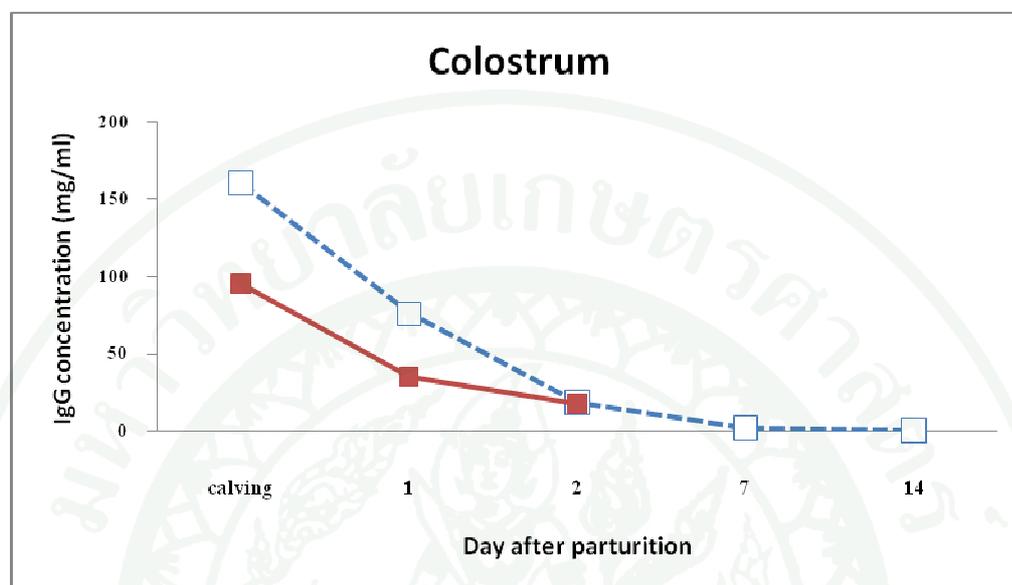
ผลและวิจารณ์

1. ระดับ Immunoglobulin G (IgG) ในนมแม่เหลืองและซีรัม

การตรวจวิเคราะห์นมแม่เหลืองในการศึกษานี้ใช้วิธีการตรวจ 2 วิธี คือ การตรวจด้วยวิธี Single radial immunodiffusion (sRID) ซึ่งให้ผลเป็นระดับ IgG ในนมแม่เหลือง และการวิเคราะห์นมแม่เหลืองด้วย colostrometer ซึ่งจะให้ผลเป็นระดับ total immunoglobulin (total Ig) แต่จากการที่ระดับ IgG มีปริมาณมากที่สุด ในนมแม่เหลืองเมื่อเทียบกับ Igs ตัวอื่น (Husband *et al.*, 1972) ดังนั้นจึงให้ถือว่าระดับ IgG แสดงผลได้เหมือนกับ total Ig จากการศึกษาคั้งนี้ทั้ง 2 วิธี พบว่า ระดับ IgG จากการวัดด้วย sRID ในวันคลอด วันที่ 1, 2, 7 และ 14 หลังคลอด เท่ากับ 161.11 ± 5.01 , 76.53 ± 5.01 , 19.28 ± 5.01 , 2.81 ± 5.11 และ 0.97 ± 3.56 mg/ml เมื่อตรวจด้วย colostrometer ในวันคลอด วันที่ 1 และ 2 หลังคลอด เท่ากับ 96.08 ± 3.56 , 35.88 ± 3.56 และ 18.24 ± 3.56 mg/ml ระดับ IgG สูงที่สุดในวันคลอด และจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 และ 2 หลังคลอด วันที่ 7 และ 14 หลังคลอดระดับ IgG ในนมแม่เหลืองจะมีค่าน้อยมาก ($P < 0.01$) (ภาพที่ 5) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Foley and Otterby (1978); Hostetler *et al.* (2003) ซึ่งพบว่านมแม่เหลืองจากการรีดครั้งแรกหลังคลอดจะมีระดับ IgG มากที่สุด และจะลดลงตามจำนวนครั้งในการรีด แต่พบว่าระดับ IgG ในวันคลอดจากการวิเคราะห์ด้วย sRID ในการศึกษาคั้งนี้วัดได้มีค่าสูงกว่าที่เคยมีการรายงานมา ซึ่งอยู่ที่ประมาณ 50 mg/ml (Foley and Otterby, 1978; Hostetler *et al.*, 2003; Wheeler *et al.*, 2007b) ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Hurley (2003) ซึ่งรายงานว่าระดับ IgG ในนมแม่เหลืองจะอยู่ที่ประมาณ 32-212 mg/ml สาเหตุที่ทำให้ระดับ IgG ในนมแม่เหลืองในการศึกษาคั้งนี้สูงกว่าที่เคยมีรายงานมา อาจเนื่องมาจากโคที่ทำการศึกษา ไม่ได้มีการตรวจสอบสุขภาพก่อนทำการศึกษา โคที่เป็นโรคแฝงอยู่ เช่น bovine leukemia virus (BLV) หรือการป่วยด้วยโรคอื่นๆ ในช่วงตั้งท้อง ซึ่งทำให้มีการผลิต Ig ที่มากกว่า

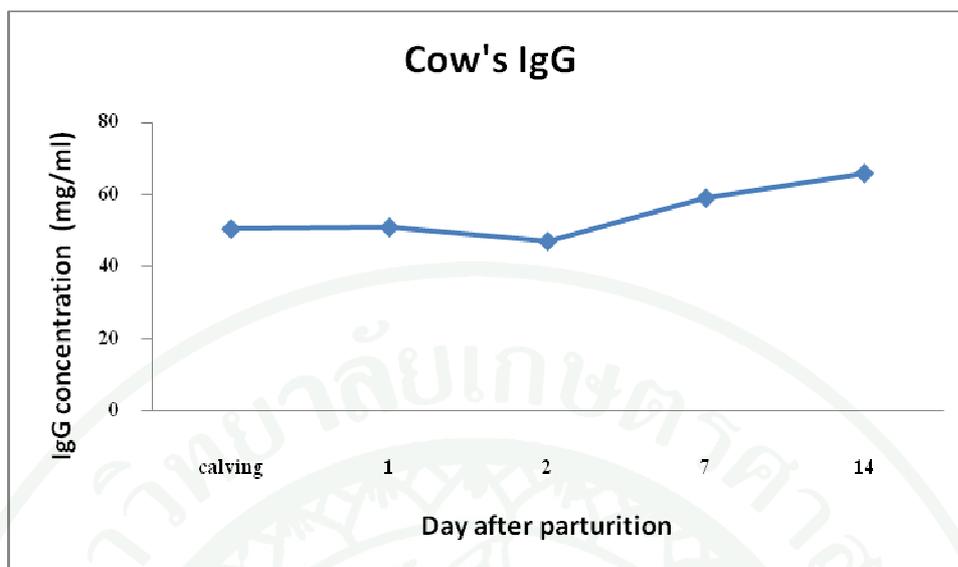
ระดับของ IgG ที่วัดได้จาก sRID พบว่าสูงกว่าระดับที่วัดได้จาก colostrometer เป็นผลมาจากค่าสูงสุดที่ colostrometer สามารถวัดได้จำกัดอยู่ที่ 140 mg/ml ในกรณีที่ colostrometer หยดที่ตำแหน่งมากกว่า 140 mg/ml การบันทึกผลจะถือว่าเป็น 140 mg/ml เท่านั้น ในขณะที่ sRID เป็นการวัดปริมาณที่แท้จริงของ IgG จึงได้ค่าที่สูงกว่า และจากกราฟจะแสดงให้เห็นว่าข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วย colostrometer จะมีเพียง 3 ครั้งแรก เนื่องจากข้อจำกัดของ colostrometer ที่จะสามารถ

ใช้ได้กับนมน้ำเหลืองเท่านั้น และระดับต่ำสุดที่ colostrometer สามารถวัดได้อยู่ที่ 10 mg/ml (Biogenics, 1980)



ภาพที่ 5 ระดับ immunoglobulin G และ total Ig ในน้ำนม ทำการวิเคราะห์ด้วย single radial Immunodiffusion (□; n=51) และ colostrometer (■; n=51)

ระดับ IgG ในซีรัมของแม่โคในวันคลอด วันที่ 1, 2, 7 และ 14 หลังคลอด เท่ากับ 51.49 ± 3.42 , 50.94 ± 3.82 , 47.08 ± 3.82 , 58.97 ± 3.82 และ 65.78 ± 3.82 mg/ml พบว่า ระดับ IgG ในซีรัมของแม่โคใน 3 วันแรกหลังคลอดไม่มีความแตกต่างกัน แต่จะแตกต่างกับวันที่ 7 และ 14 หลังคลอด ($P < 0.01$) โดยในวันที่ 7 และ 14 หลังคลอดระดับ IgG ในซีรัมของแม่โคจะเพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 6 การเพิ่มขึ้นของ IgG ในซีรัมนี้น่าจะเป็นผลมาจาก ในช่วงระหว่างการคลอดจะมีการขนส่ง IgG จากกระแสเลือดเข้าสู่ secretory epithelial cells และกระบวนการนี้จะหยุดในช่วง 2 วันหลังคลอด (Delouis, 1978a) ทำให้ในช่วง 3 วันแรกของการเก็บตัวอย่าง ซึ่งเป็นช่วงที่มีการขนส่ง IgG จากกระแสเลือดเข้าสู่ secretory cells จะมี IgG ในกระแสเลือดต่ำกว่าในช่วง 7 และ 14 วันหลังคลอด ระดับ IgG ของแม่โคช่วงวันแรกหลังคลอด ในการศึกษาที่สูงกว่าที่เคยมีการรายงานไว้ในการศึกษาของ Hurley (2003); Wheeler *et al.* (2007b)



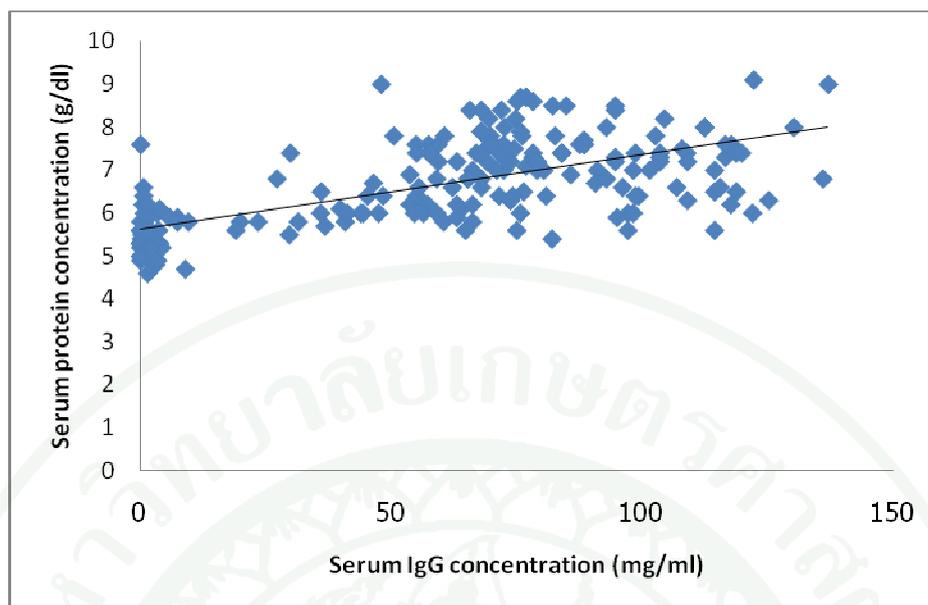
ภาพที่ 6 ระดับ immunoglobulin G ในซีรัมแม่โคจากการตรวจด้วย single radial immunodiffusion (n = 51)

ระดับ IgG ในซีรัมของลูกโค ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี sRID (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่า ลูกโคแรกคลอดก่อนได้รับนมน้ำเหลืองจะอยู่ในสภาวะ hypoglobulinemia แต่จะมีระดับ IgG เพิ่มขึ้นหลังได้รับนมน้ำเหลืองที่อายุ 1 และ 2 วัน ต่างจากการศึกษาของ Hopkins and Quigley (1997) ที่พบว่า ระดับ IgG ในซีรัมของลูกโคที่อายุ 2 วันจะต่ำกว่าที่อายุ 1 วัน ในการศึกษาพบว่าระดับ IgG ในซีรัมลูกโคจะลดลงเมื่ออายุ 7 และ 14 วัน แต่การเปลี่ยนแปลงระดับ IgG ของลูกโคที่อายุ 1, 2, 7 และ 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Hancock ในปี 1985a ที่พบว่าระดับ Ig ของลูกโคช่วงอายุสัปดาห์แรกสัมพันธ์กับระดับ Ig ในช่วงอายุ 2 สัปดาห์ แต่เมื่อมาพิจารณาข้อมูลจากการศึกษานี้ จะพบว่าเมื่อลูกโคอายุ 7 วัน ระดับ IgG จะเริ่มลดลง และจะยังคงพบการลดลงของ IgG ในซีรัมลูกโคที่อายุ 14 วัน ผลที่พบสอดคล้องกับการศึกษาของ Husband et al. (1972); Guk et al. (2003) ซึ่งพบว่าระดับ IgG ในซีรัมของลูกโคก่อนได้รับนมน้ำเหลืองจะอยู่ในระดับที่ต่ำมาก เมื่อได้รับนมน้ำเหลือง IgG ในซีรัมของลูกโคจะขึ้นสูงที่สุดเมื่ออายุประมาณ 18-30 ชั่วโมง และเมื่อลูกโคอายุ 7 วัน ระดับ IgG จะเริ่มลดลง และกลับเพิ่มอีกครั้งที่อายุประมาณ 16 วัน ในช่วงที่ระดับ IgG ลดลง เชื่อว่าเป็นผลมาเริ่มมีการสลายของ IgG ที่ถูกดูดซึมจากนมน้ำเหลือง และเริ่มมีการสร้าง Ig ของตัวลูกโคเอง (Husband et al., 1972; Guk et al., 2003; Ishikawa and Konishi, 1982)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยระดับ Immunoglobulin G ในซีรัมของลูกโค จากการเก็บตัวอย่างวันคลอด วันที่ 1, 2, 7 และ 14 หลังคลอด ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี single radial immunodiffusion

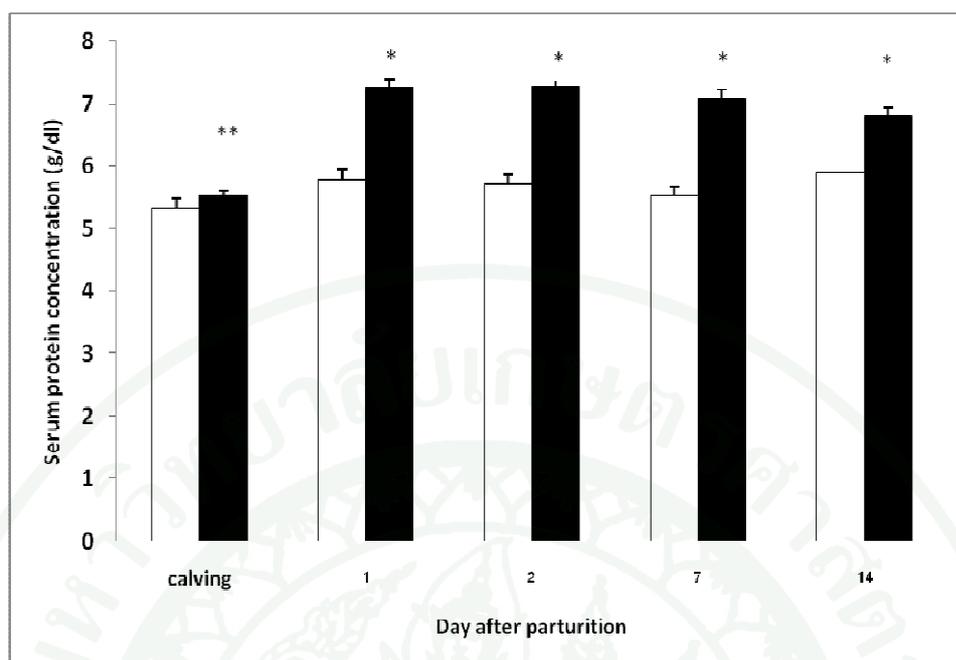
	Age (day)	N	Mean	SEM
IgG	calving	50	1.10	0.17
	1	51	75.45	4.41
	2	51	77.57	4.02
	7	34	68.35	4.72
	14	28	67.07	5.46
Serum protein	calving	50	5.50	0.74
	1	51	7.01	0.12
	2	51	7.02	0.14
	7	33	6.89	0.16
	14	28	6.75	0.12

ระดับของโปรตีนในซีรัมของลูกโคแสดงผลที่เป็นไปในทางเดียวกันกับระดับ IgG ในซีรัมของลูกโค (ตารางที่ 3) โดยพบว่า ระดับโปรตีนในซีรัมหลังคลอดก่อนได้รับนมแม่เหลืองจะมีค่าต่ำที่สุด หลังจากลูกโคได้รับนมแม่เหลืองแล้ว ระดับโปรตีนในซีรัมจะสูงขึ้น และเริ่มลดลงเมื่อลูกโคอายุ 7 วันจนกระทั่งลูกโคอายุ 14 วัน และจากภาพที่ 7 แสดงให้เห็นว่าระดับ IgG ในซีรัมของลูกโคสามารถทำนายระดับโปรตีนในซีรัมลูกโคได้ 44% (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่าง immunoglobulin G ในซีรัมลูกโค และระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโค ($R^2 = 0.444$)

จากการวิเคราะห์นม น้ำเหลืองด้วย colostrometer จะสามารถแบ่งนม น้ำเหลืองตามคุณภาพได้เป็น 2 กลุ่ม คือ นม น้ำเหลืองคุณภาพดีและไม่ดี โดยใช้ระดับ 50 mg/ml เพื่อแบ่งคุณภาพนม น้ำเหลือง (Fleenor and Stott, 1980b; Biogenics, 1980) และเมื่อพิจารณาถึงระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคของทั้ง 2 กลุ่ม (ภาพที่ 6) พบว่า ลูกโคอายุ 1, 2, 7 และ 14 วัน ที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีจะมีระดับโปรตีนในซีรัมเฉลี่ย เท่ากับ 7.29 ± 0.15 , 7.33 ± 0.13 , 7.11 ± 0.17 และ 6.90 ± 0.12 g/dl และลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีมีระดับโปรตีนในซีรัมเฉลี่ย เท่ากับ 5.98 ± 0.15 , 5.91 ± 0.16 , 5.92 ± 0.16 และ 6.08 ± 0.13 g/dl ซึ่งระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกัน ($P < 0.01$) (ภาพที่ 8) สอดคล้องกับการศึกษาของ Nocek et al. (1984); Stott and Fellah (1983) ที่พบว่าลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองที่มีระดับ Ig มากกว่าจะมีระดับโปรตีนในซีรัมที่มากกว่า



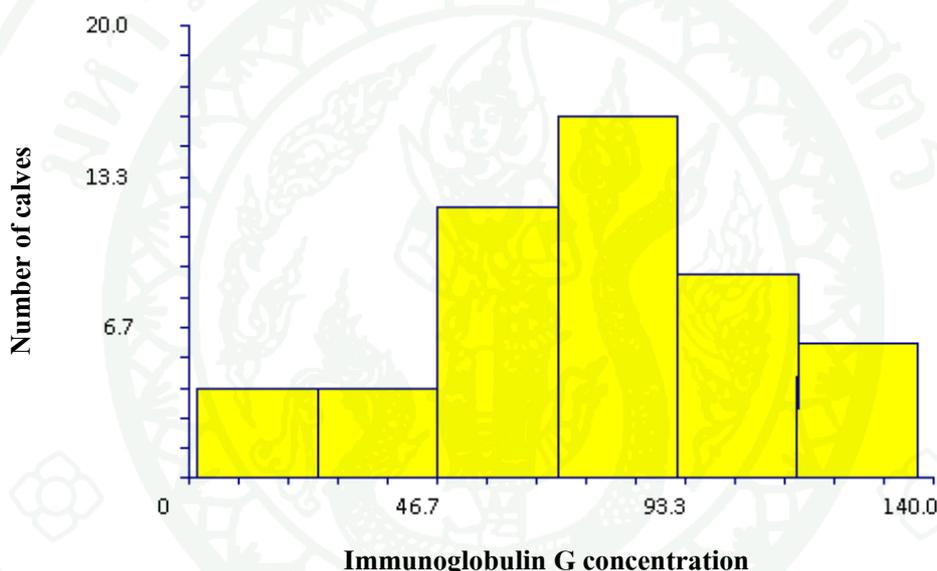
ภาพที่ 8 ระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโค แบ่งตามกลุ่มลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดี (□ ; n=8) และคุณภาพดี (■ ; n=43)

หมายเหตุ * = $P < 0.01$, ** = $P < 0.05$

เมื่อพิจารณาถึงระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคที่เพิ่มขึ้น (ระดับโปรตีนในซีรัมวันคลอดก่อนได้รับนม น้ำเหลือง - ระดับโปรตีนในซีรัมที่ลูกโคอายุ 1 วัน) พบว่า ระดับโปรตีนในซีรัมที่เพิ่มขึ้นจะแตกต่างกันระหว่างกลุ่มลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีและไม่ดี ($P < 0.01$) โดยลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดี จะมีระดับโปรตีนในซีรัมเพิ่มขึ้น 0.89 mg/ml และลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีจะมีระดับโปรตีนในซีรัมเพิ่มขึ้น 1.63 mg/ml สอดคล้องกับการศึกษาของ Nocek *et al.* (1984); Stott and Fellah (1983) ที่พบว่าลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองที่มี Ig มากกว่าจะมีระดับโปรตีนในซีรัมที่มากกว่า และการศึกษากครั้งนี้พบว่าระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีมากกว่าลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดี มีผลอยู่จนกระทั่งลูกโคอายุ 14 วัน เช่นเดียวกับที่ Nocek *et al.* (1984); Jones *et al.* (2004) ทำการศึกษาพบว่า นม น้ำเหลืองหรืออาหารแทนนมที่คุณภาพต่างกันจะทำให้ลูกโคมีระดับโปรตีนในซีรัมต่างกันตั้งแต่หลังได้รับนม น้ำเหลืองจนถึงอายุประมาณ 2-3 สัปดาห์

2. ปัจจัยที่มีผลต่อระดับ Immunglobulin G (IgG) ในลูกโคหลังได้รับนมแม่เหลือง

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ในซีรัมลูกโคหลังได้รับนมแม่เหลือง จะทำการศึกษาระดับ IgG ในซีรัมของลูกโคที่อายุ 1 วัน โดยปกติในต่างประเทศแล้ว ระดับ IgG ของลูกโค 10 mg/ml จะถือว่าลูกโคได้รับ Ig จากนมแม่เหลืองเพียงพอ แต่ในการศึกษานี้ลูกโคที่มีระดับ IgG ในช่วงอายุ 1 วันต่ำกว่า 10 mg/ml มีเพียง 3 ตัว ดังนั้นการนำมาศึกษาหาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโค จะไม่สามารถหาค่า odd ratio จากปัจจัยที่ศึกษาได้ ดังนั้นจึงทำการแจกแจงข้อมูลโดยใช้ histogram (ภาพที่ 9) เพื่อใช้ในการแบ่งกลุ่มระดับ IgG ของลูกโคที่อายุ 1 วัน



ภาพที่ 9 การกระจายตัวของระดับ Immunoglobulin G ของลูกโคที่อายุ 1 วัน

จากการกระจายตัวของข้อมูลระดับ IgG ในลูกโคอายุ 1 วัน ทำให้แบ่งกลุ่มลูกโคเป็น 2 กลุ่ม คือ ลูกโคที่มีระดับ IgG ในซีรัมที่อายุ 1 วัน ต่ำกว่า 50 mg/ml จัดเป็นกลุ่มลูกโคที่ได้รับ IgG ต่ำ และลูกโคที่มี IgG ในซีรัมที่อายุ 1 วัน สูงกว่า 50 mg/ml จัดเป็นกลุ่มลูกโคที่ได้รับ IgG สูง ปัจจัยแต่ละตัวที่สนใจนำไปวิเคราะห์ด้วย unconditional logistic regression เพื่อหาปัจจัยที่มีนัยสำคัญที่จะ โดยกำหนดค่า $P=0.1$ เพื่อที่จะไปคำนวณในสมการสุดท้ายด้วยวิธี multivariate logistic regression model อีกครั้ง ผลของ unconditional logistic regression แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี unconditional logistic regression

Factors	Odd ratio	P value
Dryday		
< 60 days	6.5	0.19
≥ 60 days	1.0	-
G_period		
< 275 days	1.1	0.92
≥ 275 days	1.0	-
Par		
Normal parturition	1.0	-
Dystocia	1.1	0.92
Birth weight		
≤ 20 kg	1.71	0.56
>20 kg	1.0	-
Feeding tool		
Bottle	1.0	-
Bucket	6.68	0.09
Feedingtimegroup		
≤ 6 hours	1.0	-
> 6 hours	5.85	0.05
C_quantity		
1-3 litre	1.0	-
Up to calves	3.14	0.19
Stand		
≤ 6 hours	0.2	0.15
> 6 hours	1.0	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Factors	Odd ratio	P value
Quality		
Low quality	5.14	0.05
High quality	1.0	-
Consume1		
≤ 2 litres	3.78	0.1
> 2 litres	1.0	-
M_IgG1		
≤ 50 mg/ml	14.0	0.04
> 50 mg/ml	1.0	-
Sex		
Male	0.5	0.44
Female	1.0	-
Time		
6.00-18.00	3.75	0.24
18.00-6.00	1.0	-

หมายเหตุ Daydry = จำนวนวันพักท้อง, G_period = ระยะเวลาที่แม่โคตั้งท้อง, Par = สภาพการคลอดของแม่โค, Birth weight = น้ำหนักแรกคลอดของลูกโค, Feeding tool = วิธีการให้นมน้ำเหลือง, Feedingtimegroup = อายุลูกโคเมื่อได้รับนมน้ำเหลืองครั้งแรก, C_quantity = ความรู้ของเกษตรกรต่อปริมาณที่นมน้ำเหลืองที่ต้องให้ลูกโคแรกคลอด, Stand = ระยะเวลาตั้งแต่คลอดถึงลูกโคลุกขึ้น, Quality = คุณภาพนมน้ำเหลืองจากการวัดโดย colostrometer, Consume1 = ปริมาณนมน้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับในครั้งแรก, M_IgG1 = ระดับ IgG ที่วัดได้จากวิธี sRID, Sex = เพศของลูกโค, Time = ช่วงเวลาที่ลูกเกิด

จากการวิเคราะห์ปัจจัยเดี่ยวแต่ละปัจจัยพบว่า จำนวนวันพักท้อง ระยะเวลาที่แม่โคตั้งท้อง สภาพการคลอดของแม่โค น้ำหนักแรกคลอดของลูกโค ความรู้ของเกษตรกรต่อปริมาณนม

น้ำเหลืองที่ต้องให้ลูกโคแรกคลอด ระยะเวลาตั้งแต่คลอดถึงลูกโคลุกยืน เพศของลูกโค และช่วงเวลาที่ลูกเกิดไม่มีนัยสำคัญ ต่างจากการศึกษาที่เคยมีรายงานมา ซึ่งพบว่า ภาวะการคลอดยากของแม่โค น้ำหนักแรกคลอดของลูกโค เพศของลูกโคเป็นปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโค (Andrews, 2000; Donovan, 1986; Godson et al., 2003; Perino et al., 1995; Selk, n.d.) การศึกษาที่เคยรายงานไว้ กล่าวถึง ผลของจำนวนวันพักท้องต่อระดับ IgG ในนม น้ำเหลืองมากกว่าระดับ IgG ที่ลูกโคได้รับ โดยพบว่าโคที่พักท้องนานจะทำมีระดับ IgG ในนม น้ำเหลืองสูงขึ้น (Pritchett et al., 1991; Grummer and Rastani, 2004) แต่ในบางการศึกษาพบว่าจำนวนวันพักท้องไม่ได้มีผลต่อระดับ IgG ในนม น้ำเหลือง (Watters et al., 2008) แต่ถ้าพิจารณาจากการศึกษารุ่นนี้ จะพบว่า ข้อมูลวันพักท้องที่นำมาวิเคราะห์มีเพียง 31 ตัว จากจำนวนทั้งสิ้น 51 ตัว เนื่องจากที่ข้อมูลที่เหลือเป็นกลุ่มโคสาว และกลุ่มแม่โคที่พักท้องน้อยกว่า 60 วัน มีเพียง 3 ตัวอย่าง จึงทำให้ไม่พบนัยสำคัญของจำนวนวันพักท้องต่อระดับ IgG ที่ลูกโคได้รับ

ภาวะคลอดยากที่ส่งผลต่อระดับ IgG ที่ลูกโคได้รับ เป็นผลมาจากภาวะคลอดยากส่งผลต่อความแข็งแรงของลูกโค ลูกโคกลุ่มที่กินนมจากแม่โคเอง จะพบผลของภาวะคลอดยากจะมีผลทำให้ลูกโคยืนได้ช้า กินนมได้ช้า ส่งผลให้ระดับ IgG หลังได้รับนม น้ำเหลืองต่ำ (Vermorel et al., 1989) และการศึกษาของ Stott et al. (1979a,b) และ Stott and Fellah (1983) พบว่า น้ำหนักแรกเกิดของลูกโคมีผลต่อระดับ IgG เนื่องจาก IgG ที่ถูกดูดซึมแล้วจะกระจายไปสู่ น้ำเลือด ซึ่งสัมพันธ์กับน้ำหนักของลูกโค และเกณฑ์ที่ใช้แบ่งน้ำหนักของลูกโคเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้ น้ำหนักของลูกโคมีหรือไม่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโค ส่วนของความรู้ของเกษตรกรต่อปริมาณที่ต้องให้ลูกโคแรกคลอด เนื่องจากความรู้ของเกษตรกรกับปริมาณที่ลูกโคได้รับจริงนั้นมักจะไม่เท่ากัน จึงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่พบนัยสำคัญ และการที่ช่วงเวลาที่ลูกเกิดไม่พบนัยสำคัญ น่าจะเป็นผลจากในการเก็บตัวอย่าง ที่ส่วนมากจะเป็นกลุ่มลูกโคที่เกิดในช่วงเช้า และปัจจัยที่พบว่ามีนัยสำคัญต่อระดับ IgG ที่ลูกโคได้รับมี 5 ปัจจัย คือ วิธีการให้นม น้ำเหลือง อายุลูกโคเมื่อได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก คุณภาพนม น้ำเหลืองจากการวัด โดย colostrometer ระดับ IgG ที่วัดได้จากวิธี sRID และปริมาณนม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับในครั้งแรก

วิธีการให้นม น้ำเหลือง พบว่า การใช้ถังให้นมลูกโคจะทำให้ลูกโคมีโอกาสได้รับ IgG ต่ำ 6.68 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ใช้ขวดให้นม (OR = 6.68, P=0.09) ในการศึกษาที่ผ่านมาผลทั้งที่สอดคล้องและไม่สอดคล้องกับการศึกษารุ่นนี้ การศึกษาของ Filteau et al. (2003) พบว่า ลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองโดยการให้ขวดจะลดโอกาสในการที่ลูกโคจะมีระดับ IgG น้อยกว่า 10 mg/ml

โดยทำการเปรียบเทียบกับลูกโคที่ได้รับนมแม่โดยปล่อยให้ดูดจากแม่โคเอง (OR=0.1) การศึกษาของ Goddon *et al.* (2009) พบว่า การใช้ขวดให้นมจะทำให้ลูกโคมีระดับ IgG ในซีรัมสูงกว่าการใช้ esophageal tube สาเหตุมาจากการใช้ esophageal tube จะทำให้ไม่เกิดการกระตุ้น esophageal groove นมจะลงไปสู่ reticulorumen ต่างจากการป้อนด้วยขวดที่นมจะลงไปสู่ abomasum โดยตรงและเคลื่อนไปสู่ลำไส้เล็ก ทำให้เกิดการดูดซึมได้เร็วกว่า (Hopkins and Quigley, 1997; Goddon *et al.*, 2009) บางการศึกษาพบว่า การให้นมแม่ด้วยขวดหรือใช้ feeding tube จะไม่มีผลต่อการดูดซึม IgG ใน 12 ชั่วโมงแรกของลูกโค (Adam *et al.*, 1985) แต่ในการศึกษาของ Stott *et al.* (1979a); Hancock (1985b) พบว่า การให้ลูกโคได้รับนมแม่จากแม่โคจะทำให้ลูกโคมีระดับ IgG สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการให้จากขวดและถัง โดยคาดว่าน่าจะเกิดจากการที่ลูกโคสามารถเลือกกินนมจากแม่ได้บ่อยกว่าที่ต้องรอการป้อน หรือเกิดจากการดูดนมจากแม่โคเอง น่าจะมีปัจจัยบางอย่างทางชีวภาพที่กระตุ้นการดูดซึมของลูกโคให้มากขึ้น แต่อีกเหตุผลหนึ่งอาจเกิดจากการทดลองไม่ได้ควบคุมคุณภาพของนมแม่ที่จะให้แก่ลูกโค

ลูกโคที่ได้รับนมแม่ครั้งแรกช้ากว่า 6 ชั่วโมงหลังคลอด จะมีโอกาสได้รับ IgG ต่ำมากกว่ากลุ่มที่ได้รับนมแม่ภายใน 6 ชั่วโมงหลังคลอด 5.85 เท่า (OR = 5.85, P=0.05) ตามที่ Hopkins and Quigley (1997); Quigley and Drewry (1998) รายงานไว้ อายุของลูกโคเมื่อได้รับนมแม่ครั้งแรกเป็นปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ในซีรัมลูกโค ถ้าใส่จะมีการดูดซึมและขนส่งอย่างรวดเร็ว เมื่อลูกโคได้รับนมแม่ (Stott and Fellah, 1983) โดยอายุของลูกโคที่ได้รับนมแม่ครั้งแรกจะแปรผกผันกับ อัตราการดูดซึม IgG ของลูกโค Stott *et al.* (1979b) การดูดซึม IgG ของลำไส้ลูกโคหลังคลอดจะลดลง 5% ต่อชั่วโมง และจะไม่มี การดูดซึมเลยที่ 24 ชั่วโมง Bernard (2006) การศึกษาของ Matte *et al.* (1982) พบว่า ลูกโคที่ได้รับนมแม่ครั้งแรกที่ 6 ชั่วโมง จะดูดซึม IgG ได้ 65.8% ของ IgG ที่ได้รับเข้าไป และระดับ IgG ที่ถูกดูดซึมจะลดลงอย่างรวดเร็วถ้าระยะเวลาที่ได้รับนมแม่ครั้งแรกนานขึ้น แต่จะยังพบการดูดซึม IgG ได้บ้างที่ 48 ชั่วโมงหลังคลอด

เมื่อพิจารณาถึงคุณภาพนมแม่ที่วัดจาก colostrometer และระดับ IgG ที่วัดด้วยวิธี sRID พบว่า ทั้ง 2 ปัจจัย มีนัยสำคัญและถูกเลือกให้เข้าคำนวณในสมการสุดท้าย แต่เมื่อดูความสัมพันธ์ของปัจจัยทั้ง 2 พบว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างมาก (R=0.8) จำเป็นต้องเลือกเพียงปัจจัยหนึ่งเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สมการสุดท้าย และเมื่อพิจารณาแล้ว แม้ระดับ IgG ที่วัดด้วยวิธี sRID สามารถอธิบายผลต่อระดับ IgG ในซีรัมของลูกโคได้ชัดเจน แต่มีเพียง 3 ตัวอย่างที่มีระดับ

IgG น้อยกว่า 50 mg/ml จึงเลือกที่จะใช้คุณภาพของนม น้ำเหลืองจากการวัดด้วย colostrometer ในสมการสุดท้าย พบว่า ลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดี จะมีโอกาส 5.14 เท่า (OR=5.14, P=0.05) ที่ลูกโคจะได้รับ IgG ต่ำ เมื่อเทียบกับลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดี สอดคล้องกับการศึกษาของ Stott and Fellah (1983); Quigley and Drewry (1998) ที่พบว่า ความเข้มข้นของ IgG ในนม น้ำเหลืองมีผลต่ออัตราและปริมาณ IgG ที่จะถูกดูดซึม แต่มีการศึกษาที่พบว่า ถ้าใส่จะมีความอึดตัวในการดูดซึม IgG นม น้ำเหลืองมี IgG มากเกินกว่าความอึดตัวของลำไส้ ก็จะไม่สามารเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมของลำไส้ให้มากขึ้นได้ (Quigley and Drewry, 1998; Hopkins and Quigley, 1997)

ลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรกหลังคลอดน้อยกว่า 2 ลิตร จะมีโอกาส 3.78 เท่า (OR=3.78, P=0.1) ที่จะได้รับ IgG ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับลูกโคกลุ่มที่ได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรกหลังคลอดมากกว่า 2 ลิตร สอดคล้องกับการศึกษาของ Stott *et al.* (1979a,b); Andrews (2000) ที่พบว่า อัตราการดูดซึม Ig ของลูกโคขึ้นอยู่กับปริมาณนม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับ แต่การศึกษาของ Stott and Fallah (1983) พบว่าปริมาณนม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับจะไม่มีผลต่อระดับที่สามารถดูดซึมได้ ถ้าปริมาณ IgG รวมในนม น้ำเหลืองเท่ากัน ปริมาณนม น้ำเหลืองที่เพียงพอต่อการได้รับ Ig ของลูกโค นั้น มีหลายความคิดเห็น บางการศึกษา กล่าวว่า นม น้ำเหลืองปริมาณ 2 ลิตรก็เพียงพอสำหรับลูกโค Stott *et al.* (1979a,b) แต่การศึกษาของ Bernard (2006) พบว่า ลูกโคควรได้รับการได้รับนม น้ำเหลือง 2-4 ลิตร ใน 2 ชั่วโมงแรกหลังคลอด และอีก 2 ลิตร ในอีก 12 ชั่วโมงต่อมา เพื่อลูกโคจะได้รับภูมิคุ้มกันที่เหมาะสม ในบางการศึกษาจะพิจารณาร่วมกันทั้งปริมาณนม น้ำเหลือง และคุณภาพของนม น้ำเหลืองที่ให้แก่ลูกโค เนื่องจากแสดงให้เห็นถึงระดับ IgG รวมที่ลูกโคได้รับจากการกินครั้งนั้น จากการศึกษาของ Weaver *et al.* (2000) พบว่า ลูกโคควรได้รับนม น้ำเหลืองที่มี IgG รวม 100 กรัม แต่ Quigley *et al.* (2002) พบว่าควรให้ลูกโคได้รับนม น้ำเหลืองที่มี IgG รวม 150-200 กรัม เนื่องจากโดยปกติแล้วประสิทธิภาพในการดูดซึม (Apparent efficiency of absorption (AEA)) จะอยู่ที่ 20-35% IgG รวม 100 กรัมอาจจะไม่เพียงพอที่ลูกโคจะได้รับ IgG ที่เหมาะสม

เมื่อเราได้ปัจจัยที่มีนัยสำคัญต่อระดับ IgG ของลูกโค นำปัจจัยทั้งหมดมาวิเคราะห์ในโมเดลสุดท้ายด้วยวิธี multiple logistic regression โดยมีเกณฑ์ตัดสินการมีนัยสำคัญที่ P=0.1 พบว่า ในโมเดลสุดท้ายมี 2 ปัจจัย คือ คุณภาพของนม น้ำเหลืองจากการวัดด้วย colostrometer และอายุลูกโคเมื่อได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก ที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคที่อายุ 1 วัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน ในโมเดลสุดท้ายของการวิเคราะห์ด้วยวิธี multiple logistic regression

Factor	Odd ratio	P value
อายุลูกโคเมื่อได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก	5.85	0.05
คุณภาพนม น้ำเหลืองจากการวัดด้วย colostrometer	5.14	0.05

เมื่อวิเคราะห์ผลจากค่าปฏิสัมพันธ์ของทั้ง 2 ปัจจัย ต่อระดับ IgG ที่ลูกโคได้รับ ด้วยวิธี logistic regression พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 เป็นปัจจัยที่ส่งเสริมซึ่งกันและกัน โดยลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีและช้ากว่า 6 ชั่วโมงหลังคลอด จะมีโอกาสที่ได้รับ IgG ต่ำ 11 เท่า เมื่อเทียบกับลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีภายใน 6 ชั่วโมงหลังคลอด ($P < 0.05$) ส่วนลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีช้ากว่า 6 ชั่วโมงหลังคลอด และลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีภายใน 6 ชั่วโมง ไม่พบนัยสำคัญต่อระดับ IgG ที่ลูกโคได้รับ (ตารางที่ 6) แต่มีแนวโน้มที่จะเห็นพบนัยสำคัญได้ ถ้าเพิ่มจำนวนตัวอย่างของทั้ง 2 กลุ่ม ผลการศึกษาที่ได้จะมีประโยชน์ในการแนะนำการจัดการ ลูกโคหลังคลอดแก่เกษตรกร ให้เน้นที่คุณภาพของนม น้ำเหลือง และอายุของลูกโคในการได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก เพื่อหลีกเลี่ยงการที่ลูกโคจะได้รับ IgG ต่ำ

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ค่าปฏิสัมพันธ์ต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วันด้วยวิธี logistic regression

Interaction	Odds Ratio	P value
Interaction1	1.0	-
Interaction2	5.66	0.204
Interaction3	4.53	0.143
Interaction4	11.33	0.038

หมายเหตุ Interaction1 = ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีภายใน 6 ชั่วโมงหลังคลอด
 Interaction2 = ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดีช้ากว่า 6 ชั่วโมงหลังคลอด
 Interaction3 = ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีภายใน 6 ชั่วโมงหลังคลอด
 Interaction4 = ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีช้ากว่า 6 ชั่วโมงหลังคลอด

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาระดับ IgG และโปรตีนในซีรัมของลูกโคหลังได้รับนม น้ำเหลือง รวมถึงปัจจัยที่จะมีผลต่อระดับ IgG ของลูกโค พบว่า ลูกโคแรกเกิดจะอยู่ในภาวะ hypoglobulinemia และเพิ่มสูงขึ้นหลังได้รับนม น้ำเหลืองที่อายุ 1 และ 2 วัน หลังจากนั้นเมื่อลูกโคอายุ 7 และ 14 วัน ระดับ IgG ของลูกโคจะลดลง เมื่อพิจารณาถึงระดับโปรตีนในซีรัมซึ่งเป็นตัวแทนที่สามารถบอกได้ถึงระดับ IgG ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับระดับ IgG คือจะเพิ่มสูงขึ้นหลังได้รับนม น้ำเหลือง และจะเริ่มลดลงที่อายุ 7 วัน ระดับโปรตีนในซีรัมของลูกโคเมื่อแบ่งตามคุณภาพนม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับ พบว่า ลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพดี จะมีระดับโปรตีนในซีรัมเพิ่มขึ้นสูงกว่าลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดี ตั้งแต่หลังได้รับนม น้ำเหลือง จนอายุ 14 วัน คุณภาพของนม น้ำเหลือง จากการศึกษพบว่า ระดับ IgG ในนม น้ำเหลืองที่ทำการศึกษสูงกว่าที่เคยมีรายงานไว้ โดยจะสูงที่สุดในวันแรกหลังคลอด และจะลดลงอย่างรวดเร็วจนมีระดับที่ต่ำมากในวันที่ 7 และ 14 หลังคลอด

ปัจจัยจากการศึกษาที่พบว่ามีผลต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน คือ คุณภาพของนม น้ำเหลือง และอายุของลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรก ผลจากค่าปฏิสัมพันธ์ของทั้ง 2 ปัจจัยต่อระดับ IgG ของลูกโคอายุ 1 วัน พบว่า ลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีและช้ากว่า 6 ชั่วโมง จะมีโอกาสได้รับ IgG ต่ำ 6.3 เท่า เมื่อเทียบกับลูกโคที่ได้รับนม น้ำเหลืองคุณภาพไม่ดีเร็วกว่า 6 ชั่วโมง การให้นม น้ำเหลืองคุณภาพดีช้ากว่า 6 ชั่วโมง และการให้นม น้ำเหลืองคุณภาพดีเร็วกว่า 6 ชั่วโมง จากผลการศึกษาร่วมกับข้อสนับสนุนจากการศึกษาอื่นๆ ทำให้เห็นได้ว่าคุณภาพนม น้ำเหลือง และระยะเวลาที่ลูกโคได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรกนั้น มีความสำคัญต่อการได้รับนม น้ำเหลืองครั้งแรกของลูกโค ซึ่งจะมีผลต่อเนื่องไปถึงการเกิดโรค การเพิ่มน้ำหนัก และประสิทธิภาพในช่วงที่เป็นโคสาวด้วย ข้อมูลที่ได้มีความสำคัญถ้าจะมีการพัฒนาการจัดการฟาร์ม ในการศึกษาวิเคราะห์โดยใช้ 2 วิธี คือ colostrometer เป็นวิธีที่จะใช้ประเมินคุณภาพของนม น้ำเหลือง ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบจากความถ่วงจำเพาะของนม น้ำเหลือง และวิธี sRID ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้วัดระดับ IgG จริงในนม น้ำเหลือง พบว่า ผลที่ได้จากทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กัน ดังนั้นถ้าจะมีการวัดคุณภาพนม น้ำเหลืองในฟาร์ม สามารถใช้ colostrometer ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และสามารถปฏิบัติจริงในฟาร์มได้ นอกจากนั้นจากการศึกษา พบว่า สามารถใช้การสังเกตความขึ้น

หนืด และสีของนม น้ำเหลือง ในการบ่งบอกคุณภาพของนม น้ำเหลือง ได้ด้วย โดยนม น้ำเหลือง ที่มีคุณภาพดี จะมีลักษณะชั้นหนืดคล้ายนมข้นหวาน และสีของนม น้ำเหลือง ที่มีคุณภาพดีจะเป็นสีเหลืองเข้ม ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 สีของนม น้ำเหลือง ที่มีคุณภาพแตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาระดับ IgG ในนม น้ำเหลือง ซีรัม และโปรตีนในซีรัม พบว่า มีค่าสูงกว่าที่เคยมีรายงานมา แสดงให้เห็นว่า น่าจะมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อระดับ IgG และโปรตีนในซีรัม และจากการที่ระดับ IgG ในซีรัมลูกโคมีระดับสูงกว่าการศึกษาที่เคยมีรายงานมา การใช้เกณฑ์ตัดสินการเกิดภาวะ FPT จึงไม่สามารถใช้ค่าที่เคยมีรายงานในต่างประเทศได้ ควรเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ค่าที่สามารถเป็นตัวแทนระดับ IgG ในซีรัมลูกโค ของพื้นที่ที่ทำการศึกษา เพื่อหาเกณฑ์การตัดสินการเกิด FPT ที่เหมาะสมกับพื้นที่นี้

ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ในซีรัมของลูกโคอายุ 1 วัน พบว่า คุณภาพของนม น้ำเหลืองเป็นปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IgG ของลูกโค และมีข้อสนับสนุนจากการศึกษาของต่างประเทศ ผลที่ได้จึงควรนำไปใช้ในภาคสนามจริง ในการแนะนำให้เกษตรกรหันมาสนใจคุณภาพของนม น้ำเหลืองที่จะให้แก่ลูกโค แต่คุณภาพของนม น้ำเหลืองของแม่โคนั้นก็มีปัจจัยอื่นๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพนม น้ำเหลืองของแม่โคในลำดับถัดไป นอกจากนี้ ควรมีการศึกษาต่อเนื่องถึงผลที่จะเกิดขึ้นในกรณีที่ลูกโคมีระดับ IgG ต่ำ เพื่อที่การนำไปใช้จริงจะทำให้เกษตรกรเห็นภาพได้ชัดเจน ถึงความสูญเสียที่จะเกิดขึ้น ได้จากการจัดการลูกโคที่ไม่ดีพอ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

สันนิภา สุรทัตต์. 2549. วิทยานิพนธ์กึ่งทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ศิรินสาร, กรุงเทพมหานคร.

ลิขิต สงค์ศิริ. ม.ป.ป. เอกสารประกอบการสอน เรื่อง Application of precipitation. ภาควิชา ภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Andrews, A.H. 2000. **The Health of Dairy Cattle**. 1th ed. Best-set Typesetter Ltd., Hong Kong.

Adams, G.D., L.J. Bush, J.L. Horner and T.E. Staley. 1985. Two methods for administering colostrums to newborn calves. **J Dairy Sci**. 68(3): 773-775.

Bagger, M. and L. Eriksen. 2003. Comparison of difference methods for measuring immunoglobulin content in calf serum. **Acta Vet. Suppl**. 98: 201.

Barrington, G.M., T.B. McFadden, M.T. Huyler, and T.E. Besser. 2001. Regulation of colostrogenesis in cattle. **Livestock Production Science**. 70: 95-104.

Bernard, J.K. 2006. Developing quality dairy replacement heifers. 69-78. In **Proceedings 3rd Florida & Georgia Dairy Road Show**. University of Georgia.

Biogenics. 2001. **Colostrometer**. USA.

Birkinshaw, M. and I.R. Falconer. 1972. The localisation of prolactin labelled with radioactive iodine in rabbit mammary tissue. **J. Endocr**. 55: 322-334.

Blakemore, F., R.J. Garner. 1956. The maternal transference of antibodies in the bovine. **J. Comp Pathol**. 66(4): 287-289.

Bovine Alliance on Management and Nutrition. 1992. **A guide to colostrums and colostrums management for dairy calves.** Available Source:

<http://www.uvm.edu/~ascibios/Resources/BAMNColostrumMgt.pdf>, July 7, 2009.

Bradon, M.R., D.L. Watson and A.K. Lascelles. 1971. The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. **Aust. J. Biol. Med. Sci.** 49: 613-623.

Butler, J.E. 1969a. Bovine Immunoglobulins: A Review. **J Dairy Sci.** 52(12): 1895-1909.

Butler, J.E. 1969b. Bovine Immunoglobulins: A Review. **J Dairy Sci.** 52(12): 1895-1909. Cited Butler, J.E. 1971. Characteristics of bovine immunoglobulins and related molecules. Review of the bovine immunoglobulins. **J Dairy Sci.** 54(9): 1315-1316.

Butler, J.E. 1969c. Bovine Immunoglobulins: A Review. **J Dairy Sci.** 52(12): 1895-1909. Cited Butler, J.E. 1981. A concept of humoral immunity among ruminants and an approach to its investigation. **Adv Exp Med Biol.** 137: 3-55

Butler, J.E. 1969d. Bovine Immunoglobulins: A Review. **J Dairy Sci.** 52(12): 1895-1909. Cited Campbell, B., R.M. Porter and W.E. Petersen. 1950. Plasmacytosis of the bovine udder during colostrums secretion and experimental cessation of milking. **Nature.** 166(4230): 913.

Collin, R., C. Prosser, R. McLaren, M. Thomson and D. Malcolm. 2002. Development and validation of a nephelometric immunoassay for IgG1 in milk. **Journal of Dairy Research.** 69: 27-35.

Delouis, C. 1978a. Physiology of colostrum production. **Ann. Rech. Vet.** 9(2): 193-203.

- _____. 1978b. Physiology of colostrum production. **Ann. Rech. Vet.** 9(2): 193-203. Cited M. Sasaki, C.L. Davis and B.L. Larson. 1976. Production and turnover of IgG1 and IgG2 immunoglobulins in the bovine around parturition. **J Dairy Sci.** 5(9): 2046-2055.
- Dividich, J.L., T. Esnault, B. Lynch, R. Hoo-Paris, C. Castex and J. Peiniau. 1991. Effect of colostrum fat level on fat deposition and plasma metabolites in the newborn pig. **J. Anim. Sci.** 69: 2480-2488.
- Donovan, G.A., L. Badinga, R.J. Collier, C.J. Wilcox and R.K. Braun. 1986. Factors influencing passive transfer in dairy calves. **J Dairy Sci.** 69: 754-759.
- _____, I.R. Dohoo, D.M. Montgomery and F.L. Bennett. 1998. Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida. **Preventive Veterinary Medicine.** 34(1): 31-46.
- Filteau, V., E. Bouchard, G. Fecteau, L. Dutil and D. DuTremblay. 2003. Health status and risk factors associated with failure of passive transfer of immunity in newborn beef calves in Québec. **Can Vet J.** 44: 907-913.
- Fleenor, W.A. and G.H. Stott. 1980a. Hydrometer Test for Estimation of Immunoglobulin Concentration in Bovine Colostrum. **J Dairy Sci.** 63(6): 973-977.
- _____ and _____. 1980b. Hydrometer Test for Estimation of Immunoglobulin Concentration in Bovine Colostrum. **J Dairy Sci.** 63(6): 973-977. Cited V. Kruse. 1970. Absorption of immunoglobulin from colostrum in newborn calves. **Anim. Prod.** 12: 627.
- Foley, J.A. and D.E. Otterby. 1978. Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrums. **J Dairy Sci.** 61: 1033-1060.

- Gapper, L.W., D.E.J. Copestake, D.E. Otter and H.E. Indyk. 2007a. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrums and dietary supplements: a review. **Anal Bioanal Chem.** 389: 93–109.
- _____, _____, _____ and _____. 2007b. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrums and dietary supplements: a review. **Anal Bioanal Chem.** 389: 93–109.
- Cited E.M. Lilius and P. Marnila. 2001. The role of colostrum antibodies in prevention of microbial infections. **Curr Opin Infect Dis.** 14(3): 295-300.
- Georgiev, P. 2008. Differences in Chemical Composition between Cow Colostrum and Milk. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine.** 11(1): 3-12.
- Godson, D.L., S.D. Acres and D.M. Haines. 2003. **Failure of passive transfer and effective colostrum management in calves.** Large Animal Veterinary Round. Available Source: www.larounds.ca/crus/laveng1203.pdf, December 12, 2009.
- Godden, S.M., D.M. Haines, K. Konkol and J. Peterson. 2009. Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. **J Dairy Sci.** 92(4): 1758–1764.
- Grummer, R.R. and R.R. Rastani. 2004. Why Reevaluate Dry Period Length. **J Dairy Sci.** 87:(E. Suppl.): E77–E85. Cited R.R. Rastani, R.R. Grummer, S.J. Bertics, A. Gumen, M.C. Wiltbank, D.G. Mashek and M.C. Rich. 2003. Effects of varying dry period length and prepartum diet on metabolic profiles and lactation of periparturient dairy cattle. **J Dairy Sci.** 86(Suppl.1): 154.
- Guk, H.S., Y.H. Tai, S.S. Dong, Y.C. Chang, H.J. Young, S.A. Byeong, Y.L. Chai and G.L. Chung. 2003. Differences in the serum immunoglobulin concentrations between dairy and beef calves from birth to 14 days of age. **J. Vet. Sci.** 4(3): 257–260.

- Hancock, D.D. 1985a. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. **J Dairy Sci.** 68(1): 163-183.
- _____. 1985b. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. **J Dairy Sci.** 68(1): 163-183. Cited F. Lomba, I. Fumiere, M. Tshibangu, G. Chauranx and V. BienFet. 1978. Immunoglobulin transfer to calves and health problems in large bovine units. **Ann. Rech. Vet.** 9: 353.
- Holloway, N.M., J.W. Tyler, J. Lakritz, S.L. Carlson and J. Holle. 2001. Serum immunoglobulin G concentrations in calves fed fresh and frozen colostrum. **JAVMA.** 219(3): 357-359.
- Hopkins, B.A. and J.D. Quigley. 1997. Effects of method of colostrums feeding and colostrums supplementation on concentrations of immunoglobulin G in the serum of neonatal calves. **J dairy sci.** 80(5): 979-983.
- Hostetler, D., V.L. Douglas, J. Tyler, J. Holle and B. Steevens. 2003. Immunoglobulin G concentrations in temporal fractions of first milking colostrum in dairy cows. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine.** 1(2): 168-171.
- House, A.M., M. Irsik and J.K. Shearer. 2008. **Sepsis, Failure of passive transfer, and fluid therapy in calves.** Florida Cooperative Extension Service. Available Source: <http://edis.ifas.ufl.edu/vm135>, January 7, 2010.
- Hurley, W.L. 2003. **Advanced dairy chemistry: 1, proteins.** 3rd ed. Kluwer Academic, New York.
- Husband, A.J., M.R. Brandon and A.K. Lascelles. 1972. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. **Aust. J. exp. Biol. med. Sci.** 50: 491-498.

- IDBiotech. **Evaluation of bovine colostrum powder quality by quantitation of native IgG: why to choose the single radial immunodiffusion assay.** SRID IgG colostrum powder. Available Source:
<http://www.idbiotech.com/content/10-SRID-IgG-colostrum-powder>, July 7, 2009.
- Ishikawa, H. and T. Konishi. 1982. Changes in serum immunoglobulin concentrations of young calves. **Jpn. J. Vet.Sci.** 44(4): 555-563.
- Jones, C.M., R.E. James, J.D. Quigley and M.L. McGilliard. 2004. Influence of pooled colostrum or colostrum replacement on IgG and evaluation of animal plasma in milk replacer. **J Dairy Sci.** 87: 1806–1814.
- Kehoe, S.I., B.M. Jayarao and A.J. Heinrichs. 2007. A Survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. **J Dairy Sci.** 90(9): 4108-4116.
- Lang, B. 2008. **Colostrum for the Dairy Calf.** Available Source:
www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/veal/facts/08-001.pdf, January 7, 2010.
- Li-Chan, E.C.Y. and A. Kummer. 1997. Influence of standards and antibodies in immunochemical assays for quantitation of immunoglobulin G in bovine milk. **J dairy sci.** 80(6): 1038-1046.
- Matte, J.J., C.L. Girard, J.R. Seoane and G.J. Brisson. 1982. Absorption of Colostral Immunoglobulin G in the Newborn Dairy Calf. **J Dairy Sci.** 65(9): 1765-1770.
- Mayer, G. 2009. **Immunoglobulins-structure and function.** Microbiology and Immunology online. Available Source:
<http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/IgStruct2000.htm>, March 8, 2010.

- McGuirk, S.M. 1999. Colostrum: Quality and Quantity. **Irish Veterinary Journal**. 52(4): 205-209.
- McManaman, J.L. and M.C. Neville. 2003a. Mammary physiology and milk secretion. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 55: 629–641.
- _____ and _____. 2003b. Mammary physiology and milk secretion. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 55: 629–641. Cited J.A. Monks and M.C. Neville. 2001. Transcytosis of proteins across the mammary epithelium into milk. **J.Women’s Cancer**. 2: 193-200.
- Muller, L.D. and D.K. Ellinger. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. **J Dairy Sci**. 64: 1727-1730.
- Nocek, J.E., D.G. Braund and R.G. Warner. 1984. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin and continued feeding of colostrum on calf gain, health and serum protein. **J Dairy Sci**. 67(2): 319-333.
- Ontsouka, C.E., R.M. Bruckmaier and J.W. Blum. 2003. Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk. **J Dairy Sci**. 86: 2005–2011.
- Perino, L.J., T.E. Wittum and G.S. Ross. 1995. Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. **Amer. J. Vet. Res**. 56: 1144-1148.
- Pettigrew, J. 1981. Supplemental dietary fat for peripartal sows: a review. **J. Anim. Sci**. 53: 107-117.

- Pritchett, L.C., C.C. Gay, T.E. Besser and D.D. Hancock. 1991. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. **J Dairy Sci.** 74(7): 2336-2341.
- Quigley, J.D. 2001. **Using a refractometer.** Calf Note#39. Available Source: <http://www.calfnotes.com>, October 31, 2009.
- _____ and J.J. Drewry. 1998. Nutrient and Immunity Transfer from Cow to Calf Pre- and Postcalving. **J Dairy Sci.** 81(10): 2779–2790.
- _____, C.J. Kost and T.M. Wolfe. 2002. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. **J Dairy Sci.** 85(5): 1243–1248.
- Roberts, R.M. and R.V. Anthony. 1994. Molecular biology of trophoctoderm and placental hormones. **Molecular biology of the female reproductive System:** 395–440.
- Robinson, J.D., G.H. Stott and S.K. DeNise. 1988. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. **J. Dairy Sci.** 71: 1283-1287.
- Rumbo, M., F.G. Chirido, C.A. Fossati and M.C. 1996. Influence of thermal treatment of food on the immunochemical quantification of gliadin. **Food and Agricultural Immunology Anon.** 8: 195-203.
- Sedlinska, M., J. Krejai and M. Vyskoail. 2005. Evaluation of Field Methods for Determining Immunoglobulins in Sucking Foals. **Acta Vet. Brno.** 74: 51-58.
- Selk, G.E. n.d. **Disease Protection for Baby Calves.** Available Source: <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-1937/ANSI-3358web.pdf>, July 7, 2009.

Smith, T. and R.B. Little. 1922. The significance of colostrum to the newborn calf. **J. Exp Med.** 36: 181-198.

Stata Corp. 2003. **Stata Statistical Software**: Release 8.2 College Station (Computer Program).
Stata Corporation.

Stott, G.H. and A. Fellah. 1983. Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. **J Dairy Sci.** 66(6):1319-1328.

_____, D.B. Marx, B.E. Menefee and G.T. Nightengale. 1979a. Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. **J Dairy Sci.** 62(11): 1766-1773.

_____, _____, _____ and _____. 1979b. Colostral immunoglobulin transfer in calves. III. Amount of absorption. **J Dairy Sci.** 62(12): 1902-1907.

Vermorel, M., J. Vernet, C. Dardillat, D.C. Saido and M.J. Davicco. 1989. Energy metabolism and thermoregulation in the newborn calf; effect of calving conditions. **Can. J. Anim. Sci.** 69: 113-122.

Virtalaa, A.M.K., Y.T. GroÈhnb, G.D. Mechor and H.N. Erb. 1999. The effect of Maternally derived immunoglobulin G on the risk of respiratory disease in heifers during the first 3 months of life. **Preventive Veterinary Medicine.** 39: 25-37.

Watters R.D., J. N. Guenther, A.E. Brickner, R.R. Rastani, P.M. Crump, P.W. Clark and R.R. Grummer. 2008. Effects of dry period length on milk production and health of dairy cattle. **J Dairy Sci.** 91: 2595-2603.

Weaver, D.M., J.W. Tyler, D.C. VanMetre, D.E. Hostetler and G.M. Barrington. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. **J Vet Intern Med.** 14: 569-577. Cited

T.E. Besser, C.C. Gay and L. Pritchett. 1991. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. **J Am Vet Med Assoc.** 198(3): 419-422.

Wheeler, T.T., A.J. Hodgkinson, C.G. Prosser and S.R. Davis. 2007a. Immune Components of Colostrum and Milk-A Historical Perspective. **J Mammary Gland Biol Neoplasia.** 12: 237-247.

_____, _____, _____ and _____. 2007b. Immune Components of Colostrum and Milk-A Historical Perspective. **J Mammary Gland Biol Neoplasia.** 12: 237-247.

Cited C.S. Lee and A.K. Lascelles. 1970. Antibody-producing cells in antigenically stimulated mammary glands and in the gastro-intestinal tract of sheep. **Aust J Exp Biol Med Sci.** 48(5): 525-35.

_____, _____, _____ and _____. 2007c. Immune Components of Colostrum and Milk-A Historical Perspective. **J Mammary Gland Biol Neoplasia.** 12: 237-247. Cited R. Kemler, H. Mossmann, U. Strohmaier, B. Kickhofen and D.K. Hammer. 1975. In vitro studies on the selective binding of IgG from different species to tissue sections of the bovine mammary gland. **Eur J Immunol.** 5(9): 603-608.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
แบบสอบถาม

แบบสอบถามเรื่องการศึกษาาระดับของ IgG และปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการติดเชื้อใน
ลูกโคนม

วันที่เข้าฟาร์ม.....เวลา..... ลำดับที่.....

เกษตรกรโคนม

1. ชื่อ-สกุล เกษตรกร..... อายุ..... เพศ.....

ที่อยู่

.....

.....

ชื่อฟาร์ม.....

สังกัดสหกรณ์โคนม.....

2. การศึกษาของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม

ป. 1-6

ม.1-6

ปวช - ปวส

ป.ตรี

3. ประสบการณ์การเลี้ยงโคนมมาเป็นจำนวนปี

1-3 ปี

> 3-5 ปี

> 5-10 ปี

> 10 ปี

4. เคยเข้ารับการอบรมการเลี้ยงโคนมหรือไม่

ไม่เคย

เคย ที่.....เป็นระยะเวลา..... วัน

5. หน่วยงานที่เคยใช้บริการ (การถ่ายทอดความรู้ หรือการตรวจโรค)

.....

ลักษณะของฟาร์ม

6. จำนวนโครีดนม.....ตัว โคพักท้อง.....ตัว

จำนวนโคสาว (อายุ 1 ปีขึ้นไปจนคลอดลูกตัวแรก).....ตัว ลูกโค (อายุน้อยกว่า 1 ปี).....ตัว

การเลี้ยงโคนมเพศผู้ มีตัว ไม่มี

รวมจำนวนโคที่เลี้ยง (ทั้งหมด) ในฟาร์ม..... ตัว

7. ลักษณะการเลี้ยง

ผูกยื่นโรงตลอดเวลา

ผูกยื่นโรง + ปล่อยแปลง

ปล่อยแปลง

อื่นๆ

8 ปัญหาภายในฟาร์ม

ปัญหาเก็บ

ปัญหาการผสมไม่ติด

ปัญหาปริมาณน้ำนม

ปัญหาการแท้ง

ปัญหาลูกโคเคราะห์แกรน ปัญหาอื่นๆ

การจัดการแม่โคช่วงคลอด

9. คอกคลอด มีคอกคลอดแยก ไม่มีคอกคลอด
10. ลักษณะพื้นบริเวณที่คลอด พื้นคอนกรีตขรุขระ พื้นคอนกรีตมันเรียบ
 พื้นปูผ้ายาง อื่นๆ
11. อุณหภูมิบริเวณคอกคลอด.....องศาเซลเซียส (ณ วันที่คลอด)
12. จำนวนวันพักท้องตามการจัดการฟาร์ม (ปกติ)วัน
13. ปริมาณอาหารในช่วงพักท้อง อาหารชั้น.....กิโลกรัม โปรตีน.....%
14. แหล่งที่มาของอาหารชั้น
 รับมาจากสหกรณ์ ซื้อจากร้านค้า ซื้อจากตัวแทนจำหน่ายของบริษัทโดยตรง
 ซื้อวัตถุดิบแล้วผสมเอง ซื้อจากฟาร์มใหญ่ อื่นๆ
15. จำนวนอาหารจะถูกใช้หมดในระยะเวลา.....วัน
16. ชนิดอาหารหยาบจำนวน.....กิโลกรัม
.....จำนวน.....กิโลกรัม
.....จำนวน.....กิโลกรัม

การจัดการลูกโคหลังคลอดของฟาร์ม

17. มีการแยกลูกโคจากแม่โคหลังคลอดหรือไม่
 มี ภายใน.....ชั่วโมง ไม่มี
18. วิธีการได้รับนม น้ำเหลืองของลูกโค
 ป้อนนม น้ำเหลืองโดยใช้.....
 ปล่อยให้ลูกกินนม น้ำเหลืองเอง
19. มีการผูกสายสะดือและทำความสะอาด ดูแลในช่วงแม่คลอด
 มี ไม่มี

ทัศนคติต่อการจัดการลูกโคหลังคลอด

20. ลูกโคควรได้รับนม น้ำเหลืองหลังคลอดภายในกี่ชั่วโมง.....
21. ลูกโคควรได้รับนม น้ำเหลืองปริมาณเท่าไร.....

22. ลูกโคควรได้รับนมแม่เหลืองโดยวิธีใด

- รอให้ลูกกินเอง บังคับป้อน

23. ได้รับความรู้การจัดการลูกโคหลังคลอดจากที่ใด

- สัตวแพทย์ที่เข้าฟาร์ม หมอผสม การอบรมความรู้ให้แก่เกษตรกร

24. เกษตรกรเห็นว่าการจัดการลูกโคหลังคลอดจำเป็นต้องทำหรือไม่

- จำเป็น ไม่จำเป็น

ข้อมูลแม่โค

ชื่อ-เบอร์หูแม่โค..... วันเกิด.....

BCS..... น้ำหนัก.....กิโลกรัม ลำดับท้อง.....

ปริมาณการให้นมเฉลี่ยของแม่โคในท้องที่แล้ว..... กก.

จำนวนครั้งที่ผสมในท้องนี้.....ครั้ง ผสมครั้งสุดท้ายวันที่.....

พักท้องวันที่..... กำหนดคลอดวันที่.....

- ประวัติการป่วยในท้องนี้

เต้านมอักเสบ โรคทางเดินหายใจ โรคทางเดินอาหาร

กีบและขาเจ็บ อื่นๆ.....

- ลักษณะการคลอด

คลอดเองตามธรรมชาติ มีการช่วยคลอด (คลอดยาก) ภายใน.....ชั่วโมง

- คะแนนการคลอดยาก

ไม่มีการช่วยคลอด

มีผู้ช่วยคลอด 1 คน หรือไม่ใช่เครื่องมือในการช่วยคลอด

มีผู้ช่วยคลอดตั้งแต่ 2 คนขึ้นไป หรือมีการใช้เครื่องมือในการช่วยคลอด

- ปริมาณน้ำนมทั้งหมดจากการรีดครั้งแรกหลังคลอด.....กก.

- เวลาที่ทำการเก็บนมแม่เหลือง.....นาฬิกา

- อุณหภูมิของน้ำนมขณะวัด colostrometer.....C

ข้อมูลลูกโค

เกิดวันที่..... เวลา..... เพศ..... น้ำหนักแรกคลอด..... กก.

ความยาว..... ความสูง.....

- ระยะเวลาตั้งแต่คลอดถึงลุกขึ้นภายใน (ชั่วโมง)

1 1-2 2-3 มากกว่า 3

- ปริมาณนม น้ำเหลืองที่ได้รับครั้งแรก.....กิโลกรัม เวลา.....นาฬิกา

- เวลาในการได้รับนมครั้งที่สอง.....นาฬิกา ปริมาณ.....กิโลกรัม

- เวลาในการได้รับนมครั้งที่สาม.....นาฬิกา ปริมาณ.....กิโลกรัม

- ได้รับนม น้ำเหลืองโดย

ลูกกินเอง ขวดนม สอดท่อ



การตรวจด้วยวิธี Single radial immunodiffusion (ดัดแปลงจาก ลิซล, ม.ป.ป., Holloway et al., 2001)

1. การเตรียม Sodium barbital buffer

สารละลาย 1 เตรียมโดย ละลาย sodium barbital 10.31 กรัม ใน deionized water ปริมาณ 200 มิลลิลิตร สารละลาย 2 เตรียมโดย ละลาย barbital 1.84 กรัม ใน deionized water ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 95°C นำสารละลายทั้ง 2 ส่วนมาผสมให้เข้ากัน เติม deionized water ให้สารละลายครบ 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 8.6 ที่ 25°C หลังจากนั้นเติม sodium azide 0.1% ถ้ายังไม่นำมาใช้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

2. การเตรียม Buffer agar

ละลาย 1% agarose gel ใน sodium barbital buffer ละลายให้เข้ากันที่ความร้อนประมาณ 95°C ถ้ายังไม่นำมาใช้ให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

3. ขั้นตอนการตรวจ

3.1 อุ่น buffered agar ที่อุณหภูมิ 56°C เติม rabbit anti-bovine IgG 0.5% ผสมให้เข้ากัน เทลง plastic plate ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ทิ้งให้เนื้อวุ้นแห้งสนิท นำมาเจาะหลุมขนาด 3 มิลลิเมตร ประมาณ 19 หลุมต่อ plate นำเนื้อวุ้นออกจากหลุมที่เจาะไว้

3.2 ตัวอย่างซีรัมของลูกโคจากการเก็บครั้งที่ 1 จะทำการเจือจางที่ระดับ 1:5 จากการเก็บครั้งที่ 2, 3, 4 และ 5 จะทำการเจือจางในระดับ 1:100 ตัวอย่างซีรัมของแม่โคจากการเก็บครั้งที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 จะเจือจางที่ระดับเท่ากัน คือ 1:200 ตัวอย่างน้ำนมจากการเก็บครั้งที่ 1 และ 2 จะทำการเจือจางที่ระดับ 1:200 น้ำนมจากการเก็บครั้งที่ 3 จะทำการเจือจางที่ระดับ 1:100 และจากการเก็บครั้งที่ 4 และ 5 ทำการเจือจางที่ระดับ 1:50

3.3 นำตัวอย่างที่ทำการเจือจาง 4 ไมโครลิตร หยดลงหลุมที่ทำการเจาะไว้ เมื่อหยดตัวอย่างครบ นำ plastic plate เก็บในกล่องปิดมิดชิดที่มีความชื้น อ่านผลหลังจากผ่านไป 48 ชั่วโมง

โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแต่ละหลุม (ภาพผนวกที่ 1) ผลที่ได้เทียบกับ standard curve ที่ได้จาก bovine IgG ที่ทราบความเข้มข้นที่แท้จริง



ภาพผนวกที่ 1 การอ่านผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี single radial immunodiffusion

การตรวจโดย Colostrometer

1. นำนมน้ำเหลืองปริมาณ 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 28°C เทใส่กระบอกลวดพลาสติกทรงสูง ซึ่งตั้งบนพื้นราบ
2. หย่อน colostrometer (Biogenics, 1980) ลงในกระบอกลวดที่มีนมน้ำเหลืองอย่างช้าๆ
3. เมื่อ colostrometer หยุดหนึ่ง อ่านผลของระดับ total Ig ที่ colostrometer ซึ่งอ้างอิงจากความถ่วงจำเพาะของนมน้ำเหลือง (ภาพผนวกที่ 2)



ภาพผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ total immunoglobulin ด้วย colostrometer

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ -นามสกุล	นางสาวสุภภาดา คณานับ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 7 กรกฎาคม 2527
สถานที่เกิด	นครปฐม
ประวัติการศึกษา	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	สัตวแพทย์ประจำหน่วยสัตว์เคี้ยวเอื้อง
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงพยาบาลสัตว์หนองโพ จังหวัดราชบุรี
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-