เชียงใหม่สัตวแพทยสาร

CMVJ

Chiang Mai Veterinary Journal

Volume : 14 Number : 3 (Sep-Dec) Year : 2559

ISSN; 1685-9502 (print)
2465-4604 (online)

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร

ปีที่ 14 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2559
ISSN 1685-9502 (print), 2465-4604 (online)
http://www.vet.cmu.ac.th/cmvj/

เจ้าของ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วัตถุประสงค์

"เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" เป็นวารสารเพื่อการเผยแพร่เผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่มีคุณภาพในลักษณะต่างๆ เช่น บทความต้นฉบับ บทความปริทัศน์ รายงานฉบับย่อ และรายงานสัตว์ป่วย ที่เกี่ยวข้องกับทางด้านสัตวแพทยศาสตร์ (Veterinary Science) และวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการสัตว์ (Animal Science and Technology) ได้แก่ ชีววิทยา สรีรวิทยา จุลชีววิทยา พยาธิวิทยา โภชนาการศาสตร์ กายวิภาคศาสตร์ พันธุศาสตร์ อายุรศาสตร์ ศัลยศาสตร์ สูติศาสตร์ วิทยาศาสตร์ทางชีวภาพวิทยาศาสตร์พื้นฐาน ระบาดวิทยาและแนวทางสุขภาพหนึ่งเดียว

บทความที่ได้รับการเผยแพร่ในเชียงใหม่สัตวแพทยสาร เป็นวารสารที่ผ่านการตรวจคุณภาพ โดยผู้ทรงคุณวุฒิอย่างน้อย 2 ท่าน ที่ไม่ทราบชื่อผู้แต่งและผู้แต่งไม่ทราบชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ (Double-blind peer review) ความคิดเห็นของผู้เขียนแต่ละท่าน ทางกองบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป กรณีผู้ประสงค์จะนำบทความ หรือส่วนใดส่วนหนึ่ง (รูป ตาราง ฯลฯ) ที่มีการเผยแพร่ไปแล้ว ต้องได้รับอนุญาตจากกองบรรณาธิการวารสาร "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แม้ว่าจะเป็นผลงานจากงานของผู้เขียนเองผู้แจ้งให้

ที่ปรึกษา

คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองคณบดีด้านวิจัยคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บรรณาธิการ

รศ.น.สพ.ดร.กรกฎ	งานวงศ์พาณิชย์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่

รองบรรณาธิการ

ผศ.น.สพ.ดร.อนุชา	สธนวงศ์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่

กองบรรณาธิการ

ศ.น.สพ.ดร.มงคล	เตชะกำพุ	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
ศ.น.สพ.ดร.รุ่งโรจน์	ธนาวงษ์นุเวช	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
ศ.พญ.ผาสุก	มหรรฆานุเคราะห์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่
รศ.น.สพ.ดร.ประภาส	พัชนี	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่
ผศ.น.สพ.ดร.กัมปนาท	สุนทรวิภาต	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
ผศ.น.สพ.ดร.ปิยนันท์	ทวีถาวรสวัสดิ์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
ผศ.น.สพ.ดร.วีรพล	ทวีนันท์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น
ผศ.น.สพ.ดร.วิน	สุรเชษพงษ์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร
ผศ.น.สพ.ดร.ฎิลก	วงศ์เสถียร	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่
ผศ.น.สพ.ดร.ฉัตรโชติ	ทิตาราม	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่
ผศ.น.สพ.ดร.พงศกร	เชื่อมไมตรี	คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่
น.สพ.นิธิดล	บูรณพิมพ์	สวนสัตว์เชียงใหม่ เชียงใหม่
สพ.ญ.ดร.ปิยพร	คงเมคี	สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ชลบุรี
สพ.ญ.ดร.พัชราภรณ์	แก้วโม่ง	ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอันดามัน ภูเก็ต

เจ้าหน้าที่ฝ่ายจัดการวารสาร

นายธนะพันธุ์	การคนซื่อ
นางสาวสุลัดดา	เอี่ยมมาก
นางฐิติรัตน์	โฆษณสันติ
นายธรนินทร์	เจริญสุข
นางสาวเดือนนภา	ตาอินทุ

สำนักงาน

กองบรรณาธิการ "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร"
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนเลียบคลองชลประทาน ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50100
จดหมายอิเล็กทรอนิกซ์ : cmuvetj@gmail.com
โทรศัพท์. (66)-5394-8057, 8070
โทรสาร. (66)-5327-4710

Chiang Mai Veterinary Medicine Journal

Volume 14 No.3 September-December 2016
ISSN 1685-9502 (print), 2465-4604 (online)
http://www.vet.cmu.ac.th/cmvj/

Owner Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

About journal

"Chiang Mai Veterinary Journal" aims to be a publisher of a wide range of high quality academic journals such as original articles, review article, short communication, and case report in the field of veterinary science and animal science and technology, including biology, physiology, microbiology, pathology, nutrition, anatomy, genetics, internal medicine, surgery, obstetrics, biological science, basic science, and one health.

Articles that are published under our journal are double-blind peer reviewed by at least two experts. The opinions of each author might not be agreed upon by the editorial board. Any republication of a published article, or any part of published article (figure, table, etc.) must acquire permission from the editorial board of the Chiang Mai Veterinary Journal, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University even though the individual who submits the request is the author himself/herself.

Executive editor

Dean, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University
Associate Dean for Research Affairs, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University.

Editor-in chief

Assoc. Prof. Dr.Korakkot	Nganvongpanit	Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai

Associate editor

Assist. Prof. Dr.Anucha	Sathanawongs	Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai

Editor board

Prof. Dr.Mongkol	Thechakumphu	Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok
Prof. Dr.Roongroje	Thanawongnuwech	Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok
Prof. Dr.Pasuk	Mahakknaukrauh	Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai
Assoc. Prof. Dr.Prapas	Patchanee	Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai
Assist. Prof. Dr.Kumpanart	Soontornvipart	Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok
Assist. Prof. Dr.Piyanan	Taweethavonsawat	Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok
Assist. Prof. Dr.Weerapol	Taweenan	Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, KhonKaen
Assist. Prof. Dr.Win	Surachetpong	Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok
Assist. Prof. Dr.Dilok	Wongsathein	Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai
Assist. Prof. Dr.Chatchote	Thitaram	Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai
Assist. Prof. Dr.Phongsakorn	Chuammitri	Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai
Dr.Nithidol	Buranapim	Chiang Mai Zoo, Chiang Mai
Dr. Piyaporn	Kongmakee	Khow Kheow Open Zoo, Chonburi
Dr.Patcharaporn	Keawmong	Phuket Marine Biological Center, Phuket

Managing editor

Mr.Thanapun	Kankonsue
Miss Suludda	Aimmak
Mrs.Thitirat	Kosanasanti
Mr.Toranin	Charungsuk
Miss Duannapa	Ta-inthu

Address

Edit-in chief Chiang Mai Veterinary Medicine Journal
Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University
Chonpratan Road, Maehia, Muang, Chiang Mai 50100 Thailand
E-mail : cmuvetj@gmail.com
Tel. (66)-5394-8057, 8070
Fax. (66)-5327-4710

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร

ปีที่ 14 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2559
http://www.vet.cmu.ac.th/cmvj/

สารบัญ

การประมาณน้ำหนักตัวล่อโดยการใช้สายวัดน้ำหนักม้า สามารถให้ค่าการประมาณใกล้เคียงกับน้ำหนักที่ได้จากเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล 85
กนกวรรณ น้อยเครือ, วีรพงศ์ ตั้งจิตเจริญ, ศิริพร เพียรสุขมณี, ภวิณวิชญ์ ลาวนานนท์

ผลของกระชายดำ (Kaempferia parviflora) ต่อการทำงานของอัณฑะในหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย Streptozotocin 95
วีระศักดิ์ ฟุ้งเฟื่อง, ธีรยุทธ เลิศอมรภัทร, ชาญ เมฆธน

การศึกษาชนิดแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องปากของสุนัขและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 108
ดารณี ภูเก็ต, พิจิตรา ชาบาง, ณัฐวุฒิ สถิตเมธี, วรพัฒน์ ประชาศิลป์ชัย

Chiang Mai Veterinary Journal

Volume 14 No.3 Sep-Dec 2016
http://www.vet.cmu.ac.th/cmvj/

CONTENS

Body weight estimation in mules by a horse weight tape provided an estimated value close to a real body weight obtained from a digital scale 85
Kanokwan Noikhrua, Weerapongse Tangjitjaroen, Siriporn Peansukmanee, Phawinwit Lawananont

Effects of Black ginger (Kaempferia parviflora) on the testicular function in streptozotocin-induced diabetic male rats 95
Wirasak Fungfuang, Teerayuth Lert-Amornpat, Chan Maketon

Study of bacterial species and antimicrobial sensitivity in canine oral cavity at Small Animal Teaching Hospital, Chiang Mai University 108
Daranee Phuket, Pichitar Charbang, Nattawooti Sthitmatee, Worapat Prachasilchai

Chiang Mai Vet J 2016; 14(3): 85-94 DOI: 10.14456/cmvj.2016.8

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร

Chiang Mai Veterinary Journal

ISSN; 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)

Website; www.vet.cmu.ac.th/cmvj

Original Article

Body weight estimation in mules by a horse weight tape provided an estimated value close to a real body weight obtained from a digital scale

Kanokwan Noikhrua[1], Weerapongse Tangjitjaroen[2], Siriporn Peansukmanee[2,*], Phawinwit Lawananon[3]

[1] *Dairy Cow Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai Universiy, Mae Hia, Muang, Chiang Mai 50100*

[2] *Department of Companion Animals and Wildlife Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Mae Hia, Muang, Chiang Mai 50100*

[3] *Large Animal Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai Universiy, Mae Hia, Muang, Chiang Mai 50100*

Abstract Accuracy of body weight estimation is crucial for equine practitioners. Medical administration and nutritional management need animal body weight (BW) for calculation. Scale is the most reliable method for obtaining BW, but in the field where a scale is not available, weight estimation methods such as using weight tape, using weight equation, or visual estimation are commonly used. Several methods of estimation on horses BW had been studied, but none of which in the mules in Thailand has been published. This article described mule's body weight estimation using fifty-four mules, aged between 2.5-4 years old, both male and female. The body weights obtained from a digital scale were used for references. Four BW estimation methods including horse weight tape (HWT), cattle weight tape, weight estimation equation for horse, and weight estimation equation for donkey were performed to compare their values to the real BW. Mean absolute percent error (MAPE) related to BW from the scale were calculated for each BW estimation method. The results showed that HWT have the least MAPE, which can be implied that it is the most accurate method for body weight estimation. In addition, three equations for mule BW estimation based on the thoracic circumference and the body length were also proposed in this study.

Keywords; Mule, Weight estimation, Weight tape, Weight estimation equation, Thoracic circumference

*** Corresponding author:** Siriporn Peansukmanee, *Department of Companion Animals and Wildlife Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai Universiy, Mae Hia, Muang, Chiang Mai 50100,* E-mail: siriporn.pean@cmu.ac.th

Article history; *received manuscript: 19 July 2016, accepted manuscript: 13 September 2016, published online: 23 September 2016*

เชียงใหม่สัตแพทยสาร 2559; 14(3): 85-94. DOI: 10.14456/cmvj.2016.8

บทความต้นฉบับ

การประมาณน้ำหนักตัวล่อโดยการใช้สายวัดน้ำหนักม้าสามารถให้ค่าการประมาณใกล้เคียงกับน้ำหนักที่ได้จากเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล

กนกวรรณ น้อยเครือ[1] วีรพงศ์ ตั้งจิตเจริญ[2] ศิริพร เพียรสุขมณี[2,*] ภวิณวิชญ์ ลาวนานนท์[3]

[1]โรงพยาบาลสัตว์ท้องถิ่น คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

[2] ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

[3]โรงพยาบาลสัตว์ใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ การประมาณน้ำหนักตัวที่แม่นยำมีความสำคัญต่อผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ในกลุ่มม้า ซึ่งมีผลต่อการคำนวณเพื่อการบริหารยาและการจัดการด้านโภชนาการ การใช้เครื่องชั่งน้ำหนักนั้นเป็นวิธีการที่น่าเชื่อถือที่สุดที่ทำให้ทราบน้ำหนักตัวสัตว์ แต่ในภาคสนามที่ออกปฏิบัติงานนั้นไม่มีเครื่องชั่งน้ำหนัก จึงมีการประยุกต์ใช้วิธีการประมาณน้ำหนักตัวสัตว์ได้แก่ การใช้สายวัดน้ำหนัก การใช้สูตรการประมาณน้ำหนักหรือการประมาณน้ำหนักจากสายตา มีการศึกษาจำนวนมากได้กล่าวถึงการประมาณน้ำหนักตัวในม้าและลา แต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับวิธีการประมาณน้ำหนักตัวในล่อ ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาวิจัยแรกในประเทศไทยที่ศึกษาวิธีการประมาณน้ำหนักตัวในล่อ ล่อจำนวน 54 ตัว อายุ 2.5 ถึง 4 ปี ถูกใช้ในการศึกษา ซึ่งน้ำหนักที่ได้จากเครื่องชั่งน้ำหนักจะถูกใช้เป็นค่าอ้างอิง และเปรียบเทียบกับวิธีการประมาณน้ำหนักตัวทั้ง 4 วิธี คือ ใช้สายวัดน้ำหนักม้า ใช้สายวัดน้ำหนักวัว ใช้สูตรการประมาณน้ำหนักตัวม้า และใช้สูตรการประมาณน้ำหนักตัวลา โดยพบว่า mean absolute percent error (MAPE) นั้นจะมีความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักที่ได้จากเครื่องชั่งน้ำหนักและน้ำหนักที่ได้จากวิธีการประมาณน้ำหนักตัวในแต่ละวิธีการ ซึ่งผลจากการวิจัยพบว่าสายวัดน้ำหนักม้านั้นให้ค่า MAPE ที่น้อยที่สุด และงานวิจัยนี้ยังมีการคิดค้นสูตรการประมาณน้ำหนักตัวล่อออกมาทั้ง 3 สูตร

คำสำคัญ ล่อ, การประมาณน้ำหนักตัว, สายวัดน้ำหนัก, สูตรการประมาณน้ำหนักตัว, ความยาวรอบอก

*** ผู้รับผิดชอบบทความ** ศิริพร เพียรสุขมณี ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50100 อีเมล์: siriporn.pean@cmu.ac.th

ข้อมูลบทความ *วันที่ได้รับบทความ 19 กรกฎาคม พ.ศ.2559 วันที่ได้รับการตีพิมพ์ 13 กันยายน พ.ศ.2559 วันที่ตีพิมพ์ออนไลน์ 23 กันยายน พ.ศ.2559*

Introduction

In veterinary medicine, the accurate body weight (BW) is one most important factor for treatment and management of animal health. For the large animals, such as horse and cattle, a digital scale is usually unavailable in routine work place. Although a well calibrated scale can be used to obtain an actual BW, but it is available only in referral center or in a veterinary teaching hospital. Therefore, several methods had been used for estimating BW of those animals. Examples of method for BW estimation may include visual estimation, weight tape, and formulas for BW calculation.

Visual estimation is quick and easy, but possesses high possibility of error and poor repeatability. The estimated BW obtained by this method depended on the experiences of the estimators. Therefore, estimated BW obtained from inexperience estimator may lead to an inaccuracy of calculated dosage of medication, which can cause failure of the treatment. Previous publication on anthelmintic resistance in veterinary medicine revealed that the under-dosing of anthelmintic drugs is one of the most important factors in the development of anthelmintic drug resistance (Shalaby, 2013).

Weight tape is designed for indirect measuring the BW of the animal. To obtain the BWwith this method, the circumference of the chest must be properly measured. This can be done by placing the tape around the cranial thoracic region of the animal. Over the dorsal midline, the tape should be positioned on the highest point of the wither or just behind the withers. Over the ventral side, the tape should be positioned just caudal to the elbow of the animal. In this position the weight tape almost looks perpendicular to the ground (Wagner and Tyler, 2011). Body weight obtained by this method depends on a single parameter, which is the circumference of the cranial thoracic cavity. Therefore it is also possesses some degree of error. This is due partly to a variation of the anatomical characteristics of each animal. Thus finding a new technique for a better accurate estimation of the BW may benefit to the veterinary practitioners. Several of previous researches aimed to develop equations for BW estimation based on morphometric values of the animals had been done in horses and donkeys (Carroll and Huntington, 1988; Pearson and Ouassat, 1996; Cherdchutham, 2004; de Aluja, 2005).

Cherdchutham and colleagues (2005) compared several available equations for Thoroughbred horse BW estimation including one from their own research in 2004 and found that weight estimation equation derived from girth circumference (CG) and a distance from shoulder to tuber ischii (SL) possessed comparable accuracy to the weight estimation. The equation (Cherdchutham, 2004) is demonstrated in equation I.

$$Weight\ (kg) = [3.339 \times CG\ (cm)] + [3.768 \times SL\ (cm)] - 694.427 \quad \text{I}$$

There was also a studied and designed in weight estimation equation of Moroccan donkeys in Morocco by Pearson and Quassat in 1996. This

weight estimation equation is demonstrated in equation II. However, this weight estimation equation was unable to be applied to a population of donkeys in the central Mexico (de Aluja et al, 2005). Therefore, this publication proposed an alternative weight estimation equation for the donkey population in the central Mexico. The equation is demonstrated in equation III. The results of this study suggested that even the weight estimation equation was specifically designed for donkeys, but may possess variation in the results when applied to a different group of populations.

$$Donkey\ live\ weight\ (kg) = \frac{[heart\ girth\ (cm)^{2.12} \times length\ (cm)^{0.688}]}{380} \quad II$$

$$Donkey\ live\ weight\ (kg) = 0.021179 \times [thoracic\ circumference\ (cm)]^{1.81247} \quad III$$

Mule is a hybrid derived from breeding a male donkey to a mare. Mules in Thailand are bred from native mare and imported donkeys. Two breeds of jack are available in Thailand including the Australian mammoth and the Dengzhou. Mules are used as a packing animal along the country borders where the terrain is mountainous and inaccessible by automobile. They can carry a greater weight when comparing to horses in a same body size. Obtaining BW of the mule serving in those area for medical purposes possess a big challenge for veterinary practitioner. Knowing an accurate BW of the mule is still important, since this information is needed for calculation of medication dosage. Information of BW also is required when treating mules suffered from dehydration. Without BW the veterinarian cannot calculate amount of fluid that the animals need. In the field, the veterinarian may visually estimate BW of the mules because the scale is unavailable and also no specific commercial weight tape for mule. Several equine practitioners in Thailand using weight tape of different species of animals, such as horses and cattle, to measure the body weight of the mules.

Therefore, this study was conducted in order to test the accuracy of body weight estimation in mule using a horses and ponies weight tape (HWT), cattle weight tape (CWT), weight estimation equation for horse (WEEH), and weight estimation equation for donkey (WEED) compare to body weight obtained from a digital scale.

Materials and Methods

Samples

Fifty-four male and female healthy mules age ranges from 2.5 to 4 years from the Veterinary Remount Department of the Royal Thai Army, Chiang Mai, Thailand, were recruited for this study. A minimum number of 30 samples were required for further statistical analysis with data mining method. Individual identification and information including age, sex, sire, and body condition score were recorded during the study. Body condition score of each mule was evaluated by two independent veterinarians using nine-point system (Pearson, 2005). Protocols for animal handing and usage in this study were approved by the Ethic Committee of the Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University.

Weighing the animal

Individual mule was weighted on a portable digital scale constructed from four load cells (34 Engineering Technology Co., Ltd. Chiang Mai, Thailand). The load cells were pre-calibrated by using a 50 kg knob weight. The load cells are capable of measuring weight at the maximum of 2,000 kg with an accuracy of +/- 1.5 kg at the maximum load. The scale was installed in a chute of sorting pen just before the exit of the chute. To install the scale, the four load cells were placed on a flat concrete floor of the chute 1.5 meters apart. A 68.2 kg of 80 × 180 cm of a wooden platform constructed from 2 inches thick of hard wood was place over the load cells. The scale was reset to zero every time prior to weight each individual mule.

Mule was individually weight by encouraging the individual to walk into the chute and stepped on the platform. The researcher then performed a final check that the body of the mule did not lean on the wall of the stall prior to read the value of body weight. Weighing was performed between 01.00 pm to 03.30 pm before the evening meal of the mule.

Measurement of the body proportions

Interested parameters of the body proportions in this study included thoracic circumference (TC) and body length (BL). Theses parameters were measured by HWT (EquiVET®) that also can be used to measure length in centimeter. The TC was measured by placing a weight tape around the cranial thoracic cavity. The measuring tape was placed over the caudal edge of the withers on the dorsal region, and was placed just caudal to the elbow on the ventral region.

The BL is a distance between the mid of the shoulder joint and the bony prominence of the tuber ischia. All the measurements of the body proportions was performed and recorded for three times while the mule was standing on the platform. The TC and BL in all mules was measured by a single person. Average values of the each parameter of the body proportions were used for further statistical analyses.

Measurements of body weight with weight tape

Measurement of BW by weight tape was perform by using a HWT (EquiVET®), and a CWT. To measure the body weight with HWT and CWT, the weight tape was placed around the cranial part of the thoracic cavity at the caudal edge of the withers on the dorsal, and just caudal to the elbow on the ventral part of the body. Measurement of body weight by tapes in all mules were repeated for three times by a single person.

Weight estimation by equations

Data of the TC and BL previously obtained by the above mentioned methods were used for BW calculation. The equations used in this study include the equation designed for Thoroughbred horses in Thailand previously described by Cherdchutham (2004) (I), and equations designed for donkeys in Morocco by Pearson and Quassat (1996) (II) and in the Central Mexico by A.S. de Aluja et al (2005) (III).

$$Weight\ (kg) = [3.339 \times CG\ (cm)] + [3.768 \times SL\ (cm)] - 694.427 \quad I$$

$$Donkey\ live\ weight\ (kg) = \frac{[heart\ girth\ (cm)^{2.12} \times length\ (cm)^{0.688}]}{380} \quad II$$

$$Donkey\ live\ weight\ (kg) = 0.021179 \times [thoracic\ circumference\ (cm)]^{1.81247} \quad III$$

Statistical analysis

Data of BW obtained from digital scale, HWT, CWT, WEEH, and WEED were analyzed using Data Mining method. Data of BW between genders were compared by using the Independent *t-test* to evaluate the difference between the means of two independent groups. Mean absolute error (MAE) and mean absolute percent error (MAPE) were calculated for each method of obtaining BW. Weight estimation method that possesses the lowest MAE and MAPE indicated that the estimated value is closest to the body weigh obtained from the digital scale.

Data of TC and BL were used as predictors with simple linear regression to generate an equation for BW estimation in tested mules. Statistical analyses were performed by using the R program (version2.15.2). *P*-value equal or less than 0.05 was considered to be statistical significant.

Results

Demographic information indicated that the mules being used in this study include 25 male and 29 female mules age ranged from 2.5-4 year-old. Five mules were derived from Australian Mammoth, and 49 mules were derived from Dengzhou sire. The body condition score were ranged from 3-5. Real body weights obtained from digital scale ranged from 150-339 kg with an average of 204.53 kg. Average body weights of male and female mules were 205.44 and 203.76 kg, respectively. There were not statistical difference in the real body weight between male and female mules being used in this study (*p= 0.8475*). Details of the body weight statistic of the male and female mules are showed in table 1.

Table 1. Mean and Standard deviation (SD) of the body weight of mules being used in this study

Gender	*N*	Mean	S.D.
Female	29	203.76	25.96
Male	25	205.44	36.15

p-value = 0.8475

Thoracic circumferences ranged from 121.67–164.67 cm with an average of 136.77 cm. The body lengths ranged from 111-145 cm with an average of 123.44 cm. Body weights obtained from HWT ranged from 153.67–337.33 kg with an average of 210.12 kg. Body weights obtained from CWT ranged from 159.33–376.33 kg with an average of 217.67 kg.

Body weights calculated from WEEH ranged from 130.06–401.75 kg with an average of 227.36 kg. Body weights obtained from WEED ranged from 127.41–220.51 kg with an average of 157.83 kg.

Accuracy of body weight estimation method

Data mining analysis for accuracy indicated that body weight obtained by HWT possessed the lowest MAE and MAPE when compared to others methods of body weight estimations. Body weight obtained from WEED possessed the highest MAE and MAPE. This indicated that body weight obtained from WEED was not close to the body

weight obtained by digital scale. Details of accuracy prediction parameters of each method of body weight estimation are showed in table 2.

Table 2. Accuracy prediction parameters of each method of weight estimation compared with the body weight obtained from digital scale calculated by Data Mining method using R-program.

Methods	MSE	RMSE	MAE	MAPE
Horse & Pony weight tape	146.15	12.09	10.26	5.27
Cattle weight tape	315.80	17.77	14.14	7.03
Horse equation	882.46	29.71	25.10	11.90
Donkey equation	2477.12	49.77	46.71	22.23

*MSE: Mean Square Error; RMSE: Root Mean Square Error; MAE: Mean Absolute Error; MAPE: Mean Absolute Percent Error

A graphic comparison of estimated body weight obtained from different methods demonstrated in figure 1 suggested that body weight obtained from HWT, CWT, and WEEH yielded a concordant result with the real body weight obtained from digital scale.

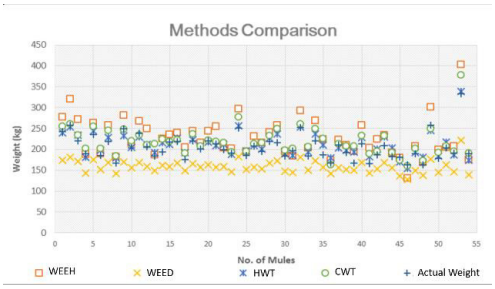


Figure 1: Distribution of individual body weight obtained from different methods (WEEH: weight estimation equation for horses, WEED: weight estimation equation for donkeys, HWT: horse weight tape, CWT: cattle weight tape)

Results from the regression analysis indicated that the coefficient of determination of TC and BL for determining the body weight were 0.8153 and 0.7732, respectively. This indicated that both TC and BL can be used for body weight estimation in mules. When incorporate both parameters into the regression analysis, the coefficient of determination of the equation increase to 0.8718. Details of the regression analysis and the coefficient of determination for each parameter and their combination are showed in table 3.

Table 3. Equations for estimation the bodyweight of mule age range from 2.5-4 years in Chiang Mai province based on thoracic circumference in (TC) and body length (BL), when a unit of measurement is centimeter and their adjusted R^2 values.

Equations	Adjusted R^2
Weight = 4.0980(TC) -340.6918	0.8153
Weight = 4.5295(BL) -339.3183	0.7732
Weight = 2.5156(TC) + 2.1790(BL) - 393.2388	0.8718

Discussion

The studies of BW estimation had been done in several equids such as horses and donkeys. In Thailand, some studies of body weight estimation have been done in Thoroughbred by using equation based on parameters derived from chest circumference and body length (Cherdchutham, 2004). The BW derived from this equation was close to a BW obtained from a scale

with a deviation approximately 1.6%, while BW from HWT had a deviation approximately 10%. Results from our study suggested that estimation of mule BW using HWT possessed a better accuracy than that of the horses, with a 5.26% deviation from the value obtained from digital scale. Even though the body weight estimated by WEEH provided a concordant result to the real body weight, from our results, we suggested that this equation tended to over-estimate the BW. But the reason that the HWT yielded a better estimated-weight in mule than that of the Thoroughbred is unknown and may need further investigation.

The BW estimation in donkeys had been reported since 1990 in several countries. Eley and French (1993), Pearson and Ouassat (1996) and de Aluja et. al., (2005) had developed equations to predict the live BW of donkeys in Great Britain, Morocco, and the Central Mexico, respectively. Each equation incorporated different variables. Eley and French (1993) used heart girth and height, Pearson and Ouassat (1996) used heart girth and body length and De Aluja et.al., (2005) used only TC to predict the body weight of donkeys. Results of the above mentioned studied also suggested that equations developed based on information derived from one population may not suitable to be applied in other populations. These can explain the reason why the WEED tended to under estimate the body weight of the mules in Thailand.

Based on the breed of sire that the mule in our study derived from, we may able to divide our samples into two groups. The first group was mules derived from Dengzhou sire (n=49). The second group was mules derived from Australian Mammoth sire (n=5). Because the huge different on the number of the samples of these two groups, we were unable to determine the effect of different populations in our study and requires further study.

Results from our study also suggested that body weight obtained from digital scale of male population were not different from female population. Mules being used in our study were immature with age ranged from 2.5-4 year-old. At this age the sex dependent anatomical characteristics may not fully developed and may possess little to no effects on BW.

The estimation of BW in large animal is very important for medical purposes especially in the facilities where a scale is unavailable. Either overestimate or underestimate of the BW can lead to an inaccurate dosage calculation of medications. This can be dangerous to the animals in several circumstances. According to The United States Pharmacopeial Convention (2007), a foal receiving high dosage of gentamicin is at risk of nephrotoxicity. Overestimation of its BW will definitely increase this risk and may cause fatal condition to the foal.

Based on the previous studied in Thoroughbred and donkey, three equations that have potential to be used in mule population in Chiang Mai was developed and proposed in this article as showed in table 3. Results from the adjusted R^2 analysis suggested that TC possessed the highest R^2 and may be used as a single parameter to estimate the body weight of

the mule. Combination of TC and BL parameters in the equation increased the predictive capability, but also increased a complexity of the application. The small difference of the estimating values among the three equations may be considered that the more complicated estimation method is unworthy to practice especially for wide-safety dosage range medications such as ivermectin. Therefore, further development is required to simplify the application of these equations.

Conclusion

Results in our studied suggested that the horse weight tape provided a value of estimated-BW closest to the real BW obtained from the digital scale, followed by the cattle weight tape, weight estimation equation for horse, and weight estimation equation for donkey, respectively. The results also suggested that genders did not affect the weight of the mules in our experimental groups. According to data from thoracic circumference and body length, an equation was also generated with high predictive value but it still need further development in order of convenience in the field application.

Acknowledgment

We are grateful for the financial support from faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University. And thanks to all of staffs from the Veterinary Remount Department of the Royal Thai Army, Chiang Mai, Thailand for facilitated us in that place and made this work convenient.

References

Cherdchutham W, Trimongkolkul T, Yawongsa A, Sukhong N, Klameepol W, Pooksrisuk W. 2004. The use of chest girth and shoulder body length to estimate body weight in female Thoroughbreds. J. Thai Vet. Med. Assoc. 55(2): 54-59.

Cherdchutham W, Trimongkolkul T, Yawongsa A, Sukhong N, Pooksrisuk W, Klameepol W. (2005). Study of using formulae and weight tape for estimating body weight of Thoroughbred horses in Thailand. J. Thai Vet. Med. Assoc. 56:2

De Aluja AS, Tapia Pérez G, López F, Pearson RA. (2005). Live weight estimation of donkeys in central Mexico from measurement of thoracic circumference. *Trop Anim Health Prod.* 37. Suppl 1:159–71.

Eley J, French J. (1993). Estimating the bodyweight of donkeys. *Vet Rec*. 6;132(10):250

Gharahveysi S. (2012). Compare of Different Formulas of Estimating the Weight of Horse by the Iranian Arab Horse Data. *J. Anim. Vet. Adv.* 11(14): 2429-2431.

Hintz HF. (2002). How much does that horse weight. *J. Equine. Vet. Sci*. 22(8):362.

Hoffmann G, Bentke A, Rose-Meierhöfer S, Ammon C, Mazetti P, Hardarson GH. (2013). Estimation of the Body Weight of Icelandic Horses. *J. Equine. Vet. Sci*. 33(11):893–5.

Ledolter J. (2013). Data Mining and Business Analytics with R. New Jersey. John Wiley & Sons Inc. 365 p.

Milner J, Hewitt D. (1969). Weight of horses: improved estimates based on girth and length. *Can Vet J*. 10(12):314–6.

Nengomasha E M, Jele N, Pearson R A. (1997). Morphological characteristics of working donkeys insouth–western Zimbabwe. Improving donkey utilisation and management, ATNESA workshop, 5–9 May 1997:74-80. Debre Zeit: ATNESA workshop.

Pearson RA, Ouassat M. (2000). A Guide to Live Weight Estimation and Body Condition Scoring of Donkeys. Midlothian: Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh.

Pearson RA, Ouassat M. (1996). Estimation of the liveweight and body condition of working donkeys in Morocco. *Vet Rec*. 9;138(10):229–33.

Rodríguez C, Muñoz L, Rojas H, Briones M. (2007). New formula for bodyweight estimation of thoroughbred foals. *Vet Rec*. 161:165-166

Shalaby H. A. (2013). Anthelmintics Resistance; How to Overcome it. *Iran J Parasitol*. 8(1):18–32.

Wagner EL, Tyler PJ. (2011). A Comparison of Weight Estimation Methods in Adult Horses. *J. Equine. Vet. Sci*. 31(12):706–10.

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2559; 14(3): 95-107. DOI: 10.14456/cmvj.2016.9

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร
Chiang Mai Veterinary Journal
ISSN; 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)
Website; www.vet.cmu.ac.th/cmvj

Original Article

Effects of *Black ginger (Kaempferia parviflora)* on the testicular function in streptozotocin-induced diabetic male rats

Wirasak Fungfuang[1*], Teerayuth Lert-Amornpat[1], Chan Maketon[2]

[1] *Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900*

[2] *Department of Environmental Science, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkok 10900*

Abstract The present study aimed to investigate the efficacy of *Black ginger (Kaempferia parviflora*; KP) on testicular function in streptozotocin (STZ)-induced diabetes rats (DM). Six-week-old male Wistar rats were used in this experiment. All rats were randomly divided into six group; group 1: Normal group, group 2: DM (control), group 3: DM rats received gibencamide 5 mg/kg, group 4-6: DM rats received KP 140, 280 and 420 mg/kg, respectively. DM was induced by intraperitoneal injection of STZ (60 mg/kg). All animals were treated for 6 weeks. Blood glucose, epididymal sperm parameter, testicular microstructure and testosterone level were evaluated. The result showed that KP treatment has no effect on blood glucose in DM rats. KP treatment showed significantly increased sperm density, serum testosterone and ameliorates testicular structure in DM rats ($p<0.05$). The present study indicates that the aphrodisiac properties of KP could improve of sperm density, testosterone level and testicular function in STZ-induced diabetes rats.

Keywords; Diabetes mellitus, Testes, Testosterone, *Kaempferia parviflora*

* **Corresponding author**: Wirasak Fungfuang, Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, Tel : 097-0493357. E-mail; fsciwsf@ku.ac.th

Article history; *received manuscript: 22 October 2016, accepted manuscript: 9 November 2016, published online: 14 November 2016*

เชียงใหม่สัตแพทยสาร 2559; 14(3): 95-107. DOI: 10.14456/cmvj.2016.9

บทความต้นฉบับ

ผลของกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ต่อการทำงานของอัณฑะในหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย Streptozotocin

วีระศักดิ์ ฟุ้งเฟื่อง[1*] ธีรยุทธ เลิศอมรภัทร[1] ชาญ เมฆธน[2]

[1]ภาควิชาสัตวเวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2] ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*; KP) ต่อการทำงานของอัณฑะในหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย Streptozotocin ทำการศึกษาในหนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Wistar อายุ 6 สัปดาห์ หนูทุกตัวถูกแบ่งเป็น 6 กลุ่มด้วยวิธีการสุ่มประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 หนูปกติ (ควบคุม) กลุ่มที่ 2 หนูเบาหวาน กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานได้รับยา gibencamide ขนาด 5 มก/กก กลุ่มที่ 4-6 หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกระชายดำขนาด 140, 280 และ 420 มก/กก ตามลำดับ หนูกลุ่มเบาหวานถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วยวิธีการฉีด streptozotocin ขนาด 60 มก/กก เข้าช่องท้อง หนูทุกกลุ่มได้รับการป้อนสารเป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นทำการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด คุณภาพของอสุจิบริเวณอิพิดิไดมิส ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอัณฑะและระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดกระชายดำไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้พบว่าสารสกัดกระชาดำมีผลเพิ่มความหนาแน่นของอสุจิ ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและลักษณะทางจุลกายวิภาคของอัณฑะในหนูที่ถูกเหนี่ยวให้เป็นโรคเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศของกระชายดำสามารถเพิ่มความหนาแน่นของอสุจิ ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและการทำงานของอัณฑะในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย streptozotocin

คำสำคัญ โรคเบาหวาน อัณฑะ เทสโทสเตอโรน กระชายดำ

* **ผู้รับผิดชอบบทความ** วีระศักดิ์ ฟุ้งเฟื่อง ภาควิชาสัตวเวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 097-0493357. อีเมล์: fsciwsf@ku.ac.th

ข้อมูลบทความ *วันที่ได้รับบทความ 22 ตุลาคม พ.ศ. 2559 วันที่ได้รับการตีพิมพ์ 9 พฤศจิกายน พ.ศ. 2559 วันที่ตีพิมพ์ออนไลน์ 14 พฤศจิกายน พ.ศ. 2559*

Introduction

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder that continues to be a major of global health problem (Jangir and Jain, 2014; Roehrs et al., 2014; Tsounapi et al., 2012). The prevalence is rapidly increasing and estimate 366 million people living with the disease by 2030 (Mulholland et al., 2011). DM affects many organs such as heart, kidney, eye, peripheral nerves and male reproductive organs (Bayram et al., 2015). The recently report that decrease male reproductive function is common complication in both diabetic men and experimental animal model (Bal et al., 2011). The number of young patients with DM type 1 is rising drastically. Therefore, infertility of young patients has become concern (Tsounapi et al., 2012). Previous report indicated that DM has effects on accessory sex organs, spermatogenesis, steroidogenesis, semen quality, erectile dysfunction and sexual behaviour (Abbasi et al., 2013; Heeba and Hamza, 2015; Nasrolahi et al., 2013). It is also suggested that DM lead to the increase oxidative stress and impairment of antioxidant enzymes, thus resulting in male reproductive dysfunction (Bal et al., 2011; Roehrs et al., 2014; Tsounapi et al., 2012).*Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker or "Krachai dum", is belong to a family of Zingiberaceae. It has been used a folk medicine in Thailand for treating various illness including allergy, fatique, general pain, gastrointestinal disorder, allergy, fatigue, general pain, gastrointestinal disorder, promote health, and male sexual dysfunction (Murata et al., 2013; Trisomboon et al., 2008; Wattanathorn et al., 2012). This plant has been increasingly used as an alternative medicine. Moreover, the toxicological study have shown that administration of KP for 60 days had no effect on hemoglobin, WBC, differential cell count, and hepatic and kidney function (Sudwan et al., 2006). Recent finding showed that KP contains chalcone derivatives, flavonoids and flavonoid glycosides that contain many methoxyl groups. The various of polymethoxyflavonone substances including 7-dimethoxyflavone; 5-hydroxy-3; 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone; 5-hydroxy-7-methoxyflavone; 3,5,7-trimethoxyflavone; 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone; 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone; 5,7,4'-trimethoxyflavone; 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone and 5,7,3',4'-tri methoxyflavone; were a major compound in KP roots (Akase et al., 2011; Shimada et al., 2011; Sutthanut et al., 2007; Trisomboon et al., 2008; Youn et al., 2016). The pharmacokinetic studies of KP extract indicated that its low oral bioavailability, methoxyflavones achieved the maximum concentration within 1-2 hr after oral administration and their $T_{1/2}$ is 3-6 hr (Mekjaruskul and Sripanidkulchai, 2015). The aphrodisiac properties of KP were promoted and have long been used among Thai men. However, there were no laboratory results to support it potential in diabetes animal model. The aim of this study was to investigate the effect of KP on testicular function in streptozotocin-induced diabetes rats.

Materials and Methods

Plant material

The KP rhizomes were obtained from Loei province, Thailand, and identified by Assoc. Prof. Monchan Maketon, Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Thailand. The rhizomes were slice, dried at 60°C for 24 hr and ground. The KP powder was extracted with 50% ethanol in a Soxhlet apparatus and evaporated by rotary evaporation, lyophilized. The lyophilized KP was stored at -20°C until use.

Animals care and experimental design

Thirty-six adult male Wistar rats weighing about 180-200g were obtained from the National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Thailand. The animals were housed individually in standard polypropylene cages, which maintained under controlled conditions of light cycle (12 hr:12 hr light:dark), room temperature (25±2°C) and relative humidity (60-70%) with free access water and rat chow. Rats were allowed to acclimatize to the laboratory environment for 7 days before starting the experiment. All procedures were accord with the National Institutes of Health, U.S.A., Guide for the care and Use of Laboratory Animals and were conducted according to ethical guidelines of Kasetsart University Research and Development Institute, Kasetsart University, Thailand (ID:OACKU00258).

Diabetes mellitus was induced by single intraperitoneal injection of streptozotocin (Sigma, St. Louis, MO, USA) that was fresh prepared in dissolved in ice-cold citrate buffer (0.1 M, pH 4.5) at a dose 60 mg/kg. Diabetes was confirmed by a drop of blood taken from the tail for glucose level estimation via blood glucose meter (Accu-Check Active, Roche Diagnostic, Germany). Only animals exhibiting a fasting glucose level greater than 250 mg/dl three days after STZ injection were included in this study. Animals were randomly divided into six groups comprising six animals in each group.

- Group 1: normal nondiabetic rats received vehicle
- Group 2: nontreated diabetic rats received vehicle
- Group 3: diabetic rats treated with gibencamide at 5 mg/kg
- Group 4: diabetic rats treated with KP extract at 140 mg/kg
- Group 5: diabetic rats treated with KP extract at 280 mg/kg
- Group 6: diabetic rats treated with KP extract at 420 mg/kg

The extract was suspended in distilled water with Tween 80 to prepare a 1% suspension. The study was continued for 6 weeks using an oral gavage tube.

Blood glucose

Fasting blood glucose was monitored once in a week during experiment period by a drop of blood taken from the tail for glucose level estimation via blood glucose meter (Accu-Check Active, Roche Diagnostic, Germany).

Sperm collection and analysis

At the end of the experiment all animal were sacrificed by overdose of pentobarbitone sodium. The testes, seminal vesicle and epididymis were collected, washed in saline and blotted dry with filter paper. The organs were weighted using an electronic balance. The semen was obtained from the caudal epididymis by mincing the epididymis into small pieces and mixing the epididymal fluid with 1 ml of Hanks'balance salt solution prewarmed at 37°C. Sperm parameters such as sperm count, motility and viability were examined by microscope according to the method by Raji *et al.* (2003). Sperm count was done using Neubauer cell counting chamber under 10X magnification. Percentage of sperm viability, morphologically normal and abnormal was accessed by the one-step eosin-nigrosin staining technique. Nonstained cells were considered as alive and in dead cells, stain had passed through the membrane and colored as oranged-red. Sperm morphology was evaluated.

Hormonal analysis

Blood samples were collected from posterior vena cava and centrifuge at 2,200g for 15 min at 4°C. The serum was store at -35°C for analysis. The serum Testosterone level was measured by colorimetric method using Testosterone ELISA Kit ab108666 (Abcam, Cambidge, UK) according to the manufacturer's instructions. The sensitivity of the assay was 0.07 pg/ml. The intra- and interassay coefficients of variation were 5.5 and 10.5%, respectively.

Histological evaluation

After being weighed, the testes were immediately fixed in Bouin's solution for 24 h. Tissues were processed according to the standard histological protocol for paraffin embedding and cut into 5-μm-thick slices. Sections were stained with hematoxylin-eosin (HE). The sections were viewed under a light microscope and photomicrographs were taken. The microscopic structures of the seminiferous tubules, Sertoli cells, Leydig's cells, adventitial cells and the extent of spermatogenesis were evaluated. At least randomly selected 30 round tubules from each animal were measured of the diameter to determine the mean seminiferous tubule diameter (MSTD). The spermatogenesis was categorized based on the Johnson score (Celik *et al.*, 2013). A grade from 1 to 10 was given to each tubule cross-section according to the following criteria: 10=complete spermatogenesis and perfect tubules; 9=many spermatozoa present and disorganized spermatogenesis; 8=only a few spermatozoa present; 7=no spermatozoa but many spermatids present; 6=only a few spermatids present; 5=no spermatozoa or spermatids but many spermatocytes present; 4=only a few spermatocytes present; 3=only spermatogonia present; 2=no germ cells but only Sertoli cells present; 1=no germ cells and no Sertoli cells present.

Statistical analysis

The results were expressed as the mean±SEM. The statistical analysis was performed by one-way ANOVA followed by the post hoc Tukey test using R Project Statistical Computing package (R Core Team, 2016). P values <0.05 were considered as statistically significant.

Results

Effect of KP on blood glucose level

STZ-induced diabetes significantly increased blood glucose level by 2-3 folds compared to the normal control rats ($p<0.05$). However, KP treatment did not have effects on the blood glucose levels in diabetic rats (Table 1).

Effect of KP on reproductive organ weight and serum testosterone level

The inductions of diabetes cause significant decrease ($p<005$) in weight of testes, epididymis and seminal vesicle compared to normal rats (Table 2). However, KP-treated diabetic rats had significantly improved testicular weight compared to untreated diabetic rats and diabetic rats treated with gibencamide ($p<0.05$). KP at 420 mg/kg improved the epididymis and seminal vesicle weights, which were comparable to those in normal nondiabetic rats.

The serum testosterone level is presented in figure 1. Serum testosterone level in diabetic rats was significantly different from that in normal rats, whereas treatment with KP significantly increased serum testosterone level in diabetic rats ($p<0.05$).

Table 1 Effect of *K. parviflora* extract on blood glucose

Groups	Blood glucose (mg/dL)	
	Before treatment	After treatment
Group 1	101.75±4.59^{a}	102.75±4.78^{a}
Group 2	305.25±27.01^{b}	403.25±36.77^{b}
Group 3	287.25±40.80^{b}	420.00±31.77^{b}
Group 4	279.75±56.37^{b}	425.75±14.17^{b}
Group 5	305.00±23.34^{b}	463.00±47.41^{b}
Group 6	274.60±59.30^{b}	414.60±40.54^{b}

All data are shown as the mean±SEM,

Value in each row marked different superscript letter differ significantly ($p<0.05$)

Table 2 Effect of *K. parviflora* on testis, epididymis and seminal vesicle weight

Groups	Reproductive organ weight (g)		
	Testes	Epididymis	Seminal vesicle
Group 1	3.65±0.12^{a}	1.36±0.16^{a}	1.13±0.21^{a}
Group 2	2.14±0.53^{b}	0.71±0.16^{b}	0.26±0.11^{b}
Group 3	3.05±0.27^{b}	0.96±0.16^{b}	0.67±0.26^{b}
Group 4	3.19±0.07^{a}	0.99±0.11^{ab}	0.59±0.22^{ab}
Group 5	3.23±0.08^{a}	1.06±0.11^{ab}	0.66±0.10^{ab}
Group 6	3.65±0.15^{a}	1.26±0.09^{a}	0.95±0.28^{a}

All data are shown as the mean±SEM,

Value in each row marked different superscript letter differ significantly ($p<0.05$)

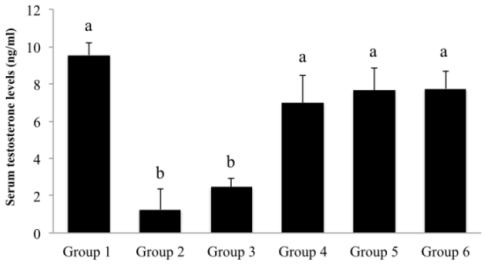


Figure 1. Effects of *K. parviflora* on serum testosterone levels. Data are presented as the mean±SEM. The different characters indicated significant differences ($p<0.05$).

Effect of KP treatment on epididymal sperm parameter

The sperm count, motility and viability (Figure 2) were significantly reduced in diabetic rats and treatment with KP at 420 mg/kg revealed significant increases in sperm count ($p<0.05$). However, KP treatment does not have effect on sperm motility and viability compared to diabetic rats. There were no significant differences in the percentage of abnormal sperm between normal and diabetic rats.

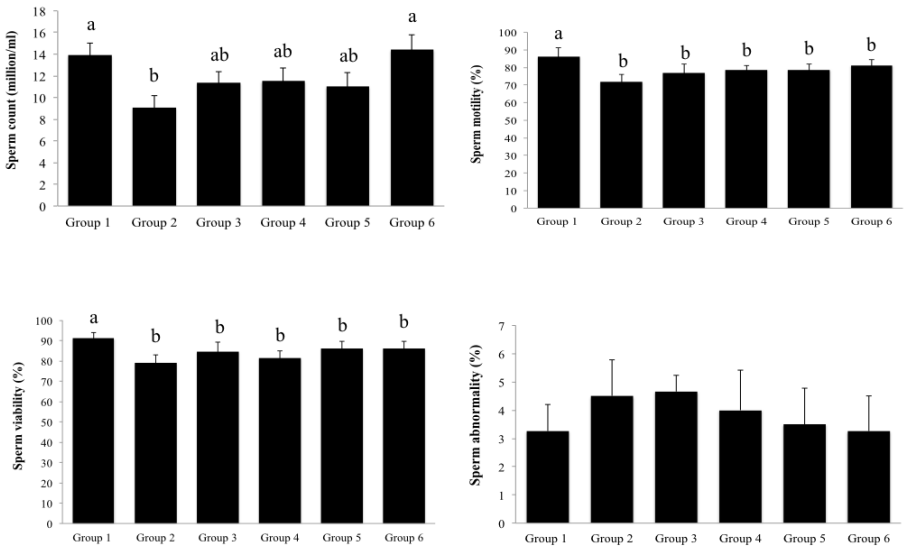


Figure 2. Effects of *K. parviflora* on epididymal sperm parameter. Data are presented as the mean±SEM. The different characters indicated significant differences ($p<0.05$).

Effect of KP on Johnson's score and testicular histological structure

DM control rats revealed a significant decrease in the mean Johnson score in comparison with the normal control group (Table 3). Treatment with KP increased the Johnson score in diabetic rats with the highest dose at 420 mg/kg exhibiting a statistically non-significant score compared with the normal rats. The seminiferous tubule diameter was decreased in the diabetic rats compared with that of normal rats. The KP treatment increased the seminiferous

tubule diameter that was not statistically significant as compared with the normal rats.

Table 3 Effect of *K. parviflora* extract on Johnson's score and seminiferous tubule diameter

Groups	Johnson's score	Seminiferous tubule diameter (μm)
Group 1	9.63±0.09[a]	257.29±3.09[a]
Group 2	5.54±0.18[b]	190.38±2.15[b]
Group 3	7.31±0.17[c]	230.38±2.97[c]
Group 4	7.71±0.14[c,d]	236.85±2.94[c]
Group 5	8.06±0.12[d]	254.81±2.69[a]
Group 6	9.23±0.12[a]	261.21±2.65[a]

All data are shown as the mean±SEM

Value in each row marked different superscript letter differ significantly ($p<0.05$)

The normal rats exhibited normal testicular structures of the seminiferous tubules, interstitial structure and spermatogenesis (Figure 3 and 4). The diabetic groups manifested with degenerate seminiferous tubules with remarkable reduction in the number of germ cells (Spermatogonia, Spermatocyte, Spermatid and Sertoli cells) and the premature detachment of germ cells. The administration of KP to diabetic rats improved the testicular structure and increased the germinal epithelium thickness and numbers of Spermatogenic cells.

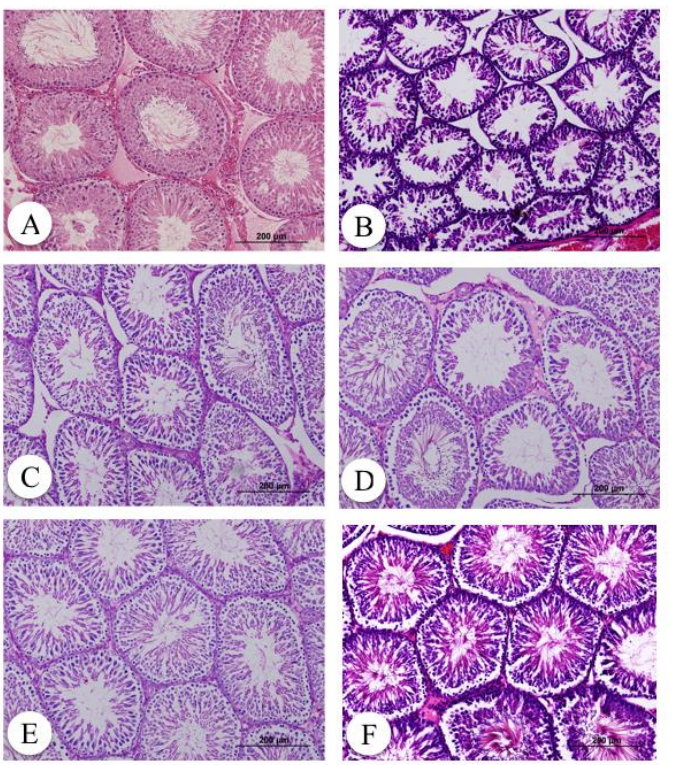


Figure 3. Light photomicrograph of rats' testicular seminiferous tubules stained with H&E (magnification: x100). Group 1 (A), Group 2 (B), Group 3 (C), Group 4 (D), Group 5 (E) and Group 6 (F).

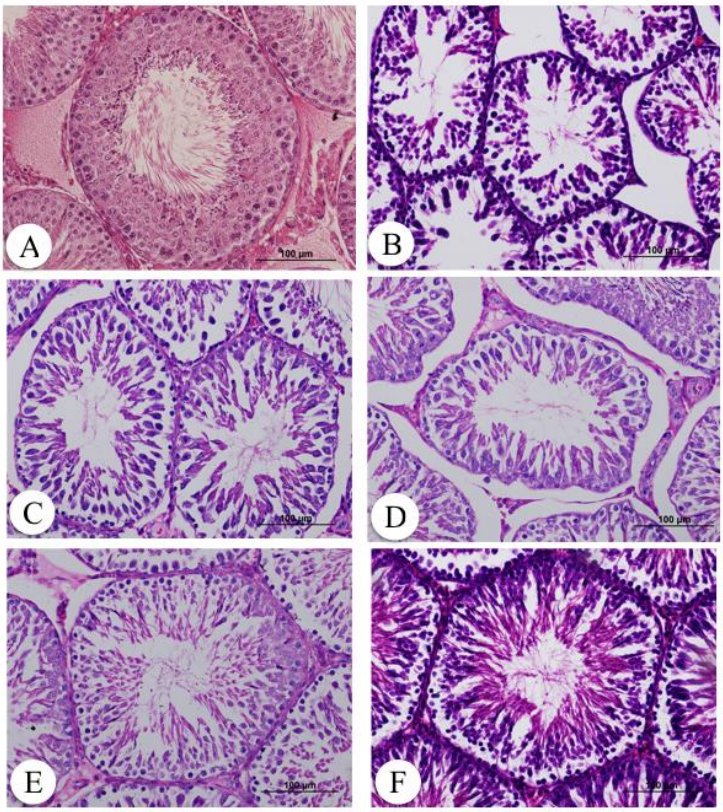


Figure 4. Light photomicrograph of rats' testicular seminiferous tubules stained with H&E (magnification: x400). Group 1 (A), Group 2 (B), Group 3 (C), Group 4 (D), Group 5 (E) and Group 6 (F).

Discussion

The present study clearly reveals that, KP administration in STZ-induced diabetic rats significantly increased testicular weight, sperm concentration, serum testosterone levels and ameliorated testicular structure.

Sexual dysfunctions are frequently associated with diabetic patients and diabetic-induced animals (Bayram et al., 2015; Scarano et al., 2006). The STZ-induced diabetic rat model has been used for evaluation of the effects of diabetes in male reproductive function. The previous study reported that STZ-induced diabetes in the animal model causes abnormal histology and atrophy of the seminiferous tubules, reduced number of sprematogenetic cell series spermatogenic dysfunction, teratozoospermia, testicular dysfunction, increase apoptotic cell deaths in spermatogenic series and decreased serum testosterone levels (Navarro-Casado et al., 2010; Shrilatha, 2007). The present study clearly confirms the disruption of spermatogenesis, significantly decrease sperm density, sperm motility, reproductive organ weight, Johnson's score and seminiferous tubule diameter. It has

been suggested that oxidative stress is a major cause of testicular dysfunction in STZ-induced diabetic animals or an imbalance in the oxidant defense system (Atalay et al., 2012; Shrilatha, 2007; Xu et al., 2014).

The present study demonstrated that the KP treatment in DM rats could improve the serum testosterone levels, testicular weight, sperm density and testicular structure. Furthermore, the aphrodisiac properties of KP in the present report are in similar to those the previous studies, by enhancing sexual performance and serum testosterone levels. In addition, it shown that immature rats treated with KP could improve their serum testosterone levels with no effect on the reproductive organs (Trisomboon et al., 2007). KP could also increase ejaculation volume, sperm viability, progressive sperm motility, seminal vesicular weight and spermtogenesis both in rabbits and rats (Jitjaingam et al., 2005; Somphol et al., 2003). The histological studies indicate abatement of Leydig cell and disruption of the seminiferous tubules in nontreat and gibencamide treated diabetic rats but no damage in the Leydig cells of KP administration rats. Hence, it is quite clear that testosterone level is related with the damage of cells. Testosterone has been reported to play a role in growth of male reproductive organs, accessory sex organs and sexual activity (De et al., 2016). Our results indicated that KP treatment in STZ-induced diabetes rats could improve testicular weight with the highest dose showing significantly increase epididymis and seminal vesicle weight. However, the mechanisms of KP on the androgenic activity in the male rats remain unknown. It is suggested that the increase in spermatic blood flow to the testis stimulates testosterone production and secretion (Chaturapanich et al., 2008). It was shown that flavonoid and phenols, also present in KP extract, induced vasodilation in the corpus cavernosum, and suggesting that the flavonoid may increase the testosterone levels (Wankeu-Nya et al., 2014). Previous reports have demonstrated that KP contain many flavonoids such as 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (PMF) causing relaxation of the human corpus cavernosum (Jansakul et al., 2012) and 5,7-dimethoxyflavone (DMF) having a phosphodiesterase5 (PDE5) inhibitor effect (Temkitthawon et al., 2011). DMF enhance testosterone production via cAMP in mouse testis-derived tumor cells (Horigome et al., 2016). The other experiment have demonstrated that KP extract, DMF and 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone (TMF) reducing intracellular ROS production in human umbilical vein endothelial cells (Horigome et al., 2015).

It was concluded that KP treatment attenuated diabetes related testicular dysfunction, enhanced serum testosterone levels and ameliorated testicular microstructure in STZ-induced diabetes male rats. Further study is undertaken to assess the effects of bioactive compound of KP on steroidogenesis and sexual behavior in STZ-induced diabetic rats.

Acknowledgements

This research was supported by grants from Cordy Biotech Limited, Thailand and Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Thailand. The authors thank Dr. Nopparat Srakaew for assistance in manuscript preparation.

References

Abbasi, Z., Tabatabaei, S.R., Mazaheri, Y., Barati, F., Morovvati, H, 2013. Effects of sesame oil on the reproductive parameters of diabetes mellitus-induced male rats. World J. Mens. Health. 31: 141-149.

Akase, T., Shimada, T., Terabayashi, S., Ikeya, Y., Sanada, H., Aburada, M. 2011. Antiobesity effects of *Kaempferia parviflora* in spontaneously obese type II diabetes mice. J. Nat. Med. 65: 73-80.

Atalay, U.B., Ilhan, F., Gulyuz, F., Karasu, A., Tas, A., Sendag. S., Wehrend, A. 2012. The effects of sildenafil citrate and vitamins A, C and E on testicular damage in alloxan-diabetic rats. J. Anim. Vet. Adv. 11: 56-63.

Bal, R., Türk, G., Tuzcu, M., Yilmaz, O., Ozercan, I., Kuloglu, T., Gür, S., Nedzuetsky, V.S., Tykhomyrov, A.A., Andrievsky, G.V., Baydas, G., Naziroglu, M. 2011. Protective effects of nanostructures of hydrated C_{60} fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. Toxicology. 282: 69-81.

Bayram, S., Kizilay, G., Topcu-Tarladacalisir, Y. 2016. Evaluation of the Fas/FasL signaling pathway in diabetic rats testis. Biotech. Histochem. 91: 204-211.

Celik, O., Kutlu, O., Tekcan, M., Celik-Ozenci, C., Koksal, I.T. 2013. Role of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in the pathogenesis of varicocele-induced testicular dysfunction. Asian J. Androl. 15: 269-274.

Chaturapanich, G., Chaiyakul, S., Verawatnapakul, V., Pholpramool, C. 2008. Effects of *Kaempferia parviflora* extracts on reproductive parameters and spermatic blood flow in male rats. Reproduction. 136: 515-522.

De, A., Singh, M.F., Singh, V., Ram, V., Bisht, S. 2016. Treatment effect of L-Norvaline on the sexual performance of male rats with streptozotocin induced diabetes. Eur. J. Pharmacol. 771: 247-254.

Heeba, G.H. and Hamza, A.A. 2015. Rosuvastatin ameliorats diabetes-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress, inflammatory and apoptotic pathways in male rats. Life Sci. 141: 13-19.

Horigome, S., Yoshida, I., Ito, S., Inobana, S., Fushimi, K., Nagai, T., Yamaguchi, A., Fujita, K., Satoyama, T., Kasuda, S., Suzuki, S., Watai, M., Hirose, N., Mitsue, T., Shirakawa, H., Komai, M. 2015. Inhibitory effects of *Kaempferia parviflora* extract on monocyte adhesion and cellular reactive oxygen species production in human umbilical vein endothelial cells. Eur. J. Nutr. (Epub ahead of print): 10.1007/s00394-015-1141-5.

Horigome, S., Maeda, M., Ho, H.J., Shirakawa, H., Komai, M. 2016. Effect of extract and its polymethoxyflavonoid components on testosterone production in mouse testis-derived tumour cells. Journal of Functional Food. 26: 529-538.

Jangir, R.N., Jain, G.C. 2014. Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive function: a review. Curr. Diabetes. Rev. 10: 147-157.

Jansakul, C., Tachanaparuksa, K., Mulvany, M.J., Sukpondma, Y. 2012. Relaxant mechanisms of 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone on isolated human cavernosum. Eur. J. Pharmacol. 691: 235-244.

Jitjaingam, A., Kakaew, A., Saenphet, K., Saenphet, S., Aritajat, S. 2005. Effects of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker on reproductive organs hematology and kidney function of male rats. Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Mekjaruskul, C., Sripanidkulchai, B. 2015. Pharmacokinetic interaction between *Kaempferia parviflora* extract and sildenafil in rats. J. Nat. Med. 69: 224-231.

Mulholland, J., Mallidis, C., Agbaje, I., McClure, N. 2011. Male diabetes mellitus and assisted reproduction treatment outcome. Reprod. Biomed. Online. 22: 215-219.

Murata, K., Hayashi, H., Matsumura, S., Matsuda, H. 2013. Suppression of benign prostate hyperplasia by *Kaempferia parviflora* rhizome. Pharmacognosy Res. 5: 309-314.

Nasrolahi, O., Khaneshi, F., Rahmani, F., Razi, M. 2013. Honey and metformin ameliorated diabetes-induced damages in testes of rat; correlation with hormonal changes. Iran J. Reprod. Med. 11: 1013-1020.

Navarro-Casado, L., Juncos-Tobarra, M.A., Cháfer-Rudilla, M., Íñguez De Onzoño, L., Blázquez-Cabrera, J.A., Miralles-García, J.M. 2010. Effects of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. J. Androl. 31: 584-592.

R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. [Online] Available : https://www.R-project.org.

Roehrs, M., Figueiredo, C.G., Zanchi, M.M., Bochi, G.V., Moresco, R.N., Quatrin, A., Somacal, S., Conte, L., Emanuelli, T. 2014. Bixin and norbixin have opposite effects on glycemia, lipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Int. J. Endocrinol. 2014: 839095.

Scarano, W.R., Messias, A.G., Oliva, S.U., Klinefelter, G.R., Kempinas, G. 2006. Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycemia in rats. Int. J. Andro. 29: 482-488.

Shimada, T., Horikawa, T., Ikeya, Y., Matsuo, H., Kinoshita, K., Taguchi, T., Ichinose, K., Takahashi, K., Aburada, M. 2011. Preventive effect of *Kaempferia parviflora* ethyl acetate extract and its major components polytmethoxy flavonoid on metabolic diseases. Fitoterapia. 82: 1272-1278.

Shrilatha, B, 2007. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in strptozotocin-induced diabetic mice:its progression and genotoxic consequences. Reprod. Toxicol. 23: 578-587.

Somphol, N., Hongkhumtod, P., Vongpralab, T., Sanchaisuriya, P., Chinchiyanont, W., Prasuk, Y. 2003. Effect of *Boesenbergia pandurata* (black rhizome) supplementation on semen characteristics in male rabbits. Proceedings of the Annual Academic Meeting of the Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand: 46-54.

Sudwan, P., Saenphet, K., Saenphet, S., Suwansirikul, S. 2006. Effect of *Kaempfera parviflora* Wall. Ex. Baker on sexual activity of male rats and its toxicity. Southeast Asian J. Trop Med Public Health. 37: 210-215.

Sutthanut, K., Sripanidkulchai, B., Yenjai, C., Jay, M. 2007. Simultaneous identification and quantification of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. J. Chromatogr. A. 1143: 227-233.

Temkitthawon, P., Hinds, T.R., Beavo, J.A., Viyoch, J., Suwanborirux, K., Pongamornkul, W., Sawasdee, P., Ingkaninan, K. 2011. *Kaempferia parviflora*, a plant used in traditional medicine to enhance sexual performance contains large amounts of low affinity PDE5 inhibitors. J. Ethnopharmacol. 1373: 1437-1441.

Trisomboon, H., Tohei, A., Malaivijitnond, S., Watanabe, G., Taya, K., 2008. Oral administration of *Kaempferia parviflora* did not disturb male reproduction in rats. J. Reprod. Dev. 54: 375-380.

Tsounapi, P., Saito, M., Dimitriadis, F., Koukos, S., Shimizu, S., Satoh, K., Takenaka, A., Sofikitis, N. 2012. Antioxidant treatment with edaravone or taurine ameliorates diabetes-induced testicular dysfunction in the rat. Mol. Cell. Biochem. 369: 195-204.

Wankeu-Nya, M., Watcho, P., Nguelefack, T., Carro-Juarez, M., Tapondjou, L., Kamanyi, A. 2014. Effects of *Dracaena arborea* (Dracaenaceae) on sexual dysfunction in 4 weeks hyperglycemic male rats. Asian Pac. J. Trop. Med. 7: 609-619.

Wattanathorn, J., Muchimapura, S., Thon-Un, T., Saenghong, N., Thukum-Mee, W., Sripanidkulchai, B. 2012. Positive modulation effect of 8-week consumption of on health-related physical fitness and oxidative status in healthy elderly volunteers. Evid. Base. Complement. Alternat. Med. 2012: 732816.

Xu, Y., Lei, H., Guan, R., Gao, Z., Li, H., Wang, L., Hui, Y., Zhou, F., Xin, Z. 2014. Prophylactic protective effects and its potential mechanisms of IcarisideII on streptozotocin induced spermatogenic dysfunction. Int. J. Mol. Sci. 15: 16100-16113.

Youn, K., Lee, J., Ho, C., Jun, M. 2016. Discovery of polymehtoxyflavone from black ginger (*Kaempferia parviflora)* as potential β-secretase (BACE1) inhibitors. Journal of Functional Foods. 20: 567-574.

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2559; 14(3): 108-117. DOI: 10.14456/cmvj.2016.10

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร
Chiang Mai Veterinary Journal
ISSN; 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)
Website; www.vet.cmu.ac.th/cmvj

รายงานฉบับย่อ

การศึกษาชนิดแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องปากของสุนัขและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ดารณี ภูเก็ต[1] พิจิตรา ชาบาง[2] ณัฐวุฒิ สถิตเมธี[3] วรพัฒน์ ประชาศิลป์ชัย[4,*]

[1]คลินิกบ้านรักสัตว์ 49/57-58 ถ.ศรีสุริโยทัย อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000

[2]สถานสัตว์ทดลองเพื่อการวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ต. ท่าโพธิ์ อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000

[3]หน่วยพาราคลินิกทางสัตวแพทย์ ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ. เลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50100

[4]คลินิกสัตว์เล็ก ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ. เลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาชนิดเชื้อแบคทีเรียในช่องปากสุนัขและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ โดยเก็บตัวอย่างจากช่องปากสุนัขปกติและสุนัขที่มีปัญหาเหงือกอักเสบที่เข้ามาใช้บริการในโรงพยาบาลสัตว์เล็กมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 20 ตัว มาเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ จากการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบทั้งหมด 16 ชนิด แบคทีเรียแกรมบวกส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus epidermidis* ร้อยละ 6.25, 6.25 และ 3.21 ตามลำดับ และแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *Pseudomonas* spp. ร้อยละ 17.19 และ 12.5 ตามลำดับ รวมถึงแบคทีเรียที่ไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อได้ประกอบด้วย แบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่งร้อยละ 12.59 และแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างกลมร้อยละ 6.25 จากการศึกษานี้พบว่ากลุ่มสุนัขที่แสดงอาการเหงือกอักเสบมีความหลากหลายของชนิดเชื้อแบคทีเรียมากกว่ากลุ่มสุนัขที่มีช่องปากปกติ นอกจากนั้นผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกร้อยละ 100 มีความไวต่ออะม็อกซิซิลลินคลาวูลาเนต ไตรเมธโธพริม ซัลฟาร่วมกับเมธท็อกซาโซล เอนโรฟล็อกซาซิน เจนต้ามัยซิน และเซฟาโซลิน แต่มีความไวต่อเพนิซิลลินร้อยละ 50 ส่วนเชื้อแบคทีเรียแกรมลบร้อยละ 100 มีความไวต่อเอนโรฟล็อกซาซินและเจนต้ามัยซิน เชื้อแบคทีเรียแกรมลบร้อยละ 62.5 มีความไวต่อไตรเมธโธพริมซัลฟาร่วมกับเมธท็อกซาโซล อีกร้อยละ 37.5 มีความไวต่ออะม็อกซิซิลลิน คลาวูลาเนต แต่เชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อเพนิซิลลินถึงร้อยละ 81.2

คำสำคัญ เชื้อแบคทีเรีย, ช่องปากของสุนัข, ความไวต่อสารต้านจุลชีพ

* **ผู้รับผิดชอบบทความ** วรพัฒน์ ประชาศิลป์ชัย คลินิกสัตว์เล็ก ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ.เลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทรศัพท์ **053-948055**. อีเมล์: worapat.p@cmu.ac.th **หรือ** liverpoolpat@yahoo.com

ข้อมูลบทความ *วันที่ได้รับบทความ 5 ธันวาคม พ.ศ.2559 วันที่ได้รับการตีพิมพ์ 27 ธันวาคม พ.ศ.2559 วันที่ตีพิมพ์ออนไลน์ 29 ธันวาคม พ.ศ.2559*

Short Communication

Study of bacterial species and antimicrobial sensitivity in canine oral cavity at Small Animal Teaching Hospital, Chiang Mai University

Daranee Phuket [1], Pichitar Charbang[2], Nattawooti Sthitmatee[3], Worapat Prachasilchai[4,*]

[1] Banraksat Clinic, 49/57-58 Srisuriyotai Rd., Muang, Phisanulok, 65000

[2] Center of Animal reseach, Naresuan University, Thapow, Muang, Phisanulok, 65000

[3] Department of Veterinary Bioscience and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Canal Rd., Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100

[4] Small Animal Clinic, Department of Companion Animal and wildlife, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Canal Rd., Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100

Abstract The aims of this study were to determine bacteria species in oral cavity of canine and their antimicrobial susceptibility. Oral swabs were taken from 20 dogs at the Small Animal Teaching Hospital, Chiang Mai University. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility test were revealed. The results presented 16 bacterial species in this study. The predominant gram-positive bacteria were *Staphylococcus aureus (*6.25%), *Corynebacterium* spp. (6.25%) and *Staphylococcus epidermidis* (3.21%), respectively. The predominant gram-negative bacteria were *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (17.19%) and *Pseudomonas* spp. (12.5%), respectively. Moreover, 12.59% of gram-negative rods and 6.25% of gram-negative cocci were species unidentified. This present study showed that gingivitis group was variously bacterial species than normal group. Furthermore, the antimicrobial sensitivity tests of gram-negative bacteria were susceptible to sulfamethoxazole and trimethoprim (62.5%), amoxicillin / clavulanic acid (37.5%), penicillin (50%). Moreover, the gram-negative bacteria were susceptible to cefazolin, enrofloxacin and gentamicin but 81.2% were resistant to penicillin.

Keywords; Bacterial species, Canine oral cavity, Antimicrobial sensitivity

*** Corresponding author:** Worpat Prachasilchai, *Small Animal Clinic, Department of Companion Animal and wildlife, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Canal Rd., Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100,* Tel : 053-948055. E-mail; : worapat.p@cmu.ac.th or liverpoolpat@yahoo.com

Article history; *received manuscript: 5 December 2016, accepted manuscript: 27 December 2016, published online: 29 December 2016*

บทนำ

โรคปริทันต์ (periodontitis disease) เป็นการอักเสบของเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ยึดเหนี่ยวฟัน เนื้อเยื่อของเหงือก เอ็นที่ยึดเหงือกและฟัน โพรงรากฟัน และเนื้อเยื่อคล้ายกระดูกที่คลุมรากฟันเพื่อช่วยยึดเกาะรากฟัน เป็นโรคที่พบมากที่สุดในสุนัขสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดคราบจุลินทรีย์ (plaque) เคลือบฟัน โดยโรคปริทนต์เป็นสาเหตุสำคัญในการสูญเสียฟันทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างพื้นฐานของฟันในสุนัข ส่วนใหญ่พบได้ในสุนัขทุกวัยที่มีอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไปและพบมากถึงร้อยละ 80 ถึง 90 ของสุนัข ทั้งนี้มีอาการ ได้แก่ เหงือกอักเสบ (gingivitis) เป็นอาการอักเสบของเหงือกและเป็นสาเหตุสำคัญเริ่มต้นของโรคปริทันต์ได้ซึ่งอาการของเหงือกอักเสบที่ไม่รุนแรงจากนั้นจะจะเพิ่มระดับความรุนแรงและความลึกของการอักเสบมากขึ้นหากไม่ได้รับการดูแลรักษาความสะอาดของช่องปากอย่างถูกวิธี อาการของโรคปริทันต์ในสุนัข ประกอบด้วย สุนัขป่วยมีกลิ่นปากเหม็น ตรวจพบเลือดออกบริเวณเหงือก ฟันผุ หลุด และฟันร่วง มีแผลในช่องปาก ฟันโยก เหงือกร่น สุนัขป่วยแสดงอาการเบื่ออาหาร

สาเหตุเริ่มแรกของโรคปริทันต์มีสาเหตุจากการมีเศษอาหารสะสมตามซอกฟัน ทำให้มีการสะสมของเชื้อแบคทีเรีย (bacteria) เมื่อเชื้อแบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นจะส่งผลให้เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ เกิดการทำลายเยื่อบุผิวฟันและเนื้อเยื่อรอบฟัน มีการอักเสบของเหงือกและเนื้อเยื่อในช่องปาก เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเกิดการก่อตัวของหินน้ำลายกลายเป็นหินปูน (calculus formation) เกาะที่ตำแหน่งของฟัน ในสุนัขที่มีกรณีการอักเสบของเนื้อเยื่อปริทันต์ระดับรุนแรงมาก ส่งผลทำให้กระดูกกรามเปราะแตกหักง่าย นอกจากนั้นเชื้อแบคทีเรียอาจเข้าสู่กระแสโลหิตทำให้ร่างกายของสุนัขเกิดการติดเชื้อในระบบอื่นของร่างกาย เช่น หัวใจ ตับ และไต ทำให้สัตว์เสียชีวิต ซึ่งความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียรวมถึงสารที่เชื้อแบคทีเรียสร้าง ดังนั้นจึงเป็นที่มาที่ทำให้เกิดความสนใจในการทำการศึกษาชนิดของแบคทีเรียในช่องปากสุนัขและทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็กมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สุนัขเป็นสมาชิกในครอบครัว โดยให้มีส่วนร่วมในกิจกรรมของครอบครัว สุนัขมักแสดงความรักต่อเจ้าของโดยการเลีย หยอก หรือมีการเล่นที่รุนแรง และบางช่วงเวลาเมื่อมีสิ่งกดดันทำให้เกิดความเจ็บปวดหรือความเครียด สุนัขจะสูญเสียความมั่นคงทางจิตใจและหวั่นไหวกับสภาพแวดล้อมโดยรอบ สุนัขบางตัวมีอาการซึมเศร้า ไม่กินอาหาร ตื่นเต้น หวั่นวิตก หวาดกลัว หรือหวาดระแวงเกินกว่าเหตุ และพยายามหาทางหนีไปจากสภาพแวดล้อมที่เป็นอยู่ในขณะนั้น จึงทำให้เกิดการต่อสู้ หรือกัดเจ้าของอย่างไม่มีเหตุผล รวมถึงสุนัขด้วยกันเอง ซึ่งจะทำให้เกิดบาดแผล หากปล่อยไว้ไม่ทำการรักษาจนกระทั่งบาดแผลมีการติดเชื้อที่มีความรุนแรงมากได้ โดยบาดแผลที่มาทำการรักษานั้นมีทั้งลักษณะของบาดแผลที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ ซึ่งสาเหตุการติดเชื้อได้ทั้งจากสิ่งแวดล้อมภายนอกหรือเป็นเชื้อที่มีอยู่ในช่องปากของสุนัข (Goldstein et al., 1978; Meyers et al., 2008)

ภายในช่องปากของสุนัขมักจะมีคราบหินปูนติดอยู่บริเวณตัวฟันและเหงือก ซึ่งเป็นแหล่งของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดและเป็นปัจจัยสำคัญทำให้เกิดโรคติดเชื้อระหว่างสัตว์สู่คนได้ทั้งจากการสัมผัสโดนน้ำลายหรือผ่านทางบาดแผล นอกจากนี้แบคทีเรียในช่องปากของสุนัขยังจัดเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคภายในช่องปาก ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่พบมากในทางคลินิก เมื่อมีการติดเชื้อแบคทีเรียบริเวณเนื้อเยื่อปริทันต์อันประกอบด้วย ฟัน เหงือก กระดูกรองรับฟัน เอ็นยึดปริทันต์ และเคลือบรากฟัน โดยเริ่มจากการทำลายคอลลาเจน เนื้อเยื่อเหงือกเกิดเหงือกอักเสบ การเคลื่อนของฟัน มีช่องว่างระหว่างฟัน และการสลายของกระดูกตามมา (Offenbacher et al., 1996)

ปัญหาของโรคปริทันต์ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ในระยะแรกจะมีอาการเหงือกอักเสบเล็กน้อย เหงือกรอบตัวโคนฟันมีสีแดงเล็กน้อย จนถึงระดับที่มีความรุนแรงที่สุดจะพบลักษณะเหงือกมีสีแดง เหงือกบวม อักเสบ ถ่ายรังสีพบการหลุดของเหงือกมากกว่าร้อยละ 50 มีเลือดไหลออกมาเอง ซึ่งเกิดร่วมกันของกลไกการทำงานของร่างกายในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย (Albuquerque et al., 2012)

สารต้านจุลชีพเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคติดเชื้อรวมถึงโรคปริทันต์ด้วย ซึ่งการใช้สารต้านจุลชีพอาจส่งผลทำให้เกิดการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย นับวันจะเป็นปัญหาที่ใหญ่และซับซ้อนมากขึ้นทุกขณะส่งผลต่อสุขภาพของสุนัข โดยการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียเกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อสารต้านจุลชีพโดยวิธีการต่าง ๆ เพื่อที่จะขจัดหรือลดประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพ โดยการดื้อสารต้านจุลชีพอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติของเชื้อ หรืออาจเกิดการใช้สารต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสม การดื้อสารต้านจุลชีพนั้นมีการแพร่กระจายไปทุกส่วนของโลก ปัจจุบันพบการดื้อสารต้านจุลชีพหลายชนิดมากขึ้น มีรายงานการดื้อสารต้านจุลชีพทุกชนิดในแบคทีเรียบางตัวทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่รักษาด้วยสารต้านจุลชีพไม่ได้ผล ซึ่งจะเพิ่มทั้งอัตราการเจ็บป่วย อัตราการตาย สิ้นเปลืองทั้งค่ายา ค่าใช้จ่ายในการรักษาและบุคลากรทางการแพทย์ (Luvira, 2006; Soares et al., 2012)

จากข้อมูลที่กล่าวมาและปัจจุบันทางโรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ยังไม่มีรายงานข้อมูลด้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากสุนัขและความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์ในสุนัขกับชนิดของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากและผลทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพโดยแบคทีเรียในช่องปากนั้นอาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคได้ (Abrahamian and Goldstein, 2011) ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากสุนัขทั้งที่ปกติและเหงือกอักเสบและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นในการรักษากรณีสัตว์ป่วยทางคลินิกต่อไป

วิธีการศึกษา

ประชากรเป้าหมาย

สุนัขในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2557 จนถึงเดือนมกราคม พ.ศ.2559

ขนาดตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ทำการเก็บตัวอย่างจากช่องปากสุนัข โดยทำการเลือกตัวอย่างจากสุนัขที่เข้ามารับบริการทำวัคซีนและศัลยกรรมที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 ตัวอย่าง สุนัขที่ถูกคัดเลือกมาเป็นตัวอย่างของการศึกษาวิจัยต้องเข้ารับการตรวจร่างกายเบื้องต้น โดยประเมินดูลักษณะสีเยื่อเมือก อัตราการเต้นของหัวใจ เสียงของหัวใจ อัตราการหายใจ เสียงปอด อุณหภูมิร่างกาย สภาวะการแห้งน้ำ นอกจากนี้ยังมีเงื่อนไขอื่นเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างอีกด้วย คือ

1. สุนัขต้องได้รับการฉีดวัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าประจำปี
2. สุนัขต้องไม่อยู่ในช่วงที่ได้รับยาปฏิชีวนะ และยาที่เกี่ยวข้องกับการกดภูมิคุ้มกันในระยะเวลา 3 เดือน
3. เป็นสุนัขที่ได้รับความยินยอมจากเจ้าของในการเก็บตัวอย่าง
4. ไม่จำกัดเพศ อายุ น้ำหนัก และสายพันธุ์

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากช่องปากของสุนัข โดยใช้ sterile cotton swab จากชุดเก็บตัวอย่างของ Stuart's transport medium ถูในช่องปากและฟันของสุนัขทางด้าน buccal และ lingual ทั้งด้านบนและด้านล่าง

หลังจากนั้นนำชุดเก็บตัวอย่างเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์ระบุหาชนิดของเชื้อแบคทีเรียภายในห้องปฏิบัติการต่อไป

ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. **การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก**

นำเชื้อจาก Stuart's transport medium ลงใน blood agar (Difco Laboratories, MD, USA) และ MacConkey agar (Difco Laboratories) โดยให้ปลายสำลีพันปลายไม้ที่ใช้เก็บตัวอย่างถูลงไปบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2.0 เซนติเมตร โดยถูให้ทั่วครบทุกด้านของปลายสำลีพันปลายไม้แล้วเขี่ยเชื้อเพื่อแยกเชื้อให้ขึ้นอย่างกระจายบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำมาเลือกโคโลนีที่มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 10 โคโลนี นำมาเขี่ยลงที่ blood agar และ MacConkey บ่มอีกครั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เชื้อเป็น single colony พร้อมทั้งจดบันทึกลักษณะของโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการย้อมแกรม ดูรูปร่างของแบคทีเรีย (Holt et.al.,1994) ณ ห้องปฏิบัติการกลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. **การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ** (antimicrobial susceptibility test)

ทำการทดสอบและแปลผลความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียชนิดใช้อากาศด้วยวิธี disk diffusion test ตามวิธีของ manual of antimicrobial susceptibility testing (Lalitha, 2004) โดยเตรียมเชื้อความเข้มข้น 0.5 McFarland แล้วนำมาป้ายลงใน Mueller Hinton agar (MHA: Difco Laboratories) ให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 10-15 นาที จากนั้นทำการวาง กระดาษกรองชุบสารต้านจุลชีพ 6 ชนิด คือ Gentamicin, Amoxicillin/Clavulanic acid, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, Penicillin, Enrofloxacin และ Cefazolin นำไปบ่มเพาะเชื้อให้เจริญเติบโตที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใส (zone of inhibition) ที่เกิดขึ้นของยาต้านจุลชีพ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

รวบรวมผลและวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive) รายงานชนิดเชื้อของแบคทีเรียที่พบในช่องปากของสุนัขและผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียเป็นร้อยละ

ผลการศึกษา

จากการศึกษาเพาะเชื้อแบคทีเรียในช่องปากของสุนัขทั้งหมด 20 ตัว ซึ่งประกอบด้วยสุนัขกลุ่มที่ไม่พบการอักเสบของเหงือกจำนวน 4 ตัว และสุนัขกลุ่มที่มีการอักเสบของเหงือกจำนวน 16 ตัว ที่ย้อมสีแกรมตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เช่น การทดสอบออกซิเดสและการทดสอบแคตาเลส เพื่อระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด 6 ชนิด 13 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 20.31 และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทั้งหมด 13 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 79.68 ดังตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่ง จากเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด 64 ไอโซเลต เมื่อทำการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ไอโซเลตได้ตามลักษณะสุขภาพช่องปาก ในกลุ่มที่ไม่มีการอักเสบของเหงือกต่อกลุ่มที่มีการอักเสบของเหงือกได้ดังนี้ *Staphylococcus aureus* (0/4), *Staphylococcus epidermidis* (1/1), *Micrococcus spp.* (0/1), *Streptococcus pyogenes group A* (0/1), *Corynebacterium spp.* (0/4), *Lactobacillus spp.* (1/0), *Shigella sonnei* (2/0), *Proteus penneri* (1/0), *Serratia liquefaciens* (0/1), *Klebsiella pneumonia* (0/2), *Pseudomonas spp.* (1/7), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (2/9),

Achromobacter spp. (1/1), *Haemophilus spp.* (1/0), *Moraxella spp.* (3/3), *Neisseria spp.* (0/3), แกรมลบรูปร่างแท่ง (3/7), แกรมลบรูปร่างกลม (2/2) โดยในสุนัขกลุ่มที่ไม่มีการอักเสบของเหงือกพบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 11 ชนิด ในขณะที่สุนัขกลุ่มที่มีเหงือกอักเสบสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 16 ชนิด ดังตารางที่ 1

Table 1 The results of bacterial culture from 20 canine oral samples

Number of sample	The type of bacteria	Magnitude (Isolate)	Oral health of dogs	
			Normal (n=4)	Gingivitis (n=16)
	Gram positive cocci bacteria			
1	*Staphylococcus aureus*	4 (6.25%)	0	4 (6.25%)
2	*Staphylococcus epidermidis*	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
3	*Micrococcus spp.*	1 (1.56%)	0	1 (1.56%)
4	*Streptococcus pyogenes group A*	1 (1.56%)	0	1 (1.56%)
	Total	8 (12.5%)	1 (1.56%)	7 (10.94%)
	Gram positive rod bacteria			
5	*Corynebacterium spp.*	4 (6.25%)	0	4 (6.25%)
6	*Lactobacillus spp.*	1 (1.56%)	1 (1.56%)	0
	Total	5 (7.81%)	1 (1.56%)	4 (6.25%)
	Gram-negative rod bacteria			
7	*Shigellasonnei*	2 (3.21%)	0	2 (3.21%)
8	*Proteus penneri*	1 (1.56%)	1 (1.56%)	0
9	*Serratialiquefaciens*	1 (1.56%)	0	1 (1.56%)
10	*Klebsiella pneumonia*	2 (3.21%)	0	2 (3.21%)
11	*Pseudomonas spp.*	8 (12.5%)	1 (1.56%)	7 (10.94%)
12	*Actinobacillusactinomycetemcomitans*	11 (17.19%)	2 (3.21%)	9 (14.06%)
13	*Achromobacter spp.*	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
14	*Haemophilus spp.*	1 (1.56%)	1 (1.56%)	0
15	TSI K/N-, oxidase+, non motile	6 (9.38%)	1 (1.56%)	5 (7.81%)
16	TSI A/A-, oxidase+, non motile	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
	Total	36 (56.25%)	8 (12.5%)	28 (43.75%)
	Gram-negative cocci bacteria			
17	*Moraxella spp.*	6 (9.38%)	3 (4.69%)	3 (4.69%)
18	*Neisseria spp.*	3 (4.69%)	0	3 (4.69%)
19	TSI , A/A-, oxidase -	4 (6.25%)	2 (3.21%)	2 (3.21%)
20	Unidentification	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
	Total	15 (23.44%)	6 (9.38%)	9 (14.06%)

ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องปากสุนัขต่อยาต้านจุลชีพทั้ง 6 ชนิด โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ 10 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 15.63 ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* group A, *Corynebacterium spp.* และ *Lactobacillus spp.* พบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกร้อยละ 100 มีความไวต่อยา Amoxicillin/Clavulanic acid, Enrofloxacin, Gentamicin, Cefazolin, Sulfamethoxazole/trimethoprim ส่วนร้อยละ 50 มีความไวต่อยา Penicillin แสดงดังในรูปที่ 1 สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ 16 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 25 ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด ได้แก่ *Shigella sonnei*, *Proteus penneri*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumonia*, *Achromobacter spp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *Pseudomonas spp.* พบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากตัวอย่างในช่องปากของสุนัขร้อยละ 100 มีความไวต่อยา Enrofloxacin และ Gentamicin ร้อยละ 62.5 มีความไวต่อยา Sulfamethoxazole/trimethoprim ร้อยละ 37.5 มีความไวต่อยา Amoxicillin/Clavulanic acid และร้อยละ 81.2 มีความต้านทานต่อยา Penicillin (รูปที่ 1)

สรุปผลและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาเชื้อแบคทีเรียภายในช่องปากของสุนัข 20 ตัวพบเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเพาะแยกได้เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่เจริญได้ในที่ที่มีอากาศ (aerobic bacteria) และแบคทีเรียพวกเจริญได้ดีในสภาวะที่มีอากาศและในสภาวะที่ไม่มีอากาศก็สามารถที่จะเจริญได้แต่ไม่ดี (facultative anaerobic bacteria) และพบเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและรองลงมาเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ตามลำดับซึ่งผลการทดลองเป็นไปตามผลงานวิจัยที่ผ่านมาที่ได้ทำการศึกษาในมนุษย์ สุนัขและแมว (Daniluk et al.,2005; Zambori et al., 2012) รวมถึงเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ้างได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae คือ *Shigella sonnei*, *Serratia liquefaciens, Proteus penneri* และ *Klebsiella pneumonia* ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำและพืช นอกจากนี้ยังพบในลำไส้ของคนและสัตว์ซึ่งเชื้อกลุ่มนี้เป็นได้ทั้ง true pathogen และ opportunistic pathogen การศึกษาครั้งนี้เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งเนื่องจากพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ที่คัดแยกได้จากทั้งช่องปากของสุนัขที่มีสุขภาพช่องปากปกติไม่มีการอักเสบของเหงือกและกลุ่มที่มีอาการอักเสบของเหงือกและจากผลการศึกษายังพบอีกว่าร้อยละการพบเชื้อในสุนัขที่มีอาการของเหงือกอักเสบมากกว่าสุนัขที่มีช่องปากปกติ ซึ่ง *A. actinomycetemcomitans* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคปริทันต์อักเสบทั้งแบบชนิดอักเสบชนิดรุนแรง (aggressive periodontitis) และแบบอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic periodontitis) ได้ (Dogan et al., 2003; Imbronito et al., 2008) จากการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่พบในช่องปากและเป็นสาเหตุการก่อโรคในสุนัขโดยวิธี disc diffusion susceptibility test ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ 6 ชนิดพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจากตัวอย่างในช่องปากของสุนัข ให้ผลเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านที่มาที่พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสามารถดื้อต่อสารต้านจุลชีพได้ (Baquero,1997; Rice, 2006; Moellering,1998) มีงานวิจัยก่อนหน้าพบว่าเชื้อ *S. intermedius* และ *S. aureus* มีความไวต่อ Penicillin G ร้อยละ 72 และร้อยละ 7 ตามลำดับในขณะที่ร้อยละ 100 ของเชื้อทั้งสองชนิดไวต่อ Oxacillin (Talan et al., 1989)

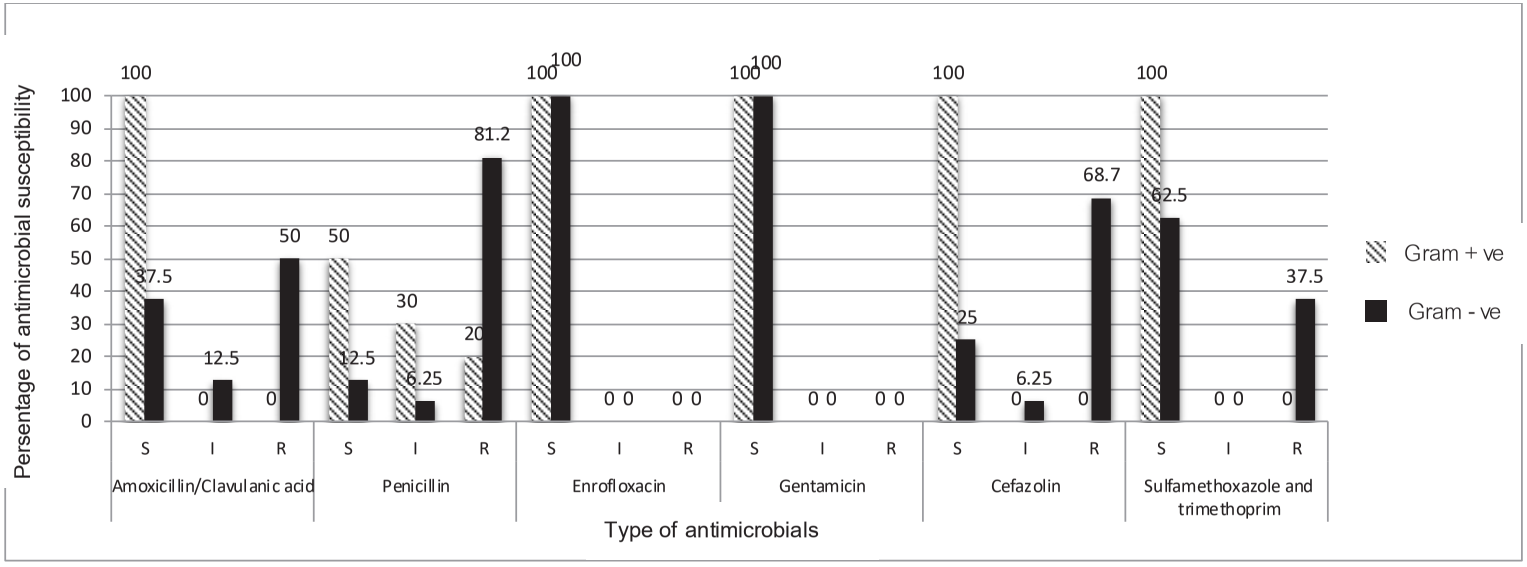


Figure 1 Comparison of antimicrobial susceptibilitytest from 6 antimicrobials (S = susceptible, I = intermediate, R = resistance)

Note; Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes group A*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*

Gram-negative bacteria such as *Shigella sonnei*, *Proteus penneri*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumonia*, *Achromobacter spp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Pseudomonas spp.*

ผลการทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบพบว่าร้อยละ 100 (13/13) มีความไวต่อ Enrofloxacin และ Gentamicin ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่กล่าวว่ากลุ่ม Ciprofloxacin, Enrofloxacin และ Norfloxacin ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ (Prescott and Yielding, 1990) สำหรับ Sulfamethoxazole/trimethoprim นั้นเริ่มมีรายงานการดื้อต่อสารต้านจุลชีพกลุ่มนี้ต่อเชื้อแบคทีเรียบ้างแล้ว (Pedersen et al., 2007; Grayson et al., 1990) และยังพบอีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อ Penicillin ซึ่งเป็นไปตามผลการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา (Schroeder et al.,2002) ที่พบการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น เชื้อ *E.coli* จากคนและเนื้อสัตว์มีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพชนิด Ampicillin ($p<0.001$), Sulfonamide ($p<0.01$) และ gentamicin ($p<0.001$)

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถตรวจยืนยันเชื้อได้เพียงส่วนหนึ่งของประชากรแบคทีเรียก่อโรคชนิดใช้อากาศ แต่ไม่รวมถึงกลุ่มของแบคทีเรียชนิดที่ไม่ใช้อากาศ ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากของสุนัขได้เช่นกันจากผลการทดความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพในห้องปฏิบัติการ บ่งชี้ถึงปัญหาการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่มีการดื้อต่อ Penicillin ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงรหัสพันธุกรรม ให้เกิดการดื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นสาเหตุที่สำคัญและน่าสนใจในการเรียนรู้เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับทำการศึกษาวิจัยในอนาคตเพื่อพัฒนาแนวทางการรักษาด้านคลินิกให้เหมาะสมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
บุคคลากรและเจ้าของสัตว์ป่วย

เอกสารอ้างอิง

Abrahamian, F.M., Goldstein, E.J., 2011. Microbiology of animal bite wound infections. Clin microbiol Rev. 24: 231-246.

Albuquerque, C., Morinha, F., Requicha, J., Martins, T., Dias, I., Guedes-Pinto, H., Bastos E., Vlegas, C., 2012. Canine periodontitis: the dog as an important model for periodontal studies. Vet J. 191: 299-305.

Baquero, F., 1997. Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics. J Antimicrob Chemother. 39: 1-6.

Daniluk, T., Tokajuk, G., Cylwik-Rokicka, D., Rozkiewicz, D., Zaremba, M.L., Stokowska, W., 2005. Aerobic and anaerobic bacteria in subgingival and supragingival plaques of adult patients with periodontal disease. Adv Med Sci. 51: 81-85.

Dogan, B., Antinheimo, J., Cetiner, D., Bodur, A., Emingil, G., Buduneli, E., Uygur, C., Firatli, E., Lakio, L., Asikainen, S., 2003. Subgingival microflora in Turkish patients with periodontitis. J Periodontol. 74: 803-814.

Goldstein, E.J., Citron, D.M., Wield, B., Blachman, U., Sutter, V.L., Miller, T.A., Finegold, S.M., 1978. Bacteriology of human and animal bite wounds. J Clin Microbiol. 8: 667-672.

Grayson, M.L., Thauvin-Eliopoulos, C., Eliopoulos, G.M., Yao, J.D., DeAngelis, D.V., Walton, L. , Woolley, J.L., Moellering, Jr R.C., 1990. Failure of trimethoprim-sulfamethoxazole therapy in experimental enterococcal endocarditis. Antimicrob Agents Chemother. 34: 1792-1794.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th edn. Baltimore: Williams and Wilkins, 75- 121.

Imbronito, A.V., Okuda, O.S., Maria de Freitas, N., Moreira Lotufo, R.F., Nunes, F.D., 2008. Detection of herpesviruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, or gingivitis. J Periodontol. 79: 2313-2321.

Lalitha, M.K., 2004. Manual on antimicrobial susceptibility testing. Performance standards for antimicrobial testing: Twelfth Informational Supplement, 56238: 454-456.

Luvira, V., 2006. Overveiw of antibiotic resistance. Songklanagarind Medical Journal. 24: 453-459.

Meyers, B., Schoeman, J.P., Goddard, A., Picard, J., 2008. The bacteriology and antimicrobial susceptibility of infected and non-infected dog bite wounds: fifty cases. Vet microbial. 127: 360-368.

Moellering, R.C. Jr, 1998. Problems with antimicrobial resistance in gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 26: 1177-1178.

Offenbacher, S., 1996. Periodontal diseases: pathogenesis. Ann Periodontol. 1: 821-878.

Pedersen, K., Pedersen, K., Jensen, H., Finster, K., Jensen, V.F., Heuer, O.E., 2007. Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. J Antimicrob Chemother. 60: 775-781.

Prescott, J.F., Yielding, K.M., 1990. In vitro susceptibility of selected veterinary bacterial pathogens to ciprofloxacin, enrofloxacin and norfloxacin. Can J Vet Res. 54: 195.

Rice, L.B., 2006. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. Am J Infect Control. 34: S11-S19.

Schroeder, C.M., Meng, J., Zhao, S., DebRoy, C., Torcolini, J., Zhao, C. McDermott, P.F., Wagner, D.D., Walker, R.D., White, D.G., 2002. Antimicrobial resistance of Escherichia coli O26, O103, O111, O128 and O145 from animals and humans. Emerg Infect Dis. 8: 1409-1414.

Soares, G.M.S., Figueiredo, L.C., Faveri, M., Cortelli, S.C., Duarte, P.M., Feres, M., 2012. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. J Appl Oral Sci. 20: 295-304.

Talan, D.A., Staatz, D., Staatz, A., Goldstein, E.J., Singer, K., Overturf, G.D., 1989. Staphylococcus intermedius in canine gingiva and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. J Clin Microbiol. 27: 78-81.

Zambori, C., Tirziu, E., Nichita, I., Cumpanasoiu, C., Gros, R.V., Seres, M., Mladin, B., Mot, D., 2012. Biofilm implication in oral diseases of dogs and cats. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies. 45: 208-212.

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร
Chiang Mai Veterinary Journal
ISSN: 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)
Website: http://vet.cmu.ac.th/cmuvj

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วัตถุประสงค์ (Objectives)

"**เชียงใหม่สัตวแพทยสาร**" เป็นวารสารเพื่อการเผยแพร่เผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่มีคุณภาพในลักษณะต่างๆ เช่น บทความต้นฉบับ บทความปริทัศน์ รายงานฉบับย่อ และรายงานสัตว์ป่วย ที่เกี่ยวข้องกับทางด้านสัตวแพทยศาสตร์ (Veterinary Science) และวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการสัตว์ (Animal Science and Technology) ได้แก่ ชีววิทยา สรีรวิทยา จุลชีววิทยา พยาธิวิทยา โภชนาการศาสตร์ กายวิภาคศาสตร์ พันธุศาสตร์ อายุรศาสตร์ ศัลยศาสตร์ สูติศาสตร์ วิทยาศาสตร์ทางชีวภาพวิทยาศาสตร์พื้นฐาน ระบาดวิทยาและแนวทางสุขภาพหนึ่งเดียว

บทความที่ได้รับการเผยแพร่ในเชียงใหม่สัตวแพทยสาร เป็นวารสารที่ผ่านการตรวจคุณภาพ โดยผู้ทรงคุณวุฒิอย่างน้อย 2 ท่านที่ไม่ทราบชื่อผู้แต่งและผู้แต่งไม่ทราบชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ (Double-blind peer review) ความคิดเห็นของผู้เขียนแต่ละท่าน ทางกองบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป กรณีผู้ประสงค์จะนำบทความ หรือส่วนใดส่วนหนึ่ง (รูป ตาราง ฯลฯ) ที่มีการเผยแพร่ไปแล้ว ต้องได้รับอนุญาตจากกองบรรณาธิการวารสาร "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แม้ว่าจะเป็นผลงานจากงานของผู้เขียนเองผู้แจ้งให้

การตีพิมพ์ออนไลน์ (Online publication)

ตั้งแต่ฉบับที่ 2 ปีที่ 14 พ.ศ.2559 เป็นต้นไป เชียงใหม่สัตวแพทยสารได้เปลี่ยนการตีพิมพ์เป็นรูปแบบวารสารออนไลน์เท่านั้นโดยจะไม่มีการพิมพ์ออกเป็นรูปเล่มเหมือนที่ผ่านมา เพื่อความรวดเร็วในการตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวิชาการและเพื่อให้สอดคล้องกับนโยบายของศูนย์ดัชนีอ้างอิงวารสารภาษาไทย (TCI) ที่สนับสนุนให้วารสารปรับเปลี่ยนเป็นการตีพิมพ์ในรูปแบบออนไลน์ ทั้งนี้ในแต่ละปีทางวารสารยังคงมี 3 ฉบับ ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-เมษายน ฉบับที่ 2 เดือนพฤษภาคม-สิงหาคม และฉบับที่ 3 เดือนกันยายน-ธันวาคม รวมทั้งกำหนดให้มีเลขหน้าเรียงตามเรื่องที่ได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์

บทความที่ได้รับตอบรับให้ตีพิมพ์ระหว่างเดือน มกราคม-เมษายน จะตีพิมพ์เป็นฉบับที่ 1

บทความที่ได้รับตอบรับให้ตีพิมพ์ระหว่างเดือน พฤษภาคม-สิงหาคม จะตีพิมพ์เป็นฉบับที่ 2

บทความที่ได้รับตอบรับให้ตีพิมพ์ระหว่างเดือน กันยายน-ธันวาคม จะตีพิมพ์เป็นฉบับที่ 3

รูปแบบของนิพนธ์ต้นฉบับ (Manuscript Format)

บทความต้นฉบับ (Original article) เป็นการรายงานการศึกษาจากงานวิจัยต้นฉบับ (Original research) ซึ่งไม่เคยได้รับการเผยแพร่ที่ใดมาก่อน เนื้อหาประกอบด้วยบทนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผลการศึกษา วิจารณ์ และสรุป

บทความปริทัศน์ (Review article) เป็นบทความทางวิชาการที่เขียนขึ้นเพื่อนำเสนอเรื่องราวที่กำลังเป็นที่สนใจหรือการเขียนบทความเพื่อประโยชน์ในแง่ของการฟื้นฟูวิชาการ

<u>รายงานฉบับย่อ</u> (Short communication) เป็นรูปแบบการรายงานการศึกษาแบบกระชับ อันเนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องของการศึกษา แต่ยังมีความสมบูรณ์ในเนื้อหาที่นำเสนอ รูปแบบที่เขียนจะเป็นแบบลักษณะคล้ายนิพนธ์ต้นฉบับแต่จะเป็นรายงานแบบย่อ

<u>รายงานสัตว์ป่วย</u> (Case report) บทความประเภทรายงานสัตว์ป่วยในโรคที่พบไม่บ่อย มีการตรวจวินิจฉัยอย่างละเอียดโดยหัวข้อควรประกอบด้วย บทนำ ประวัติและอาการทางคลินิก การวินิจฉัยและการรักษา วิจารณ์และสรุป โดยเป็นการนำเสนอที่แตกต่างจากในหนังสือหรือตำราวิชาการ

การเตรียมนิพนธ์ต้นฉบับ (Manuscript Preparation)

"เชียงใหม่สัตวแพทยสาร" รับบทความทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยให้จัดพิมพ์ต้นฉบับบนกระดาษขนาด A4 พิมพ์หน้าเดียว โดยพิมพ์แบบเว้นบรรทัด (double space) ใช้ Cordia New ขนาดอักษร 16 ระบุตำแหน่งบรรทัดทุก 5 บรรทัด ต่อเนื่องตลอดทั้งบทความ ในการเขียนบทความเป็นภาษาไทยให้ใช้หลักการเขียนภาษาไทยตามราชบัณฑิตยสถาน (http://www.royin.go.th/) หากคำใดมีการแปลเป็นภาษาไทยแล้วโดยราชบัณฑิตยสถาน ขอให้ใช้ภาษาไทย โดยวงเล็บคำศัพท์ภาษาอังกฤษไว้ครั้งแรกที่เขียนและในที่ต่อไปให้เขียนเป็นภาษาไทย ส่วนคำที่ไม่มีการแปลขอให้พิจารณาใช้คำยืม (อ่านได้จากราชบัณฑิตยสถาน) หากผู้เขียนพิจารณาว่าการใช้คำยืมทำให้การสื่อสารผิดไป สามารถใช้ศัพท์ภาษาอังกฤษได้ แต่ขอให้พิจารณาใช้น้อยที่สุด

ต้นฉบับทั้ง 4 ประเภทจะต้องประกอบด้วย 2 ไฟล์แยกจากกันคือ ไฟล์**ใบหน้าแรก** (title page) และ **ไฟล์ต้นฉบับ** (manuscript)

ใบหน้าแรก (Title page)

ประกอบด้วย

1. ชื่อบทความ (Title) เขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ชื่อบทความควรกะทัดรัด และตรงกับเนื้อเรื่อง
2. ชื่อผู้เขียนทุกคน (Name of author (s)) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ตำแหน่ง สถานที่ทำงาน และที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ (สถานที่ทำงาน ถนน ตำบล อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์)
3. ชื่อผู้รับผิดชอบบทความ (Corresponding author) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ สถานที่ทำงาน (สถานที่ทำงาน ถนน ตำบล อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์) เบอร์โทรศัพท์ เบอร์แฟกซ์ ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ และ ที่อยู่ไปรษณีย์อีเลกโทรนิกส์ (Email address)

ต้นฉบับ (Original Manuscript)

เป็นส่วนที่ส่งให้ผู้ทรงคุณวุฒิ (Reviewer) ใช้อ่านเพื่อประเมินเอกสารจึง<u>ไม่มีชื่อและที่อยู่ของผู้เขียนทั้งหมด</u> โดยประกอบด้วย

1. ชื่อบทความ (Title) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

   ชื่อบทความต้องตรงกันทั้งภาษาไทยและอังกฤษในลักษณะคำต่อคำ

2. บทคัดย่อ (Abstract) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

   <u>บทความต้นฉบับ</u>และ<u>บทความปริทัศน์</u> บทคัดย่อมีความยาวไม่เกิน 300 คำ (ยึดจากภาษาอังกฤษ)

รายงานฉบับย่อและรายงานสัตว์ป่วย บทคัดย่อมีความยาวไม่เกิน 200 คำ (ยึดจากภาษาอังกฤษ)
การเขียนบทคัดย่อต้องให้ตรงกันทั้งภาษาไทยและอังกฤษในลักษณะคำต่อคำ

3. คำสำคัญ (Keywords) ให้ระบุคำสำคัญ ท้ายบทคัดย่อ (Abstract) จำนวน 3-5 คำ ทั้งภาษาไทยและอังกฤษ
4. เนื้อหา (Content)*

   บทความต้นฉบับ และ รายงานฉบับย่อ ควรประกอบด้วยหัวข้อตามลำดับ บทนำ (Introduction) อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ผลการศึกษา (Results) วิจารณ์ (Discussion) สรุป (Conclusion) กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) และ เอกสารอ้างอิง (References)

   รายงานสัตว์ป่วย ควรประกอบด้วยหัวข้อตามลำดับ บทนำ (Introduction) ประวัติและอาการทางคลินิก (History and Clinical sign) การวินิจฉัยและการรักษา (Diagnosis and Treatment) วิจารณ์และสรุป (Discussion and Conclusion) กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) และ เอกสารอ้างอิง (References)

   *หากมีสมการทางคณิตศาสตร์ให้ใช้โปรแกรม “Microsoft equation editor” หรือโปรแกรม “Math Type”
5. รูปและตารางให้เรียงไว้ท้ายบทความ
6. หากเป็นการทดลองที่มีการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ให้ระบุว่าผ่านการขออนุญาตใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของหน่วยงานใด วันที่เท่าไหร่ และเลขที่หนังสืออนุญาต (หากมี) ในหัวข้ออุปกรณ์และวิธีการ

รูปภาพ (Figure)

1. คำอธิบายรูปและข้อมูลในรูปให้ใช้ภาษาอังกฤษเท่านั้น
2. ไฟล์รูปภาพจะต้องอยู่ในรูปแบบ TIFF หรือ JPEG (file รูปต้นฉบับจะขอเมื่อต้นฉบับได้รับการตอบรับให้เผยแพร่)
3. ขนาดภาพไม่ต่ำกว่า 480x640 pixels หากต้องการพิมพ์ภาพสีผู้เขียนต้องรับผิดชอบค่าใช้จ่ายด้วยตนเอง
4. ลำดับและรูปแบบของภาพ ให้เป็นไปตามลำดับที่ปรากฏในเนื้อหา
5. หากรูปภาพมีการแสดงมาตรวัด (scale) ให้ใช้เป็น scale bar กำกับไว้
6. คำอธิบายรูปภาพให้เขียนด้านล่าง โดยใช้รูปแบบเดียวกับที่ใช้ในเนื้อหา
7. เจ้าของบทความต้องแสดงเอกสารอนุญาตให้ใช้รูปภาพที่มีลิขสิทธิ์ด้วยทุกครั้ง

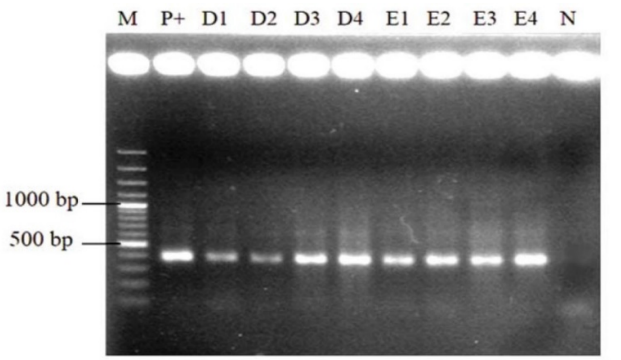


Figure 1 PCR product from fresh bones. M indicates marker, P+ indicates a positive control and N is a negative control. D1-D4 refers to diaphysis, while E1-E4 refers to epiphysis.

ตัวอย่างการเขียนรูปภาพ

ตาราง (Table)

1. ชื่อตารางและคำอธิบายในตารางให้ใช้ภาษาอังกฤษเท่านั้น
2. ลำดับและชื่อตารางให้เขียนไว้ด้านบนของตาราง
3. หลีกเลี่ยงการใช้เส้นตารางแนวตั้ง และใช้เส้นตารางในแนวนอนแบ่งเฉพาะหัวข้อและเนื้อหาเท่านั้น
4. คำอธิบายเพิ่มเติมควรกะทัดรัด และวางใต้ตาราง

Table 1 Primers used for OASL cloning.

Primers	Sequences
F-*suis*_E	5'-AGTCGAATTCATGGCTATTTATCAAAACAT-3'
R-*suis*_N	5'-ATATGCGGCCGCATCATTGAACTCATAAAG-3'
pGAP Forward	5′-GTCCCTATTTCAATCAATTGAA-3′
3′*AOX1*	5′-GCAAATGGCATTCTGACATCC-3′

#*EcoR*I and *Not*I restriction site are underlined.

ตัวอย่างการเขียนตาราง

เอกสารอ้างอิง (References)

การอ้างอิงในเนื้อเรื่องใช้ระบบนาม-ปี ทั้งนี้เอกสารอ้างอิงทั้งหมดต้องพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ หากเป็นเอกสารอ้างอิงภาษาอื่น ผู้เขียนต้องทำการแปลเป็นภาษาอังกฤษให้ถูกต้อง หากผู้เขียนใช้โปรแกรมจัดการเอกสารอ้างอิงเช่น Endnote, Reference manager หรือ Zotero จะช่วยให้ขั้นตอนในการตรวจเอกสารและเผยแพร่เร็วขึ้น **สามารถ download template ของ Endnote ได้จาก website ของเชียงใหม่สัตวแพทยสาร**

1. เอกสารอ้างอิงทุกรายการในเนื้อหาต้องมีในรายการอ้างอิง
2. การอ้างอิงในเนื้อหาใช้ระบบชื่อและปีที่พิมพ์ เช่น "จากการศึกษาของ Toyoki (2010) ได้แสดงให้เห็นว่า" หรือ "สอดคล้องการการศึกษาในสุนัข (Hirada, 2010) ม้า (Maki and Hida, 2011) ที่พบว่าระดับ"
3. การอ้างอิงผู้เขียนมากกว่า 2 คน ให้ใช้ชื่อคนแรก ตามด้วย et al. เช่น "พบว่าการแสดงออกของยีน Oct-4 สูงใน ตัวอ่อนระยะ blastocyst (Nganvongpanit et al., 2006)"
4. การเรียงเอกสารอ้างอิงให้เรียงตามตัวอักษร
5. เอกสารอ้างอิงโดยผู้เขียนคนเดียวกันและปีเดียวกันให้เรียง 2010a, 2010b
6. ในกรณีที่เอกสารอ้างอิงไม่เป็นภาษาอังกฤษให้แปลเป็นภาษาอังกฤษแต่ต้องได้รับความเห็นชอบจากเจ้าของบทความนั้นๆ
7. งานที่ได้ได้รับการเผยแพร่แล้วแต่ยังอยู่ในระหว่างการเตรียมให้ระบุตอนท้ายว่า "in press".
8. เอกสารอ้างอิงภาษาไทยหรือภาษาอื่น เช่น เยอรมัน จีน ญี่ปุ่น ผู้เขียนต้องทำการแปลเป็นภาษาอังกฤษให้ถูกต้อง และวงเล็บตอนท้ายว่า (in Thai, in German, in China, in Japan) ขึ้นกับภาษาของต้นฉบับนั้น
9. เอกสารที่ไม่ได้รับการเผยแพร่ ไม่นำมาใช้ในการอ้างอิง
10. เอกสารที่เผยแพร่ในรูปแบบ online ไม่มีการระบุเล่มและเลขหน้าให้ระบุหมายเลข Digital Object identifier (DOI)

11. การย่อของชื่อวารสารให้ยึดตาม Title Word Abbreviations: (http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/.)

12. ตัวอย่างการจัดเขียนเอกสารอ้างอิง

11.1. วารสารวิชาการฉบับปกติ

- Maneepitaksanti, W., Worananthakij, W., Sriwilai, P., Laoprasert, T., 20 1 4 . Identification and distribution of gill monogeneans from Nile tilapia and red tilapia in Thailand. Chiang Mai Vet. J. 12, 57–68.
- Tongkamsi, S., Singasa, K., Tubtim, T., Nakbubpa, K., Chansilpa, T., Kayee, S., 2015. Effects of storage time at 32.5°C on amount of *Bacillus cereus* in UHT milk for school in Chonburi province. Chiang Mai Vet. J. 13, 1–6. (in Thai)

11.2. เอกสารประชุมวิชาการ

Caffrey, J.P., 1994. Status of bovine tuberculosis eradication programmes in Europe. In: Wood, P.R., Monaghan, M.L., Rothel, J.S. (Eds.), Bovine Tuberculosis. Vet. Microbiol. 40, 1–4.

11.3 หนังสือ

Armitage, P., Berry, G., 1987. Statistical Methods in Medical Research. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 94–100, 411–416.

AUTHOR INFORMATION PACK 4 Oct 2015 www.elsevier.com/locate/vetmic 12

11.4 หนังสือเป็นบท

Butler, J.E., 1981. A concept of humoral immunity among ruminants and an approach to its investigation. In: Butler, J.E., Nielson, K., Duncan, J.R. (Eds.), The Ruminant Immune System, Plenum Press, New York, pp. 3–55.

การตรวจการคัดลอกงาน (Plagiarism)

บทความที่ส่งตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษทั้งหมดจะถูกตรวจการคัดลอกงานและความซ้ำซ้อนด้วยโปรแกรม Turn it in โดยกองบรรณาธิการและหากพบความซ้ำซ้อนที่บงบอกว่าอาจมีการจงใจคัดลอก กองบรรณาธิการสามารถปฏิเสธบทความดังกว่าวได้

กำหนดการ (Timeline)

เชียงใหม่สัตวแพทยสารเป็นวารสารวิชาการที่เผยแพร่ผลงานวิชาการที่มีคุณภาพและใช้เวลาในการดำเนินการที่รวดเร็วโดยกำหนดว่า

- ระยะเวลาจากที่ผู้เขียนส่งบทความต้นฉบับครั้งแรกจนถึงการตัดสินครั้งแรก ใช้เวลาเร็วที่สุด 3 สัปดาห์
- ระยะเวลาจากที่ผู้เขียนส่งบทความต้นฉบับครั้งแรกจนถึงการเผยแพร่ในระบบออนไลน์ ใช้เวลาเร็วที่สุด 4 สัปดาห์

การส่งต้นฉบับ (Manuscript Submission Guideline)

ผู้เขียนส่งบทความต้นฉบับเป็นแบบ PDF เท่านั้น (file ชนิด word จะส่งเมื่อได้รับการตอบรับให้เผยแพร่) ทาง email มายัง cmuvetj@gmail.com โดยประกอบไปด้วย 3 ไฟล์ ดังนี้

1 จดหมายนำ (Cover letter) จากผู้รับผิดชอบบทความยืนยันว่าผลงานนี้ไม่เคยได้รับการเผยแพร่มาก่อน รวมทั้งไม่อยู่ในระหว่างการพิจารณาของวารสารอื่น รวมถึงผู้เขียนสามารถแนะนำผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อพิจารณาบทความ จำนวนไม่เกิน 4 ท่าน โดยขอให้ระบุ ชื่อ ที่ทำงาน และ E-mail) เพื่อให้ทางกองบรรณาธิการพิจารณาคัดเลือก ทั้งนี้ผู้ทรงคุณวุฒิต้องไม่มีชื่ออยู่ในบทความที่ส่งพิจารณา

2 ใบหน้าแรก (Title page)

3. ต้นฉบับ (Manuscript)

รายการตรวจสอบก่อนส่งต้นฉบับ (Manuscript submission checklist)

☐ จดหมายนำ (Cover letter) (ต้องมี)

☐ แนะนำผู้ทรงคุณวุฒิ (Suggestion reviewers)

☐ ใบหน้าแรก (Tile page) (ต้องมี)

☐ ต้นฉบับ (Manuscript) (ต้องมี)

☐ รูปแบบของเอกสารอ้างอิง (Reference format) และเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด (ต้องมี)

☐ รูปและตารางเป็นภาษาอังกฤษ ทั้งคำอธิบายและเนื้อหาในรูป/ตาราง (ต้องมี)

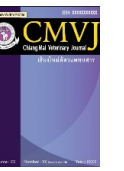
หากมีข้อสงสัยติดต่อสอบถามได้ที่

กองบรรณาธิการ "เชียงใหม่สัตวแพทยสาร"
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนเลียบคลองชลประทาน ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50100
จดหมายอิเล็กทรอนิกส์: cmuvetj@gmail.com
โทรศัพท์. (66)-5394-8057, 8070
โทรสาร. (66)-5327-4710

หรือ

บรรณาธิการเชียงใหม่สัตวแพทยสาร
รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์
ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนเลียบคลองชลประทาน ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50100
จดหมายอิเล็กทรอนิกส์: korakot.n@cmu.ac.th
โทรศัพท์. (66)-5394-8057, 8046

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร
Chiang Mai Veterinary Journal
ISSN: 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)
Website: http://vet.cmu.ac.th/cmuvj



Guide for Authors

Objectives

"Chiang Mai Veterinary Journal" aims to be a publisher of a wide range of high quality academic journals such as original articles, review article, short communication, and case report in the field of veterinary science and animal science and technology, including biology, physiology, microbiology, pathology, nutrition, anatomy, genetics, internal medicine, surgery, obstetrics, biological science, basic science, and one health.

Articles that are published under our journal are double-blind peer reviewed by at least two experts. The opinions of each author might not be agreed upon by the editorial board. Any republication of a published article, or any part of published article (figure, table, etc.) must acquire permission from the editorial board of the Chiang Mai Veterinary Journal, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University even though the individual who submits the request is the author himself/herself.

Online publication

After volume 14, year, 2016, Chiang Mai Veterinary Journal will end paper publication and will be published online only for prompt publication. This policy is in accordance with Thai-Journal Citation Index Center that supports online publication. Annually, the Journal publishes three issues: the 1st issue during January-April, the 2nd issue during May-August, and the 3rd during September-December. Pages are numbered according to the articles that are accepted for publication.

Articles accepted during January-April will be published in the 1st issue.
Articles accepted during May-August will be published in the 2nd issue.
Articles accepted during September-December will be published in the 3rd issue.

Manuscript Format

The original article is a report of original research which has never been published by any publisher before. The article is composed of introduction, materials and methods, results, discussion, and conclusion.

Review article is an academic article that presents issues of interests or is academically useful.

Short communication is a concise study report due to the limits of the study but is complete in terms of content. The format is similar to the original thesis, but is a brief report instead.

Case report is a report of a rare case of ill animals that are thoroughly diagnosed. The topics include introduction, clinical history and symptoms, diagnosis and treatment, discussion, and conclusion. The case presentation is different from that in textbooks.

Manuscript Preparation

The Chiang Mai Veterinary Journal welcomes Thai and English articles. Manuscripts must be hard-copy printout on A4 papers, single-sided. “Cordia New” font of 16-point type should be used along with double spacing between lines. Manuscripts written in Thai should refer to Thai language principles of the Royal Institute Dictionary (http://www.royin.go.th). For English words that have been translated to Thai by the Royal Society of Thailand, their Thai translations are encouraged with English words within a bracket in the first time that they are mentioned. Thai words should be used in the following times. For the words with no Thai translations, borrowed words are encouraged (please refer to Royal Institute Dictionary). If the author has considered that borrowed words would alter the original meaning, English words are allowed but at as least as possible.

Digital files of all the four types of manuscripts must compose of two separate files: title page and manuscript.

Title Page

Title page is composed of the followings.

1. Title of the article in English and Thai language. The title should be concise and refers to the content of the article.
2. Name of author(s) in English and Thai language, position, workplace, correspondence address (company or organization, street, sub-district, district, province, and postal code).
3. Name of corresponding author in both English and Thai language, workplace (company or organization, street, sub-district, district, province, and postal code), telephone number, fax number, correspondence address, and email address.

Original Manuscript

Original manuscript will be sent to reviewers and will not show name and address of all the author(s). It is composed of the followings.

1. Title in Thai and English language
   Title in Thai and English must be matched word-by-word.
2. Abstract in Thai and English language
   Abstract of the original article and a review article should not exceed 300 words (based on English abstract).
   Abstract of short communication and case report should not exceed 200 words (based on English abstract).
3. Keywords of 3-5 words must be listed below the abstract in Thai and English language.
4. Content
   Original articles and short communication should comprise of the topics respectively as follows: introduction, materials and methods, results, discussion, conclusion, acknowledgement, and references.
   If there is any mathematical equation, “Microsoft equation editor” or “Math Type” software should be employed.
5. Figures and tables should be listed at the end of the article.
6. If animals were used in the study, permission to use animals for scientific study from the Animal Ethics Committee must be identified. The organization of the Committee, the date of the permit, and license number (if available) must be mentioned under the topic of materials and method.

Figure

1. Figure captions and information in figures should be in English.
2. Digital files of figures should be in TIFF or JPEG format. (Original digital files will be requested when the manuscript is accepted for publication.)
3. Size of figures should be more than 480×640 pixels. The author is responsible for cost of colored print-out of figures.
4. Order and format of the figures should be in order as they appear in the content.
5. If figures display scale, scale bar must be accompanied.
6. Figure captions should be below the figure and in the same format as in the content.
7. The author must show document(s) giving permission to use licensed figure(s).

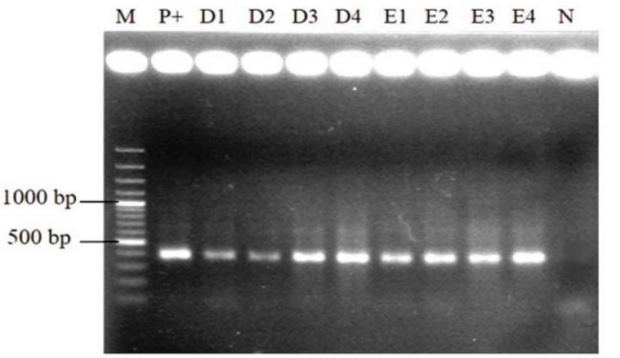


Figure 1 PCR product from fresh bones. M indicates marker, P+ indicates a positive control and N is a negative control. D1-D4 refers to diaphysis, while E1-E4 refers to epiphysis.

Sample figure

Table

1. Table caption and content in the tables must be in English only.
2. Numbers and table captions must be above tables
3. Vertical table lines should be avoided; horizontal lines should be used to separate topics from content.

Table 1 Primers used for OASL cloning.

Primers	Sequences
F-*suis*_E	5'-AGTCGAATTCATGGCTATTTATCAAAACAT-3'
R-*suis*_N	5'-ATATGCGGCCGCATCATTGAACTCATAAAG-3'
pGAP Forward	5′-GTCCCTATTTCAATCAATTGAA-3′
3′*AOX1*	5′-GCAAATGGCATTCTGACATCC-3′

#*EcoR*I and *Not*I restriction site are underlined.

Sample table

References

The name-year system should be employed for in-text citations. All referenced documents should be in English. If referenced documents are in other languages, the author must translate them into English. Authors are welcome to use reference managers such as Endnote, Reference manager, or Zotero, which allow faster proofreading and publishing. **Endnote template is available for downloading from Chiang Mai Veterinary Journal's website.**

1. All in-text citations must have corresponding citations in the reference list.
2. The name - year system must be employed for in-text citations. For example, "Based on the study of Toyoki (2010), it was shown that…" or "… corresponding to the study in canines (Hirada, 2010), horse (Maki and Hida, 2011) which discovered the level…."
3. If citing more than one name of authors, the first author must be cited and followed by *et al*. For example, "… High level of Oct-4 gene expression was discovered in blastocyst (Nganvongpanit *et al*., 2006)"
4. Reference list should be in alphabetical order.
5. References by the same author and same year of publication should be cited, for example, as 2010a, 2010b.
6. If referenced documents are not in English, they must be translated into English, but with permission of the authors of such documents.
7. Studies that have been published but are during preparation should be identified as "in press" at the end of the reference.
8. Referenced documents in Thai or other languages such as German, Chinese, Japanese must be translated into English. Their references must be followed by (in Thai, in German, in China, in Japan) depending on the language of the documents.
9. Studies that have not been published cannot be used as reference.
10. Studies that are published online without volume and page number must be identified by the Digital Object Identifier (DOI).
11. The title abbreviation must, in accordance with Title Word Abbreviations: (http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/.)
12. Sample references

    11.1. Journals

    - Maneepitaksanti, W., Worananthakij, W., Sriwilai, P., Laoprasert, T., 20 1 4 . Identification and distribution of gill monogeneans from Nile tilapia and red tilapia in Thailand. Chiang Mai Vet. J. 12, 57–68.
    - Tongkamsi, S., Singasa, K., Tubtim, T., Nakbubpa, K., Chansilpa, T., Kayee, S., 2015. Effects of storage time at 32.5 ^{o}C on amount of *Bacillus cereus* in UHT milk for school in Chonburi province. Chiang Mai Vet. J. 13, 1–6. (In Thai)

    11.2. Conference reports

Caffrey, J.P., 1 9 9 4 . Status of bovine tuberculosis eradication programmes in Europe. In: Wood, P.R.,
Monaghan, M.L., Rothel, J.S. (Eds.), Bovine Tuberculosis. Vet. Microbiol. 40, 1–4.

    11.3 Books

Armitage, P., Berry, G., 1987. Statistical Methods in Medical Research. Blackwell Scientific Publications,
Oxford, pp. 94–100, 411–416.
AUTHOR INFORMATION PACK 4 Oct 2015 www.elsevier.com/locate/vetmic 12

    11.4 Chapters from book

Butler, J.E., 1981. A concept of humoral immunity among ruminants and an approach to its investigation. In: Butler, J.E., Nielson, K., Duncan, J.R. (Eds.), The Ruminant Immune System, Plenum
Press, New York, pp. 3–55.

Plagiarism

English articles submitted for publication will be checked for plagiarism with Turn it in software by the editorial board. If any duplication that might indicate plagiarism is detected, the editorial board might reject the article.

Timeline

The Chiang Mai Veterinary Journal is a publisher of high quality academic journals and has fast proceedings. The process timeline is as follows.

- Time of proceedings from manuscript submission until the initial decision is at least 3 weeks.
- Time of proceedings from manuscript submission until online publication is at least 4 weeks.

Manuscript Submission Guideline

The author must submit digital files of the article in PDF format (Word files can be submitted after acceptance for publication.) via email at cmuvetj@gmail.com. The submission must include the followings.

1. Cover letter from the corresponding author, assuring that the article has never been published before and also not in consideration of other publishers. The author can suggest a list of no more than four reviewers with their names, company/organization, and email for the editorial board's consideration. The list of reviewers must not be shown in the submitted manuscript.
2. Title page
3. Manuscript

Manuscript submission checklist

☐ Cover letter (Obligatory)
☐ Suggestion of reviewers
☐ Title page (Obligatory)
☐ Manuscript (Obligatory)
☐ Reference format in English (Obligatory)
☐ Figures and tables in English, including captions and content in figures and tables (Obligatory)

The Faculty of Veterinary Medicine
Chiang Mai University

Address : Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100
Thailand
Website : http://www.vet.cmu.ac.th/cmvj
Email : cmuvetj@gmail.ac.th