

สรีรเปรียบเทียบทางด้านสุขภาพของโคนมที่ได้รับตำรับพืชสมุนไพรไทย ในระยะก่อนคลอด คลอด และหลังคลอด

นรสุทธิ บางภูมิ^{1,2} นุช โชติช่วง^{2,3} สุพจน์ อวสกุลสุทธิ⁴ วนิตา พัสตุรัมย์^{2,5}
วิมลเพชรกาญจนางค์⁶ กาญจนา อิมสิลป⁷ ชีระศักดิ์ พรภาพงษ์^{2,8}
วรรณดา สุจริต⁸ และศิริวรรณ พรภาพงษ์^{2,3*}

¹บัณฑิตศึกษา สาขาสัตววิทยาทางสัตว คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

²หน่วยปฏิบัติการวิจัยชีววิทยาเฉพาะพัฒนาวัคซีนเลปโตสไปโรเช็สในปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

³ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

⁴ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

⁵ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

⁶สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี

⁷ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

⁸ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

*Corresponding author, Email: fvetsrp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้นำตำรับพืชสมุนไพรไทยที่มีส่วนผสมของ ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน ไพล ลูกใต้ใบ และน้ำมันราชสีห์ มาใช้ในการเลี้ยงโคนม และศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรรวมต่อการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาทางโลหิตวิทยา ความเป็นพิษต่อไต และผลต่อระดับไซโตไคน์ IFN- γ และ TNF- α และปริมาณน้ำนมในโคนมระยะใกล้คลอด คลอด และหลังคลอด โดยใช้ระดับการเป็นแหล่งรังโรคเลปโตสไปโรเช็สในโคนมเป็นตัวชี้วัดเบื้องต้นสำหรับการทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่าตำรับที่ศึกษามีความปลอดภัยโดยไม่เป็นพิษต่อไต ไม่มีผลต่อระดับเม็ดเลือดแดง และไม่กระทบต่อผลผลิตน้ำนม แต่สามารถเพิ่มระดับลิพิดโพซัยต์และโมโนซัยต์ซึ่งมีหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายโคนม สามารถลดระดับไซโตไคน์ IFN- γ และระดับไซโตไคน์ TNF- α ในวันคลอด และยังสามารถลดการปลดปล่อยเชื้อเลปโตสไปไร ซึ่งสามารถถูกพัฒนาต่อเพื่อใช้เป็นสาร bacteriostatic ในโคนมได้

คำสำคัญ: สรีรเปรียบเทียบ ตำรับพืชสมุนไพรไทย โคนม ระยะก่อนคลอด คลอดและหลังคลอด ยาปฏิชีวนะ

บทนำ

อาชีพเกษตรกรการเลี้ยงโคนมไทยจัดเป็นอาชีพพระราชทาน พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ทรงเริ่มพระราชกรณียกิจในเรื่องการพัฒนาการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย ตั้งแต่พุทธศักราช 2505 จนถึงปัจจุบันเป็นตัวอย่างในการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเป็นค่อยไปโดยไม่รีบร้อนและไม่หยุดยั้ง (รสริน, 2550) ปัจจุบันมีเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม 25,393 ฟาร์ม มีจำนวนโคนม 381,702 ตัว คิดเป็นแม่โครีดนม 154,445 แม่ โดย 71% ของจำนวนฟาร์มทั้งหมดจัดเป็นฟาร์มขนาดเล็กที่มีโครีดนมน้อยกว่า 20 แม่ (สุณิรัตน์ และคณะ, 2550) เป้าหมายของเกษตรกรคือการจัดการเพื่อให้ได้ผลผลิตน้ำนมสูงสุด และมีคุณภาพดีเพื่อป้องกันการถูกปฏิเสธการรับซื้อน้ำนมดิบ รวมทั้งการจัดการเพื่อลดภาระต้นทุนสูงเกิน

ปัจจัยสุขภาพที่มีผลกระทบต่อการผลิตและคุณภาพน้ำนมได้แก่ ความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ที่เป็นแต่กำเนิด พยาธิสภาพที่เกิดกับระบบสืบพันธุ์ โภชนาการที่ไม่เหมาะสม สิ่งแวดล้อม และโรคอื่นๆ เช่น โรคเต้านมอักเสบ การเป็นแหล่งรังโรค *Leptospirosis* (Ellis และคณะ, 1986 และ Radostits และคณะ, 1997) ส่งผลให้เกษตรกรและนายสัตวแพทย์ต้องตัดสินใจซื้อขายภูชีวนะเพื่อแก้ไขและป้องกันสภาวะดังกล่าว เช่น สภาพการเป็นแหล่งรังโรค *Leptospirosis* ทำให้เกิดความสูญเสียในผลผลิตของสัตว์ และส่งผลกระทบต่อทางเศรษฐกิจในการเลี้ยงโคนม โรคนี้เป็นสาเหตุหนึ่งของการแท้ง การผสมติดยาก ลูกอ่อนแอ น้ำนมลด และเต้านมอักเสบ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Leptospira interrogans* (Radostits และคณะ, 1997) ในประเทศไทยโคที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อมีอยู่ที่ระดับ 17.8% (ศิริวรรณ และคณะ, 2546) การรักษาโรคเลปโตสไปโรซิสจะซื้อขายภูชีวนะ ผลเสียของการซื้อขายภูชีวนะทำให้ผู้เลี้ยงมีรายได้ลดลงจากการซื้อขายภูชีวนะ สูญเสียรายได้จากการดส่งนม

ไม่นานนี้มีการศึกษาการทำงานของไซโตไคน์หลายชนิดต่อโรคเลปโตสไปโรซิสโดยเช่น $IFN-\gamma$ $TNF-\alpha$ $IL-2$ $IL-4$ $IL-10$ และ $IL-12$ โดยเฉพาะ $TNF-\alpha$ $IL-2R$ และ $IL-6$ ที่พบการเพิ่มขึ้นในกรณีโรคเลปโตสไปโรซิสแบบเฉียบพลันในคน (Petro และ Engelmann, 2000) และ $IFN-\gamma$ $TNF-\alpha$ และ $IL-12$ ในคน (Fost และคณะ, 2003) และหนู (Vernel-Pauillac และ Merien, 2006) การที่ทราบสารไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเลปโตสไปโรซิสจะสามารถรู้ถึงสาเหตุการเกิดพยาธิสภาพ การพัฒนาของโรค รวมไปถึงการรักษาโรคเลปโตสไปโรซิสด้วยสารไซโตไคน์

ในการแพทย์แผนไทยมีการนำพืชสมุนไพรหลายชนิดมาใช้รวมกันในรูปแบบรับยามาใช้รักษาและป้องกันโรคอย่างแพร่หลาย การศึกษานี้ได้ริเริ่มนำตำรับพืชสมุนไพรไทยที่มีส่วนผสมของฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) ใพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus*) และน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.) มาใช้ในการเลี้ยงโคนม โดยมีจุดประสงค์ที่จะลดและทดแทนการใช้ ยาปฏิชีวนะในโคนม

สารออกฤทธิ์ของสมุนไพร ดังกล่าวข้างต้นเช่นฟ้าทะลายโจร สารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ Andrographolide มีคุณสมบัติที่คล้ายกับยาปฏิชีวนะคือทำลายหรือยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B.subsitis* *E.coli* *P.aeruginosa* เชื้อรา *C.albicans* (Singha และคณะ, 2003) และโดยเฉพาะเชื้อ *Leptospira interrogans* (SCARG, 1976) ขมิ้นชัน สารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ Curcuminoid ซึ่งลดกระบวนการอักเสบปรับระดับ

ภูมิคุ้มกันได้ทั้งแบบ innate immunity และแบบ adaptive immunity (Wessler และคณะ, 2005) ไพลสารออกฤทธิ์คือ Curcuminoid และ β -sitosterol ซึ่งช่วยลดการอักเสบ (Ozaki และคณะ, 1991) น้ำมันราชสีห์สารออกฤทธิ์คือ β -sitosterol มีฤทธิ์ลดการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรีย *Shigella* spp. (Vijaya และคณะ, 1995) และแก้อาการไม่มีน้ำนมในโค (Chifundera, 1998) และลูกใต้ใบ สารออกฤทธิ์คือ Phyllanthin และ Hypophyllanthin มีฤทธิ์ลดการอักเสบ เป็นต้น

การวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรรวมต่อการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยา ทางโลหิตวิทยา ความเป็นพิษต่อไต และผลต่อระดับไซโตไคน์ IFN- γ และ TNF- α และปริมาณน้ำนม ในโคนมระยะใกล้คลอด คลอดและหลังคลอดที่ได้รับพืชสมุนไพรไทยในรูปแบบตำรับยาโดยการกิน เพื่อค้นหาแนวทางใหม่ในการลดการขยายปฏิชีวนะในโคนม โดยใช้ระดับการเป็นแหล่งรังโรคเลปโตสไปโรซิสในโคนมเป็นตัวชี้วัดเบื้องต้น

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

แม่โคนมระยะแห้งนม สถานที่ทดลอง การจัดกลุ่มแม่โคทดลอง และการให้ตำรับพืชสมุนไพรทดลอง

แม่โคพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียนตั้งท้องจำนวน 25 ตัว เลี้ยงในคอกสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เริ่มทดลองโดยนำมาแบ่งกลุ่มโดยวิธีแบบสุ่มเป็นกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับตำรับพืชสมุนไพรทดลอง กลุ่มที่ได้รับตำรับพืชสมุนไพรทดลองจะให้ตำรับที่ 1 โดยเริ่มให้ 5 สัปดาห์ก่อนคลอดจนถึง 4 สัปดาห์หลังคลอด และตำรับที่ 2 เริ่มให้ 2 สัปดาห์ก่อนคลอดจนถึงวันคลอด

ตำรับพืชสมุนไพรไทยทดลอง

ศึกษาตำรับพืชสมุนไพรไทย 2 ตำรับ ดังนี้ ตำรับที่ 1 มีส่วนผสมของ ฟ้าทะลายโจร ลูกใต้ใบ น้ำมันราชสีห์ เป็นหลัก ขนาดที่ใช้ 25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักโค 1 กิโลกรัม ตำรับที่ 2 มีส่วนผสมของ ไพล ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชัน เป็นหลัก ขนาดที่ใช้ 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักโค 1 กิโลกรัม ให้กินทุก 12 ชั่วโมง ลักษณะของสมุนไพร 2 ตำรับเป็นยาผงสมุนไพรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งและบดละเอียด

การเก็บตัวอย่างเลือด ซีรัม ปัสสาวะ และปริมาณน้ำนม

ตัวอย่างเลือด ซีรัม ปัสสาวะจะเก็บทุกสัปดาห์ทดลองตั้งแต่ 4 สัปดาห์ก่อนคลอดถึง 4 สัปดาห์หลังคลอด โดยเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำ Jugular vein เลือด 3 ซีซีจะใส่ Vacutainer[®] EDTA เพื่อการตรวจทางโลหิตวิทยา ณ โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และเลือดปริมาณ 10 ซีซี ใส่ในหลอด Vacutainer[®] gel clot activator เพื่อการเก็บซีรัม ซีรัมจะถูกเก็บ ณ อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส การเก็บปัสสาวะใช้การกระตุ้นให้โคนมปล่อยปัสสาวะและเก็บน้ำปัสสาวะในถุงปลอดเชื้อเพื่อการเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจวัดความเป็นกรดต่าง การเก็บข้อมูลปริมาณน้ำนมต่อวันของโคแต่ละตัวถูกบันทึกไว้โดยเจ้าหน้าที่คอกสัตว์ทดลอง

การตรวจวัดเอ็นไซม์แสดงการทำงานของไต

โดยการตรวจวัดความเป็นกรดค้าง ของปัสสาวะ อ่านผลโดยการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษวัดกรดค้าง และตรวจวัดระดับยูเรียในกระแสเลือด และครีเอทีนินในตัวอย่างซีรัม โดยวิธี Urease-Berthelot Method และ ปฏิกิริยา Jaffe reaction ตามลำดับ

การตรวจวัดระดับไซโตคายน์เกี่ยวกับการอักเสบ

ตัวอย่างซีรัมใช้ตรวจระดับไซโตคายน์ 2 ชนิดคือ IFN- γ และ TNF- α โดยวิธี ELISA ใช้ชุดตรวจของบริษัท Endogen, Rockford, IL, USA

การตรวจการยับยั้งหรือลดการปลดปล่อยเชื้อสไปโรจิต/เลปโตสไปโรจากแมโคนมที่เป็นแหล่งรังโรค

การตรวจเช็ดยกกล่องจุลทรรศน์พื้นมีด

นำปัสสาวะที่เก็บได้จำนวน 1 ซีซี ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EMJH 9 ซีซี เพาะเลี้ยงในที่มืด ทุกวันที่ 2 4 และ 6 นับจากวันเก็บปัสสาวะ จะทำการตรวจเช็ดยกกล่องจุลทรรศน์พื้นมีด โดยแบ่งระดับการพบเชื้อออกเป็น 5 เกรดตามการนับจำนวนเชืวดังนี้ เกรด 0 หมายถึง ไม่พบเชื้อสไปโรจิต จนถึงเกรด 4 ที่พบเชื้อสไปโรจิตปริมาณมากกว่า 3 ใน 4 ของพื้นที่ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การวัดระดับ Microscopic Agglutination Test (MAT)

ส่งตัวอย่างซีรัมตรวจ MAT ที่ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยใช้ระดับไตเตอร์ 1:50 ขึ้นไปเป็นระดับตัดสินใจว่ามีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปรา

สถิติวิเคราะห์

วิเคราะห์โดยโปรแกรม MINITAB 14 โดยค่า p value น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.10 ถือว่ามีความแตกต่าง โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มในแต่ละช่วงเวลา

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลคำรับสมุนไพรต่อค่าโลหิตในแมโคนมทดลอง

แมโคนมจำนวน 14 ตัวได้รับสมุนไพรทดลอง (Herb) และ โคจำนวน 11 ตัวไม่ได้รับสมุนไพรทดลอง (No herb) มีค่าจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) ในกลุ่มที่ได้รับสมุนไพรทดลองจะมีปริมาณ WBC สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสมุนไพรทดลอง (รูปที่ 1A) ที่ช่วงเวลา สัปดาห์ที่ 2 ก่อนคลอด ($p \leq 0.10$) และ สัปดาห์ที่ 4 หลังคลอด ($p \leq 0.05$) กลุ่มที่ได้รับสมุนไพรจะพบปริมาณเซลล์ลิมโฟไซต์สูงกว่า (รูปที่ 1C) ที่ช่วงเวลา สัปดาห์ที่ 5 ถึง สัปดาห์ที่ 3 ก่อนคลอด ($p \leq 0.05$) สัปดาห์ที่ 2 ก่อนคลอด ($p \leq 0.10$) วันคลอด ($p \leq 0.10$) สัปดาห์ที่ 2 หลังคลอด ($p \leq 0.05$) และ สัปดาห์ที่ 4 หลังคลอด ($p \leq 0.10$) สำหรับเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์พบว่ากลุ่มที่ให้กินสมุนไพรจะพบปริมาณเซลล์สูงกว่า (รูปที่ 1D) ที่ช่วงเวลา สัปดาห์ที่ 1 ก่อนคลอด ($p \leq 0.10$) สัปดาห์ที่ 1 หลังคลอด ($p \leq 0.10$) และ สัปดาห์ที่ 4 หลังคลอด ($p \leq 0.10$) เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิลพบว่ากลุ่มที่ให้กินสมุนไพรจะพบปริมาณเซลล์สูง เฉพาะที่ช่วงเวลา สัปดาห์ที่ 4 หลังคลอด ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 1E) ค่าเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (รูป 1B)

และปริมาณเม็ดเลือดแดง (RBC) ค่าฮีโมโกลบิน (Hb) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ไม่พบความแตกต่างในสองกลุ่ม

ผลการเปลี่ยนแปลงโลหิตวิทยาในโคนมทั้งสองกลุ่มระยะก่อนคลอด คลอดและหลังคลอดนี้มีเม็ดนิวโทรฟิลและระดับจำนวนเม็ดเลือดแต่ละสัปดาห์เปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกับการทดลองของ Klinkon และ Zadnik (1999) และ บียกานต์ และคณะ (2548) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้จะพบว่ากลุ่มที่ได้รับสมุนไพรที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์และโมโนไซต์ที่มากกว่ากลุ่มควบคุม (รูปที่ 1C และ 1D)

การมีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์และโมโนไซต์เพิ่มขึ้น แสดงถึงการเพิ่มบทบาทในระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ซึ่งลิมโฟไซต์ทำหน้าที่ทั้งแบบ innate immunity จาก NK cell และ adaptive immunity จาก T และ B cell และโมโนไซต์ทำหน้าที่หลักในการจับกินแบบฟาโกไซโตซิส (Goldsby และคณะ, 2003) แต่การทดลองนี้ไม่ได้ตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำงานของเม็ดเลือดขาวทั้งสองชนิดนี้ ทั้งนี้ในบางกรณีพบว่าการเพิ่มขึ้นของเซลล์เม็ดเลือดขาว แต่อาจมีการทำหน้าที่ของเซลล์นั้นลดลง (Kehrl และคณะ, 1989) จึงจำเป็นต้องตรวจการทำงานหน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วย อย่างไรก็ตาม บียกานต์ และคณะ (2548) ได้รายงานไว้ว่า กลุ่มโคนมที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) สูงกว่า จะมีความเสี่ยงที่จะเป็นแหล่งรังโรคเลปโตสไปโรซิสลดลง การศึกษานี้จึงชี้แนะได้ว่า ตำรับพืชสมุนไพรจะมีเม็ดนิวโทรฟิลช่วยป้องกัน สิ่งแปลกปลอมหรือโรคติดเชื้อเช่น โรคเลปโตสไปโรซิสได้ด้วยการเพิ่มปริมาณเซลล์ที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอม

ผลได้รับสมุนไพรต่อค่าเอ็นไซม์แสดงการทำงานของไต และปริมาณน้ำนม ในแม่โคนมทดลอง

ค่ากรดต่างในปัสสาวะ ระดับครีเอตินิน ระดับยูเรียในกระแสเลือดตลอดระยะทดลองตั้งแต่ 1 เดือนก่อนคลอด คลอด จนถึง 1 เดือนหลังคลอด (ตารางที่ 1) และปริมาณน้ำนมตลอด 1 เดือนแรกของการให้นม (ไม่ได้แสดงข้อมูล) พบว่ากลุ่มที่ได้รับสมุนไพรไม่พบความแตกต่างกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสมุนไพรทดลอง จึงชี้แนะได้ว่าตำรับพืชสมุนไพรไม่มีผลเป็นพิษต่อไต และไม่กระทบต่อผลผลิตน้ำนมในแม่โค

ผลได้รับสมุนไพรต่อระดับไซโตคายน์ IFN- γ และ TNF- α ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในแม่โคนมทดลอง

แม่โคนมในกลุ่มที่ได้รับตำรับสมุนไพรทดลอง (Herb) มีเม็ดนิวโทรฟิลระดับไซโตคายน์ IFN- γ ในซีรัมต่ำกว่า กลุ่มโคนมที่ไม่ได้รับสมุนไพรทดลอง (No herb) โดยเฉพาะในระยะ 1 เดือนหลังคลอด (ตารางที่ 1) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ระดับไซโตคายน์ IFN- γ นั้นบ่งบอกถึงการทำงานของ T lymphocyte และ NK cell ระดับไซโตคายน์ IFN- γ มีเม็ดนิวโทรฟิลจะลดลงในกลุ่มที่ได้รับสมุนไพร แสดงว่าองค์ประกอบในตำรับสมุนไพรอาจมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการหลั่ง IFN- γ ของ T lymphocyte และ NK cell ทั้งที่โคนมกลุ่มที่ได้รับสมุนไพร (Herb) มีจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์สูงกว่าโคนมที่ไม่ได้รับสมุนไพรทดลอง (No herb)

ระดับไซโตคายน์ TNF- α มีระดับที่ไม่แตกต่างกันในโคนมทั้งสองกลุ่ม ยกเว้นในวันคลอดที่โคได้รับสมุนไพรจะมีระดับ TNF- α ต่ำกว่าอีกกลุ่ม (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบระดับไซโตคายน์ TNF- α ที่ไม่แตกต่างกันในโคนมสองกลุ่มนั้น บ่งชี้ได้ว่าโคนมสองกลุ่มมีการหลั่ง TNF- α อันเป็นปฏิกิริยาที่ตอบสนองต่อกระบวนการสร้าง endotoxin (Goldsby และคณะ, 2003) ที่เกิดจากการติดเชื้อในสภาวะธรรมชาติและสภาพการเลี้ยงเดียวกัน ยกเว้นในวันคลอดที่พบว่ากระบวนการอักเสบจะลดลงในโคนมที่ได้รับสมุนไพร ซึ่งควรจะเป็นผลดีต่อโคนมเนื่องจากวันคลอดจะมีระดับความเครียดสูงและสมุนไพรจะมีผลลดปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเครียดดังกล่าว ซึ่งการเปลี่ยนแปลงระดับ IFN- γ ที่ลดลงและ TNF- α ที่ไม่แตกต่างจะพบเหมือนการเปลี่ยนแปลงไซโตคายน์จากยาปฏิชีวนะ Tetracycline ในหนู (Lin และคณะ, 2006)

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นกรดด่างของปัสสาวะ (pH) Creatinine BUN IFN- γ และ TNF- α ของกลุ่มโคที่ไม่ได้รับตำรับสมุนไพรทดลอง (No Herb) และกลุ่มโคที่ได้รับตำรับพืชสมุนไพร (Herb) ในช่วงระยะใกล้คลอด คลอด และหลังคลอด

สัปดาห์ที่	กลุ่ม	Mean \pm SEM				
		pH	Creatinine	BUN	IFN- γ	TNF- α
Before (-5) - (-3)	No herb	8.5 \pm 0.1	1.4 \pm 0.0	16.3 \pm 1.2	24.5 \pm 6.6	127.9 \pm 38.0
	Herb	8.3 \pm 0.2	1.4 \pm 0.0	13.0 \pm 1.4	20.1 \pm 8.5	5.4 \pm 4.0
-2	No herb	8.5 \pm 0.1	1.3 \pm 0.0	16.7 \pm 1.6	14.0 \pm 7.5	129.9 \pm 41.4
	Herb	8.5 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	15.6 \pm 1.6	21.4 \pm 9.0	91.6 \pm 32.5
-1	No herb	8.2 \pm 0.3	1.4 \pm 0.1	17.5 \pm 1.0	6.2 \pm 2.4	172.5 \pm 57.7
	Herb	8.3 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	18.8 \pm 1.6	8.3 \pm 4.2	111.0 \pm 55.0
0	No herb	8.2 \pm 0.2	1.4 \pm 0.1	18.0 \pm 1.7	3.1 \pm 1.1	200.4 \pm 97.8
	Herb	7.6 \pm 0.4	1.2 \pm 0.1	20.4 \pm 1.4	32.7 \pm 24.4	161.5 \pm 47.6
1	No herb	8.0 \pm 0.2	1.4 \pm 0.1	16.8 \pm 0.9	2.0 \pm 1.4	54.4 \pm 36.1
	Herb	8.1 \pm 0.4	1.2 \pm 0.1	19.3 \pm 2.4	33.9 \pm 19.9	126.6 \pm 49.4
2	No herb	7.6 \pm 0.3	1.2 \pm 0.1	15.8 \pm 1.5	2.9 \pm 1.5	208.0 \pm 138.0
	Herb	7.8 \pm 0.4	1.0 \pm 0.1	18.7 \pm 2.3	30.6 \pm 20.7	54.2 \pm 30.5
4	No herb	8.2 \pm 0.3	1.1 \pm 0.1	14.9 \pm 1.9	2.0 \pm 1.1	132.6 \pm 57.7
	Herb	7.9 \pm 0.2	0.9 \pm 0.8	20.0 \pm 2.1	25.0 \pm 14.1	52.3 \pm 20.4
	Herb	8.2 \pm 0.2	1.1 \pm 0.1	20.1 \pm 1.4	4.3 \pm 2.4	119.1 \pm 51.6

หมายเหตุ ระยะ Before คือ ก่อนการทดลอง ระยะ -5 ถึง -3 -2 และ -1 คือ 5 ถึง 3 2 และ 1 สัปดาห์ก่อนคลอด
ระยะ 0 คือ วันที่คลอด ระยะ 1 2 และ 4 คือ 1 2 และ 4 สัปดาห์หลังคลอด

ผลกำรับสมุนไพรรักษาโรคระดับการเป็นแหล่งรังโรคเลปโตสไปโรซิสในแม่โคนมทดลอง

เพื่อค้นหาแนวทางใหม่ในการลดการไชยาปฏิชีวนะในโคนม คณะนักวิจัยจึงไช้ระดับการเป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปราในโคนมเป็นตัวชี้วัดเบื้องต้น โดยทำการตรวจสอบผลการเพาะเลี้ยงเชื้อเลปโตสไปราและดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พื้นมีด และการตรวจด้วยวิธี MAT ในโคนมทั้งสองกลุ่มที่ตรวจพบสไปโรจิต/เลปโตสไปราในปัสสาวะตั้งแต่สัปดาห์แรกของการทดลอง ผลการตรวจสอบแสดงในตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่า กลุ่มโคนมที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปราและได้รับกำรับพืช สมุนไพรรักษา (H-SCH+) จะมีปริมาณเชื้อเลปโตสไปราลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโคนมที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปราแต่ไม่ได้รับกำรับพืช สมุนไพรรักษา (NH-SCH+) ผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปราด้วยวิธี MAT ในกลุ่ม H-SCH+ จะไม่พบโคนมที่มีไตเตอร์ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปรา มากกว่า 1:50 ในทุกช่วงเวลา ขณะที่กลุ่ม NH-SCH+ จะพบโคนมที่มีไตเตอร์ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปรา มากกว่า 1:50 ในทุกช่วงเวลา โดยจะเป็นภูมิคุ้มกันต่อซีโรวาร *Ranarum Tarassovi* Sejroe และ *Hebdomadis*

การทดลองของเชื้อเลปโตสไปราในกลุ่มโคที่เป็นแหล่งรังโรคเลปโตสไปราและได้รับกำรับพืช สมุนไพรรักษา แสดงว่าสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งการปลดปล่อยเชื้อเลปโตสไปราได้ แต่พบว่าการทดลองนี้เชื้อเลปโตสไปราไม่ได้ถูกกำจัดไปหมดจากร่างกายรวมกับการเปลี่ยนแปลงระดับไช้โตคายน์ที่คล้ายยาปฏิชีวนะ Tetracycline เชื่อว่าอาจเป็นได้ว่าปริมาณสมุนไพรรักษาที่ให้นั้นอาจเป็นขนาดยับยั้งเชื้อ (bacteriostatic) มากกว่าขนาดทำลายเชื้อได้หมด (bactericidal)

การตรวจระดับภูมิคุ้มกันด้วยวิธี MAT นั้นบ่งบอกการเพิ่มภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปราเท่านั้น ซึ่งในกรณีโคเป็นแหล่งรังโรคนั้นเชื้อจะหลบซ่อนตามอวัยวะต่างๆ เช่น ไต เป็นต้น ทำให้ไม่พบภูมิคุ้มกันได้ดังกรณีในกลุ่ม H-SCH+ การวินิจฉัยด้วย MAT อาจบ่งบอกสภาวะสัมผัสเชื้อที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมในกรณีกลุ่ม NH-SCH+ ที่มีระดับ MAT >1:50 แต่ไม่มีโคตัวใดมีระดับ MAT ที่จะบ่งบอกว่ามีอาการทางคลินิก

สรุปผลการทดลอง

การไช้กำรับพืช สมุนไพรรักษาไทยที่มีส่วนผสมของ ฟ้าทะลายโจร ลูกใต้ใบ น้ำนมราชสีห์ ไพล และขมิ้นชัน ในโคนมระยะก่อนคลอด คลอด และหลังคลอดนั้นมีความปลอดภัยโดยไม่เป็นพิษต่อไคไม่มีผลต่อระดับเม็ดเลือดแดง แต่สามารถเพิ่มระดับลิมโฟซัยต์และโมโนซัยต์ซึ่งมีหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย สามารถลดระดับ IFN- γ และลดระดับไช้โตคายน์ TNF- α ในวันคลอด และสามารถไช้เป็น bacteriostatic ได้

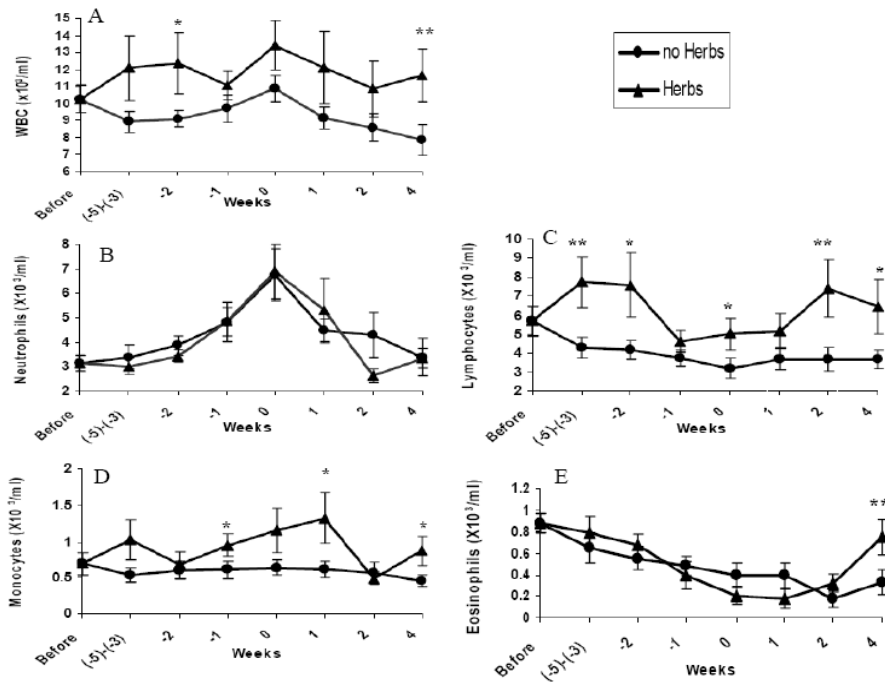
กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2548 (นรสุทธิ บางภูมิ) ทุนมูลนิธิพระบรมราชานุสรณ์ พระบาทสมเด็จพระปกเกล้าเจ้าอยู่หัวและสมเด็จพระนางเจ้ารำไพพรรณี (นรสุทธิ บางภูมิ) ทุนวิจัยวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (นรสุทธิ บางภูมิ) และทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รหัส 04112601 (ศิริวรรณ พราพงษ์) โดยได้รับความอนุเคราะห์คำรับพืชสมุนไพรที่ผ่านการสกัดแล้วจากบริษัทลิลี่ฟู้ดแอนด์ชายนั้ได้รับความอนุเคราะห์ไข่ม่มโคนมทดลอง และสถานที่ทดลอง จากหน่วยงานสัตวทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปรา

เอกสารอ้างอิง

- ปิยกานต์ เมธาลักษณ์ สุพรรณา เลิศภูมิปัญญา ไพศาล เพชรเมือง วีรพงษ์ พงษ์นารายณ์ เฉลียว ศาลากิจ นุช พึ่งโพธิ์สภ นรสุทธิ บางภูมิ ดวงใจ สุวรรณเจริญ และ ศิริวรรณ พราพงษ์. 2548. สรีรเปรียบเทียบทางด้านสุขภาพของโคนมที่เป็นแหล่งรังโรคและโคนมที่ไม่ได้เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปราช่วงระยะใกล้คลอด คลอด และหลังคลอด ในฟาร์มสัตวทดลอง. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการทางสัตวแพทยและการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 31. สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์. ISBN 974-93674-2-1.*
- รสริน สมิตะพินทุ. 2550. พระบิดาแห่งเกษตรกรโคนมไทย (ตอน 2). *จดหมายข่าวโคนม. ISSN 8059-9025. 5(1): 2-4.*
- ศิริวรรณ พราพงษ์ ดวงใจ สุวรรณเจริญ และ นพพร โตะมี. 2546. การตรวจหาไวรัสที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อเลปโตสไปโรซิสในประเทศไทยโดยการประสานเทคนิค PCR และ MAT. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 41 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ISBN 974-537-241-2: 668-677.*
- สุนิรัตน์ เอี่ยมละมัย สิ้นชัย เรื่อง ไพบูลย์ อดุลย์ วิงตาล จิตศักดิ์ ไชยพาน ฉลอง วชิราภากร. 2550. บทวิเคราะห์อุตสาหกรรมโคนมไทยกับการแข่งขันในอนาคตฯ (ตอน 2). *จดหมายข่าวโคนม. ISSN 8059-9025. 5(1): 5-9.*
- Chifundera, K. 1998. Livestock diseases and the traditional medicine in the Bushi area, Kivu province, Democratic Republic of Congo. *African Study Monographs*, 19(1): 13-33
- Ellis, W.A., J.J. O'Brien, S.D. Neill and D.G. Bryson. 1986. Bovine leptospirosis: experiment serovar hardjo infection. *Veterinary Microbiology*. 11:253-299.

- Fost, DM, RA Hartskeerl, R. Martijin and Poll. 2003. Interleukin 12 in Part Regulates Gamma Interferon Release in Human Wgole blood Stimulated with *Leptospira interrogans*. Clin. And Diag. Lab Immunol. 10(2). 332-335
- Goldsby, R.A., T.J.Kindt., B.A.Osborne and J.Kuby. 2003. Immunology. Fifth Editions. Goldsby, New York, W.H. Freeman and company Publisher.
- Kehrli, M.E., B.J.Nonnecke and J.A.Roth. 1989. Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *Am.J.Vet.Res.* 50: 215-220.
- Klinkon, M. and Zadnik T. 1999. Dynamics of red and white blood picture in dairy cows during the periparturient period. *Comp Hematol Int.* 9: 156-161.
- Lin, S.J., C.S.Chen, S.S.Lin, M.Y.Chou, H.C.Shih, I.P.Lee, C.T.Kao, C.C.Ho, F.L.Chen, Y.C.Ho, K.H.Hsieh, C.R.Huang and C.C.Yang. 2006. In vitro anti-microbial and in vivo cytokine modulating effects of different prepared Chinese herbal medicines. *Food and Chemical Toxicology.* 44; 2078-2085.
- Ozaki, Y, N Kawahara and M Harada. 1991. Anti-inflammatory effect of Zingiber cassumunur Roxb. And its active principles. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 39(9):2353-6.
- Petro, S.L.U., and L.Engelmann. 2000. Serum procalcitonin and proinflammatory cytokines in patient with acute severe leptospirosis. *Scand.J.Infect.Dis.* 32:104.
- Radostits, O.M., D.C.Blood, and C.C. Gay. 1997. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Goats and Horses. W.B. Saunders Comp. Ltd. Philadelphia. 884-898.
- Singha, P.K., S Roy, and S Dey. 2003. Antimicrobial activity of *Andrographis paniculata*. *Fitoterapia.* 74(7-8):692-4.
- Vernel-Pauillac, F.and F.Merien. 2006. Proinflammatory and immunomodulatory cytokine mRNA time course profiles in hamster infected with a virulent variant of *Leptospira interrogans*. *Infection and Immunity.* 74 (7), 4172-4179.
- Vijaya, K, S Ananthan and R Nalini. 1995. Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp.-a cell culture study. *J Ethnopharmacol.* 49(2):115-8.
- Wessler, S., P Muenzner, TF Meyer and M Naumann. 2005. The anti-inflammatory compound curcumin inhibits *Neisseria gonorrhoeae*-induced NF-kappa B signaling, release of pro-inflammatory cytokines/chemokines and attenuates adhesion in late infection. *Biol Chem.* 286(5):-481-90.



รูปที่ 1 A) จำนวนเม็ดเลือดขาวรวม (WBC) B) นิวโทรฟิล (Neutrophils) C) ลิมโฟไซต์ (Lymphocytes) D) โมโนไซต์ (Monocytes) E) อีโอสิโนฟิล (Eosinophils) ในโคนมกลุ่มได้รับสมุนไพรและไม่ได้รับสมุนไพรในแต่ละสัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย+SEM * $p < 0.10$, ** $p < 0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงผล บวก/โลทั้งหมด และคิดเป็นร้อยละ ของการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Direct) และ MAT ในแต่ละสัปดาห์ของกลุ่มโคที่มีเชื้อเลปโตสไปร์ที่กินสมุนไพร (H-SCH+) กับไม่กินสมุนไพร (NH-SCH+)

H-SCH+ group								
weeks	Before	(-5)-(-3)	-2	-1	0	1	2	4
Direct examination	7/7 (100%)	5/7 (71.4%)	3/7 (42.9%)	1/7 (14.3%)	1/6 (16.7%)	2/6 (33.3%)	0/7 (0%)	5/7 (71.4%)
MAT	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)
NH-SCH+ group								
weeks	Before	(-5)-(-3)	-2	-1	0	1	2	4
Direct examination	8/8 (100%)	5/7 (71.4%)	5/8 (62.5%)	7/8 (87.5%)	4/5 (80.0%)	3/6 (50.0%)	4/6 (66.7%)	3/6 (50.0%)
MAT	4/7 (50.0%)	3/7 (42.9%)	4/8 (50.0%)	3/8 (37.5%)	2/6 (33.3%)	1/6 (16.7%)	1/6 (16.7%)	1/6 (16.7%)

Comparative physiology of dairy health during periparturient period: Effects of Thai mixed medicinal herbs

Norasuthi Bangphoomi^{1,2}, Nuch Chotechuang^{2,3}, Supoj Arwasakulsuthi⁴,
Wanida Patsaduraks^{2,5}, Wimol Petkanchanapong⁶, Kanjana Imsilp⁷,
Teerasak Prapong^{2,8}, Vanda Sujarit⁸ and Siriwan Prapong^{2,3*}

¹Graduate Program in Animal Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, 10900, TH.

²Leptospirosis Vaccine Development for Livestock Special research Unit, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, 10900, TH.

³Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, 10900, TH.

⁴Department of Large Animal and Wildlife Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kampaengsan campus, Nakornpathom, TH.

⁵Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, BKK, 10900, TH.

⁶National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi, TH.

⁷Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, 10900, TH.

⁸Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, BKK, 10900, TH.

*Corresponding author, Email: fvetsrp@ku.ac.th

Abstract

We studied some physiological changes in periparturient dairy cows treated orally with Thai mixed medicinal herbs of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees, *Curcuma longa* Linn., *Zingiber cassumnar* Roxb., *Phyllanthus amarus*, *Euphorbia hirta* L.. Physiological parameters of hematology, indicators of kidney function, serum cytokines, and milk production were monitored weekly in dairy cows treated with Thai mixed medicinal herbs during periparturient period. A status in naturally infected with *Leptospira* and serving as Leptospiral reservoir in dairy cows was used as an indicator for monitoring antibiotic action of herbs. The results showed that Thai mixed medicinal herbs were safe for dairy cow health, non toxic to kidney, and not disturbing hematological profile and milk production in treated cows. However, we found that cows treated with these herbs had higher number of lymphocyte and monocyte which these cells involve in immune response system. Their serum IFN- γ and serum TNF- α on parturition day were reduced. Their spirochete/Leptospiral shedding status decreased. These indicated that the Thai mixed medicinal herbs could be developed to be a bacteriostatic agent for dairy cows

Keywords: comparative physiology, Thai mixed medicinal herbs, dairy cows, periparturient period, antibiotics.