ไวตามินอีและซีลีเนียม
ควบคุมและป้องกันโรคเต้านมอักเสบ

นันทิยา สุวรรณปัญญา

บทนำ

สาเหตุ โคนมเป็นเต้านมอักเสบ

หญ้าสดเป็นแหล่งไวตามินอี มี ความเข้มข้น 200 IU/kg of DM.

หากตัดพืช อาหารสัตว์–หญ้าแห้ง – หญ้าหมัก จะทำให้สูญเสียไวตามินอี

- โดยทั่วไป ดินจะมีธาตุซีลีเนียมอยู่ต่ำ โดยเฉพาะดินที่เป็นกรด หรือมีธาตุเหล็กอยู่มาก จะขัดขวางการนำไปใช้ประโยชน์ของพืชอาหารสัตว์ จึงเป็นสาเหตุทำให้พืชอาหารสัตว์มีซีลีเนียมอยู่น้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์
- Kumagai et al. (1996): ความเข้มข้นของ ซีลีเนียมในหญ้าอาหารสัตว์อยู่ระหว่าง 0.033-1.177 mg/kg DM.ในพลาสม่าจากเลือดโค < 0.03 µg/ml ซึ่งไม่เพียงพอต่อความต้องการของโคนม

↓

ภูมิคุ้มกันโรค

อย่างไรก็ตามอาหารหยาบคุณภาพดีมักมีระยะเวลาสั้นในประเทศไทย โดยเฉพาะฤดูร้อน โคนมส่วนใหญ่จึงได้กินเฉพาะฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลัก (เมธา, 2544)

ไวตามินอีและซีลีเนียม (Se) เป็นโภชนะที่จำเป็นสำหรับโคนม ช่วยขจัดอนุมูลอิสระ และเพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดปัญหาโรคเต้านมอักเสบ (Costello, 1998)

- Se มีอยู่ในรูป
- 1 อนินทรีย์ (inorganic) ได้แก่

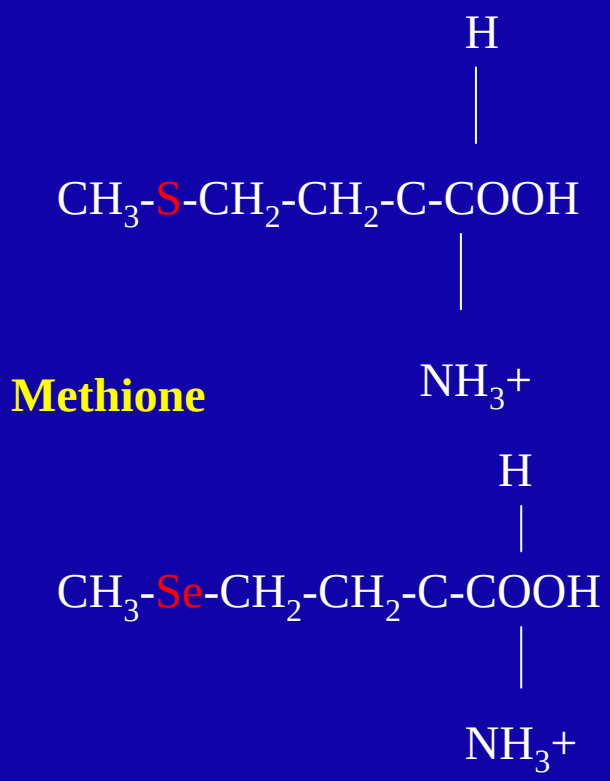
Sodium selenite

แต่การใช้ประโยชน์ในร่างกายได้ต่ำ

2 อินทรีย์ (organic) ได้แก่

Se- yeast

Saccharomyces cerevisiae



selenomethione

สมมุติฐาน: บทบาทของไวตามินอี และซีลีเนียม มีผลต่อนิวโทรฟิล ในการตอบสนองภูมิคุ้มกัน ภายใต้การจัดการให้อาหารโคนมเขตร้อน ?

Hypothesis: Have role of vitamin E and Se effect on bovine neutrophils and immune respond *(in vitro)* under tropical feeding management ?

การทดลอง

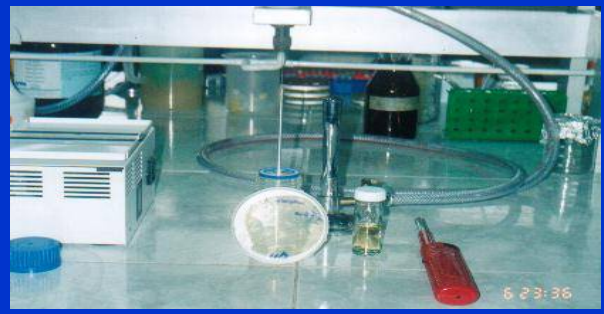
ความสามารของนิวโทรฟิลในการเก็บกินเชื้อและฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี *in vitro* ในโคสาว

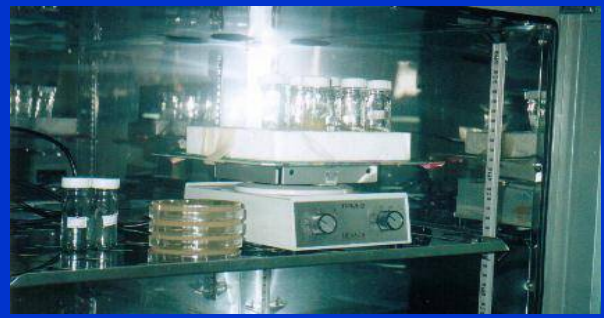
โคนมลูกผสม โฮลสไตน์ฟรีเชียนจำนวน 12 ตัว
โดยจัดการทดลองแบบ 2 X 2 แฟคตอเรียลตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์
(factorial experiment in CRD)

กลุ่มทดลองที่ 1	วิตามินอี	2,000 ไอยู และ ซีลีเนียม 3 มก./ตัว/วัน
กลุ่มทดลองที่ 2	วิตามินอี	4,000 ไอยู และ ซีลีเนียม 3 มก. /ตัว/วัน
กลุ่มทดลองที่ 3	วิตามินอี	2,000 ไอยู และ ซีลีเนียม 6 มก. /ตัว/วัน
กลุ่มทดลองที่ 4	วิตามินอี	4,000 ไอยู และ ซีลีเนียม 6 มก. /ตัว/วัน

ปัจจัยสอง **A:** การเสริมไวตามินอี 2 ระดับคือ 2,000 (1.34 ก.) และ 4,000 (2.68 ก.) IU/ตัว/วัน
ปัจจัยแรก **B :** การเสริมซีลีเนียม 2 ระดับ 3 และ 6 มก/ตัว/วัน

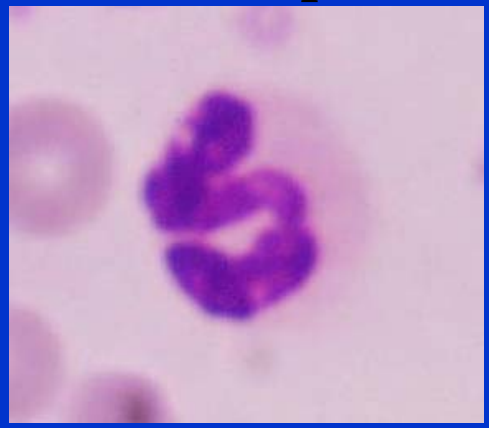
การเก็บกินและการฆ่าเชื้อ *S. aureus*
Phagocytosis and killing assay



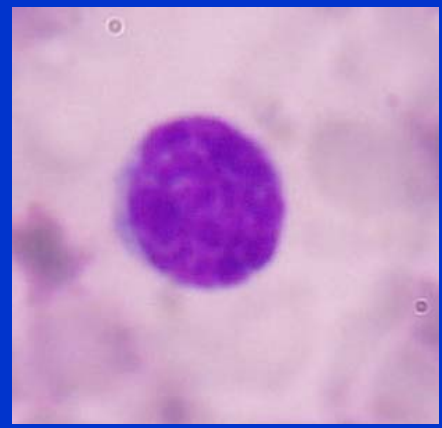


เม็ดเลือดขาว (White blood cells, WBC)

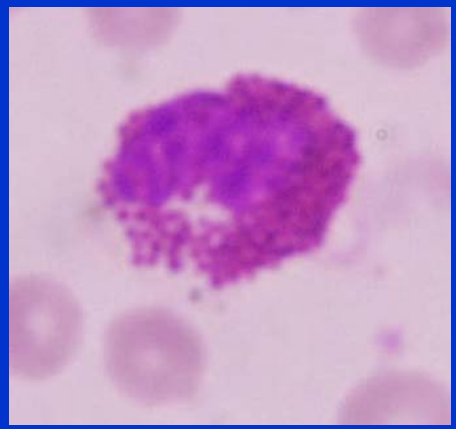
Neutrophil



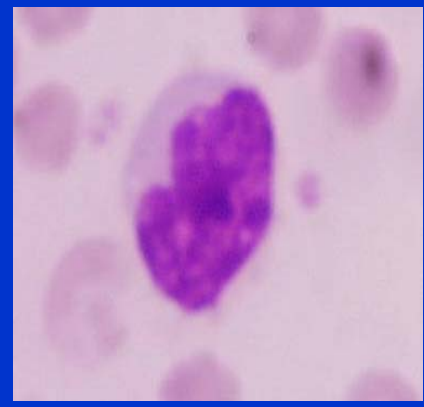
Lymphocyte



Eosinophil



Monocyte

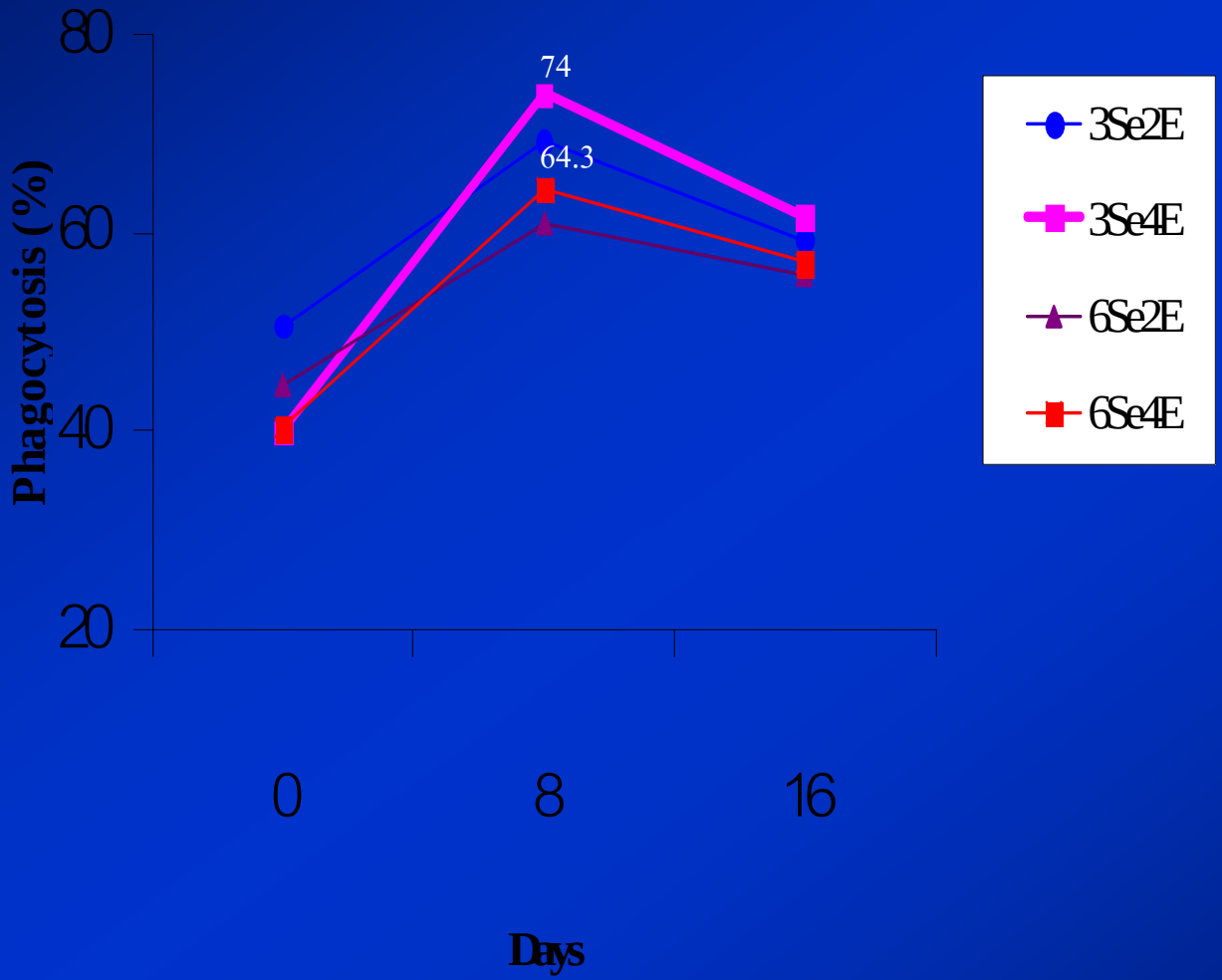


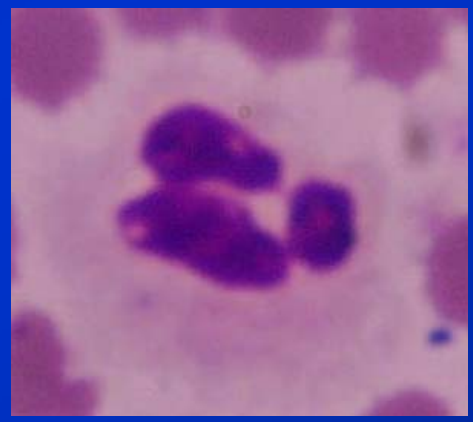
:Nunthiya

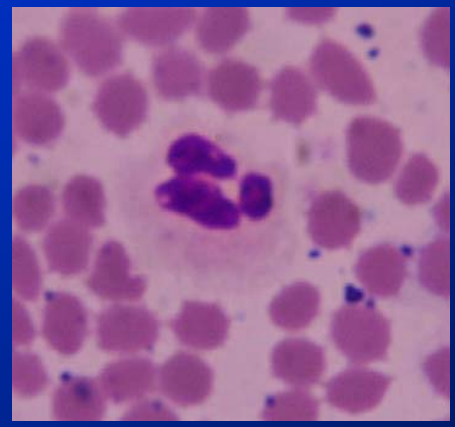
ตารางที่ 1 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อ เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ

การทดลอง	Absolute differential white blood cells (cells/cu.mm)				
	WBC	neutrophils	eosinophils	lymphocytes	monocytes
3Se/2E					
Pre-supplementation	22,450	2,439 (10.8)[1]	1,173 (5.2)	17,530 (78.2)	1,306 (5.8)
Supplementation	39,666	6,125 (15.5)	2,484 (6.5)	29,402 (74.0)	1,653 (4.0)
3Se/4E					
Pre-supplementation	27,816	3,160 (11.3)	2,108 (7.5)	21,169 (76.3)	1,386 (4.9)
Supplementation	54,900	11,398 (20.7)	3,569 (6.6)	38,332 (69.8)	1,599 (2.9)
6Se/2E					
Pre-supplementation	29,116	2,521 (8.6)	1,131 (3.9)	23,846 (81.9)	1,617 (5.6)
Supplementation	31,650	4,504 (14.2)	1,519 (4.8)	24,237 (76.6)	1,387 (4.4)
6Se/4E					
Pre-supplementation	19,666	2,034 (10.3)	515 (2.6)	16,037 (81.6)	1,078 (5.5)
Supplementation	29,533	6,502 (22.0)	1,194 (4.1)	20,807 (70.4)	1,029 (3.5)
SEM	8,073	1,448	397	5,913	397

Phagocytosis



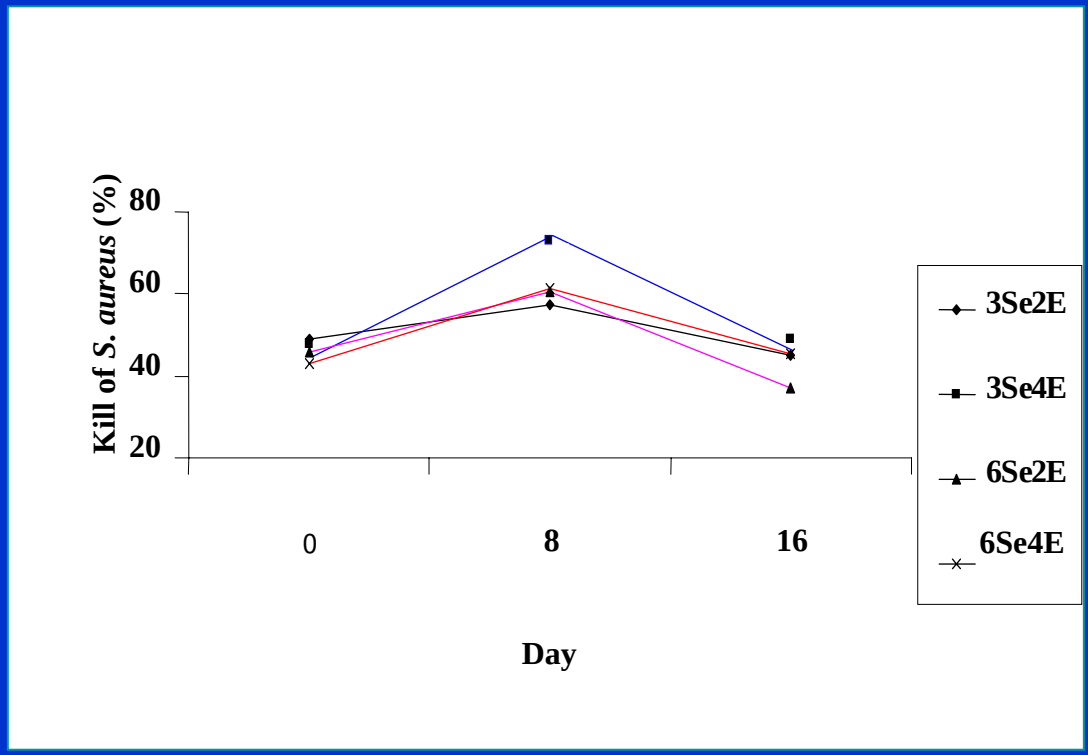


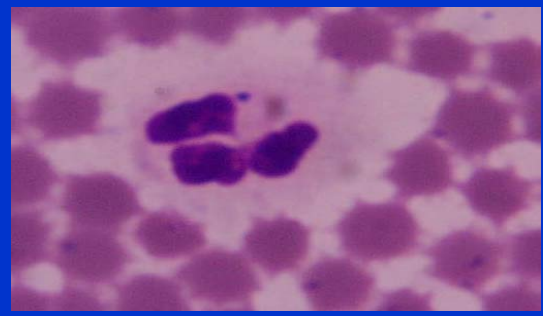


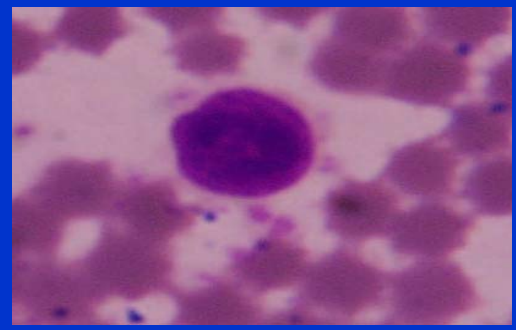
รูปที่1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเก็บกินเชื้อของนิวโทรฟิลโดยวิธี ***in vitro***

: Nunthiya

Kill of *S. aureus* assay (*in vitro*)







รูปที่ 2 แสดง เปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อ ***S. aurous*** ของนิวโทรฟิล

: Nunthiya

การเสริมไวตามินอี 4,000 ไอยู. ร่วมกับ ซีลีเนียม 3 มก./ตัว/วัน

ช่วยตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non specific)
เพิ่มความสามารถของนิวโทรฟิลในการเก็บกินและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

ระดับที่เหมาะสม

ป้องกัน

โคนมสุขภาพดี

น่าจะควบคุมเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้

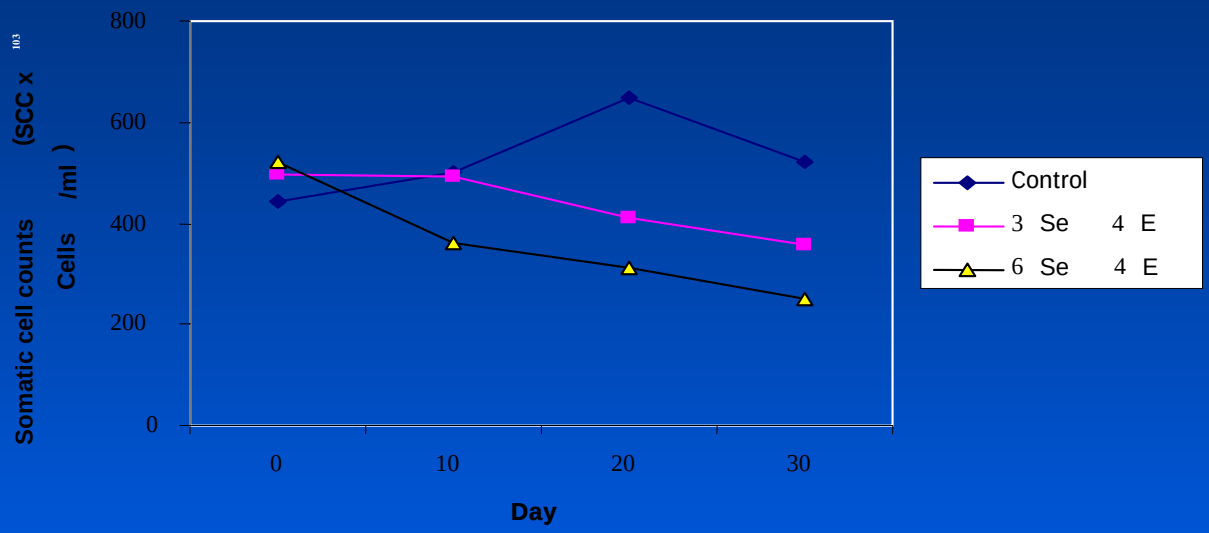
สมมุติฐาน: ข้อคิดเห็นว่าน่าจะสามารถการควบคุมโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้ด้วยโภชนะไวตามินอีและซีลีเนียม

Hypothesi: the concept for controlling subclinical mastitis by nutrition (Se and vitamin E)?

ผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ

EFFECTS OF SELENIUM AND VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON SUBCLINICAL MASTITIS IN DAIRY COWS

ปัญหาสำคัญโคนมในฟาร์มขนาดเล็กใน จ.ขอนแก่นและ จ. เชียงใหม่พบว่า เป็นเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการให้เห็นเป็นจำนวนมาก (Aiumlamai et al, 2000; Boonyayatra and Chaisri, 2004).



รูปที่ 3 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อ SCC

ตารางที่ 2 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อ CMT

ระยะเวลาเสริม (วัน)	ควบคุม	ไวตามินอี 4,000		SEM	*P*-value	
		ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6		ควบคุม & เสริม	3 & 6
		CMT[1]				
ก่อนเสริม	1.7	1.7	1.6	0.85	-	-
ระยะเวลาเสริม						
10	1.9^{b}	1.4^{ab}	0.8^{a}	0.20	<0.01	0.04
20	1.9^{b}	0.3^{a}	0.2^{a}	0.24	<0.01	0.62
30	2.1^{b}	0.3^{a}	0^{a}	0.25	<0.01	0.33
ค่าเฉลี่ย	2.0^{b}	0.6^{a}	0.3^{a}	1.38	<0.01	0.05
ความแตกต่าง	0.2^{b}	-0.9^{a}	-1.2^{a}	0.17	<0.01	0.93

ตารางที่ 3 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อผลผลิตน้ำนม

ระยะเวลาเสริม (วัน)	ควบคุม	ไวตามินอี 4,000		SEM	*P*-value	
		ซีลีเนียม3	ซีลีเนียม6		ควบคุม & เสริม	3 & 6
		น้ำนม (กก./ตัว/วัน)				
ก่อนเสริม	12.3	12.3	13.8	1.0	-	-
ระยะเวลาเสริม						
10	12.8^{a}	13.3^{b}	16.1^{c}	0.6	0.15	0.16
20	11.0^{a}	14.2^{a}	16.0^{b}	1.2	0.01	0.52
30	11.0^{a}	14.3^{b}	16.2^{c}	1.7	0.24	0.60
ค่าเฉลี่ย	11.8^{a}	13.9^{a}	16.1^{b}	1.0	0.03	0.17
ความแตกต่าง	0.1^{a}	1.4^{a}	2.2^{a}	0.7	0.01	0.37

ตารางที่ 4 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่ออัตราการหายอักเสบ

รายการ	ควบคุม	ไวตามินอี 4,000	
		ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6
โคนม (ตัว)	11	10	10
เต้านม (เต้า)	15	16	15
โคนมเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ตัว(%)	6 (54.5)	1(10)	-
โคนมหายจาก เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ ตัว (%)	5 (45.5)	9 (90)	10 (100)
อัตราการหายอักเสบของเต้านม (%)	6 (40)	15 (93.7)	15 (100)
อัตราการไม่หายอักเสบของเต้านม (%)	9 (60)	1 (6.3)	-

ควบคุม

เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้ด้วยการเสริม
ไวตามิน 4,000 ไอยู + ซีลีเนียม **3,6** มก./ตัว/วัน
30 วัน

โคนมเต้านมอักเสบ
แบบแสดงอาการ

สมมุติฐาน: โคนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการอาจมีความต้องการไวตามินอีและซีลีเนียมสูงกว่าโคนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ

Hypothesis: the clinical mastitis cows may need more amount of Se and vitamin E than those in subclinical mastitis cows.

โคนมเต้านมอักเสบ

- โรคเต้านมอักเสบเป็นปัญหาต่อผู้เลี้ยงโคนมมีผลทำให้น้ำนมลดลงไม่สามารถส่งน้ำนมจำหน่ายได้ การเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการจะให้ยาปฏิชีวนะเข้าเต้านมในการรักษา พบว่าให้ผลดีในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (Radostits et al., 1994)

- โคนมลูกผสมเลือด 50%, 75% โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน กับเรดซินดิ และ 100% โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน จำนวน 25 ตัว กลุ่มทดลองละ 5 ตัว
- จัดการทดลองแบบ 2 x 2 Factorial arrangement and one control in completely randomized design

กลุ่มทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม รักษาด้วยยาปฏิชีวนะตัวยา เซ็ฟฟาไพริน
กลุ่มทดลองที่ 2 เซ็ฟฟาไพรินร่วมกับวิตามินอี 4,000 ไอยู/วันและซีลีเนียม 3 มก.
กลุ่มทดลองที่ 3 เซ็ฟฟาไพรินร่วมกับวิตามินอี 4,000 ไอยู/วันและซีลีเนียม 6 มก.
กลุ่มทดลองที่ 4 เซ็ฟฟาไพรินร่วมกับวิตามินอี 8,000 ไอยู/วันและซีลีเนียม 3 มก.
กลุ่มทดลองที่ 5 เซ็ฟฟาไพรินร่วมกับวิตามินอี 8,000 ไอยู/วันและซีลีเนียม 6 มก.

เซ็ฟฟาไพริน มีชื่อการค้า “Cefatron®” ให้ 2 วัน (4 doses ทุก 12 ชั่วโมง) และห้ามจำหน่ายน้ำนม 4 วัน

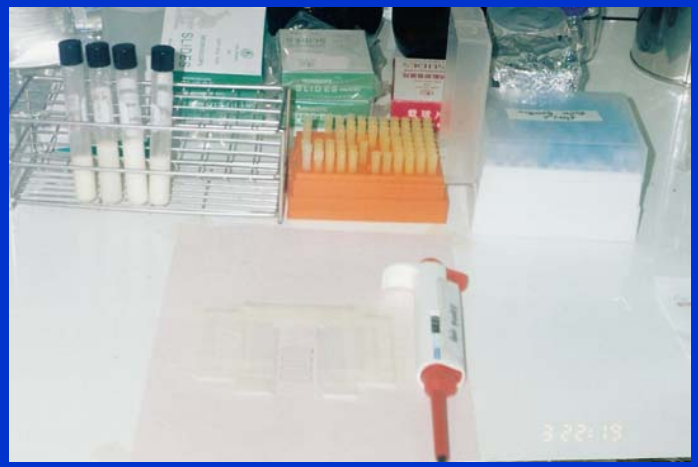
- 1 mg of dl-α-tocopherol = 1.49 IU of vitamin E

4,000 IU = 2.68 กรัม

8,000 IU = 5.36 กรัม

การให้ไวตามินอี และซีลีเนียมเป็นชนิดผง โดยโรยให้บนอาหารทุกเช้า เป็นเวลา 30 วัน

การเก็บตัวอย่าง



เก็บน้ำนม

1. CMT
2. Somatic cell counts
3. Bacteriological culture.
4. Milk yield per day

พลาสม่า

1. vitamin E assay,
2. Se assay
3. GSH-Px activity assay

เก็บเลือด

4. White blood cells counts
5. Neutrophils
6. Eosinophils
7. Lymphocytes
8. Monocytes
9. phagocytosis
10. killing of *S. aureus*

เชื้อแบคทีเรียที่พบในน้ำนม

Contagious microorganisms (3.7%)

- *S. agalactiae* (11.1%)
- *S. aureus* (3.7%).

Opportunistic microorganisms (70.4%)

-coagulase-negative staphylococci (CNS) (14.8%)

Environmental microorganisms (25.9%)

ก่อนการเสริม

พบว่าโคนมที่เป็นเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ

จะพบ

กลุ่มพวกฉวยโอกาสมากที่สุด

หลังการเสริมแล้วไม่พบ

CNS,

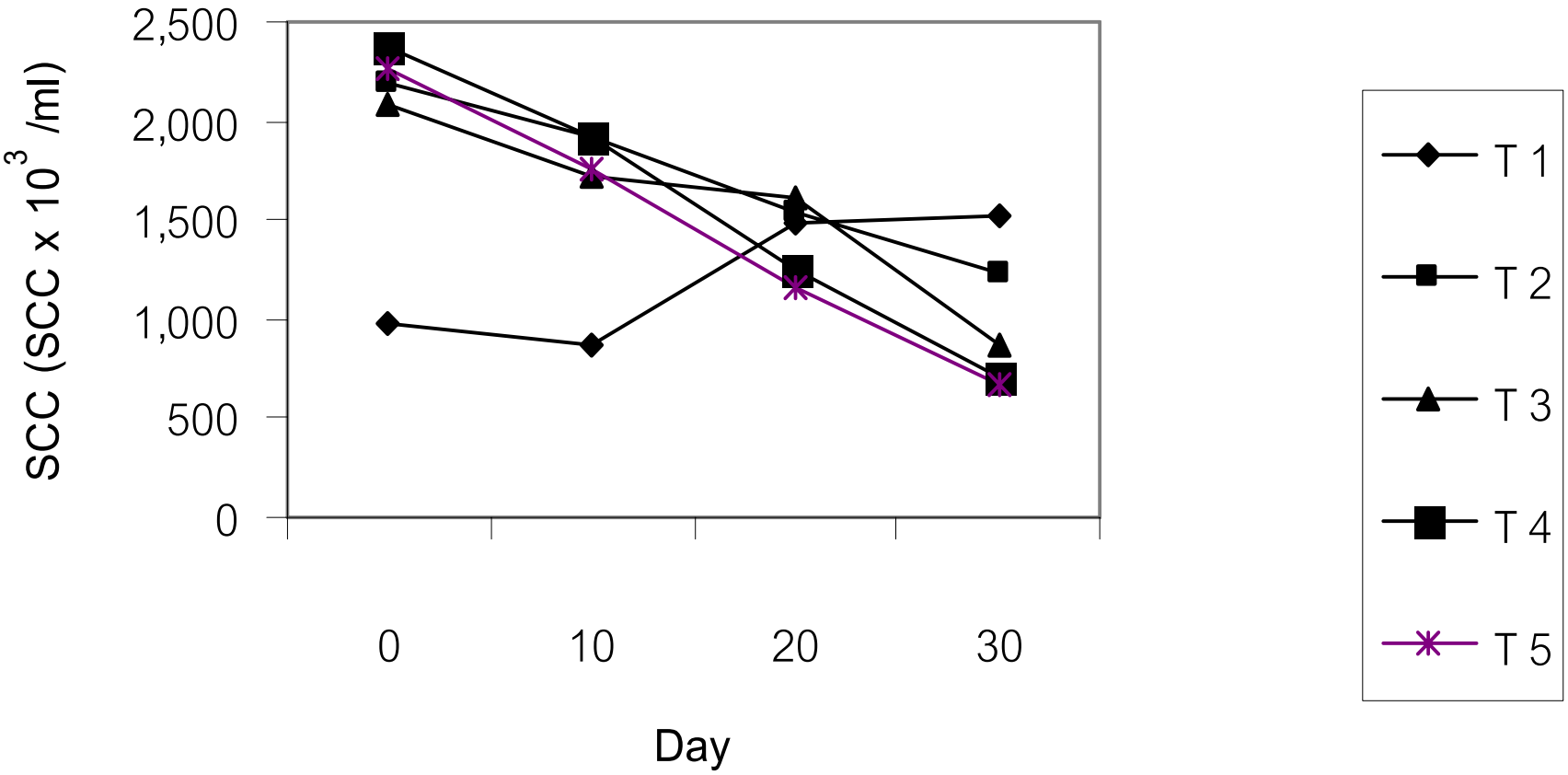
S. agalactiae, and *S. aureus*

ตารางที่ 5 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อการเก็บกินเชื้อ

ระยะเวลาเสริม (วัน)	เซ็ฟฟาไพริน	ไวตามิน 4,000		ไวตามิน 8,000		SEM	*P*-value		
		ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6	ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6		เซ็ฟฟาไพริน & เสริม	ไวตามินอี	ซีลีเนียม
	----------การเก็บกินเชื้อ (**Phagocytosis**) (%). ----------								
ก่อนเสริม	62.0	73.6	62.4	60.8	62.4	4.75	-	-	-
ระยะเวลาเสริม (วัน)									
10	77.5	78.6	83.3	71.3	83.9	5.57	0.785	0.573	0.146
20	72.3	72.1	84.3	70.0	74.9	6.35	0.681	0.399	0.200
30	57.6 ^{a}	81.5 ^{bc}	89.1 ^{c}	72.4 ^{b}	79.5 ^{bc}	4.80	0.000	0.082	0.150
ค่าเฉลี่ย	69.0 ^{a}	75.2 ^{b}	81.3 ^{b}	70.5 ^{b}	76.7 ^{b}	3.26	0.076	0.196	0.081
ค่าความแตกต่าง	7.0 ^{ab}	1.6 ^{a}	17.9 ^{b}	9.7 ^{ab}	14.3 ^{b}	4.8	<0.01	0.74	0.01

ตาราง ที่ 6 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อการฆ่าเชื้อ *S. aureus*

ระยะเวลาเสริม (วัน)	เซ็ฟฟาไพริน	ไวตามิน 4,000		ไวตามิน 8,000		SEM	*P*-value		
		ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6	ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6		เซ็ฟฟาไพริน & เสริม	ไวตามินอี	ซีลีเนียม
	------- การฆ่าเชื้อ (Kill of *S. aureus*. (%)- -----								
ก่อนเสริม	62.0^{y}	73.6	62.4	60.8	62.4	4.75	-	-	-
ระยะเวลาเสริม (วัน)									
10	64.8 ^{ay}	77.6 ^{b}	64.8 ^{a}	66.8 ^{ab}	71.6 ^{ab}	3.44	0.173	0.589	0.266
20	79.7^{z}	78.4	74.1	73.4	72.7	4.49	0.336	0.502	0.592
30	50.0 ^{ax}	71.4 ^{b}	77.9 ^{b}	71.9 ^{b}	72.3 ^{b}	5.55	0.001	0.667	0.543
ค่าเฉลี่ย	64.8 ^{a}	75.8 ^{b}	72.3 ^{ab}	70.7 ^{ab}	70.7 ^{ab}	3.19	0.038	0.450	0.761
ค่าความแตกต่าง	2.6	3.2	9.7^{a}	9.6^{a}	9.6^{a}	5.2	0.12	0.34	0.33



รูปที่ 4 แสดงจำนาน SCC

ตารางที่ 7 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อ CMT

ระยะเวลาเสริม (วัน)	เซ็ฟฟาไพริน	ไวตามิน 4,000		ไวตามิน 8,000		SEM	*P*-value		
		ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6	ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6		เซ็ฟฟาไพริน & เสริม	ไวตามินอี	ซีลีเนียม
	---------- ซีเอ็มที CMT [1] ----------								
ก่อนเสริม	3.0[y]	3.0[y]	3. 0[y]	3.0[y]	3.0[y]	0.09	-	-	-
ระยะเวลาเสริม (วัน)									
10	2.5[y]	2.3[y]	2.1[y]	2.7[y]	2.7[y]	0.52	0.81	0.61	0.82
20	1.7 [abx]	2.7 [by]	1.6 [abx]	0.5 [ax]	0.5 [ax]	0.59	0.59	0.01	0.40
30	1.7[x]	1.1[x]	1.4[x]	0.3[x]	0.3[x]	0.66	0.25	0.22	0.94
ค่าเฉลี่ย	1.9	2.0	1.7	1.1	1.1	0.47	0.40	0.14	0.81
ค่าความแตกต่าง	-1.1	-1.0	-1. 3	- 1.9	-1.9		0.03	0.03	0.20

ตารางที่ 8 แสดงผลการเสริมไวตามินอีและซีลีเนียมต่อผลผลิตน้ำนม

ระยะเวลาเสริม (วัน)	เซ็ฟฟาไพริน	ไวตามิน 4,000		ไวตามิน 8,000		SEM	*P*-value		
		ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6	ซีลีเนียม 3	ซีลีเนียม 6		เซ็ฟฟาไพริน & เสริม	ไวตามินอี	ซีลีเนียม
	-------ผลผลิตน้ำนม กก./วัน (milk yield kg/day)----------								
ก่อนเสริม	10.8^{ab}	10.2 ^{ab}	14.6 ^{ab}	11.2 ^{ab}	7.8 ^{a}	1.08	-	-	-
ระยะเวลาเสริม (วัน)									
10	10.8	12.7	13.6	11.5	14.3	1.43	0.18	0.87	0.23
20	9.9	13.2	13.8	11.9	17.3	1.37	0.04	0.79	0.29
30	9.6	11.6	13.8	12.2	13.9	1.67	0.01	0.85	0.27
ค่าเฉลี่ย	10.3 ^{a}	12.1 ^{ab}	13.0 ^{ab}	11.6 ^{ab}	13.3 ^{b}	0.98	0.06	0.94	0.20
ค่าความแตกต่าง	-0.5 ^{b}	1.7 ^{ab}	-1.4 ^{b}	0.5 ^{ab}	5.4 ^{a}	0.86	<0.01	0.77	0.03

ตารางที่ 9 อัตราการหายเต้านมอักเสบ

รายการ	Cephapirin	Vitamin E 4,000		Vitamin E 8,000	
		Se 3	Se 6	Se 3	Se 6
โคนม (ตัว)	5	5	5	5	5
วันหาย (ระยะเวลา วัน)	14 (14)	25 (23-27)	15 (8-22)	16 (14-18)	14 (14)
จำนวนโคนมหายเต้านมอักเสบ (ตัว)	3	3	3	3	4
อัตราการหายเต้านมอักเสบ (%)	60	60	60	60	80
จำนวนเต้านม (เต้า)	5	10	11	8	6
จำนวนเต้านม หายอักเสบ (เต้า)	2	7	8	6	5
% หายเต้านมอักเสบ	40	70	72.7	75	83.3

สรุป

ระดับความต้องการขึ้นอยู่กับ สุขภาพ – สภาวะร่างกายของโคนม

โคสาว ต้องการ ไวตามินอี **4,000** ไอยู ร่วมกับ ซีลีเนียม **3** มก.

โคนมเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ ต้องการ ไวตามินอี **4,000** ไอยู
ร่วมกับ ซีลีเนียม 6 มก.

โคนมเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ไวตามินอี **8,000** ไอยู
ร่วมกับ ซีลีเนียม **6** มก.

แนวทางให้เกษตรกร
ได้ป้องกันและควบคุมโรคเต้านมอักเสบ

กิตติกรรมประกาศ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น : **รศ. ดร. ฉลอง วชิราภากร ศ. ดร. เมธา วรรณพัฒน์**

รศ. ดร. สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย อาจารย์วิญญ วงศ์ประทุม

อาจารย์นิโรจน์ ศรสูงเนิน อาจารย์วราภรณ์ ศุกลพงศ์

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) : **รศ.จันทร์จรัส เรี่ยวเดชะ**

สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา : **ผศ. ดร. สุนทร วิทยาคุณ**

สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรสกลนคร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน:

ดร.มานิตย์ ตั้งกระกูล และ คณาจารย์สาขาสัตวศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: **ดร.สุเทพ เรื่องวิเศษ**

Special thanks

ขอบคุณทุกท่าน