THE RELATIONSHIPS BETWEEN HEMATOLOGY AND SEROLOGY ASSOCIATED WITH LIVER FUNCTION TO HEPATITIS B VIRUS DISEASE IN *HYLOBATES LAR*

Yoopadee Wongsuptawee[1], Kunsiri Hunhaboon[1], Srisucha Vongvisitsin[1], Sumolya Kanchanapang[2]
Meena Sarikaputi[3]

Abstract

Gibbons are one of nonhuman primates which can be infected with the Hepatitis B Virus in nature. Seventeen gibbons (*Hylobates lar*) in this study were from Gibbon Rehabilitation Project (GRP) in the Phuket Province and were separated into three groups by seroprevalence. Seven of the gibbons were tested positive for the Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) , four were positive to at least one marker of Hepatitis B Virus Antibody (Anti-HBs or Anti-HBc) and six were negative to both the antigen and antibody of the virus. All of the seventeen gibbons were healthy with no sign of disease. The investigation of the relationships between hematology and serology associated with liver function in three groups of gibbons was determined by the total RBC , hematocrit , hemoglobin , MCV , MCHC , MCH , total WBC , differential WBC count for hematology and AST, ALT, AP, total protein, serum albumin, serum globulin for serology associated with liver function. ANOVA analysis was performed to compare all the results into 3 groups. At the 95 percent confidence level, No significant difference was found in any result ($p>0.05$).

Keyword : Gibbons, Hepatitis B Virus, Hematology, Serology

[1]The 6th year student, academic 2003, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University
[2]Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University
[3]Biochemistry unit, Department of Veterinary Physiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

[1]นิสิตชั้นปีที่6 ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[2]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[3]หน่วยวิชาชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางโลหิตวิทยาและซีรั่มวิทยา
ที่แสดงถึงการทำงานของตับต่อโรคไวรัสตับอักเสบชนิดบีในชะนีมือขาว

ยุพดี ว่องทรัพย์ทวี[1] กุลสิริ หันหาบุญ[1] ศรีสุชา วงศ์วิศิษฎ์ศิลป์[1] สุมลยา กาญจพังคะ[2] มีนา สาริกะภูติ[3]

บทคัดย่อ

ชะนีเป็นหนึ่งในสัตว์จำพวกไพรเมทที่ไม่ใช่มนุษย์ที่สามารถติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีโดยธรรมชาติได้ โดยชะนีที่ทำการทดลองเป็นชะนีมือขาวที่ถูกเลี้ยงในโครงการคืนชะนีสู่ป่า จ.ภูเก็ต จำนวน 17 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ให้ผลบวกต่อผิวแอนติเจนของโรคไวรัสตับอักเสบบีจำนวน 7 ตัว, กลุ่มที่ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีตัวใดตัวหนึ่งของโรคไวรัสตับอักเสบบีจำนวน 4 ตัว, และกลุ่มควบคุมจำนวน 6 ตัว โดยชะนีทั้งหมดเป็นชะนีที่มีสุขภาพดี ไม่แสดงอาการป่วย เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าโลหิตวิทยาและค่าซีรั่มวิทยาที่เกี่ยวข้องกับตับ จึงมีการทำการวัดค่าดังต่อไปนี้ คือ จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด, ค่าฮีโมโกลบิน, ค่าฮีมาโตคริต, ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย, ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง, ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง, จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด, การนับแยกประเภทเม็ดเลือดขาว และค่าทางซีรั่มวิทยาได้แก่ ค่าเอนไซม์แอสปาเตสอะมิโนทรานเฟอเรส, เอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส. เอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตส, ค่าโปรตีนทั้งหมด, ค่าแอลบูมิน, และค่าโกลบูลิน พบว่าค่าทั้งหมดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้อโนวา ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : ชะนี, โรคไวรัสตับอักเสบบี, ค่าโลหิตวิทยา, ค่าซีรั่มวิทยา

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางโลหิตวิทยาและซีรั่มวิทยาที่แสดงถึงการทำงานของตับต่อโรคตับอักเสบชนิดบีในชะนีมือขาว

Introduction

ชะนี (*Hylobates spp.*) เป็นสัตว์จำพวกลิงไม่มีหาง (apes) ที่มีขนาดเล็ก และเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองที่มีถิ่นกำเนิดในบริเวณป่าดิบชื้นของทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชะนีที่พบในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 3 ชนิดได้แก่ ชะนีมือขาว- *Hylobates lar* (ชะนีธรรมดา หรือ white-handed gibbon หรือ Lar gibbon), ชะนีมงกุฎ- *Hylobates pileatus* (Pileated gibbon), และชะนีมือดำ- Hylobates agilis (Agile gibbon หรือ Dark-handed gibbon) (สุวรรณา, 2545)

ชะนีที่ทำการศึกษาเป็นชะนีมือขาวของโครงการคืนชะนีสู่ป่า จ.ภูเก็ต โดยทางโครงการได้มีการดูแลสุขภาพและตรวจกรองการติดเชื้อโดยเฉพาะโรคสัตว์สู่คน (zoonoses) เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรคก่อนที่จะนำกลับคืนสู่ป่า ซึ่งโรคไวรัสตับอักเสบบีเป็นหนึ่งในโรคสัตว์สู่คนที่ทางโครงการได้ทำการตรวจกรอง

โรคไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B Virus-HBV) เป็นปัญหาสำคัญต่อสุขภาพของประชากรโลก มีผู้เป็นพาหะไวรัสตับอักเสบบีประมาณ 350 ล้านคนทั่วโลก และยังสามารถพบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ใกล้เคียงกันมนุษย์ เช่น ชิมแปนซี, อุรังอุตัง, กอริล่า, ชะนี, และ woolly monkey (สุวรรณา, 2545) โดยพื้นที่ที่มีผู้ป่วยหนาแน่น ได้แก่ แอฟริกา, เอเชีย, และอ่าวเมดิเตอร์เรเนียน (Gitnick et al., 1991)

ไวรัสตับอักเสบบี หรือ Dane particle (Cotran et al., 1999) เป็นไวรัสที่มีขนาด 42 นาโนเมตร อยู่ใน Family Hepadnaviridae มีลักษณะเป็น partially double-stranded DNA ประกอบด้วยหลาย antigenic components โดยพบว่ามีแกน nucleocapsid เป็น Hepatitis B core antigen (HBcAg) ขนาด 27 นาโนเมตร ล้อมรอบด้วยเปลือกชั้นนอกที่เป็น lipoprotein เป็น Hepatitis B surface antigen (HBsAg) ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีลักษณะหลากหลายและ Hepatitis B early antigen (HBeAg) ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้และเป็นส่วนประกอบย่อยใน HBcAg แต่ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกัน (cross reactivity) นอกจากนี้ตัวเชื้อไวรัสยังประกอบด้วย DNA-dependent, DNA polymerase, และ Reverse transcriptase (กองควบคุมโรคติดต่อ, 2543)

โรคไวรัสตับอักเสบบี อาจเรียกว่า Serum Hepatitis หรือ Australian antigen hepatitis (Acha และ Szyfres, 1987) ซึ่งอาการของโรคในคน คือ มีไข้, ปวดข้อ, ข้ออักเสบ, ผิวหนังมีผื่นแดง, คลื่นไส้, อาเจียน, ท้องเสีย, ดีซ่าน (Fenner และ White, 1976) การเกิดข้ออักเสบและผิวหนังมีผื่นแดงเป็นผลมาจาก HBsAg/Anti-HBs complex ที่เกิดการตกตะกอนภายในเยื่อบุข้อและบริเวณผนังเส้นเลือดของผิวหนัง (Gitnick, 1991) McCollum (1976) รายงานว่าการเกิด HBsAg/Anti-HBs complex ยังส่งผลให้เกิด serum sickness, polyarteritis nodosa, และ nephrosis หรือ glomerulonephritis ซึ่งอาการเหล่านี้จะพบในผู้ป่วยที่แสดงอาการรุนแรงของตับ

ระยะฟักตัวของโรคในคนนานประมาณ 6 สัปดาห์ถึง 6 เดือน (Smales, 1998) ซึ่งการติดเชื้อสามารถเกิดขึ้นได้แม้ได้รับ plasma ที่ติดเชื้อในปริมาณเล็กน้อยเพียง 0.01 มล. (Rhode และ Van Rooyen, 1962) และ Fenner และ White (1976) กล่าวว่าซีรั่มที่ติดเชื้อในปริมาณน้อยกว่า 0.001 มล. สามารถทำให้เกิดโรคได้

HBV เป็นไวรัสที่ทนทานและสามารถอยู่ในสภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิและความชื้นสูงได้ สำหรับการติดต่อของโรค พบว่าเลือดและของเหลวในร่างกายมีบทบาทสำคัญในการติดต่อของโรค ไวรัสอาจสามารถแพร่กระจายโดยการสัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งจากร่างกาย เช่น semem, น้ำลาย, เหงื่อ, น้ำตา, น้ำนม, pathogen effusions และนอกจากนี้ยังสามารถพบไวรัสได้ในอุจจาระ (Fenner และ White, 1976) สำหรับปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ คือ การให้เลือดหรือผลิตภัณฑ์ของเลือด, การล้างไต, บุคคลากรทางการแพทย์ที่ถูกเข็มตำ, การใช้เข็มร่วมกันในผู้ติดยาเสพติด, รักร่วมเพศ, และ 1 ใน 3 ของผู้ป่วยไม่ทราบสาเหตุของการเกิดโรค ในเขตที่เป็นโรคประจำถิ่น (endemic area) เช่น ทวีปแอฟริกา และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถพบการแพร่ของเชื้อจากแม่ที่ติดเชื้อไปสู่ทารกแรกคลอดระหว่างเกิดได้ (vertical transmission) ซึ่งทารกที่ติดเชื้อเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีสภาวะเป็นพาหะของโรคตลอดชีวิต (Cotran et al., 1999)

ภายหลังการติดเชื้อ จะพบค่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันตามลำดับ ดังต่อไปนี้ คือ

- แอนติเจนตัวแรกที่พบคือ HBsAg (McCollum, 1976) โดยจะพบก่อนที่จะมีการแสดงอาการ และจะพบสูงสุดในช่วงที่มีการแสดงอาการของโรคชัดเจน และหลังจากนั้นจะลดลงจนกระทั่งไม่สามารถตรวจพบได้ใน 3-6 เดือน
- HBeAg, HBV DNA, และ DNA polymerase พบในซีรั่มหลังจากพบ HBsAg ไม่นาน ซึ่งบ่งถึงการแบ่งตัวของไวรัส
- IgM Anti-HBc สามารถตรวจพบได้ในซีรั่มเป็นช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ก่อนที่จะมีการแสดงอาการซึ่งจะร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของระดับซีรั่มทรานอะมิเนส ภายหลังจากนั้น IgM Anti-HBC จะถูกแทนที่ด้วย IgG Anti-HBc โดยใช้ระยะเวลาหลายเดือน
- IgM Anti-HBe สามารถตรวจพบได้ในเวลาสั้น ๆ ภายหลังจากการหายไปของ HBeAg ซึ่งบ่งบอกถึงผู้ป่วยอยู่ในภาวะแสดงอาการเฉียบพลันของโรคสูงสุดแล้วหลังจากนั้น อาการของโรคจะลดลง
- IgM Anti-HBs จะไม่พบจนกว่าระยะเฉียบพลันของโรคหมดไป และอาจคงอยู่ไปตลอดชีวิต และทำให้ไม่เกิดการติดเชื้อซ้ำ (Cotran et al., 1999)

ถ้าตรวจพบ HBsAg ในซีรั่มได้นานกว่า 6 เดือนภายหลังจากการทำการตรวจพบครั้งแรก บ่งบอกถึงว่าผู้ป่วยเป็นพาหะของโรค การพบ HBsAg เพียงตัวเดียวไม่ได้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเพิ่มจำนวนไวรัส (complete virions) ผู้ป่วยอาจไม่แสดงอาการและไม่มีความเสียหายของตับ ในทางตรงกันข้ามระยะเรื้อรังของโรคสามารถบอกได้จากการพบ HBsAg, HBeAg, และ HBV DNA ในกระแสเลือด และโดยทั่วไปสามารถพบ Anti-HBC ได้ด้วย หรือในบางครั้งอาจพบ Anti-HBS ด้วย ซึ่งในผู้ป่วยเหล่านี้อาจจะพบความเสียหายของตับเพิ่มมากขึ้น (Cotran et al., 1999)

สำหรับค่าทางโลหิตวิทยาและซีรั่มวิทยาในคนป่วย จะพบว่ามี พบว่ามี bilirubinuria และพบ biririubin ในเลือด ในช่วงแรกของโรคพบว่ามี leukopenia, lymphopenia และ neutropenia หลังจากนั้นจะพบว่าเกิด relative lymphocytosis อาจพบการเกิด secondary anemia ส่วนค่า blood coagulation time, erythrocyte fragility test, sedimentation rate และ prothrombin time มักจะลดลงจากระดับปกติ แต่อย่างไรก็ตาม ไม่มีค่าทางโลหิตวิทยาที่จำเพาะต่อการวินิจฉัยโรค (Rhodes และ Van Rooyen, 1962) ค่า Aspartate Aminotransferase (AST) เพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะในช่วงที่เกิดดีซ่าน แต่ค่า Alanine Aminotransferase (ALT) อาจมีความจำเพาะมากกว่า ส่วนค่าอัตราส่วนระหว่าง albumin และ globulin พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ serum globulin และมีการลดลงของ serum albumin (Fenner และ White, 1976)

จากการศึกษาพบว่ามีสัตว์เพียงชนิดเดียวที่สามารถติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีโดยธรรมชาติได้ คือ พวกไพรเมทที่ไม่ใช่มนุษย์ (nonhuman primate) โดยเฉพาะชิมแปนซี ซึ่งทั่วไปแล้วจะพบการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ มีหลายกรณีศึกษาที่พบว่ามีการแพร่กระจายของโรคไวรัสตับอักเสบบีในสัตว์จำพวกลิง โดยพบว่าในชิมแปนซีที่ถูกเลี้ยงโดยมนุษย์มีความชุกของ Anti-HBs เพิ่มขึ้นเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น โดยในสัตว์ที่มีอายุมากกว่า 10 ปี พบว่าจำนวนชิมแปนซีที่ตรวจพบแอนติบอดีมีมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ของชิมแปนซีที่ถูกเลี้ยงมีแอนติบอดีเหล่านี้มาก่อน, ชิมแปนซี 10 ตัวจาก 26 ตัวที่ถูกจับไว้ในทวีปแอฟริกาก่อนที่จะมีการจำหน่ายพบว่ามีผลบวกต่อ HBsAg การค้นพบเหล่านี้บ่งชี้ให้เห็นว่าการติดเชื้ออาจเกิดได้ผ่านมนุษย์ในระยะเวลาสั้น ๆ ภายหลังจากถูกจับ แต่เชื้อไวรัสตับอักเสบบีอาจเกิดขึ้นในธรรมชาติในไพรเมทเหล่านี้ได้อยู่แล้ว (Acha และ Szyfres, 1987)

อย่างไรก็ตามการตรวจวิเคราะห์สาร nucleopeptide ของ HBV จากชิมแปนซีป่าที่หายจากโรคแล้วแสดงให้เห็นถึงส่วนของ genotype ที่สัมพันธ์กับชิมแปนซีที่ถูกเลี้ยง ซึ่งเป็นหลักฐานที่บ่งบอกว่าชิมแปนซีเหล่านี้มีการติดเชื้อของไวรัสตับอักเสบบีในธรรมชาติโดยตัวของมันเองและอาจจะเป็นหลักฐานที่ไปสนับสนุนถึงการติดเชื้อ HBV ในไพรเมทชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในป่าด้วย (สุวรรณา, 2545) ซึ่งทำให้สามารถตอบข้อสมมติฐานของ Lanford และคณะ (2000) ที่กล่าวไว้ว่าการติดเชื้อ HBV ของชะนีมาจากมนุษย์

วัสดุและวิธีการ

1. จำนวนประชากรที่ศึกษา โดยทำการทดลองกับชะนีมือขาว (*Hylobates lar*) จำนวนทั้งหมด 17 ตัว ทั้งหมดเป็นชะนีที่ผ่านการตรวจกรองโรคโรคไวรัสตับอักเสบบี (HBV) มาแล้ว และไม่มีตัวใดเลยที่แสดงอาการทางคลินิก ในการศึกษานี้จะแบ่งชะนีทั้งหมดออกเป็น 3 กลุ่มการศึกษา คือ กลุ่มชะนีที่ปลอดจากโรค จำนวน 6 ตัว (กลุ่มควบคุม), กลุ่มชะนีที่เป็นตัวอมโรค (Healthy carrier) จำนวน 7 ตัว, และกลุ่มที่เคยได้รับเชื้อแล้วหายจากโรคแล้ว จำนวน 4 ตัว หากจำแนกรายละเอียดของผลการตรวจกรองโรคไวรัสตับอักเสบบีจะได้ผลตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจกรองของโรคไวรัสตับอักเสบบีในชะนีที่ทำการศึกษา

Group	Stage of infection	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	No.	
1.	No infection	-	-	-	6	
2.	HBV Carrier	+	-	-	7	
3.	Recovery	-	+	+	1	4
		-	+	-	1	
		-	-	+	2	

2. การเก็บตัวอย่าง ทำการเจาะเก็บเลือดจากชะนีทั้ง 17 ตัวจากเส้นเลือดดำ Femoral ภายหลังจากการวางยาสลบด้วย Zoletil ในขนาด 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยเจาะเลือดมาทั้งหมด 10 มิลลิลิตร แล้วหยดเลือดลงบนสไลด์ 1 หยดเพื่อทำการวัด Coagulation time ทันที และเก็บเลือดใส่ หลอด Appendof ที่มีสารกันเลือดแข็งตัว EDTA อยู่ (ใช้ EDTA 1 มิลลิกรัมต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) เพื่อทำการตรวจค่าทางโลหิตวิทยา โดยเก็บเลือดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการตรวจภายใน 24 ชั่วโมง ส่วนเลือดที่เหลือจะทำการเก็บใส่หลอดทดลองแก้วยาวแล้วปิดด้วย Paraffin film แล้วนำไปปั่นแยกซีรั่ม โดยปั่นที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที นาน 3 นาที เก็บซีรั่มไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รอการตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อไป นอกจากนี้ยังได้ทำการชั่งน้ำหนัก วัดอัตราการเต้นของหัวใจ อัตราการหายใจ และวัดอุณหภูมิของร่างกายทางทวารหนักขณะที่ทำการเจาะเลือดด้วย ภายหลังจากการเจาะเลือดแล้วจะทำการฉีด Atropine ขนาด 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพักฟื้นชะนีให้ฟื้นจากการสลบต่อไป

3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วยการตรวจค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางซีรั่มวิทยาเพื่อประเมินประสิทธิภาพการทำงานของตับ

3.1 ค่าทางโลหิตวิทยา

ก.) การประเมินเม็ดเลือดแดง

- การวัดปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit; Hct หรือ Pack cell volume; PCV)

หลักการ : โดยใช้วิธี Microhematocrit method

- การวัดค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin; Hb)

หลักการ : เปรียบเทียบสีของ Acid hematin กับสีมาตรฐาน โดยใช้เครื่องมือ Hellige (Sahli) กับน้ำยา N/10 HCl

- การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (Erythrocyte count)

หลักการ : โดยใช้ Hemocytometer ที่ประกอบด้วย Counting chamber กระจกปิด Thoma pipette และน้ำยาสำหรับเจือจางเม็ดเลือดแดง

- ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV)

$$\text{MCV (femtoliters; fL.)} = \frac{\text{HCT (\%) x 10}}{\text{Erytrocyte count } (10^6/\mu l)}$$

- ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCHC)

$$\text{MCHC (g/dl)} = \frac{\text{Hb (g/dl) x 100}}{\text{Hct (\%)}}$$

- ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหนึ่งเม็ด (MCH)

$$\text{MCH (picogram; pg.)} = \frac{\text{Hb (g/dl) x 10}}{\text{Erythrocyte count } (10^6/\mu l)}$$

ข.) การประเมินเม็ดเลือดขาว

- การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (Leukocyte count)

หลักการ : โดยใช้ Hemocytometer ที่ประกอบด้วย Counting chamber กระจกปิด Thoma pipette และน้ำยาสำหรับเจือจางเม็ดเลือดขาว

- การจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาว (Differential leukocyte count)

หลักการ : ทำการนับและแยกชนิดเม็ดเลือดขาว 200 เซลล์ ซึ่งประกอบไปด้วย Neutrophil Eosinophil Basophil Lymphocyte Monocyte และ Band cell

ค.) การประเมินเกล็ดเลือด

- การวัด Coagulation time

หลักการ : หยดเลือดที่ยังไม่ผสมกับสารกันเลือดแข็งตัวลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้ไม้จิ้มฟันแตะหยดเลือด จุ่มขึ้นลงทุก 1 วินาที บันทึกเวลาที่เริ่มเห็นเส้นใยไฟบริน (Fibrin strand)

3.2 ค่าทางซีรั่มวิทยา ตรวจโดยใช้ Test kit ซึ่งมีหลักการดังนี้

- Alkaline Phosphatase (AP)

วิธี : Phenolphthalein monophosphate

หลักการ : เอ็นไซม์ AP จะ hydrolyze Phenolphthalein monophosphate pH 9.9 (Optimum) ได้ Free phenolphthalein ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ Enzyme activity เติม Color stabilizer (0.1 Phosphate buffer pH 11.2) เพื่อทำให้สีคงทนอยู่นาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร

- Aspartate Aminotransferase (AST) และ Alanine Aminotransferase (ALT)

วิธี : Reitman-Frankel (Sigma-Frankel)

หลักการ : AST และ ALT เป็นตัว catalyst ของปฏิกิริยา Aminotransferase คือการ transfer ของ Amino group จาก Amino acid ตัวหนึ่งซึ่งจำเพาะ (Specific substrate) ของ AST คือ Aspartate และของ ALT คือ Alanine กับ Keto acid ดังนี้

L-aspartate + α-ketoglutarate $\xrightarrow{AST}$ Oxaloacetate + L-glutamate

L-alanine + α-ketoglutarate $\xrightarrow{ALT}$ Pyruvate + L-glutamate

เมื่อเติม 2,4-dinitrophenylhydrazine (DPNH) จะเกิดปฏิกิริยา coupling ได้ Oxaloacetate-DPNH และ Pyruvate-DPNH ตามลำดับ วัดค่าการดูดกลืนแสงในภาวะที่เป็นด่างที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร

- Total Protein

วิธี : Biuret-End Point Reaction-Reagent Blank

หลักการ : Peptide bond ของโปรตีนชนิดต่างๆ จะทำปฏิกิริยากับ Cupric ion (Cu^{+2}) ในสภาวะสารละลายที่เป็นด่าง จะได้สารประกอบเชิงซ้อน (Complex) สีม่วงเกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

- Albumin

วิธี : Bromocresol Green-Succinate (BCG Dye-binding)

หลักการ : ที่ pH 4.2 โมเลกุลของอัลบูมินมีสภาพเป็น cation จะทำปฏิกิริยา binding กับ anion dye BCG เกิด Complex dye molecule วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

ผลการทดลอง

การประเมินสุขภาพของชะนีที่เลี้ยงไว้ที่โครงการคืนชะนีสู่ป่า จ.ภูเก็ต เพื่อเปรียบเทียบระหว่างชะนีปกติและชะนีมีให้ผลบวกต่อโรคไวรัสตับอักเสบบี กระทำโดยการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและซีรั่มวิทยาที่เกี่ยวกับการทำงานของตับบางค่าดังแสดงในตารางที่ 2 โดยชะนีกลุ่มที่ 1 เป็นชะนีกลุ่มควบคุม โดยให้ผลลบต่อโรคไวรัสตับอักเสบบีทุกตัวบ่งชี้ (marker) จำนวน 6 ตัว, กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อ HBsAg จำนวน 7 ตัว, และกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีต่อใดตัวหนึ่งของโรคไวรัสตับอักเสบบี (HBsAg หรือ HBcAg) จำนวน 4 ตัว รวมจำนวนชะนีทั้งหมด 17 ตัว โดยชะนีทุกตัวเป็นชะนีที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง ไม่มีชะนีตัวใดแสดงอาการป่วย

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาและซีรั่มวิทยาทุกค่าของชะนีทั้ง 3 กลุ่มกับค่าของชะนีปกติแล้วพบว่าค่าส่วนใหญ่อยู่ในช่วงเดียวกับค่าของชะนีปกติ ยกเว้นในบางค่า เช่น ค่า ALT, ค่าโปรตีนทั้งหมด, และค่าโปรตีนโกลบูลินมีค่าที่สูงกว่าค่าของชะนีปกติ แต่อย่างไรก็ตาม ค่ายังคงอยู่ในช่วงของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้ ANOVA พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าโลหิตวิทยาและค่าซีรั่มวิทยาในชะนีทั้ง 3 กลุ่ม

ค่าโลหิตวิทยา	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	ค่าปกติในชะนี*
Total RBC (x 10^6)	6.53 ± 1.67	5.10 ± 0.93	5.26 ± 2.26	5.74 ± 0.60
Hemoglobin (%)	17.11 ± 2.33	14.71 ± 1.41	13.30 ± 1.40	13.88 ± 1.76
Hematocrit (%)	44.33 ± 4.08	40.14 ± 4.62	42.37 ± 3.50	44.78 ± 4.45
MCV (fl.)	70.34 ± 13.30	79.81 ± 9.18	97.95 ± 58.37	78.50 ± 6.93
MCHC (g/dl)	27.16 ± 4.94	31.42 ± 4.50	38.61 ± 24.75	30.95 ± 2.05
MCH (%)	38.74 ± 3.55	39.46 ± 4.35	38.73 ± 4.90	24.23 ± 2.92
Coagulation time (sec)	44.83 + 13.73	42.86 + 35.18	58.75 + 28.02	-
Total WBC (x 10^3)	8.67 ± 2.24	6.62 ± 2.48	6.97 ± 3.72	7.8 ± 3.26
Neutrophil (%)	64.87 ± 10.46	57.93 ± 16.60	50.19 ± 19.89	46.01 ± 19.17
Lymphocyte (%)	30.67 ± 9.56	38.25 ± 15.65	44.50 ± 19.86	48.45 ± 19.50
Eosinophil (%)	0.96 ± 1.05	1.00 ± 088	0.62 ± 0.32	2.14 ± 3.74
Monocyte (%)	2.17 ± 0.82	1.68 ± 1.05	3.06 ± 1.09	2.73 ± 3.03
Basophil (%)	0.083 ± 0.20	0.12 ± 0.20	0.38 ± 0.25	0.00 ± 0.91
Band (%)	1.25 ± 0.76	1.03 ± 1.03	1.25 ± 1.08	-
ค่าซีรั่มวิทยา				ค่าปกติจากชะนี**, ชิมแปนซี***
AST (U/I)	9.00 ± 5.20	28.00 ± 26.53	18.25 ± 6.84	-, 25.44-61.66
ALT (U/I)	46.17 ± 7.47	43.00 ± 11.99	48.75 ± 10.69	33.04 + 15.91, 20.38-45.00
AP (U/I)	38.33 ± 17.63	34.30 ± 9.50	37.07 ± 10.69	-, 22.09
Total Protein (gm %)	7.43 ± 2.37	8.09 ± 1.98	8.81 ± 0.93	6.51 ± 4.62, 7.41-7.50
Albumin (gm %)	3.62 ± 1.38	4.60 ± 1.06	4.40 ± 0.41	4.08 ± 1.05, 3.28-4.1
Globulin (gm %)	3.81 ± 0.30	3.49 ± 1.57	4.41 ± 0.82	2.80 ± 0.25, 3.46

* ที่มา : Huer, 1970

** ที่มา : สุวรรณา, 2545

*** ที่มา :

สรุปและวิจารณ์

โครงการคืนชะนีสู่ป่า (Gibbon Rehabilitation Project; GRP) จังหวัดภูเก็ต เป็นหน่วยงานวิจัยของมูลนิธิช่วยชีวิตสัตว์ป่าแห่งประเทศไทย และการดำเนินงานของโครงการได้รับความร่วมมือจากเจ้าหน้าที่ของกรมป่าไม้และอาสาสมัครต่างๆ วัตถุประสงค์ของโครงการ คือ เป็นสถานที่เลี้ยงดูและฟื้นฟูสุขภาพของชะนี เพื่อให้ชะนีสามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมภายในป่าได้ แล้วทำการปล่อยชะนีให้กลับคืนอิสรภาพ

นอกจากนี้แล้วโครงการยังมีการเผยแพร่ความรู้ให้กับประชาชนในระดับต่างๆเพื่อกระตุ้นให้มีจิตสำนึกและมีส่วนร่วมด้วย

การเลี้ยงชะนีภายในโครงการส่วนใหญ่จะเลี้ยงเป็นคู่ คือเพศผู้และเพศเมียอยู่ในกรงเดียวกัน หรืออยู่เป็นครอบครัว แต่ก็มีบางตัวที่มีการเลี้ยงเดี่ยว กรงที่ชะนีอาศัยเป็นกรงขนาดใหญ่ซึ่งจะแตกต่างกันออกไป ในแต่ละกรงจะมีที่สำหรับให้น้ำและอาหารอย่างน้อย 1 ชุดต่อ 1 กรง และไม่มีการใช้อุปกรณ์ต่างๆเหล่านี้ร่วมกันในชะนีที่เป็นโรคและชะนีที่ปกติ การให้อาหารจะให้วันละ 2 ครั้ง โดยแบ่งเป็น 2 มื้อ คือ มื้อเช้า และมื้อเย็น อาหารที่ให้ในมื้อเช้าจะเป็นผัก ส่วนอาหารในมื้อบ่ายที่ให้เป็นผลไม้ โดยชนิดของผักและผลไม้ที่ให้จะขึ้นอยู่กับฤดูกาล นอกจากนี้ยังมีการตรวจสุขภาพชะนีทุกวันโดยดูจากอุจจาระใต้กรง, ลักษณะภายนอกของชะนี, การเคลื่อนไหวของชะนี, และมีการตรวจสอบขนาดของปากช่องคลอดในชะนีเพศเมียเพื่อประเมินช่วงของการเป็นสัด นอกจากนี้ยังมีการสำรวจดูพฤติกรรมของชะนีในบางกรณีด้วย ก่อนที่จะมีการนำชะนีใหม่เข้ามาเลี้ยงและเมื่อทำการปล่อยชะนีเข้าสู่ป่าจะมีการตรวจกรองโรคสัตว์สู่คน (Zoonoses) ก่อน ได้แก่ โรคไวรัสตับอักเสบเอ (HBA) โรคไวรัสตับอักเสบบี (HBV) และโรคเริม (Herpes Simplex) และในระหว่างการเลี้ยงก็อาจจะมีการตรวจโรคอีกซ้ำเป็นบางกรณีไป

ขณะที่ทำการศึกษา โครงการคืนชะนีสู่ป่ามีชะนีจำนวนทั้งหมด 53 ตัว แต่มีชะนีเพียง 30 ตัวที่ผู้จัดทำมีข้อมูลของผลการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบี พบว่าชะนี 17 ตัวที่ให้ผลบวกต่อการตรวจไวรัสตับอักเสบบีอย่างน้อย 1 ตัวบ่งชี้ (marker) ซึ่งคิดเป็น 56.67% ซึ่งตรงกับการรายงานของ Kalter และคณะ (1997) (อ้างถึงโดยสุวรรณา, 2545) และ Lanford และคณะ (2000) แสดงให้เห็นว่าโรคนี้สามารถแพร่กระจายในกลุ่มชะนีที่เลี้ยงได้

ชะนีที่โครงการคืนชะนีสู่ป่าจะได้รับการตรวจเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยทางโครงการจะทำการเจาะเลือดชะนีภายหลังจากการวางยาสลบไปตรวจที่โรงพยาบาลกรุงเทพ ภูเก็ต สำหรับการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบีของทางโรงพยาบาลนั้น สามารถตรวจหา HbsAg, Anti-HBs, และ Anti-HBc โดยการใช้ชุดตรวจสอบ (Test kit) ทั้งหมด

- สำหรับการตรวจหา HBsAg ใช้ Bioline HBsAg Strip ของบริษัท Pacific Biotech จำกัด โดยใช้หลักของ Rapid chromatographic immunoassay เพื่อตรวจหา HBsAg ในซีรั่มหรือพลาสม่า

- การตรวจหา Anti-HBs มีการใช้ชุดตรวจสอบของ 2 บริษัท ได้แก่ SERODIA-AntiHBs ของบริษัท Fujirebio Inc. และ Advanced Quality™ One Step HBsAb Test ของบริษัท 2000 Intec Product Inc. โดยใช้หลักของ Passive hemagglutination และ Immunochromatograhhic assay ตามลำดับ

- การตรวจ Anti-HBc ใช้ Anti-HBc (HBcAb) Test ของบริษัท Bio Immunochem Co.,Ltd. โดยใช้หลักการของ Immunochromatographic assay

ข้อจำกัดของการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบีในชะนี คือ ชุดตรวจสอบที่ใช้ทำการตรวจโรคนั้น เป็นชุดตรวจสอบสำหรับตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบีในคน ดังนั้นเมื่อนำมาใช้ในการตรวจในชะนี อาจทำให้เกิด false positive หรือ false negative ได้ นอกจากนี้แล้วการตรวจทำได้เพียงแค่ตรวจหา HbsAg, Anti-HBs,

และ Anti-HBc เท่านั้น ซึ่งการตรวจพบ Anti-HBs และ Anti-HBc บ่งบอกถึงว่าสัตว์อยู่ในสภาวะฟื้นตัว (recovery) แล้ว (สุวรรณา, 2545) แต่การตรวจพบ HBsAg นั้นไม่จำเป็นว่าสัตว์ต้องแสดงอาการป่วยหรือมีการเสียหายของตับ เนื่องจากว่าการพบ HBsAg ไม่ได้บ่งบอกถึงการเพิ่มจำนวนของไวรัส ดังนั้นการที่จะทราบถึงสภาวะที่ชัดเจนของโรคในขณะนั้นควรมีการทำการตรวจเพิ่มเติม เช่น HBeAg และ DNA ของ HBV (Cotran, 1999)

จากการรายงานของ Rhodes และ Van Rooyen (1962) ถึงการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยาในผู้ป่วยด้วยโรคไวรัสตับอักเสบบี พบว่าในช่วงแรกของการเกิดโรคจะมี Leukopenia Lymphopenia และ Neutropenia หลังจากนั้นจะพบว่าเกิด Relative lymphocytosis อาจพบการเกิด Secondary anemia ส่วนค่า Blood coagulation time, Erythrocyte fragility test, Sedimentation rate และ Prothrombin time มักจะลดลงจากระดับปกติ แต่จากการศึกษาในชะนีมือขาวของการศึกษานี้โดยเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้ ANOVA มาทำการวิเคราะห์ สำหรับค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด, ค่าฮีโมโกลบิน, ค่าฮีมาโตคริต, จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p>0.05$) ในชะนีทั้ง 3 กลุ่ม ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับสุวรรณา (2545) ที่ได้รายงานไว้ นอกจากนี้ค่าทางโลหิตวิทยาของชะนีทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับค่าของชะนีปกติจากการรายงานของ Huser (1970) สำหรับค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดและชนิดของเม็ดเลือดขาวโดยทั่วไปแล้วใช้บ่งชี้ถึงสภาพการติดเชื้อและอาจใช้เพื่อติดตามการเกิดโรคหรือการรักษาในระหว่างการเกิดโรค เม็ดเลือดขาวบางชนิดอาจเพิ่มจำนวนอย่างเห็นได้ชัด เช่น การเพิ่มขึ้นของ Neutrophil, Eosinophil, และ Lymphocyte อาจบ่งถึงการติดเชื้อแบคทีเรีย, ปรสิต, หรือไวรัสตามลำดับ (Stockham และ Scott, 2002) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และจำนวนของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดในชะนีทั้ง 3 กลุ่มกับค่าปกติของชะนีจากการรายงานของ Huser (1970) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้ ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($p>0.05$) เช่นเดียวกับการรายงานของสุวรรณา (2545) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเป็นรายตัวแล้วพบว่าชะนีบางตัวมีค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวและมีบางชนิดของเม็ดเลือดขาว เช่น Neutrophil สูงกว่าค่าปกติมาก ซึ่งอาจบ่งถึงสภาพการติดเชื้อของร่างกายชะนีในขณะนั้น

สำหรับค่าทางซีรั่มวิทยานั้นได้ทำการตรวจค่า AST, ALT, AP, Total protein, Albumin, และ Globulin โดย Fenner และ White (1976) รายงานว่า ค่า ALT มีความจำเพาะต่อโรคไวรัสตับอักเสบบีมากกว่าค่า AST จากการเปรียบเทียบทางสถิติของค่าทางซีรั่มวิทยาของตับทั้งหมดโดยใช้ ANOVA พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของชะนีทั้ง 3 กลุ่ม($p>0.05$) สาเหตุที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องมาจากชะนีที่ทำการศึกษาแม้ว่าจะตรวจพบว่ามี HBsAgในซีรั่ม แต่เมื่อดูจากสุขภาพทั่วไปของชะนีโดยรวมแล้วพบว่าชะนีมีสุขภาพดี สมบูรณ์ แข็งแรง และพฤติกรรมทั่วไปปกติจากการสังเกต นอกจากนี้ผลการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบีไม่ได้ทำซ้ำอีกครั้งในขณะที่ทำการศึกษาซึ่งอาจทำให้ชะนีบางตัวมีสถานะของโรคเปลี่ยนแปลงไป อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของสุวรรณา (2545) ในค่า Total protein, Albumin, และ Globulin คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่

สำหรับค่า ALT จากการศึกษาของสุวรรณา (2545) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการศึกษาในชะนีทั้งหมด 40 ตัว ซึ่งมีค่า ALT เฉลี่ยในชะนีที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเท่ากับ 68.75 ± 48.12 U/I ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.04 ± 15.91 U/I สังเกตได้ว่าทั้ง 2 กลุ่มแม้ว่าจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ก็พบว่ามีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสูงมากเช่นกัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษานี้แล้วพบว่าค่า ALT ของชะนีทั้ง 3 กลุ่มก็มีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสูงเช่นกัน แต่เนื่องจากจำนวนชะนีที่ใช้ในการศึกษานี้มีน้อย (n = 17) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการตรวจ Bilirubin นั้น Van Rooyen (1962) ได้กล่าวว่าในคนที่เป็นโรคไวรัสตับอักเสบบี จะพบว่าเกิดมี Bilirubin ในปัสสาวะและกระแสเลือด (Bilirubinuria และ Bilirubinemia ตามลำดับ) แต่ในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการตรวจ Bilirubin ในซีรั่มถึงแม้ว่าค่า Serum bilirubin สามารถใช้แยกประเภทของดีซ่านในสัตว์ป่วยได้ และยังสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในกรณีที่ทำการตรวจเป็นชุดอย่างต่อเนื่องเพื่อตรวจสอบการตอบสนองของตับต่อการรักษา (Coles, 1974) แต่ข้อจำกัดของการตรวจ Bilirubin คือ ควรทำการตรวจภายใน 1 ชั่วโมงภายหลังจากการเจาะเลือดแล้ว เนื่องจาก Bilirubin สามารถสลายตัวได้ถึง 50% ภายใน 1 ชั่วโมง เมื่อตั้งอยู่ในที่ที่สว่าง หรือหากเก็บในตู้เย็นมากกว่า 1 คืน ก็ยังพบการสลายตัวเกิดขึ้นได้เล็กน้อย (Benjamin, 1978)

สำหรับค่าทางซีรั่มวิทยาของตับบางค่า เช่น Sorbitol dehydrogenase (SDH) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ตับที่เป็นประโยชน์สำหรับโรคตับแม้ว่าจะทำการตรวจเพียงครั้งเดียว (Coles, 1974) แต่สาเหตุที่ไม่ได้ทำการตรวจเนื่องจากไม่พบว่ามีการกล่าวถึงการเพิ่มขึ้นของค่า SDH ในโรคไวรัสตับอักเสบบี

Theamboonlers และคณะ (1999 และ 1998) (อ้างถึงโดยสุวรรณา, 2545) รายงานว่าความชุกของชะนีที่เป็นตัวอมโรคไวรัสตับอักเสบบีสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับประชากรมนุษย์ในประเทศไทย การติดต่อของโรคไวรัสตับอักเสบบีในชะนีมีความคล้ายคลึงกับในคนโดยการติดต่อผ่านทางกระแสเลือด การติดต่อจากแม่ชะนีที่เป็นโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังไปสู่ลูก (Vertical transmission) อาจเกิดขึ้นเนื่องจากลูกชะนีมีการสัมผัสกับเลือดที่ติดเชื้อและของเหลวจากร่างกายของแม่ชะนีขณะคลอด หรือการสัมผัสกับน้ำนมหรือน้ำลายตั้งแต่ช่วงแรกหลังเกิดมา และส่วนใหญ่จะกลายเป็นตัวอมโรค นอกจากนี้การติดต่อจากชะนีสู่ชะนี (Horizontal transmission) อาจเกิดขึ้นจากการต่อสู้กันหรือกัดกัน เนื่องจากตรวจพบ DNA ของโรคไวรัสตับอักเสบบีในน้ำลายชะนีได้ เป็นที่น่าสังเกตว่าสัตว์ทั้งหมดที่อยู่ร่วมกรงเดียวกับชะนีที่เป็นตัวอมโรคจะมีการติดเชื้อและสามารถตรวจพบ Anti-HBc ซึ่งข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่าการผสมพันธุ์ หรือการติดต่อของชะนีภายในรุ่นเดียวกัน (Horizontal transmission) สามารถเป็นแหล่งการแพร่กระจายของไวรัสภายในประชากรของฝูงชะนีได้ (สุวรรณา, 2545) สำหรับการติดต่อของโรคจากมนุษย์ไปสู่ชะนีมีการรายงานว่าเกิดขึ้นได้ในการทดลองแต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการติดต่อจากชะนีไปสู่มนุษย์ อย่างไรก็ตามไวรัสทั้ง 2 ชนิดสามารถเพิ่มจำนวนในลิงชิมแปนซีภายหลังจากการฉีดเชื้อเข้าไปใต้ผิวหนัง (Subcutaneus inoculation) อาจชี้ให้เห็นถึงความสามารถของการติดต่อข้ามสปีชี่ส์ของไวรัสได้

จากข้อมูลพบว่าชะนีของโครงการคืนชะนีสู่ป่ามีความชุกของโรคสูง แสดงให้เห็นว่าโรคนี้มีความสำคัญและควรได้รับการตระหนักถึงในชะนีที่เลี้ยง ชะนีที่เป็นตัวอมโรคเรื้อรังอาจจะเป็นแหล่งหลัก

ของเชื้อไวรัส การแยกชะนีที่เป็นตัวอมโรคและการทำวัคซีนในระยะต้นๆให้กับลูกชะนีที่เกิดใหม่ ควรที่จะกระทำเพื่อลดจำนวนสัตว์ที่เป็นโรค นอกจากนี้แล้วการทำวัคซีนให้กับชะนีที่นำเข้ามาใหม่ภายหลังจากการตรวจกรองโรคแล้วพบว่าไม่มีภูมิคุ้มกัน

จากการศึกษานี้ สามารถสรุปผลได้ว่า ไม่มีค่าทางโลหิตวิทยาหรือซีรั่มวิทยาใดที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโรคไวรัสตับอักเสบบีนี้ วิธีการตรวจวินิจฉัยที่ดีที่สุดในกรณีสงสัยว่าชะนีมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือไม่นั้น คือ การตรวจหาผลบวกต่อ HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc หรือ DNA ของเชื้อไวรัส ซึ่งค่าเหล่านี้สามารถบ่งบอกสถานะของโรคในชะนีเหล่านั้นได้ การศึกษาในขั้นต่อไปที่ควรกระทำ คือ การตรวจหาผลบวกต่อค่าเหล่านี้ในคนเลี้ยงด้วย ในกรณีตรวจพบว่าคนเลี้ยงให้ผลบวกต่อการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบี หรือมีสถานะเป็นตัวอมโรค ประเด็นหนึ่งที่ควรคำนึงถึงโดยเฉพาะสาเหตุในการเกิดโรคในชะนี คือ การแพร่เชื้อจากมนุษย์ไปสู่ชะนี การศึกษาในระดับสูง เช่น การจำแนกในระดับโมเลกุล หรือการทำแผนที่ของแอนติเจนบนผิวของไวรัส (Surface Antigen Mapping) สามารถช่วยชี้ชัดเพื่อตอบคำถามเหล่านี้ได้

กิตติกรรมประกาศ

ทางผู้จัดทำขอขอบคุณนายสัตวแพทย์สุวิทย์ พันนาดี ผู้อำนวยการโครงการคืนชะนีสู่ป่า จังหวัดภูเก็ต และเจ้าหน้าที่ของโครงการทุกคนที่ได้เอื้อเฟื้อชะนีที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ และความช่วยเหลืออื่นๆที่ช่วยให้งานดำเนินไปได้ด้วยดี ศาสตราจารย์นายแพทย์ยง ภู่วรวรรณ หน่วยไวรัสตับอักเสบ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สำหรับคำแนะนำและข้อมูลงานวิจัยต่างๆ คุณกัญนิสา แซ่ฝ้าน เจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลกรุงเทพ ภูเก็ตที่ช่วยในการปั่นแยกและการเก็บซีรั่มขณะที่อยู่ที่จังหวัดภูเก็ต รวมถึงข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบี และสุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีวเคมี ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา และภาควิชาสรีรวิทยา สำหรับอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ที่ใช้ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ รวมถึงเทคนิคต่างๆในการทำการทดลองด้วย

หนังสืออ้างอิง

กองควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข องค์การอนามัยโลก. 2000 (2543). โรคติดต่อที่เป็นปัญหาใหม่. วิชัย โชควิวัฒน. พิมพ์ครั้งที่ 4. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 72-79

สุวรรณา นพพรพันธุ์. 2002(2545). การจำแนกในระดับโมเลกุลและการทำแผนที่ของแอนติเจนในบริเวณผิวของไวรัสตับอักเสบบีในชะนี. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 173 หน้า.

Acha, P.N. and Szyfres, B. 1987. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. Viral Hepatitis of Man and Nonhuman Primates. 2nd ed. Scientific Publication. 512-516.

Benjamin, M.M. 1978. Hematology. Outline of Veterinary Clinical Pathology. 3rd ed. The Iowa State University Press. 5-14.

Coles, E.H. 1974. Liver Function. Veterinary Clinical Pathology. 2nd ed. W.B. Saunders Company. 192-224.

Cotran, R.S., Kumar, V. and Collin, T. 1999. The Liver and the Biliary Tract. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6th ed. W.B. Saunders Company. 856-867.

Fenner, F. and White, D.O. 1976. Hepatitis, Rubella, "Slow" Viruses. Medical Virology. 2nd ed. Academic Press. 426-439.

Gitnick G., LaBrecque, D.R. and Moody, F.G. 1991. Viral Hepatitis. Disease of the Liver and Biliary Tract. Mostly-Year Book, Inc. 277-298

Huser, H.J. 1970. Peripheral Blood. Atlas of Comparative Primate Hematology. 8-10.

Lanford, R.E., Charez, D., Rico- Hesse R. and Mootnick, A. 2000. Hepadnavirus Infection in Captive Gibbons. Journal of Virology 74(6) : p 2955-2959.

McCollum, R.W. 1976. Viral Hepatitis. Viral Infectious of Humans Epidemiology and Control. Plenum Medical Book Company. 235-252.

Rhodes, A.J. and Van Rooyen, C.E. 1962. Infectious Hepatits and Serum Hepatitis. Textbook of Virology for Students and Practitioners of Medicine. 4th ed.The Williams and Wilkins Company.277-288.

Smales C. 1998. Hepatitis:Symtoms, Treatment and Prevention. Nursing Times. 94(44):5-7.

Stockham, S.L. and Scott, M.A. 2002. Leukocytes. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Iowa State Press. 55-72.

ภาคผนวก

ตาราง A แสดงสุขภาพทั่วไปของชะนีที่ทำการทดลองทั้ง 3 กลุ่ม

กลุ่ม	No.	ชื่อ	เพศ	กรง	ผลการตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบี (ผล, วันที่)	น้ำหนัก (kg)	HR (ครั้ง/นาที)	RR (ครั้ง/นาที)	อุณหภูมิ (F)	เวลาที่ใช้ก่อนสลบ (นาที)	ปริมาณ zoletil (ml)
1	1	Sumlee	Female	1	ลบ,19/3/46	7	135	23	102.0	5	0.2
	2	Tam	Female	2	ลบ, 19/3/46	4.8	150	32	103.6	3	0.2
	3	Joy	Female	3	ลบ, 19/3/46	5.8	127	38	103.0	5	0.2
	4	Aye-Aye	Male	4	ลบ, 19/3/46	5.5	103	37	101.9	4	0.2
	5	Roberta	Female	5	ลบ, 12/2/42	4.8	111	32	102.8	4	0.2
	6	Sam	Male	6	ลบ, 12/11/41	8.2	136	33	101.6	15	0.3
2	7	Bombay	Female	7	HBsAg, 26/5/45	6.5	148	21	103.8	2	0.2
	8	Soda	Male	7	HBsAg, 26/5/45	7	68	21	100.8	10	0.3
	9	Mona	Female	8	HBsAg, 21/5/45	6	83	27	103.2	4	0.2
	10	Boi	Female	9	HBsAg, 21/5/45	5.8	130	36	103.0	3	0.2
	11	Tops	Female	10	HBsAg, 21/5/45	-	104	36	103.0	5	0.2
	12	Nim	Male	11	HBsAg, 25/12/44	-	140	20	103.6	14	0.4
	13	Ollie	Male	12	HBsAg, 21/02/42	6.8	80	50	103.0	5	0.2
3	14	Jupe	Male	9	Anti-HBs 21/5/45	5.8	121	17	103.0	3	0.2
	15	Vernon	Male	10	Anti-HBc, Anti-HBs, 21/5/45	6.4	84	20	100.3	5	0.2
	16	Pietje	Male	13	Anti-HBc, 12/11/41	6.4	82	24	103.2	3	0.2
	17	Tom	Female	12	Anti-HBc, 22/10/41	6.4	127	23	102.6	15	0.36

ตาราง B แสดงค่าโลหิตวิทยาในชะนีทั้ง 3 กลุ่ม

กลุ่ม	No.	ชื่อ	Total RBC (x 10^6)	Hb (%)	Hct (%)	MCV(fl.)	MCH (pg.)	MCHC (g/dl)	Coag. time (second)	Total WBC (x 10^3)	Differential count					
											Neu(%)	Lym (%)	Eo (%)	Mono (%)	Baso (%)	Band (%)
1	1	Sumlee	7.725	19.4	50.0	64.68	25.10	38.80	43	9.295	72	21.5	1	3.5	0	2
	2	Tam	6.35	18.3	42.0	66.14	28.82	43.57	54	9.475	56.5	37	3	2	0	1.5
	3	Joy	7.675	15.8	43.0	55.99	20.57	36.64	38	12.100	62	34	0.5	2	0.5	1
	4	Aye-Aye	4.29	14.6	35.0	81.59	34.03	41.71	39	5.500	82.5	16.5	0	1	0	0
	5	Roberta	4.82	14.8	44.0	91.29	30.71	33.64	67	8.500	61	33.75	0.75	2.5	0	2
	6	Sam	8.34	19.8	52.0	62.35	23.74	38.08	28	7.150	55.25	41.25	0.5	2	0	1
2	7	Bombay	5.28	14.6	45.5	86.17	27.65	32.09	22	5.750	47.5	47.25	1.25	1	0	3
	8	Soda	4.09	15.0	37.0	90.46	36.67	40.54	58	4.500	64.5	33.5	0.50	1	0	0.50
	9	Mona	4.53	14.9	33.0	72.85	32.89	45.15	88	10.075	61.5	35	0.50	1.50	0.25	1.25
	10	Boi	6.58	17.0	45.0	68.30	25.84	37.78	13	5.500	50.5	45	2.5	1.5	0.5	0
	11	Tops	5.11	14.6	40.0	78.28	28.57	36.50	15	10.300	88.25	9.75	0.5	1.50	0	0
	12	Nim	5.95	18.3	43.0	72.27	30.76	42.56	14	4.700	35.25	60.5	1.75	1.25	0	1.25
	13	Ollie	4.15	15.6	37.5	90.36	37.59	41.60	90	5.550	58	36.75	0	4	0	1.25
3	14	Jupe	4.95	15.8	38.0	76.77	31.92	41.58	64	5.775	25.25	70	0.5	2.5	0.5	1.25
	15	Vernon	7.53	14.6	46.5	61.75	19.39	31.41	13	3.225	53	42.75	1	2	0.5	0.75
	16	Pietje	2.27	17.0	42.0	185.02	74.89	40.48	71	6.825	73.75	21.5	0.75	3.25	0.5	0.25
	17	Tom	6.30	17.8	43.0	68.25	28.25	41.44	71	12.075	48.75	43.75	0.25	4.5	0	2.75

ตาราง C แสดงค่าซีรั่มวิทยาในชะนีทั้ง 3 กลุ่ม

กลุ่ม	No.	ชื่อ	AST(U/I)	ALT (U/I)	AP (U/I)	Total Protein (gm %)	Albumin (gm %)	Globulin (gm %)	A:G ratio
1	1	Sumlee	7	44	28.33	7.75	5.25	2.50	1 : 2.1
	2	Tam	12.5	45	46.66	10.40	3.80	6.60	1 : 0.58
	3	Joy	5	45	39.17	7.40	4.70	2.70	1 : 1.74
	4	Aye-Aye	18	36	68.33	8.40	1.80	6.60	1 : 0.27
	5	Roberta	5	59	29.17	7.50	4.05	3.45	1 : 1.16
	6	Sam	6.5	48	18.33	3.15	2.12	1.03	1 : 2.05
2	7	Bombay	12.5	48	24.16	8.65	4.80	3.85	1 : 1.25
	8	Soda	42	63	29.17	8.40	4.80	3.60	1 : 1.33
	9	Mona	8.5	44	38.33	8.00	6.23	1.77	1 : 3.51
	10	Boi	9	39	22.5	4.65	2.70	1.95	1 : 1.38
	11	Tops	82	45	49.2	6.65	4.10	2.55	1 : 1.61
	12	Nim	17	23	37.5	9.50	5.00	4.50	1 : 1.11
	13	Ollie	25	39	39.17	10.80	4.60	6.2	1 : 0.74
3	14	Jupe	12.5	38	50.00	8.70	4.15	4.55	1 : 0.91
	15	Vernon	12.5	50	29.12	10.15	4.80	5.35	1 : 0.90
	16	Pietje	22	63	27.50	8.35	3.95	4.40	1 : 0.90
	17	Tom	26	44	41.66	8.05	4.70	3.35	1 : 1.40