

การประเมินค่าชะนีเพื่อใช้เป็นสัตว์ทดลอง

(Evaluation of the gibbon (*Hylobates lar lar*)

as a laboratory primate)

ประโยชน์ ตันติเจริญยศ สพ.บ.

แผนกสัตวแพทย์ สำนักงานโครงการวิจัยทางการแพทย์ของ ส.ป.อ.

ราชวิถี พระนคร

คำนำ

เนื่องจากวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ทุกวันนี้ก้าวรุดหน้าไปเร็วมาก พร้อมกับพบโรคใหม่ๆ เกิดขึ้นมากมาย ในการศึกษาโรคต่างๆ เหล่านี้เราจำเป็นต้องใช้สัตว์เป็น model สำหรับศึกษาโรคของมนุษย์นอกเหนือไปจากหนูไมส์ หนูแรท หนูแฮมสเตอร์ หนูตะเภา กระจงตัวเล็ก แมว สุนัข และลิงเป็นปรกติวิสัยแล้ว ยังได้มีการศึกษาสัตว์ชนิดอื่น ๆ เพื่อใช้เป็นสัตว์ทดลองควบคู่กันไป ชะนีซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อยู่ใน Order Primates เช่นเดียวกับมนุษย์ และพบอยู่ทั่วไปในประเทศไทย พม่า ลาว เวียดนาม เขมร มาเลเซียและหมู่เกาะต่างๆ ของอินโดนีเซีย จึงเป็นสัตว์ที่ได้รับความสนใจศึกษาเพื่อใช้เป็นสัตว์ทดลองชนิดใหม่ในอนาคต เพราะมันมีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับพวก apes อื่นๆ เช่น ชิมแปนซี และอูรังอุตัง

ชะนีที่พบในประเทศไทยมีทั้งหมด 3 ชนิด คือ ชะนีมือขาว (*White-handed gibbon—Hylobates lar lar*) ชะนีจันทน์ (*Capped gibbon—H. pileatus*) และชะนีมือขาว (*White-cheeked gibbon—H. concolor*)

กรง:— ชะนีเล็กและชะนีรุ่น ๆ ใส่กรงเดี่ยวทำด้วยโครงเหล็ก กรงทุกตัวด้วยขนาดกรงกว้าง 2 ฟุต สูง 4 ฟุตและลึก 4 ฟุต หรือกว้าง 2 ฟุต สูง 3 ฟุตและลึก

4 ฟุต ทุกกรงมีแท่นพักทำด้วยโลหะไม่เป็นสนิม ที่ด้านในของกรง ส่วนตรงกึ่งกลางกรง ใกล้ด้านบนมีเหล็กกลมใช้ห้อยโหน ส่วนขนาดใหญ่ที่ใช้ศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ ใช้ในกรงใหญ่กลางแจ้งที่มีพื้นที่ขนาดประมาณ 600 และ 200 ตารางฟุต ขนาดกรงที่มีพื้นที่ 600 ตารางฟุต ใช้ใส่ตัวผู้ 4 ตัวและตัวเมีย 6 ตัว ถึงแม้ว่ามันจะมีการต่อสู้กันบ้างแต่ก็ไม่มีความบาดแผลรุนแรงนัก ส่วนกรงที่มีขนาด 200 ตารางฟุตใช้ใส่ตัวผู้ 1 ตัว กับตัวเมีย 2 ตัว แต่จากการเฝ้าศึกษาทดลองต่อมาพบว่า ถ้าใส่ตัวผู้ 1 ตัวกับตัวเมีย 1 ตัวในกรงขนาด 200 ตารางฟุตจะให้ผลดีที่สุด

อาหารและน้ำดื่ม

อาหารที่ใช้เลี้ยงขณะนี้ เป็นอาหารลิงชนิดที่เรียกว่า **Monkey chow** ส่งมาจากสหรัฐอเมริกา มีลักษณะกลมและกรอบ โดยใส่ในกระเปาะอาหารให้มันหยิบกินเอาตามความต้องการ อาหารเสริมก็มักกล้วย ส้มและขอตกระถินสด กล้วยให้ทุกวัน วันละ 2-4 ใบแล้วแต่ขนาดของกล้วยเล็กหรือใหญ่ ส่วนส้มและขอตกระถินให้สัปดาห์ละ 3 วัน ส่วนน้ำดื่มสำหรับกรงเดี่ยวใช้ขวดโดยมีหลอดดูดและเปลี่ยนใหม่ทุกวัน แต่สำหรับกรงขยายพันธุ์ใช้แบบ "Lixit" ซึ่งเป็นแบบอัตโนมัติต่อจากท่อประปาโดยตรง

การตรวจสุขภาพ

เมื่อได้สัตว์ใหม่เข้ามาจะมีการกักกันไว้อย่างน้อย 21 วัน ซึ่งจะมีการทดสอบหา วัณโรคและกระทำทุก 3 เดือน เจาะเลือดเพื่อศึกษาทางโลหิตวิทยา blood chemistry และ blood parasites เก็บอุจจาระเพื่อตรวจหา endoparasites และเพาะหา pathogenic enteric bacteria เมื่อพบสัตว์ตัวใดมีเชื้ออะไรอยู่ก็จัดการรักษาจนกว่าจะหายเป็นปกติจึงนำไปเพื่อใช้เป็นสัตว์ทดลองหรือขยายพันธุ์ต่อไป ยกเว้นตัวที่มี reactor ต่อ tuberculin test จะไม่มีการรักษาแต่จะทำลายโดยเร็วที่สุด

ผลของการศึกษาทางโลหิตวิทยา blood type, blood chemistry และ electro-phoresis มีดังนี้

ตารางที่ 1 การศึกษาทางโลหิตวิทยาจากขณะ 71 ตัว

Value	Average	Range
Hct %	41	29-52
Hgb (gm %)	12.0	7.0-16.4
Wbc x 1000	12.0	3.4-38.5
Rbc x 10 ⁶	6.57	3.48-8.54
N %	49	20-80
L %	43	8-76
B %	2-3	0-17
E %	0-1	0-4
Baso %	1-2	0-5
M %	3-4	0-8

ตารางที่ 2 Blood type

A	B	AB	O
8	15	13	0

ตารางที่ 3 Blood chemistry

	Average	Range	#Animals
BUN	12.6 \pm 5.3	2.5-28.8	74
Glucose	90 \pm 26	35-190	59
Cholesterol	155 \pm 41	81-266	68
Bilirubin total	0.2 \pm 0.1	0-5	68
Thymol turbidity	1.2 \pm 0.4	0.0-2.9	29
Alkaline phosphatase	20.8 \pm 13.1	3.0-72.0	56
Acid phosphatase	0.8 \pm 0.34	0.20-1.53	39
SGOT	34 \pm 15	14-96	71

SGPT	26 ± 8	9—49	71
CO ₂	13.3 ± 5.3	3.5—25.8	70
Cl—	106 ± 5	89—125	69
Na ⁺	147 ± 5	130—159	70
K ⁺	5.2 ± 1.1	3.3—7.8	70
Ca ⁺⁺	10.0 ± 0.8	8.6—12.2	60
Po ₄ ⁻⁻⁻	5.2 ± 1.4	2.4—8.5	58
Uric acid	2.5 ± 1.0	0.3—8.2	44

ตารางที่ 4 Electrophoresis values

	Average	Range
Total Protein	6.5 ± 0.7	4.8—8.3
Alpha ₁	0.1	0.0—0.3*
Alpha ₂	1.0 ± 0.45	0.3—2.8
Beta	0.8 ± 0.3	0.4—1.9
Gamma	1.3 ± 0.5	0.4—2.7
Albumin	3.4 ± 0.8	1.2—4.9
A/G ratio	N.A.	N.A.

*Only two animals had a detectable alpha₁ globulin.

Blood parasites ที่พบกิมมาเลเรีย (*Plasmodium inui* and *Plasmodium sp.*)

การตรวจหา endoparasites จากอุจจาระจำพวกพยาธิที่พบได้แก่ *Strongyloides*, *Trichuris* พยาธิไส้เดือนและพยาธิปากขอ ซึ่งจะพบว่าเป็นในสัตว์ที่ตรวจประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ จำพวก single-cell parasites ที่พบบ่อยๆ ได้แก่ *Entamoeba coli*, *E. nana*, *Giardia lamblia* cysts and *Balantidium coli*

สำหรับการเพาะหา pathogenic enteric bacteria จะพบประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของสัตว์ที่ตรวจ ซึ่งได้แก่

Pathogenic **E. coli** O 125 : B 15

E. coli O 112 : B 11

Shigella flexnerii 6

Sh. dysenteriae 1

Sh. sonnei form 1

Sh. flexnerii 3

พยาธิทพบในช่องท้องเมื่อทำ splenectomy หรือทำ wedge-shape liver biopsy หรือทำ laparotomy exploratory ก็พบพวก hydatid cysts ของพยาธิตืด และ filaria ซึ่งอาจเป็นพวก Tetrapetalonema.

โรคผิวหนังของชนะที่พบบ่อย ๆ ได้แก่ กลาก จากการ scraping และ brushing จาก lesions ไปเพาะ และจากการทำ skin biopsy ไปตรวจทางพยาธิวิทยา พบว่าเป็นพวก **Microsporum canis**

โรคที่เกิดขึ้นเองของชนะ

โรคที่เกิดขึ้นเองของชนะก็มีเป็นหวัดและท้องร่วง มักเกิดกับชนะที่ ได้รับน้ำใหม่ ๆ ซึ่งอาจเกิดจากสิ่งแวดล้อมผิดไปจากเดิม ผิดอาหารและ/หรือพยาธิ protozoa และแบคทีเรียอย่างใดอย่างหนึ่งหรือร่วมกันดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

โรคที่ทำให้ชนะถึงตายจากการชันสูตรซากพบว่าส่วนใหญ่ตายเพราะปอดบวม ซึ่งจากการตรวจทางพยาธิวิทยาและเพาะเชื้อหาสาเหตุการตาย พบว่าชนะนี้ตายเพราะปอดบวม โดยไม่ทราบสาเหตุ 6 ตัว อาจเนื่องจากเชื้อไวรัสก็ได้ แต่จากการแยกเชื้อไวรัสทางห้องปฏิบัติการไม่ประสบผล ที่ปอดบวมตายเพราะ strongyloidosis มี 3 ตัว ที่ตายเพราะเชื้อแบคทีเรีย 3 ตัว คือ **Chromobacterium ianthinum** 1 ตัว เป็นเพราะ **Enterobacter aerogenes** 2 ตัว ที่ตายเพราะ **E. cloacae** ร่วมกับ strongyloidosis มี 2 ตัว

ชนะที่ตายเพราะ malignant lymphoma มี 4 ตัว ตามรายงานว่าหายากมากใน non-human primates

ตายเพราะ cysticercosis 2 ตัว ตัวหนึ่งพบ cysts ที่กล้ามเนื้อหัวใจ ส่วนอีกตัว

พบที่ CEREBRUM

มีชนนิตายเพราะ herpetic encephalitis 3 ตัว และเป็น rabies ตาย 1 ตัว
โรคที่ทำให้เกิดชนนิตาย

จากการที่ชนนิตายเป็นหวัดง่ายและตายเพราะปอดบวมแทรกในภายหลัง จึงได้มีการทดลอง infect ชนนี้ 20 ตัว ด้วยเชื้อไขหวัดใหญ่ 2 ชนิดอย่างละ 10 ตัว ทำให้เกิดไขหวัดใหญ่ระบาดในชนนิตายหลังจากนั้น โดยทำให้ชนนิตายในโรงเลี้ยงป่วยถึง 30 เปอร์เซ็นต์และตาย 4 ตัว

มีการทดลองถ่ายเชื้อมาเลเรียชนิด *P. falciparum* และ *P. vivax* เข้าชนนิตายที่ตัดเอาม้ามออกแล้ว ปรากฏว่าเชื้อมาเลเรียเจริญได้ดีและชนนิตายไม่มีอาการป่วยที่เด่นชัดให้เห็นเช่นในคน มีบางตัวแสดงอาการเป็นไข้บ้างโดยนอนขมและโลหิตจาง มีอาการบวมหน้าและเบื่ออาหาร นอกจากนั้นมีการทดลองฉีดยาพวก anti-malaria เพื่อพิสูจน์ความต้านยา

ได้มีการทดลองฉีด microfilaria โดย dissect จากยุงที่กินเลือดจากสุนัขที่ตรวจพบว่า เป็น Dirofilariasis เข้าใต้ผิวหนังของชนนิตายจำนวน 4 ตัว หลังจากนั้น 3 เดือนจึงเจาะเลือดของชนนิตายตรวจหา eosinophil พร้อมกับทำ skin test ด้วย Dirofilaria antigen ก็พบว่าชนนิตายมี eosinophilia และ + ve ต่อ antigen เมื่อทำการ X-ray ก็พบบริเวณทึบแสงในปอดทำเช่นนี้ทุก ๆ เดือนจนถึง 6 เดือนหลัง infect จึง sacrifice ชนนิตายหนึ่งเพื่อพิสูจน์ ก็พบ Dirofilaria ที่โตเต็มทีในเนื้อปอดและใน Pulmonary Artery, Right Atrium and Ventricle ส่วนชนนิตายที่เหลือ sacrificed เมื่อครบ 1 ปีหลังจาก infect จากการทำ necropsy พบ adult Dirofilaria ในหัวใจและใน Pulmonary Artery นี่เป็นการพิสูจน์ได้ว่ามนุษย์เราเป็น accidental host ของ Dirofilaria immitis ของสุนัขได้ตามที่รายงานตามที่ต่าง ๆ ทั่วโลกเวลานี้มากมาย

จากการทดลอง infect ชนนิตายด้วย pure culture ของ Pseudomonas pseudomallei ซึ่งทำให้เกิดโรคที่เรียกว่า Melioidosis โดยฉีดเข้า I/P ชนนิตายจะป่วยและตายภายใน 24 ชั่วโมง ส่วนการ infect ด้วยการ smear ด้วย pure culture ที่มี dilution ต่าง ๆ กัน ผ่านผิวหนังที่หน้าท้องโดยทำให้เกิดเป็นรอยด้วย surgical blade สัตว์จะทยอยกันเป็นไข้และตายตามลำดับความเข้มข้นของเชื้อ smear คือ 7-12 วัน ทำให้เราทราบว่า lesions ของโรคนี้เกิดกับอวัยวะส่วนใดบ้าง

การทดลอง infect ชะนีด้วย Dengue virus ทั้ง 4 ชนิดทาง I/V และ S/C inoculation ในชะนีจำนวนมาก ไม่พบว่าชะนีมีอาการของไข้เลือดออกให้เห็นทางคลินิกเลย แต่ทว่ามันสามารถสร้าง antibody ต่อโรคนี้ได้

ได้มีการทดลอง infect ชะนีจำนวน 30 ตัวด้วยเชื้อ syphilis และ gonococci โดยการหยอดเชือกหูบนตา ฉีดเชือกเข้า rectal mucosa และป้ายเชือกที่ปาก cervix ของตัวเมีย กับ urethra ของตัวผู้บางตัวเท่านั้น ที่แสดงอาการ conjunctivitis และมี edematous swelling ของ rectal mucosa ซึ่งจะยุบหายไปภายใน 48 ชั่วโมง ชะนีที่เหลือไม่แสดงอาการอะไรเลย ได้ทำการ swab เพื่อเพาะหาเชื้อจาก sites ที่เรา inoculate ไว้กี้ไม่เป็นผล จากการตรวจสอบทาง serology ก็ไม่มี antibody ของ V.D. เหล่านี้ แสดงว่าชะนีไม่เหมาะสมสำหรับการศึกษาทดลองสำหรับ V.D. เพราะอะไรมันจึงไม่ grow ในชะนียังไม่อาจอธิบายได้ สาเหตุหนึ่งอาจเนื่องจาก body temp. ของชะนีสูงเกินไปก็อาจเป็นไปได้

จากการ infect ชะนีด้วย 510 fully developed larvae ของ **Gnathostoma spinigerun** ในโรน้า 238 ตัวโดยทาง stomach tube หลังจากนั้น 113 วันจึง sacrificed ชะนีพบว่า มี 3rd stage larvae ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายจำนวน 16 ตัว แต่อยู่ในสภาพ encapsulated แสดงว่าชะนีก็เป็น intermediate host ได้ และจากการทดลองโดยใช้ 3rd stage larvae จากหนูไม้ส้ จำนวน 67 ตัว ไขเข้าทางผิวหนังหน้าท้องของชะนี ทั้งไว้ 35 วัน จึง sacrificed ก็พบ larvae ตามอวัยวะส่วนต่างๆ ของร่างกายชะนี 16 ตัว แต่ยังไม่ถูก encapsulated.

การศึกษาทางด้านการขยายพันธุ์

ได้มีการตรวจสอบหารอบเดือนของชะนี เพื่อหาระยะ ovulation เพื่อประโยชน์ทาง A.I. และพบว่า มีความแตกต่างกันมากและไม่ค่อยแน่นอนของรอบเดือนแต่ละครั้งและในแต่ละตัว คือในตัวเดียวกันนี้ ระยะระหว่างรอบเดือนมีตั้งแต่ 14—47 วัน บางตัวห่างกันเป็นร้อยวัน แต่จากการหาข้อมูลจากชะนีจำนวนหนึ่งพบว่า ส่วนใหญ่มีรอบเดือนประมาณ ทุกๆ 20 วัน และมาแต่ละครั้งนานตั้งแต่ 1—4 วันเป็นส่วนใหญ่

จากการศึกษา semen ของชะนี โดยทำการรีดเชื้อด้วย electroejaculator แต่ละครั้งได้ semen ไม่เกิน 0.3 ml. จำนวน spermatozoa ต่อ mm^3 ประมาณ 1-2 ล้านตัว pH ประมาณ 7

การขยายพันธุ์ของชะนีได้ทดลองให้มันผสมกันเองตามแบบกึ่งธรรมชาติ โดยปล่อยไว้ที่เกาะเกล็ดแก้ว โรงเรียนชุมพลทหารเรือ สัตหีบ ชลบุรี ส่วนการผสมในกรงใหญ่ขนาดพื้นที่ 200 ตารางฟุตทำที่อำเภอพระพุทธบาท สระบุรี ส่วนการผสมเทียมทำที่กรุงเทพฯ พบว่าให้ผลทั้งการปล่อยแบบกึ่งธรรมชาติและในกรงใหญ่ ส่วนการขยายพันธุ์แบบผสมเทียมนั้นไม่ประสบผล ลูกชะนีตัวแรกเกิดที่อำเภอพระพุทธบาทสระบุรี เป็นเพศเมีย สีดำ เวลาอายุได้ 3 ปีเศษแล้ว รวมลูกชะนีที่เกิดจากการขยายพันธุ์ในกรงใหญ่จนถึงปัจจุบันได้ 5 ตัว เหลือรอดอยู่เวลานี้ 2 ตัว ที่แท้งก่อนครบกำหนด 2 ตัว ลูกชะนีที่เกิดที่เกาะเกล็ดแก้ว 3-5 ตัว เหลือรอดเวลานี้ 3 ตัว

สรุป

ชะนีนอกจากเลี้ยงเป็นสัตว์เลี้ยงแล้ว ยังสามารถใช้เป็นสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาโรคบางชนิดได้อย่างดี เพราะใกล้ชิดมาทางมนุษย์มากและมีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับ apes ชนิดอื่น ๆ อีกทั้งมอยู่ทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นอกจากนี้ยังสามารถขยายพันธุ์ในกรงขังที่มีขนาดพอเหมาะ แต่ก็มีขีดความสามารถจำกัดในการศึกษาบางโรคและติดตามเรื่องการขยายพันธุ์ได้ช้า ให้ลูกครั้งละตัวและกว่าจะใช้ทดลองได้ต้องใช้เวลาานาน.