

รายงานฉบับย่อ

การศึกษาเบื้องต้นทางโลหิตวิทยาและกิจกรรมไลโซไซม์
ของงูหลามปากเปิด (*Python curtus* Schlegel) ในที่เลี้ยงในเขตจังหวัดเชียงใหม่

ตุลยวรรธ สุทธิแพทย์¹, กนกพร แสนเพชร², สุภาพ แสนเพชร²

¹ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยาและกิจกรรมของไลโซไซม์จากซีรัมของงูหลามปากเปิด ในที่เลี้ยง โดยการสุ่มเลือกงูหลามปากเปิด คณะเพศ และขนาดจำนวน 10 ตัว ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ เพื่อทำการเก็บตัวอย่าง ทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหางด้านล่าง (Ventral tail vein) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาในขั้นต่อไป ซึ่งผลทางโลหิตวิทยาที่ตรวจได้ ประกอบด้วย ค่าเม็ดโลหิตแดงอัดแน่น (PCV) $23.1 \pm 5.04\%$ ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hb) 6.84 ± 1.85 กรัมต่อเดซิลิตร (g/dl) จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) $1.12 \times 10^6/\text{mL}$ จำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) $8.42 \pm 2.39 \times 10^3/\text{mL}$ และค่าของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ คือ เฮทเทอโรฟิล (Heterophil) $22.8 \pm 8.02\%$ ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) $67.5 \pm 6.75\%$ โมโนไซต์ (Monocyte) $6.6 \pm 2.87\%$ อีโอสิโนฟิล (Eosinophil) $2.8 \pm 1.81\%$ เบโซฟิล (Basophil) $0.1 \pm 0.3\%$ ค่าเฉลี่ยปริมาตรของเม็ดเลือด (MCV) 235.13 ± 67.58 fl ค่าเฉลี่ยปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์ (MCH) 68.09 ± 17.82 พิโคกรัม (pg) และ ความเข้มข้นฮีโมโกลบินเฉลี่ยของเซลล์เม็ดเลือดแดง (MCHC) 29.32 ± 2.72 กรัมต่อเดซิลิตร (g/dl) ในส่วนของกิจกรรมไลโซไซม์ ได้ค่ากิจกรรมของไลโซไซม์เฉลี่ย 36.05 หน่วยต่อมิลลิลิตรซีรัม (unit/ml serum) ผลการทดลองอยู่ในช่วงปกติของค่าอ้างอิงและอาจใช้เป็นพื้นฐานในการอ้างอิงในงูหลามปากเปิด เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2554; 9(1): 41-50

คำสำคัญ : งูหลามปากเปิด ค่าทางโลหิตวิทยา กิจกรรมไลโซไซม์

ติดต่อขอสอบถามได้ที่ : ตุลยวรรธ สุทธิแพทย์ ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100 E-mail : tulyawat@yahoo.com ได้รับบทความวันที่ 11 มกราคม 2554

บทนำ

งูหลามปากเปิด (*Python curtus* Schlegel) จัดเป็นสัตว์คุ้มครองชนิดหนึ่ง ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 เช่นเดียวกับ งูหลาม และงูเหลือม ซึ่งเป็นงูในสกุล Python ในประเทศไทยเช่นกัน⁽¹⁾ การล่า คำ หรือครอบครอง โดยไม่ได้รับอนุญาต ถือเป็นความผิดตามกฎหมายแต่ก็ยังมีปรากฏการล่าอยู่ในประเทศไทย ไม่ปรากฏหลักฐานการใช้ประโยชน์อย่างแน่ชัด โดยในประเทศไทย อินโดนีเซีย งูหลามปากเปิด ได้ถูกล่าเพื่อใช้เนื้อเป็นอาหาร และใช้หนังในอุตสาหกรรมเครื่องหนัง⁽²⁾ ส่วนในระดับนานาชาติ งามงู python ทุกชนิดในโลก จัดอยู่ในบัญชี 2 ยกเว้น งูหลามอินเดีย (*Python morulus morulus*) จัดอยู่ในบัญชี 1 ของอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้จะสูญพันธุ์ (The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) หรือ CITES อย่างไรก็ตาม สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ได้เปิดการรับแจ้งการครอบครองสัตว์ป่าคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2546 และมีผลบังคับใช้เมื่อ พฤษภาคม 2546 บัญญัติให้ผู้มีสัตว์ป่าคุ้มครองที่ยังไม่ได้รับอนุญาตโดยชอบด้วยกฎหมายให้มาแจ้งรายการเกี่ยวกับชนิดและจำนวนของสัตว์ป่าคุ้มครองที่อยู่ในความครอบครองของตนต่อพนักงาน⁽³⁾ และ งูหลามปากเปิด ก็เป็นสัตว์ชนิดหนึ่ง ซึ่งอยู่ใน

บัญชีรายชื่อสัตว์ป่าคุ้มครอง ที่จะต้องแจ้งการครอบครองต่อเจ้าพนักงาน และมีผู้มาแจ้งครอบครองงูหลามปากเปิด เพื่อการครอบครองเป็นสัตว์เลี้ยงเป็นจำนวนมาก

นอกจากค่าโลหิตวิทยาแล้ว กิจกรรมของไลโซไซม์ (lysozyme activity) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (innate immunity) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในกลุ่ม hydrolase เอนไซม์ชนิดนี้มีคุณสมบัติในการตัดพันธะ β -1, 4 ไกลโคซิดิกระหว่าง N-acetylglucosamine (NAG) และ N-acetylmuramic acid (NAM) ซึ่งโพลีเมอร์เหล่านี้เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกได้ จึงถือได้ว่าไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่สิ่งมีชีวิตใช้ป้องกันตนเองจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสามารถพบไลโซไซม์ได้ทั้งในซีรัม เยื่อเมือก และอวัยวะต่างๆ ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ทำหน้าที่ในการทำลายแบคทีเรียที่เข้าสู่ร่างกายก่อนที่จะมีการติดเชื้อ โดยจะไปย่อยสลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียชั้นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งพบได้ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แต่ในแบคทีเรียแกรมลบผนังเซลล์ชั้นนี้จะบางกว่าแกรมบวก เอนไซม์ชนิดนี้จะไปทำให้แบคทีเรียเสียหายและถูกกลืนกินด้วยกระบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไลโซไซม์จะย่อยสลายผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ ในสัตว์น้ำจะสามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ดีทั้งแกรมบวกและแกรมลบ กิจกรรมของไลโซไซม์จึงเป็นสิ่งบ่งชี้ที่สำคัญของภาวะ

สุขภาพของสัตว์เลื้อยคลาน⁽⁴⁾ ทั้งนี้ได้รายงานว่า การสร้างภูมิคุ้มกันโดยการทำงานของ ไลโซไซม์พบได้ตั้งแต่ในไข่ของสัตว์เลื้อยคลาน⁽⁵⁾ และยังมีรายงานการพบไลโซไซม์ในพิษงู⁽⁶⁾ แต่กิจกรรมของไลโซไซม์ในเลือดของงูนั้นยังไม่ เคยมีรายงานมาก่อน

ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นในการศึกษา ค่าทางโลหิตวิทยา และปฏิกิริยาไลโซไซม์ ในเลือดของ งูหลามปากเปิด เพื่อเป็นข้อมูล พื้นฐานของค่าเลือดต่างๆ ในงูกลุ่ม Python ที่อยู่ในกรงเลี้ยง ของผู้เลี้ยงในประเทศไทย และเพื่อประโยชน์ทางคลินิกในการวินิจฉัย รักษา และอนุรักษ์งูเหล่านี้ต่อไป

วิธีการศึกษา

ทำการสำรวจ และเจาะเก็บเลือดจากงูหลาม ปากเปิด ที่มีการเลี้ยงไว้โดยเอกชน ซึ่งเป็นงู ที่ได้จากการเพาะพันธุ์ในที่เลี้ยง ใช้ตัวอย่าง งู 10 ตัว คละเพศและขนาด คัดเลือกงูที่มี สุขภาพสมบูรณ์ โดยศึกษาจากการซักประวัติ และสภาพภายนอกทั่วไปของงู ที่ไม่แสดงอาการ เจ็บป่วย หรือติดเชื้อ บันทึกข้อมูลเพศ ความยาว ลำตัว และน้ำหนักตัว

ทำการจับบังคับงูด้วยผ้าและถุงมือ เจาะเก็บ ตัวอย่างเลือดโดยการเจาะจากเส้นเลือด บริเวณทางด้านล่าง (ventral coccygeal vein) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการแนะนำให้เก็บเลือดในงู⁽⁷⁾ เก็บเลือดให้ได้ปริมาตรอย่างน้อย 0.5 ซี.ซี. ต่อตัว ตัวอย่างเลือดจะถูกแบ่งเก็บในหลอด เก็บเลือดที่ใช้ Lithium heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อใช้ตรวจค่าโลหิตวิทยา

และแบ่งใส่หลอดที่ไม่มี Lithium heparin เพื่อปั่นเก็บ serum ใช้ในการตรวจหากิจกรรม ไลโซไซม์ โดยในส่วนของ serum ที่ปั่นเก็บได้นำไป เก็บรักษาไว้ในตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจพร้อมกัน

การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยา

ค่าเม็ดโลหิตขาวแยกชนิด (differential white blood cell count) โดยการทำสเมียร์ เลือดสด (fresh blood smear) และย้อมด้วย Wright's stain ตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาว ชนิดต่างๆ รวมทั้ง thrombocyte (thrombocyte) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์⁽⁸⁾

ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (packed cell volume) โดยปั่นเหวี่ยงเลือดโดยใช้เครื่อง centrifuge hematocrit ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 5 นาทีหลังจากนั้น จึงนำมาอ่านด้วย microcapillary reader บันทึกปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นค่าที่ได้ มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์จากส่วนของ Buffy coat และตรวจสอบปริมาตรในเลือดที่อยู่ในชั้นดังกล่าว ด้วย⁽⁸⁾

ค่าฮีโมโกลบิน (haemoglobin) โดย Sahi-Hellige hemoglobin-meter⁸

การหาจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (total red blood cell, RBC) จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (total white blood cell, WBC) โดยใช้สารเจือจาง เม็ดเลือด Natt and Herrick diluent และน้ำยา นับเม็ดเลือดขาว Grower' solution⁽⁹⁾

คำนวณหาค่าเฉลี่ยปริมาตรของเม็ดเลือด (mean corpuscular volume, MCV) ค่าเฉลี่ย

ปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์ (mean corpuscular hemoglobin, MCH) และความเข้มข้นฮีโมโกลบินเฉลี่ยของเซลล์เม็ดเลือดแดง (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)⁽¹⁰⁾

การศึกษากิจกรรมไลโซไซม์

นำเลือดส่วนที่ไม่ได้ใส่ Lithium heparin มาตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm. เป็นเวลา 10 นาที เก็บซีรัมที่เป็นส่วนใสมาตรวจวัดกิจกรรมของไลโซไซม์ในการย่อยสลายผนัง

เซลล์แบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* โดยเติมซีรัม ปริมาณ 25 μ l ลงในหลุมของ microplate หลังจากนั้นเตรียมสารละลายแบคทีเรียเข้มข้น 3 mg/ml (แบคทีเรีย 3 mg ใน PBS 0.05 M, pH 6.0 ปริมาตร 1 ml) แล้วเติมลงไป ใน microplate ที่มี serum อยู่ โดยใส่สารละลายแบคทีเรียปริมาตรหลุมละ 100 μ l แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง ELISA Reader ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยวัดทุก 1 นาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหากิจกรรมไลโซไซม์⁽¹¹⁾

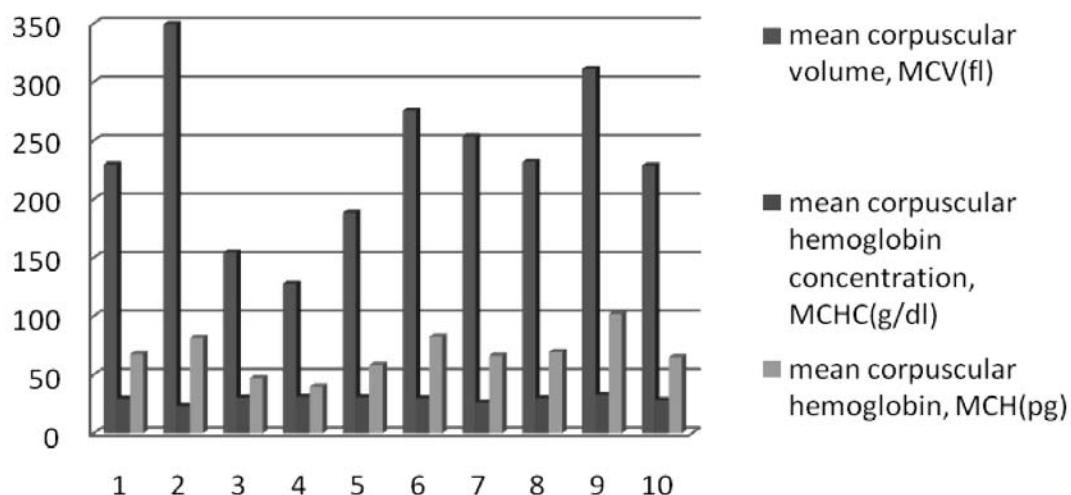
ผลการศึกษา

ในส่วนค่าทางโลหิตวิทยาของงูหลามปากเปิด ได้ผลดังตารางนี้

ตารางที่ 1 แสดงช่วง ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานทางโลหิตวิทยาทั่วไปของงูหลามปากเปิด (*Python curtus* Schlegel) ในที่เลี้ยง จำนวน 10 ตัว

Parameter	range	mean	S.D	Mean from ISIS 2002
PCV (%)	16-32	23.1	5.04	24.2
Hb (g/dl)	6.2-10	6.84	1.85	7.70
RBC ($\times 10^6/\mu$ L)	0.51-2.50	1.12	0.62	0.52
WBC($\times 10^3/\mu$ L)	5.20-12.43	8.42	2.39	11.22
MCV (fl)	127.89 - 349.514	235.133	67.58	423.7
MCH (pg)	47.37- 101.83	68.0977	17.82	30.8
MCHC(g/dl)	23.33 - 32.72	29.321	2.72	24.2

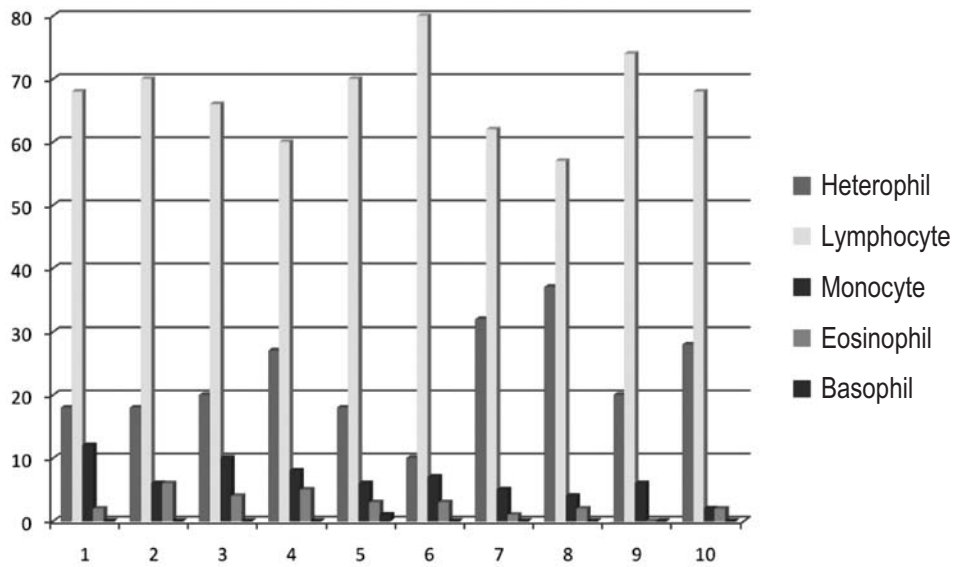
Red Blood Cell Indices



รูปที่ 1 แสดงแผนภาพค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell Indices)

ตารางที่ 2 แสดงช่วง ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวของงูหลามปากเป็ด (*Python curtus* Schlegel) ในที่เลี้ยง จำนวน 10 ตัว

WBC (%)	range	mean	S.D	Mean from ISIS 2002
Lymphocyte	57-80	67.5	6.75	51.66
Monocyte	2-12	6.6	2.87	4.75
Heterophils	10-37	22.8	8.02	19.21
Eosinophils	0-6	2.8	1.81	0.71
Basophil	0-1	0.1	0.3	6.44



รูปที่ 2 แสดงแผนภาพส่วนของการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวในตัวอย่างเลือดทั้งหมด 10 ตัวอย่าง แสดงเป็นร้อยละของเม็ดเลือดขาวที่แยกได้

ตารางที่ 3 แสดงการวัดกิจกรรมไลโซไซม์ในการย่อยสลายผนังของแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus*

ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ลดลง นาทีที่				ค่ากิจกรรมไลโซไซม์ (unit/ml serum)
	2	3	4	5	
1	0.099	0.081	0.065	0.059	76.08
2	0.047	0.046	0.046	0.044	45.58
3	0.075	0.077	0.067	0.069	71.75
4	0.060	0.059	0.055	0.054	57.16
5	0.002	0.005	0.005	0.005	4.33
6	0.001	0.002	0.001	0.005	1.51
7	0.019	0.021	0.018	0.021	19.75
8	0.090	0.085	0.074	0.068	79.41
9	0.004	0.004	0.001	0.002	1.91
10	0.001	0.001	0.011	0.001	3.08
เฉลี่ย					36.05

กิจกรรมไลโซไซม์

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 450 nm โดยวัดทุก 1 นาที 3 ชั่วโมง 5 นาที แล้วคำนวณ

กิจกรรมของไลโซไซม์จากการลดลงของค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลของกิจกรรมไลโซไซม์ดังนี้

บทวิจารณ์

จากผลการศึกษา พบว่า ค่าทางโลหิตวิทยา (CBC) ของงูหลามปากเปิดที่ได้ มีความแปรปรวนค่อนข้างสูงมาก ซึ่งอาจเกิดจาก สถานที่เลี้ยงที่ต่างกัน หรือการเลี้ยงดูต่างกัน รวมทั้งการเจาะเก็บเลือดซึ่งมีการเจาะเก็บในคนละช่วงเวลา ซึ่งผู้วิจัย ได้พยายามทำการเจาะเก็บในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกันที่สุด แต่ก็มีบางครั้งที่ไม่สามารถเจาะเก็บได้ หรือเจ้าของสัตว์ไม่สะดวกในการให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง แต่อย่างไรก็ตาม ค่าเลือดที่ได้จากการสำรวจนี้ แม้จะมีกลุ่มตัวอย่างในการสำรวจเพียง 10 ตัว แต่ก็อาจสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเปรียบเทียบได้ เนื่องจากงูหลามปากเปิด เป็นสัตว์หายาก และมีผู้ทำค่ามาตรฐานไว้เปรียบเทียบน้อย และค่ามาตรฐานของเลือดงูหลามปากเปิดจากแหล่งเดียว ที่ค้นคว้าพบ คือ International Species Information System (ISIS), 2002 ซึ่งค่าที่ใช้อ้างอิงจากแหล่งนี้ ก็มาจากงูหลามปากเปิดจำนวนน้อย ที่ส่งค่ามารวมกันจากสวนสัตว์ต่างๆ ค่าตัวอย่างบางค่า นำมาจากตัวอย่างงูเพียงไม่กี่ตัวเท่านั้น และมีความแปรปรวนที่สูงมากเช่นกัน โดยหากสามารถนำข้อมูลมารวมกันมากขึ้น ก็จะสามารถได้ค่าเลือด ที่มีความแม่นยำ และอาจสามารถใช้อ้างอิงอย่างถูกต้องมากขึ้น

ในส่วนของกิจกรรมไลโซไซม์ ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง แล้วมาคำนวณเป็นกิจกรรมไลโซไซม์ ได้เป็น 76.08, 45.58, 71.75, 57.16, 4.33, 1.51, 19.75, 79.41, 1.91, 3.08 และมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 36.05 unit/ml serum โดยสังเกต

จากค่าที่ได้ของงูแต่ละตัว มีค่ากิจกรรมค่อนข้างต่างกัน บางตัวสูงมาก และบางตัวต่ำมาก อาจเกิดจากสัตว์มีภูมิคุ้มกันที่ไม่ดีจากการเจ็บป่วย หรือการที่ไลโซไซม์ถูกทำลายจากการขนส่ง หรือเก็บรักษาก่อนมาทำการตรวจ แต่อย่างไรก็ตาม ทำให้ทราบว่า ในซีรัมของงูหลามปากเปิด มีกิจกรรมไลโซไซม์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นกลไกอย่างหนึ่งในการป้องกันตัวเอง เช่นเดียวกับในสัตว์อื่น ที่ได้มีการศึกษามา เช่น ในเต่า⁽¹²⁾ และปลา⁽¹¹⁾

เม็ดเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกนมนั้นมีความแตกต่างจากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำให้การตรวจนับแยกชนิดมีความยากกว่าในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และการเก็บเลือดจากงู โดยทางเส้นเลือด Ventral tail vein ทำได้ยากเนื่องจากเป็นการเก็บที่ไม่สามารถมองเห็นเส้นเลือดที่จะทำการเก็บได้ (Blind technique) จะได้ตัวอย่างเลือดปริมาณไม่มาก ส่วนการเก็บจาก Palatine vein อาจทำให้งูบาดเจ็บและกินอาหารได้ลดลง ในการเก็บตัวอย่างในงานวิจัยนี้ ไม่มีตัวอย่างใดที่ได้ทำการเก็บโดยวิธีการเก็บจาก Palatine vein เลย เนื่องจากจะพยายามหาตัวอย่างที่ขนาดใหญ่พอที่จะเจาะเก็บเลือดจาก Ventral tail vein ได้ เพื่อลดการเกิดการบาดเจ็บ และความเสี่ยงกับการเกิดโรคช่องปากอักเสบให้กับงูที่ทำการเลี้ยงอยู่ในฟาร์มเอกชนเหล่านั้น

ในการเก็บตัวอย่าง ไม่สามารถควบคุมปัจจัยหลายอย่างให้สอดคล้องกันได้ เช่น อายุ ขนาด เนื่องจากงูหลามปากเปิด เป็นสัตว์หาได้ยาก และมีจำนวนประชากรในที่เลี้ยงน้อย โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือ ซึ่งไม่ใช่ถิ่นที่อยู่อาศัยตาม

ธรรมชาติ และอาจจะมีสิ่งที่ทำให้ค่าที่ได้มีความแปรปรวน คือ การที่ไม่สามารถทราบว่ามีภาวะเจ็บป่วยหรือไม่ แม้ว่าจะใช้ความพยายามในการสังเกตอาการ และพฤติกรรมของงูก่อนแล้วก็ตาม และการเจ็บป่วยของสัตว์ป่าในบางครั้งอาจไม่แสดงอาการที่เด่นชัด จนกว่าสัตว์จะมีอาการหนักแล้ว ซึ่งหากเป็นไปได้ในการทำงานทดลองลักษณะนี้ ควรจะได้มีการตรวจสอบสุขภาพของสัตว์และกักโรคอย่างยาวนานเพียงพอ แต่เนื่องจากกลุ่มประชากรที่น้อย และเวลาในการตรวจรักษาก่อนที่จะทำการเก็บตัวอย่างมีจำกัด ทำให้การกักโรค และสืบประวัติทั้งก่อนหน้าและย้อนหลังทำได้ยาก จึงอาจทำให้ผลของการทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการสนับสนุนข้อมูลและเทคนิคในการตรวจทางโลหิตวิทยา ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนข้อมูลและเทคนิคการตรวจวัดกิจกรรมไมโทโซโซม และขอขอบคุณเงินสนับสนุนจากกองทุนสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยบัณฑิตวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. วิโรจน์ นุตพันธ์. งูหลามปากเปิด. สารศุนย์สัตวศาสตร์ไทย 2531; 3(5): 47-56.
2. Bartlett P, Wagner E. Python: a complete pet owner's manual. New York: Barron's Education, 1997.
3. Nabhitabhata J, Chan-ard T. Thailand red data: mammals, reptiles and amphibians. Bangkok : Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, 2005.
4. Elliott RJ. Infectious diseases and pathology of reptiles. New York: CRC Press, 2007.
5. Thammasirak S, Ponkham P, Preecharram S, Khanchuan R, Phonyothee P, Daduang S, et al. Purification, characterization and comparison of reptile lysozyme. Comp Biochem Physiol 2006; 143: 209-217.
6. Luis AM, Chung-Yu L, Nina MA, Silda L, Bruno L. Fungicidal activity of a phospholipase A2-derived synthetic peptide variant against *Candida albicans*. Rev Esp Quimioterap. 2007; 20(3): 330-333.
7. Sammour HJ. Blood sampling techniques in reptiles. Vet Rec. 1984; 114: 472-6.
8. Raskin RE. Reptilian complete blood count. In: Fudge AM, editor. Laboratory medicine avian and exotic pets. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000.
9. Frye FL. Reptile care and atlas of diseases and treatments, Volume 1. New Jersey: T.F.H Publication, 1991.
10. Troiano JC, Vidal JC, Gould EF, Malinskas G, Gould J, Scaglione M, et al. Haematological and blood chemical values from *Bothrops ammodytoides* (Ophidia-Crotalidae) in captivity. Comparative Haematology International 1999; 9: 31-5.

11. Koskela J, Rahkonen R, Pasternack M, Knuutinen H. Effect of immunization with two commercial vaccines on feed intake, growth, and lysozyme activity in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Aquaculture*. 2004; 234: 41-50.
12. Akira T, Yamamoto T, Torikata T. Reptile Lysozyme: the complete Amino Acid Sequence of Soft-Shelled Turtle Lysozyme and its activity. *Biosci Biotechnol Biochem* ; 1998; 62(2), 316-24.