

การการุณยฆาตสัตว์ เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

เมื่อสิ้นสุดงานทางวิทยาศาสตร์ เช่น ในงานวิจัย ทดสอบ หรืองานสอนที่มีการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ จะต้องมีการจัดการกับสัตว์ทดลองอย่างเหมาะสม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดความเจ็บปวด ทรมาณ และผลกระทบทางลบต่อสัตว์

ซึ่งการการุณยฆาต (euthanasia) มาจากรากศัพท์ภาษากรีก คำว่า eu แปลว่าดี และ thanatos แปลว่าความตาย จึงมักใช้คำนี้เพื่อแสดงการสิ้นสุดชีวิตของสัตว์ตัวหนึ่งด้วยวิธีการที่ลด หรือกำจัดความเจ็บปวด และทรมาณ ความตายที่ดีจึงมีความสำคัญเท่ากับการสิ้นสุดชีวิตของสัตว์ตัวหนึ่งอย่างมีมนุษยธรรม

การทำการุณยฆาตสำหรับสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ที่ถือเป็นมาตรฐานสากลในปัจจุบัน จะอ้างอิงแนวทางการพิจารณาและข้อปฏิบัติตามเอกสาร The AVMV Guideline on Euthanasia of Animals: 2020 Edition ที่มีรายละเอียดวิธีการการุณยฆาตสัตว์โดยละเอียด ซึ่งประกอบไปด้วย หลักการพิจารณาและดำเนินการการุณยฆาต รายละเอียดวิธีการการุณยฆาตในแต่ละวิธี หรือวิธีการการุณยฆาตตามชนิดของสัตว์และสภาพแวดล้อม เช่น สัตว์เลี้ยงเป็นเพื่อน (Companion animals) สัตว์ทดลอง (Laboratory animals) สัตว์ในฟาร์มที่เลี้ยงเป็นอาหารและกากใย (Animals farmed for food and fiber) ม้า (Equids) สัตว์จำพวกนก (Avians) ปลาและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Finfish and Aquatic invertebrate) สัตว์ที่เลี้ยงขัง หรือสัตว์ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติที่ไม่ใช่สัตว์เลี้ยง (Captive or Free-ranging nondomestic animals)

แต่อย่างไรก็ตามผู้ที่จะปฏิบัติการการุณยฆาตจะต้องได้รับการอบรมวิธีการที่ถูกต้องและได้รับการฝึกฝนวิธีปฏิบัติมาแล้ว

ซึ่งในบทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการการุณยฆาตสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ประเภทสัตว์ที่พบบ่อย ได้แก่

1. วิธีการที่ยอมรับ คือ

1.1 สารเคมีชนิดที่ไม่ใช่สารสูดดม (Non-inhaled agents) คือ สารกลุ่ม Barbiturates และอนุพันธ์ของ Barbituric acid ชนิดฉีดเป็นสารที่ออกฤทธิ์รวดเร็ว โดยขนาดของยาสำหรับการุณยฆาตจะใช้เป็นสามเท่าของขนาดยาที่ทำให้สลบ โดยการฉีดสารเข้าช่องท้อง

1.2 สารกลุ่ม Barbiturates และอนุพันธ์ของ Barbituric acid ผสมกับการให้สารกลุ่มอื่นๆ เช่น Dissociative agents หรือ α_2 -adrenergic receptor agonist เช่น Diazepam เป็นต้น

2. วิธีการที่ยอมรับแบบมีเงื่อนไข

2.1 สารเคมีชนิดสูดดม (Inhaled agents) เช่น Halothane Isoflurane Sevoflurane หรือ Desflurane โดยวิธีการนี้จะต้องใช้ระยะเวลาสั้น และมีการตรวจสัตว์ทดลองให้มั่นใจว่าเสียชีวิตแล้ว

- ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มาจากถังก๊าซโดยตรง โดยอัตราการไหลของก๊าซที่เหมาะสมควรแทนที่ ปริมาตรของกล่องหรือกรงในอัตราที่ร้อยละ 30-70 ของปริมาตรของกล่องที่ใส่สัตว์ทดลองต่อนาที แต่ไม่แนะนำให้มีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไว้ก่อนนำสัตว์ทดลองลงไปในกล่อง เนื่องจากจะทำให้สัตว์ทดลองเกิดความเจ็บปวดอย่างรุนแรง
- ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และไนตรัสออกไซด์ ไม่ค่อยนิยมใช้ในการการุณยฆาตในสัตว์ทดลอง

2.2 สารเคมีที่ไม่ใช่สารสูดดม (Non-inhaled agents) เช่น ไทโรโบโรโมเอทานอล หรือ เอทานอลออกไซด์ ร้อยละ 70 ไม่ค่อยนิยมใช้ในการการุณยฆาตในสัตว์ทดลองเท่าไรนัก และจะต้องได้รับการพิจารณาและทบทวนจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของหน่วยงานอย่างเข้มงวด เนื่องจากจะต้องมีการเตรียมสาร การจัดเก็บรักษาสาร วิธีการและขนาดของสารที่ให้แก่สัตว์ทดลองอย่างเหมาะสม

2.3 วิธีการทางกายภาพ (Physical methods)

- การ Cervical dislocation เป็นการดึงให้กะโหลกของสัตว์ทดลองให้เคลื่อนออกจากตำแหน่งเดิม โดยปฏิบัติในระยะเวลาไม่เกิน 5 – 10 วินาที ซึ่งสามารถทำในหนูเมาส์หรือหนูแรทที่มีน้ำหนักตัวน้อยกว่า 200 กรัม
- การ Decapitation เป็นการตัดคอโดยใช้อุปกรณ์ที่มีใบมีดคม โดยปฏิบัติในระยะเวลาไม่เกิน 5 – 30 วินาที ในการตัดคอสัตว์ทดลอง

ทั้งนี้บุคลากรที่ปฏิบัติควรมีการฝึกปฏิบัติกับสัตว์ทดลองที่เสียชีวิตหรือทำการวางยาสลบสัตว์ทดลองก่อนจนเกิดความเชี่ยวชาญ จึงจะปฏิบัติกับสัตว์ทดลองที่มีชีวิตได้

3. วิธีการที่ไม่เป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน

3.1 สารเคมีสำหรับให้ผ่านการสูดดม (Inhaled agents)

- Nitrogen หรือ Argon

3.2 สารเคมีที่ไม่ใช่สารสำหรับการสูดดม (Non-inhaled agents)

- การใช้ Potassium chloride อย่างเดียว โดยการให้ทางเส้นเลือดดำหรือเข้าสู่หัวใจเพียงอย่างเดียว
- การใช้ Neuromuscular blocking agents เพียงอย่างเดียว
- การใช้ Barbiturates ร่วมกับ Neuromuscular blocking agents ร่วมกัน
- การใช้ Opioids, Urethane หรือ α -Chloralose เพียงอย่างเดียว

ขั้นตอนสุดท้ายของการการุณยฆาตสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ จะต้องตรวจสอบการเสียชีวิตของสัตว์อีกครั้ง โดยคลำที่บริเวณอก จะต้องไม่พบการกระพือมของช่องอก การเต้นของหัวใจ การตอบสนองของดวงตาหรือการขยับของกล้ามเนื้อ โดยสัตวแพทย์หรือเทคนิคการสัตวแพทย์

เอกสารอ้างอิง

การการุณยฆาตสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (Euthanasia). 2022. [online]. Available at: <https://culac.chula.ac.th/news/154573358575>, [accessed 9 September 2022].

American Veterinary Medical Association. 2020. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Illinois: American Veterinary Medical Association.

National Research Council of the National Academies. 2011. The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals 8th edition. Washington, D.C.: National Research Council of the National Academies.

การเก็บสำรองเซลล์เพาะเลี้ยง (Cryopreservation)

ในกระบวนการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยในระยะก่อนคลินิก วิธีการทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม เนื่องจากใช้เวลาในการทดสอบระยะเวลานาน มีการทดสอบได้หลากหลายความเข้มข้น และหลากหลายประเภทตัวอย่างทดสอบได้ในระยะเวลาเดียวกัน อีกทั้งยังสามารถวัดผลการทดสอบได้ทั้งเชิงปริมาณหรือเชิงคุณภาพ ขึ้นกับแต่ละวิธีการทดสอบ ซึ่งก่อนการทดสอบโดยใช้วิธีการทางเซลล์เพาะเลี้ยง ต้องมีการเพิ่มปริมาณเซลล์ให้เพียงพอต่อการทดสอบในแต่ละครั้ง และเพื่อการทดสอบในครั้งต่อไป นักวิจัยจึงมีการเก็บสำรองเซลล์ไว้ใช้ในแต่ละการทดสอบในระยะเวลาที่ต่างกัน

เซลล์ที่สามารถเก็บสำรองเซลล์โดยส่วนใหญ่เป็นเซลล์ที่สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างไม่จำกัด (เซลล์ไลน์) ซึ่งหลักการในการเก็บสำรองเซลล์ ลดการทำลายของเยื่อหุ้มเซลล์ให้มากที่สุด วิธีการคือ ลดอุณหภูมิเซลล์และสารทำให้เซลล์เยือกแข็งอย่างช้าๆ -1 ถึง -3 องศาเซลเซียสต่อนาที และเมื่อต้องการนำเซลล์ออกมาใช้งานควรรีบละลายเซลล์อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใน 3-5 นาที



ที่มา: ภัทรวดี เก่งกว่าสิงห์ ถ่ายภาพ (2567)

รูปที่ 1. แสดงการเก็บสำรองเซลล์ด้วยไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีการเก็บเป็นชั้นในกล่องบรรจุ

วิธีการเก็บสํารองเซลล์ เริ่มจากเพาะเลี้ยงเซลล์ให้มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 90 และไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่างๆ เพาะเลี้ยงเซลล์ให้อยู่ในระยะความหนาแน่นประมาณร้อยละ 80 และเปลี่ยนอาหารก่อนการเก็บสํารอง 24 ชั่วโมง เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์สำหรับแช่เซลล์เยือกแข็ง โดยสามารถใช้อาหารที่มีซีรัมร้อยละ 90 และมีสารช่วยปกป้องเซลล์จากการถูกความเย็นทำลาย คือ dimethyl sulphoxide (DMSO) หรือ glycerol ความเข้มข้นร้อยละ 10 ซึ่งมีคุณสมบัติในการเกิดผลึกที่ผิวเซลล์และส่งผลทำให้เซลล์บาดเจ็บและตายได้ และในปัจจุบันมีการผลิตอาหารสำหรับแช่เซลล์เยือกแข็งหลากหลายบริษัท ที่มีคุณสมบัติในการช่วยให้มีอัตราการรอดชีวิตจากการนำเซลล์เยือกแข็งมาใช้งานได้สูง ขึ้นกับแต่ละห้อง

ปฏิบัติการจะเลือกใช้ตามความเหมาะสม หลังจากที่มีการนำเซลล์ผสมรวมกับอาหารเลี้ยงเซลล์เพื่อใช้เก็บเซลล์เยือกแข็ง ทำการถ่ายใส่หลอดเก็บเซลล์ และเก็บในกล่องเก็บเซลล์ที่มีคุณสมบัติลดอุณหภูมิได้ -1 ถึง -3 องศาเซลเซียสต่อนาที และเก็บในตู้แช่แข็ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากต้องการเก็บสํารองเป็นเวลานานสามารถย้ายไปเก็บที่ไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียส สามารถเก็บสํารองในระยะยาวได้ โดยผู้ปฏิบัติงานต้องสังเกตปริมาณไนโตรเจนเหลวอยู่เสมอ เพื่อป้องกันการระเหยหมดและอาจจะทำให้เซลล์ที่เก็บสํารองเสียหายได้ ซึ่งในการปฏิบัติงานต้องสวมอุปกรณ์ในการป้องกันทุกครั้ง เพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน

เอกสารอ้างอิง

ภัทรวดี เก่งกว่าสิงห์. 2567. ถ่ายภาพ: เก็บสํารองเซลล์ด้วยไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีการเก็บเป็นชั้นในกล่องบรรจุ. ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

Coecke, S., et al. 2005. Guidance on Good Cell Culture Practice. *ATLA*, **33**, pp. 261-287.

International Organization for Standardization. 2009. Biological evaluation of medical devices–Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity. Geneva: International Organization for Standardization.