

แนวทางปฏิบัติสำหรับการทำกรณขมาตในสัตว์ทดลองชนิดหนูไมซ์ หนูแรท**หนูตะเภา และกระต่าย****(Guidelines for the Euthanasia in mice, rat, guinea pig and rabbit)**

การกรณขมาต (Euthanasia) เป็นการกระทำที่เปลี่ยนสภาพสัตว์จากสัตว์ปกติเป็นหมดความรู้สึกแล้วตายอย่างรวดเร็ว โดยปราศจากความเจ็บปวดทรมานและความกลัวด้วยวิธีที่ถูกต้อง เป็นที่ยอมรับตามหลักสากลและสอดคล้องกับหลักจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง สามารถเลือกใช้ได้หลายวิธี โดยพิจารณาจาก

- ความเหมาะสมกับชนิดสัตว์ อายุ ขนาด จำนวนและสุขภาพของสัตว์ทดลอง
- ตรงกับความตองการตามจุดมุ่งหมายของการศึกษาทดลองและไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผลการทดลอง
- มีผลน้อยทางด้านจิตใจต่อผู้ปฏิบัติและผู้พบเห็น
- เป็นวิธีที่ปลอดภัยกับผู้ปฏิบัติ
- เป็นวิธีที่ง่ายและไม่แพง

ทั้งนี้ผู้ที่ปฏิบัติกรณขมาตจะต้องได้รับการอบรมวิธีการที่ถูกต้องและฝึกฝนเป็นอย่างดี

วิธีปฏิบัติซึ่งเป็นที่ยอมรับสำหรับการทำกรณขมาตในสัตว์ฟันแทะ (Approved Animal Euthanasia for Rodents)**1. การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์* (Carbon dioxide, CO₂) (*วิธีกรณขมาตโดยการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นวิธีที่ยอมรับได้แบบมีเงื่อนไข อ้างอิงตาม AVMA 2013 edition)**

1.1 การทำให้สัตว์ได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ทางเดินหายใจโดยตรง โดยใช้อุปกรณ์ชนิดหน้ากากและกระบอกสูบ เป็นวิธีที่ใช้ได้กับสัตว์ทุกชนิดที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 500 กรัม

1.2 การให้สัตว์ได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้โถสลบสัตว์ (chamber) ที่มีฝาปิดด้านบน โดยเมื่อวางสัตว์ในโถสลบสัตว์แล้วค่อย ๆ ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยให้อัตราการไหลของก๊าซ อยู่ที่ 10%-30% ปริมาตร/นาทึ เพื่อทำให้สัตว์สลบ และให้ยังคงปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไปอีกอย่างน้อย 1 นาที หลังจากตรวจไม่พบสัญญาณชีพจรของสัตว์

1.2.1 หากจำเป็นต้องทำกรณขมาตสัตว์หลายตัวพร้อมกัน สัตว์ที่อยู่ในโถสลบสัตว์ควรเป็นสัตว์สายพันธุ์เดียวกัน และหากจำเป็นสัตว์ควรถูกควบคุมบังคับเพื่อไม่ให้ทำร้ายตัวเองหรือสัตว์ตัวอื่น

1.2.2 สำหรับสัตว์ที่ยังไม่โตเต็มที่ (immature animals) ต้องใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในระดับความเข้มข้นสูง และให้ระยะเวลาาน เพื่อให้มั่นใจว่าสัตว์ตาย

1.2.3 กรณีต้องใช้โถสลบสัตว์หลายครั้ง ต้องทำความสะอาดโถสลบสัตว์เพื่อลดความเครียดของสัตว์ชุดใหม่จากกลิ่นของสัตว์ชุดเดิม หากเป็นไปได้ควรกรรมฆาตสัตว์ในกรงที่ใช้เลี้ยงสัตว์ (home cage)

1.3 ไม่แนะนำให้สัตว์ได้รับก๊าซออกซิเจนร่วมกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Oxygen administrated with CO₂)

การทำการุณฆาตด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้ อาจจะทำวิธีการต่อไปนี้ร่วมด้วยเพื่อให้มั่นใจว่าสัตว์ตายจริง แต่ต้องทำหลังจากที่สัตว์สลบและหยุดหายใจแล้วเท่านั้น

- หลังจากที่สัตว์หยุดหายใจแล้ว ปล่อยให้สัตว์ได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อเนื่องไปอีก 5-30 นาที เนื่องจากลูกสัตว์ที่เกิดใหม่ทุกชนิดจะสามารถทนต่อการได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้นานกว่าสัตว์โตเต็มวัย จึงต้องเพิ่มระยะเวลาเป็น 2-3 เท่า
- การเจาะเลือดหมดตัวจากหัวใจ (Exsanguination)
- การทำให้กระดูกคอเคลื่อน (Cervical dislocation) ในสัตว์น้ำหนักน้อยกว่า 200 กรัม
- การเปิดช่องอก (Thoracotomy)

2. การใช้ยาสลบ

โดยการให้สัตว์ดมยาสลบชนิด gas หรือโดยการฉีดยาสลบ ไม่แนะนำให้ใช้ ether หากไม่มีการควบคุมการแพร่กระจายของสารที่ดีพอ เพราะเป็นสารไวไฟและเป็นอันตรายต่อมนุษย์

การใช้ยาสลบกลุ่ม Barbiturates เช่น pentobarbital หรือ สารประกอบของ barbiturate สามารถใช้ได้กับสัตว์ทุกชนิด จำเป็นต้องทำบัญชีควบคุมการใช้เนื่องจากเป็นยาควบคุม ปริมาณการใช้ยาสลบกลุ่มนี้เพื่อการุณฆาตต้องเพิ่มเป็น 3 เท่าของปริมาณที่ใช้ในการสลบสัตว์

การทำการุณฆาตด้วยวิธีนี้ อาจจะทำวิธีการต่อไปนี้ร่วมด้วย เพื่อให้มั่นใจว่าสัตว์ตายจริง แต่ต้องทำหลังจากที่สัตว์สลบและหยุดหายใจแล้วเท่านั้น

- หลังจากที่สัตว์หยุดหายใจแล้ว ปล่อยให้สัตว์ได้รับยาสลบ ต่อเนื่องไปอีก 5-30 นาที เนื่องจากลูกสัตว์ที่เกิดใหม่ทุกชนิด จะสามารถทนต่อภาวะขาดออกซิเจนได้นานกว่าสัตว์โตเต็มวัย และต้องเพิ่มระยะเวลาเป็น 2-3 เท่า
- การเจาะเลือดหมดตัวจากหัวใจ (Exsanguination)
- การทำให้กระดูกคอเคลื่อน (Cervical dislocation) ในสัตว์น้ำหนักน้อยกว่า 200 กรัม

3. การใช้วิธีทางกายภาพ (Physical Methods of Euthanasia)

- 3.1 **Cervical dislocation** เป็นการเคลื่อนกระดูกข้อต่อคอกับกะโหลกศีรษะให้หลุดจากกัน ใช้สำหรับหนูไมซ์และหนูแรทขนาดเล็ก (น้ำหนักน้อยกว่า 125 กรัม) ควรให้ยาซึมหรือยาสลบก่อนทำการการุณยฆาตแม้ว่าจะไม่จำเป็นก็ตาม ถ้าไม่มีการให้ยาสลบหรือยาซึมก่อน ผู้ปฏิบัติต้องแสดงเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ถึงความจำเป็นที่ต้องปฏิบัติด้วยวิธีนี้มีวิธีการทำดังนี้ จับหนูที่หาง วางบนพื้นที่สัตว์สามารถเกาะยึดไว้ได้ เมื่อบางลงสัตว์จะรี้งตัวต้านแรงดึง จังหวะนี้ให้ใช้ forceps หรืออะไรก็ได้ที่พอดีกับช่วงคอของสัตว์และแข็งแรง กดทับที่กระดูกคอในลักษณะขวางและออกแรงดึงที่โคนหางอย่างรวดเร็ว สัตว์จะตายทันทีโดยปราศจากความเจ็บปวดทรมาน
- 3.2 **Decapitation** เป็นการตัดคอสัตว์ให้ขาดจากกัน ซึ่งอาจจะทารุณสำหรับผู้พบเห็น แต่เป็นการทำให้ Blinking reflex หดไปทันที จึงต้องใช้อุปกรณ์พิเศษเพื่อให้ปฏิบัติการได้อย่างรวดเร็ว และควรให้ยาซึมหรือยาสลบก่อนทำการการุณยฆาตแม้ว่าจะไม่จำเป็นก็ตาม ถ้าไม่มีการให้ยาสลบหรือยาซึมก่อนผู้ปฏิบัติต้องแสดงเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ถึงความจำเป็นที่ต้องปฏิบัติด้วยวิธีนั้น

โดยสรุปแล้ว การทำให้สัตว์ตายโดยวิธีที่ไม่ทรมานสามารถดำเนินการได้ดังต่อไปนี้

หนูไมซ์ สามารถเลือกใช้วิธีการดังนี้

1. ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์* (ดูขนาดของกรงและความเร็วลมที่ใช้จากตารางด้านล่าง) ใช้เวลาประมาณ 1.5 - 2 นาที การบรรจุสัตว์ลงในโถสลบสัตว์ไม่ควรให้มากกว่า 1/3 ของความสูงของโถสลบสัตว์
2. ใช้ยาสลบชนิดฉีด คือ pentobarbitone sodium ขนาด 150 -200 mg/kg ; IP
3. การทำให้กระดูกคอเคลื่อน (Cervical dislocation) ด้วยปากคีบขนาดใหญ่
4. สำหรับลูกหนูคูนม (Suckling mice) สามารถใช้วิธีตัดหลอดเลือดที่คอ
5. การเจาะเลือดหมดตัวจากหัวใจ (Exanguination) ให้กระทำหลังจากวางยาสลบสัตว์แล้ว

หนูแรท สามารถเลือกใช้วิธีการดังนี้

1. ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์* (ดูขนาดของกรงและความเร็วลมที่ใช้จากตารางด้านล่าง) ใช้เวลาประมาณ 5 นาที การบรรจุสัตว์ลงในโถสลบสัตว์ไม่ควรให้มากกว่า 1/3 ของความสูงของโถสลบสัตว์
2. ใช้ยาสลบชนิดฉีด คือ pentobarbitone sodium ขนาด 150 -200 mg/kg ; IP
3. สำหรับหนูแรทที่มีขนาดน้ำหนักน้อยกว่า 250 กรัม สามารถใช้วิธี Cervical dislocation ด้วยปากคีบขนาดใหญ่
4. การเจาะเลือดหมดตัวจากหัวใจ (Exanguination) ให้กระทำหลังจากวางยาสลบสัตว์แล้ว

หนูตะเภา สามารถเลือกใช้วิธีการดังนี้

1. ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์* (ดูขนาดของกรงและความเร็วลมที่ใช้จากตารางด้านล่าง) ใช้เวลาประมาณ 6.5 - 9 นาที การบรรจุสัตว์ลงในโถสลบสัตว์ไม่ควรให้มากกว่า 1/3 ของความสูงของโถสลบสัตว์
2. ใช้ยาสลบชนิดฉีดคือ pentobarbitone sodium ขนาด 150 -200 mg/kg ; IP
3. การเจาะเลือดหมดจากหัวใจ (Exanguination) ให้กระทำหลังจากวางยาสลบสัตว์แล้ว

กระต่าย สามารถเลือกใช้วิธีการดังนี้

1. ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์* (ดูขนาดของกรงและความเร็วลมที่ใช้จากตารางด้านล่าง) ใช้เวลาประมาณ 1 2 นาที การบรรจุสัตว์ลงในโถสลบสัตว์ไม่ควรให้มากกว่า 1/3 ของความสูงของโถสลบสัตว์
2. ใช้ยาสลบชนิดฉีดคือ pentobarbitone sodium ขนาด 100 mg/kg ; IV
3. การเจาะเลือดหมดตัวจากหัวใจ (Exanguination) ให้กระทำหลังจากวางยาสลบสัตว์แล้ว

ตารางประเภทกรง ขนาดกรง และความเร็วลมที่ใช้ในการการุณยฆาตสัตว์ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ประเภทของกรง	ขนาดกรง (cm)	ความเร็วลมที่ใช้ (m/s)
กรง mice	21 x 37 x 13	0.82-2.55
กรง IVC mice	16 x 32 x 13	0.56-1.71
กรง Rat	20 x 41 x 19	1.38-4.08
กรง IVC Rat รุ่นเก่า	20 x 31 x 18	0.92-2.81
กรง IVC Rat รุ่นใหม่	21 x 36 x 18	1.17-3.57
กรง Isocage	15 x 32 x 13	0.53-1.58
กรงสำหรับกำจัดสัตว์ขนาดเล็ก	16.5 x 26.5 x 12	0.44-1.33
กรงสำหรับกำจัดสัตว์ขนาดใหญ่	24 x 47 x 20	1.94-5.87

เอกสารอ้างอิง

1. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition
2. AVMA Guidelines on Euthanasia (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia), June 2007
3. Smith, W, Harrap, SB. Behavioural and cardiovascular responses of rats to euthanasia using carbon dioxide gas. Lab.Animals 1997, 31:337-346.

4. Conlee, K.M. M.L. Stephens, A.N. Rowan, and L.A. King Carbon dioxide for euthanasia: concerns regarding pain and distress, with special reference to mice and rats. *Lab. Animals* 2005, 39:137-161
5. Close, B., K. Banister, V. Baumans, E.M. Bernoth, N. Bromage, J. Bunyan, W. Erhardt, P. Flecknell, N.G.H. Hackbarth, D. Morton, and C. Warwick. 1997. Recommendation for euthanasia of experimental animal: Part 2. *Lab. Anim.* 31:14-45