

แนวทางการปฏิบัติสำหรับการเจาะเก็บเลือดแบบยังมีชีวิตจากหนูไมซ์และหนูแรท (Guidelines for Survival Bleeding of Mice and Rats)

แนวทางการปฏิบัตินี้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อช่วยนักวิจัยที่ใช้สัตว์ทดลองเลือกใช้เทคนิคปฏิบัติการเจาะเก็บเลือดแบบยังมีชีวิตจากสัตว์ฟันแทะ ซึ่งทำให้สัตว์ได้รับความเจ็บปวดทรมานน้อยที่สุด ในขณะที่ยังคงตอบสนองความต้องการของการวิจัยที่ออกแบบไว้ได้

ปัจจัยที่ใช้พิจารณาเลือกเทคนิคการเจาะเก็บเลือดประกอบด้วย

- ชนิดของสัตว์ที่ต้องการเจาะเก็บเลือด
- ขนาดของสัตว์
- ประเภทของตัวอย่างที่ต้องการ (ซีรัม เซลล์ทั้งหมด หรืออื่นๆ)
- คุณภาพของตัวอย่างที่ต้องการ (sterility, tissue fluid contamination, อื่นๆ)
- ปริมาณเลือดที่ต้องการ
- ความถี่ในการเจาะเก็บเลือด
- สุขภาพสัตว์
- การฝึกอบรมและประสบการณ์ของผู้ปฏิบัติ

ทั้งปริมาณและความถี่ในการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดขึ้นอยู่กับปริมาณการไหลเวียนของเลือด ปริมาณเลือดโดยประมาณของหนูไมซ์คือ 80 มล.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. และหนูแรทคือ 70 มล./กก. (ดูเพิ่มเติมในตารางที่ I และ II)

แนวทางปฏิบัติดังต่อไปนี้จะอ้างถึงวิธีการเก็บเลือดที่พบบ่อยได้แก่ การตัดหาง การเก็บจากเบ้าตา (Retro-orbital) ขากรรไกร (Mandibular) และจากเส้นเลือดดำใหญ่ที่ขาหน้า (Saphenous) สำหรับวิธีการเก็บเลือดจากเจาะหัวใจ (cardiac puncture) หรือการตัดเส้นเลือดแดง (axillary cut down) จะได้รับการพิจารณาให้ใช้หลังสุดและต้องทำเฉพาะเมื่อสัตว์สลบแล้ว สิ่งสำคัญที่ควรทราบคือตัวอย่างที่เก็บได้จากต่างจุดเจาะเก็บเลือดอาจให้ค่าทางพยาธิคลินิกแตกต่างกันได้

ก. การเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำด้านข้างที่หาง หรือ จากเส้นเลือดแดงที่ข้างท้องหรือหลัง (Lateral Tail Vein or Ventral/Dorsal Artery)

- สามารถใช้ได้ทั้งในหนูแรทและหนูไมซ์โดยเจาะเข้าไปในหลอดเลือดหรือโดยการตัดหาง
- ปริมาณเลือดที่ได้รับ หนูไมซ์—เล็กน้อยถึงปานกลาง
หนูแรท—ปานกลาง
- การเก็บเลือดโดยใช้เข็มจะช่วยลดการปนเปื้อนที่จะเกิดขึ้นได้แต่ก็เป็นวิธีที่ทำได้ยากในหนูไมซ์

- ตัวอย่างเลือดที่ได้จากวิธีการตัดหางเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายในหนูทั้งสองชนิดแต่ก็จะทำให้ได้คุณภาพเลือดที่แตกต่างกันเนื่องจากอาจมีชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อหรือผิวหนังปนมากับเลือด
- คุณภาพเลือดจะลดลงหากใช้เวลานานในการเก็บและ tail stroking
- สามารถทำการเก็บซ้ำได้
- ไม่ทำให้บาดเจ็บมาก
- สามารถปฏิบัติได้โดยไม่ต้องให้ยานาสลบแต่ต้องมีวิธีการห้ามเลือด
- โดยส่วนใหญ่จะให้ความร้อนที่หางหนูโดยใช้หลอดไฟหรือกดโดยน้ำอุ่นๆ เพื่อเพิ่มปริมาณเลือด
- การเก็บเลือดจากหลอดเลือดแดงใหญ่ (Artery) จะให้ปริมาณเลือดมากและทำได้รวดเร็วแต่ต้องดูแลในการห้ามเลือดสัตว์อย่างดี
- วิธีเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่หางโดยใช้เข็มเจาะจะใช้ในกรณีที่ต้องการปริมาณเลือดที่น้อยมากๆ

ข. วิธีเก็บเลือดจากเบ้าตา (Retro-orbital)

- สามารถทำได้ในหนูไมซ์โดยใช้หลอดแก้วเจาะทะลุเข้าไปในโพรงเบ้าตา
- เจ้าหน้าที่ปฏิบัติต้องมีความชำนาญมาก
- ปริมาณเลือดที่ได้—ปานกลางถึงมาก
- ห้ามไม่ให้เก็บเลือดซ้ำจากตาข้างเดิม หลังจากเก็บเลือดจากตาแต่ละข้างแล้วการเก็บเลือดอีกในภายหลังจะเก็บจากหลอดเลือดดำใหญ่บริเวณขา (saphenous) หรือบริเวณคอ (mandibular)
- สำหรับผู้ปฏิบัติการมือใหม่ที่ยังไม่มีทักษะด้านเก็บเลือดวิธีการเก็บเลือดจากเบ้าตาน่าจะเป็นวิธีที่มีความยุ่งยากมากกว่าวิธีเก็บเลือดวิธีอื่น เนื่องจาก
 - เลือดและความดันเลือดที่มีมากในตาจะทำให้เกิดเลือดออกที่เบ้าตา
 - เกิดแผลที่กระจกตา (corneal ulceration), กระจกตาอักเสบ (keratitis), เกิดการแตกหรือฉีกของลูกตาหรือเนื้อเยื่อตาอักเสบจึงเกิดจากความดันในตาเพื่อดำเนินการไหลของเลือด
 - ทำลายประสาทตาและโครงสร้างอื่นๆภายในเบ้าตาซึ่งทำให้สัตว์บกพร่องในการมองเห็นหรือตาบอด
 - การปีปเปิดอาจทำให้กระดูกบริเวณเบ้าตาแตกร้าวและทำลายประสาท การเจาะผ่านทะลุเข้าไปในลูกตาจะทำให้เสีย vitreous humour
- บุคลากรที่มีความชำนาญแล้วสามารถเก็บเลือดวิธีนี้ได้โดยไม่ต้องให้ยานาสลบแต่แนะนำว่าควรทำให้สัตว์สลบก่อนเก็บเลือดจากเบ้าตา
- ต้องมีการดูแลอย่างดีเพื่อไม่ให้เลือดไหลออกมาอีกหลังการเก็บเลือด
- ไม่อนุญาตให้ใช้วิธีเก็บเลือดจากเบ้าตาในหนูแรท

- หากเลือกใช้วิธีเก็บเลือดจากเข่าเป็นวิธีสุดท้าย (ปริมาณตัวอย่างมากกว่า 0.5 มล.) ต้องวางยาสลบสัตว์

ค. วิธีเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำหรือแดงบริเวณคอ (Mandibular Vein/Artery)

- สามารถใช้ได้ทั้งหนูแรทและหนูไมซ์โดยแทงเข็มเข้าไปที่หลอดเลือดดำหรือแดงที่บริเวณคอ
- ปริมาณเลือดที่ได้—ปานกลางถึงมาก
- สามารถเก็บเลือดซ้ำได้
- เลือดมีคุณภาพดี
- เป็นวิธีที่ปฏิบัติโดยทั่วไปไม่ต้องให้ยานาสลบแต่ต้องมีวิธีการห้ามเลือดให้สัตว์
- การเก็บเลือดจากหลอดเลือดแดงจะได้เลือดปริมาณมากและเร็ว
- การเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำจะได้เลือดปริมาณปานกลางและทำได้ช้ากว่า
- ควรกดบริเวณที่ดัดเข็มออกประมาณ 30 วินาทีเพื่อห้ามเลือด

ง. วิธีเก็บเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหน้าขา/ด้านข้างฝ่าเท้า (Saphenous/Lateral Tarsal)

- สามารถใช้ได้ทั้งหนูแรทและหนูไมซ์โดยแทงเข็มเข้าไปที่หลอดเลือดดำบริเวณหน้าขา
- ปริมาณเลือดที่ได้—น้อยถึงปานกลาง
- สามารถเก็บเลือดซ้ำได้
- ตัวอย่างมีคุณภาพแตกต่างกัน
- เป็นวิธีที่ปฏิบัติโดยทั่วไปไม่ต้องให้ยาสลบแต่ต้องมีวิธีการห้ามเลือดให้สัตว์
- ใช้เวลามากกว่าวิธีอื่นเนื่องจากเวลาที่ต้องใช้เพื่อเตรียมการเจาะเลือด
- หลังจากการฝึกรอบมต้องให้มีการฝึกปฏิบัติมากกว่าวิธีเก็บจากหางหรือเข่า เพื่อฝึกความชำนาญในการถอนเข็ม ใช้เวลาในการห้ามเลือดและการเตรียมเจาะเลือดนานอาจทำให้สัตว์เครียดเมื่อปฏิบัติโดยไม่มีการวางยาสลบ
- หลังจากเก็บเลือดแล้วควรทำเครื่องหมายแจ้งชั่วคราวว่าสัตว์ถูกเก็บเลือดจากบริเวณหน้าขา
- ต้องให้การดูแลหลังการเจาะเก็บเลือดเพื่อห้ามเลือด

ตารางที่ I ปริมาณการเก็บตัวอย่างเลือดในหนูไมซ์

น้ำหนักตัว	10% ของเลือดที่เจาะได้ = ปริมาณตัวอย่าง	13% ของเลือดที่เจาะได้ = ปริมาณตัวอย่าง	15% ของเลือดที่เจาะได้ = ปริมาณตัวอย่าง
20 g	160µl	200µl	240µl
30 g	240µl	300µl	380µl
40 g	320µl	400µl	480µl
ความถี่ในการเก็บเลือด	ทุกๆ 10 วัน	ทุก 2 สัปดาห์	ทุก 4 สัปดาห์

ตารางที่ II ปริมาณการเก็บตัวอย่างเลือดในหนูแรท

น้ำหนักตัว	10% ของเลือดที่เจาะได้ = ปริมาณตัวอย่าง	13% ของเลือดที่เจาะได้ = ปริมาณตัวอย่าง	15% ของเลือดที่เจาะได้ = ปริมาณตัวอย่าง
100 g	0.7 ml	0.91 ml	1.05 ml
200 g	1.4 ml	1.82 ml	2.1 ml
300 g	2.1 ml	2.73 ml	3.15 ml
ความถี่ในการเก็บเลือด	ทุกๆ 10 วัน	ทุก 2 สัปดาห์	ทุก 4 สัปดาห์

หมายเหตุ หากต้องการเก็บเลือดมากกว่าที่กำหนดต้องได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง มีการให้สารทดแทนในรูปแบบของ warm saline (SQ) ในปริมาณที่เท่ากับเลือดที่เจาะเก็บ

ตารางที่ III สรุปเทคนิคที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือด

วิธี	ให้ยาสลบ		ความเร็ว		คุณภาพตัวอย่าง		การเก็บตัวอย่างซ้ำ		ปริมาณที่ได้ (ประมาณ)		โอกาสของการเกิดภาวะแทรกซ้อน	
	หนูไมซ์	หนูแรท	หนูไมซ์	หนูแรท	หนูไมซ์	หนูแรท	หนูไมซ์	หนูแรท	หนูไมซ์	หนูแรท	หนูไมซ์	หนูแรท
เส้นเลือดดำที่หาง	ไม่	ไม่	ปานกลาง	ปานกลาง	พอใช้	ดี	ได้	-	น้อย (50ul)	น้อย (0.2 ml)	น้อย	น้อย
เส้นเลือดแดงที่หาง	ไม่	ไม่	เร็ว	เร็ว	ดี	ดีมาก	ได้	ได้ดีมาก	ปานกลาง (100ul)	ปานกลาง (0.4 ml)	น้อย	น้อย
เก็บจากเบ้าตา	ไม่	ไม่ระบุน	เร็ว	ไม่ระบุน	ดีมาก	ไม่อนุญาต	ไม่ได้	ไม่อนุญาต	ปานกลาง-มาก (200ul)	ไม่อนุญาต	ปานกลาง-สูง	ไม่อนุญาต
หน้าขา	ไม่	ไม่	ปานกลาง	ปานกลาง	ดี	ดี	ได้	ได้	น้อย-ปานกลาง (100ul)	น้อย-ปานกลาง (0.4ml)	น้อย	น้อย
เส้นเลือดดำที่คอ	ไม่	ไม่	ช้า-ปานกลาง	ช้า-ปานกลาง	พอใช้-ดี	พอใช้-ดี	ได้	ได้	น้อย-ปานกลาง (100ul)	น้อย-ปานกลาง (0.4ml)	ปานกลาง	ปานกลาง
เส้นเลือดแดงที่คอ	ไม่	ไม่	เร็วมาก	เร็วมาก	ดีมาก	ดีมาก	ได้	ได้	มาก (200ul)	มาก (0.5ml)	ปานกลาง	ปานกลาง

เอกสารอ้างอิง

1. Perspectives on Animal Use Biological Effects of Blood Loss: Implications for Sampling Volumes and Techniques. In: ILAR News (1989), 31(4).
2. Removal of blood from laboratory mammals and birds: First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint working group on refinement. Lab Animal (1993) 27, 1-22.
3. J. Donovan and P. Brown. Blood Collection. In: Current Protocols in Immunology, (eds: A. Kruisbeek et al), John Wiley & Sons, New York, NY, USA, Unit 1.7.
4. H. van Herck et al., Orbital sinus blood sampling in rats as performed by different technicians: the influence of technique and expertise. Lab Animal (1998) 32, 377-386.
5. <http://www.eslav.org/efpia.htm>