

แนวทางปฏิบัติสำหรับการพิจารณาจุดสิ้นสุดการทดลองในการศึกษาทดลองในสัตว์ (Guidelines for endpoints in animal study proposals)

การศึกษาวิจัยอาจมีกระบวนการที่เกี่ยวข้องซึ่งอาจทำให้สัตว์เกิดอาการทางคลินิกหรือเจ็บป่วยหรือตาย การพิจารณาให้การตายเป็นจุดสิ้นสุดการทดลองเพียงอย่างเดียวจึงไม่สามารถยอมรับได้เนื่องจากการที่สัตว์เจ็บป่วยและทรมาณอาจทำให้ผลการทดลองเปลี่ยนแปลงไป การคัดเลือกจุดสิ้นสุดการทดลองที่เหมาะสมต้องพิจารณาถึงความต้องการทางวิทยาศาสตร์อย่างละเอียดรอบคอบรวมทั้งคาดการณ์ว่าผลการทดลองที่คาดหวังและผลที่ไม่พึงประสงค์อันอาจส่งผลกระทบต่อสัตว์ในแง่ของความเจ็บปวดทรมาณ และการเจ็บป่วย รวมทั้งต้องคำนึงถึงช่วงเวลาที่เกิดผลกระทบดังกล่าวอาจเกิดขึ้น ซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตัวชี้วัด

การพิจารณาคัดเลือกจุดสิ้นสุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพนั้น ผู้ปฏิบัติต้องได้รับการฝึกฝนเป็นอย่างดีในการสังเกตอาการทั่วไปและอาการที่มีลักษณะจำเพาะต่อการทดลองนั้น ๆ ในช่วงเวลาที่เหมาะสม การศึกษาวิจัยที่ดีจะสิ้นสุดเมื่อสัตว์เริ่มแสดงอาการทางคลินิกของโรคซึ่งพิจารณาเป็นจุดสิ้นสุดการทดลองแล้วบรรลุวัตถุประสงค์การทดลอง แต่บางครั้งการทดลองถูกออกแบบให้ศึกษาอาการที่ระยะต่าง ๆ ของโรค กรณีเช่นนี้ ข้อเสนอโครงการขอใช้สัตว์นั้นต้องระบุขั้นตอนการดำเนินโรคสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกและระบุจุดสิ้นสุดการทดลองที่เหมาะสมด้วย

ข้อเสนอโครงการวิจัยที่เลือกใช้ภาวะสัตว์ป่วย (Morbidity) เป็นจุดสิ้นสุดของการทดลอง ต้องระบุเรื่องต่างๆ เหล่านี้ไว้ในข้อเสนอโครงการขอใช้สัตว์

1. หลักการและเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ที่นำมาพิจารณาจุดสิ้นสุดการทดลอง

1.1 เอกสารที่ควรนำมาพิจารณา ประกอบด้วย

1.1.1 การประเมินสภาพสัตว์ 5 ประการ ได้แก่ น้ำหนักตัว ลักษณะทางกายที่ปรากฏ อาการทางคลินิกที่ประเมินได้ พฤติกรรมสัตว์ที่ไม่ถูกกระตุ้นให้ก้าวร้าว และการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอก

1.1.2 การสังเกตอาการทางคลินิกในสัตว์ที่ใช้ในงานวิจัยด้านมะเร็งและพิษวิทยา (ดูในตารางแนบท้าย)

1.2 อาการทางคลินิกที่เป็นส่วนประกอบของจุดสิ้นสุดการทดลอง จะขึ้นอยู่กับความรุนแรงและระยะเวลา แต่ไม่ได้จำกัดเฉพาะหัวข้อเหล่านี้

1.2.1 น้ำหนักตัวลดลง 20% (สัตว์ผอมลงหรือน้ำหนักตัวลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลา 2-4 วัน หรือมีน้ำหนักตัวลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงเวลา 2-3 สัปดาห์)

1.2.2 ท้องร่วงและสัตว์มีอาการอ่อนเพลีย

1.2.3 อาการผิวหนังอักเสบที่ความรุนแรงมากขึ้น

1.2.4 ขนหยาบ ฟุ หลัง โกง เชื่องซึม และนอนนิ่งตลอดเวลา

- 1.2.5 ไอ จาม หายใจลำบาก มีน้ำมูก
- 1.2.6 ดีซ่าน และ/หรือ โลหิตจาง
- 1.2.7 แสดงอาการทางระบบประสาท (ชักเป็นระยะ เป็นอัมพาต)
- 1.2.8 มีเลือดออกตามช่องเปิดของร่างกาย
- 1.2.9 ทำให้ตัวเองบาดเจ็บ (self-induced trauma)
- 1.2.10 ภาวะต่าง ๆ ที่ทำให้สัตว์กินอาหารหรือดื่มน้ำได้ยาก เป็นต้นว่าภาวะที่สัตว์เคลื่อนไหวตัวได้ยากลำบาก
- 1.2.11 อุณหภูมิร่างกายเพิ่มขึ้นหรือลดลงมาก
- 1.2.12 อาการตาโปน
- 1.2.13 มีการหย่อนคล้อยที่เกิดจากเนื้อเยื่อถูกทำลายและเซลล์ตาย
- 1.3 ลักษณะอาการเพิ่มเติมในการศึกษาเกี่ยวกับเนื้องอกที่อาจพิจารณาเป็นจุดสิ้นสุดการทดลองร่วมด้วย แต่ไม่ได้จำกัดเฉพาะหัวข้อเหล่านี้
 - 1.3.1 เนื้องอกที่มีขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 20 มิลลิเมตรในหนูไม่ซ้ และ 40 มิลลิเมตรในหนูแรท) ต้องระบุเหตุผลความจำเป็นในการทำให้เกิดเนื้องอกขนาดใหญ่มากกว่าที่กำหนดและต้องได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง
 - 1.3.2 เนื้องอกที่เป็นแผลเปื่อยซึ่งต่อมาอาจเป็นแผลเนื้อตายหรือติดเชื้อ
 - 1.3.3 เมื่อกำหนดเนื้องอกด้วยมือ สัตว์แสดงอาการเจ็บปวด (ส่งเสียง สะอื้น ถอยหนี)
 - 1.3.4 เนื้องอกที่ทำให้สัตว์กินอาหาร ดื่มน้ำ หรือเคลื่อนที่ลำบาก
- 1.4 อาการที่ไม่ได้คาดไว้ก่อนว่าสัตว์กำลังจะตาย ร่างกายสัตว์ขาดสารอาหาร หรือสัตว์ไม่สามารถกินน้ำหรืออาหาร
2. วางแผนการสังเกตอาการสัตว์ทั้งก่อนและหลังการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น โดยจัดให้มีการดูแลและเฝ้าระวังอาการสัตว์ที่เหมาะสม ในช่วงวันหยุดอาจต้องให้นักวิจัยผู้เกี่ยวข้องมาช่วยเสริมเจ้าหน้าที่และสัตวแพทย์ที่ดูแลเลี้ยงสัตว์
3. สำหรับการศึกษารื่องการลดขนาดเนื้องอก ควรมีการพิจารณาเรื่องการอาการแสดงของสัตว์ซึ่งเกี่ยวกับแผลเปื่อยและ/หรือเนื้องอกที่เป็นเนื้อตาย โดยต้องแยกสัตว์ที่มีแผลและ/หรือมีเนื้อตายออกทันทีและนำไปเลี้ยงในกรงเดี่ยวจนกว่าการรักษาเนื้องอกจะเสร็จสิ้น บัตรบันทึกข้อมูลสัตว์ควรมีไว้ที่หน้ากรงเดี่ยวแต่ละกรงและมีข้อมูลเนื้องอก นักวิจัยผู้เกี่ยวข้องต้องรับผิดชอบดูแลให้การทดลองเป็นไปตามที่ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง โดยพิจารณาจาก
 - 3.1 กำหนดช่วงเวลาที่ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์
 - 3.2 จุดสิ้นสุดการทดลองที่อธิบายไว้ในข้อเสนอโครงการขอใช้สัตว์

- 3.3 แนวทางการปฏิบัติเรื่องการทดสอบเกี่ยวกับเนื้องอก (Neoplasia)
- 3.4 แนวทางปฏิบัติเรื่องจุดสิ้นสุดการทดลองในการศึกษาทดลองในสัตว์ของคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง เช่น การทำการุณยฆาตหนูหากเนื้องอกเริ่มติดเชื้อและมีอาการแทรกซ้อน

ข้อเสนอโครงการวิจัยที่เลือกใช้ภาวะสัตว์ใกล้ตาย (Moribundity) เป็นจุดสิ้นสุดของการทดลอง ได้แก่ การศึกษาด้านโรคติดเชื้อ การศึกษายาและพิษวิทยา และการวิจัยมะเร็ง ต้องระบุเรื่องต่าง ๆ เหล่านี้ไว้ในข้อเสนอโครงการขอใช้สัตว์

1. หลักการและเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ในการพิจารณาจุดสิ้นสุดของการทดลอง ประกอบด้วย
 - 1.1 มีการพิจารณาทางเลือกอื่น (alternative) หรือไม่ เหตุใดจึงไม่สามารถใช้ภาวะสัตว์ป่วย (Moribundity) เป็นจุดสิ้นสุดการทดลอง และหากเป็นไปได้จะใช้ทางเลือกอื่นได้อย่างไร
 - 1.2 เหตุใดจึงไม่สามารถใช้วิธีการความเจ็บปวดต่อสัตว์
 - 1.3 จำนวนสัตว์น้อยที่สุดที่ต้องใช้พร้อมเหตุผล
 - 1.4 ระยะเวลาที่คาดว่าสัตว์อยู่ในภาวะใกล้ตายก่อนการทำการุณยฆาต
2. วางแผนสำหรับการดูแลและเฝ้าสังเกตสัตว์
 - 2.1 สัตว์ทดลองซึ่งอยู่ในภาวะใกล้ตายต้องได้รับการเฝ้าสังเกตทุกวันเป็นอย่างน้อย โดยบุคลากรที่มีประสบการณ์ในการสังเกตสัตว์ป่วย บาดเจ็บ หรือมีพฤติกรรมผิดปกติ
 - 2.2 ต้องเพิ่มความถี่ในการสังเกตสัตว์มากขึ้น หากสัตว์แสดงอาการป่วย บาดเจ็บ มีพฤติกรรมผิดปกติ หรืออาการอื่นที่ชี้ให้เห็นว่าสัตว์อยู่ในภาวะใกล้ตาย ในช่วงวันหยุด ต้องให้นักวิจัยผู้เกี่ยวข้องมาช่วยเสริมในการสังเกตร่วมกับเจ้าหน้าที่ดูแลและสัตวแพทย์ นอกจากนี้บุคลากรที่ได้รับมอบหมายและสัตวแพทย์ควรได้รับแจ้งทันทีเมื่อสัตว์แสดงอาการของโรค เพื่อตรวจประเมินสภาพสัตว์รวมทั้งมีการกำหนดแผนปฏิบัติการไว้รองรับ
 - 2.3 ต้องมีการพิจารณาแยกสัตว์ไว้ในกรงเดี่ยวเมื่อสัตว์อยู่ในสภาพบาดเจ็บ
 - 2.4 พิจารณาให้มีการดูแลเพิ่มเติม เช่น ให้อาหารเปียก ธาตุอาหารเสริม อาหารเหลว และอุปกรณ์ให้ความอบอุ่น
 - 2.5 ต้องมีการจดบันทึกข้อมูลการเฝ้าสังเกตอาการสัตว์

ตาราง การสังเกตอาการทางคลินิกในสัตว์ที่ใช้ในงานวิจัยด้านมะเร็งและพิษวิทยา

ตัวชี้วัด	อะไรที่ควรสังเกต
ลักษณะสัตว์โดยทั่วไป	ภาวะการขาดน้ำ (dehydration) น้ำหนักตัวลดลง (decreased body weight) ลักษณะทางกายวิภาคสูญหายไป (missing anatomy) การทรงตัวผิดปกติ (abnormal posture) อุณหภูมิต่ำกว่าปกติ (hypothermia) รยางค์แตกหรือหัก (fractured appendage) มีการบวมหรือพองนูน (swelling) มีก้อนเนื้อขนาดใหญ่ (tissue masses) มีส่วนที่ยื่นหรือห้อยออกมา (prolapse) หนังหุ้มองคชาตปลิ้น (paraphimosis)
ผิวหนังและขน	สีซีดจางลงผิดไปจากเดิม (discoloration) มีรอยเปื้อกปัสสาวะ (urine stain) มีรอยเปื้อนรอบทวารหนัก (perianal soiling) ผิวหนังซีด (pallor) มีสีแดง (redness) หนังมีสีเขียวเนื่องจากอยู่ในภาวะขาดออกซิเจน (cyanosis) โรคดีซ่าน (icterus) มีบาดแผล (wound) มีแผล/แผลเปื่อยบนผิวหนัง (sore) ฝีหนอง (abscess) แผลที่ผิวหนังของหนังหรือผิวหนังของเยื่อเมือกที่เกิดจากการสูญเสียเนื้อเยื่อส่วนหน้าและอวัยวะ เบื่อ (ulcer) ขนร่วง (alopecia) ขนฟู (ruffled fur) เนื้อตาย (necrosis)
ดวงตา	ตาถลน ตาโปน (exophthalmos) ตาเล็กผิดปกติ (microphthalmia) ตาแดง (reddened eye) สารคัดหลั่งไหลจากตา (discharge) ตาขุ่นมัว (opacity) ตากระตุก (blepharospasm) อาการตาโปน (proptosis)
จมูก ปาก และหัว	ศีรษะเอียง (head tilted) น้ำมูกไหล (nasal discharge) ขากรรไกรสบกันผิดปกติ (malocclusion)
การหายใจ	จาม (sneezing) หายใจลำบาก (dyspnea) หายใจเร็ว (tachypnea)
ปัสสาวะ	สีผิดปกติ (discoloration) มีเลือดปนในปัสสาวะ (blood in urine) ปัสสาวะมากผิดปกติ (polyuria) ไม่มีปัสสาวะ (anuria)
อุจจาระ	สีเปลี่ยนแปลง (discoloration) มีเลือดปนกับอุจจาระ (blood in feces) ไม่มีอุจจาระ (lack of feces) อุจจาระเหลวหรือท้องร่วง (softness/diarrhea)
การเคลื่อนที่ (locomotor)	เคลื่อนไหวมากกว่าปกติ (hyperactivity) อาการโคม่า (coma) กล้ามเนื้อไม่ประสานงานกัน (ataxia) ขยับตัวเป็นวงกลม (circling) กล้ามเนื้อกระตุก (muscle tremors) ชัก (seizures) อัมพาตบางส่วน (paresis) อัมพาต (paralysis)

เอกสารอ้างอิง

1. Alternatives to Animal Testing on the Web (2004), Humane Endpoints Databases. Johns Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing. Baltimore.
2. Canadian Council on Animal Care (1998), Guidelines on : Choosing an appropriate endpoint in experiments using animals for research, teaching and testing. Ottawa, Canada.
3. Hendriksen CFM and Morton DB, ed. (1998), Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research. Proceedings of the International Conference, 22-25 November 1998, Zeist, The Netherlands. Laboratory Animals Ltd, by Royal Society of Medicine Press Limited, London, England.
4. Institute of Laboratory Animal Research Journal (2000), Humane Endpoints for Animals Used in Biomedical Research and Testing. 41: No.2.
5. Montgomery CA (1990), Oncological and toxicological research: Alleviation and control of pain and distress in laboratory animals. Cancer Bulletin 42:230-237.
6. Morton DB and Griffiths PHM (1985), Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. Veterinary Record 166:431-43.
7. OECD Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation (2000)
8. Stokes WS (1999), Humane Endpoints in Animal Experiments for Laboratory Animals Used in Toxicity Testing Proceedings of the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, 31 August – 2 September 1999, Bologna, Italy.
9. Toth (1997), The moribund state as an experimental endpoint. Contemp Top Lab Anim Sc 36:44-48.
10. Ullman-Cullere MH and Foltz CJ (1999), Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status of mice. Lab Anim Sc 49:319-323.
11. United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research (1997), UKCCCR Guidelines for the Welfare of Animals in Experimental Neoplasia, 2nd ed. London, England.
12. Bullard DE, Schold SC Jr, Bigner SH, Bigner DD (1981), Growth and chemotherapeutic response in athymic mice for tumors arising form human glioma-derived cell lines. J Neuropath Exp Neurol 40:410-427.

13. Hamm (1995), Proposed institutional animal care and use committee guidelines for death as an endpoint in rodent studies. *Contemp Top Lab Anim Sc* 34:69-71.
14. Sung C, Dedrick RL, Hall WA, Johnson PA, Youle RJ (1993), The spatial distribution of immunotoxins in solid tumors: assessment by quantitative autoradiography. *Cancer Research* 53:2092-2099.
15. Tomayko MM and Reynolds CP (1989), Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice. *Cancer Chemother Pharmacol* 24:148-154.
16. Welch DR, Chen P, Miele ME, McGary CT, Bower JM, Stanbridge EJ, Weissman BE (1994), Microcell-mediated transfer of chromosome 6 into metastatic human C8161 melanoma cells suppresses metastasis but does not inhibit tumorigenicity. *Oncogene* 9:255-262.