

# Sveriges 3R-centers sammanfattning av CCAC's guide för amfibier

## Bakgrund

I slutet av 2021 gav Canadian Council on Animal Care (CCAC) ut en guide för vad de anser är bästa praxis vid hållande av amfibier i vetenskapligt syfte. Denna guide heter *CCAC guidelines: Amphibians* och vi på Sveriges 3R-center vill i det här dokumentet sprida kunskapen från guiden till verksamheter som arbetar med amfibier i forskning i Sverige. Dokumentet behandlar främst afrikanska klogroddor och axolotler.

Syftet med det här dokumentet är att skapa ett mer lättöverskådligt dokument som ett komplement till originaldokumentet *CCAC guidelines: Amphibians*. Här får läsaren dessutom information om var lagstiftningen skiljer sig åt mellan Kanada och Sverige. Läsaren kan genom det här dokumentet hitta relevant information om amfibier som används i försök direkt och med hjälp av det lättare navigera i originaldokumentet *CCAC guidelines: Amphibians* där djupare kunskap önskas.

## En snabb överblick

### Om CCAC och omfattning av CCAC guidelines: Amphibians

CCAC är en organisation med medlemmarna som representerar både vetenskapen och djurskyddsorganisationer. CCAC driver tre olika typer av program:

1. I egenskap av en oberoende tredje part bedömer och certifierar de faciliteter som använder sig av försöksdjur i samarbete med experter och Kanadas över 190 animal care committees som kan liknas vid en blandning av Sveriges djurskyddsorgan och etiska kommittéer.
2. Ser till att rutiner och standarder med grund i de 3R:en är uppdaterade enligt råd från experter och den senaste forskningen
3. Ger stöd, utbildning och erbjuder nätverkningsmöjligheter till de anläggningar som CCAC har certifierat.

*CCAC guidelines: Amphibians* har innan det publicerades lästs och granskats av experter inom området. Syftet med dokumentet är att förbättra skötseln av amfibier och rutiner kring försök där amfibier ingår. I dokumentet finns väl underbyggd och granskad information om amfibier som försöksdjur. Det är ett omfattande dokument med tydlig uppdelning av olika ämnen.

Guiden fokuserar på amfibier som antingen köps in eller tas ifrån det vilda till en laboriemiljö. Guiden innefattar inte försök som sker på vilda amfibier eller amfibier i de livsstadier som inte omfattas av lagstiftningen, till exempel ägg eller embryon. Guiden riktas generellt mot alla amfibier men speciellt mot de två vanligast använda arterna i Kanada, Afrikansk klogroda (*Xenopus laevis*) och Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Dokumentet är inte en fullständig guide för alla arter, ytterligare efterforskningar för den aktuella arten som hålls kan vara nödvändiga inför försök.

## Innehåll läsinstruktion

Denna läsinstruktion är upplagd efter samma rubriker som i originaldokumentet. I rubrikerna skriver vi även med på vilka sidor du hittar informationen på. Med ordet ”stycke” avses texten under en rubrik och ibland även efterföljande underrubriker. Läsinstruktionen tar upp extra relevanta delar av originalstycken, läsaren uppmanas att läsa originalstycket för mer och djupare information. Läsinstruktionen pekar ut var och hur lagstiftningen skiljer sig åt och hänvisar vidare till Sveriges föreskrifter. I läsinstruktionen framgår CCAC:s rekommendationer, det är inte rekommendationer som tagits fram, eller nödvändigtvis rekommenderas av Sveriges 3R-center.

## Medskick

- I CCAC guidelines: Amphibians finns 23 blå rutor med riktlinjer som baseras på den framtagna litteraturen. Dessa riktlinjer sammanfattas på sidorna 2–5 i originaldokumentet men dyker också upp tillsammans med relevant text genom hela dokumentet.
- Amfibier är en stor grupp med mycket skillnader mellan de olika arterna men även inom samma art i olika livsstadier. Hållningen måste anpassas till arten men också till livsstadiet då behoven och levnadsmiljöerna varierar, CCAC nämner det ett flertal gånger i sitt dokument, så som på sida 8.
- Enligt CCAC-dokumentet bör afrikanska klogrodor hållas i utrymmen med mörka sidor då det efterliknar den miljön de föredrar. Positiva effekter har setts när man jämfört mot vit bakgrund, sida 17 i CCAC-dokumentet, sida 9 i den här läsinstruktionen.
- CCAC rekommenderar att vattenbyten bör ske minst två gånger i veckan, gärna efter utfodring, sida 17 i CCAC-dokumentet, sida 9 i den här läsinstruktionen.
- Plaströr eller plastbehållare utgör bra gömställen för klogrodor. Gömställen av keramik eller terrakotta kan också vara lämpliga, det är viktigt att materialet man väljer inte kontaminerar vattnet. Sida 18 i CCAC-dokumentet, sida 9 i den här läsinstruktionen.
- Ljud och vibrationer påverkar amfibiers fortplantning negativt, ger ökad vaksamhet och högre nivåer av stresshormoner. Sida 24–25 i CCAC-dokumentet, sida 11 i den här läsinstruktionen.
- Klogrodor blir stressade av transporter, man har sett ökade stresshormoner och en minskad vikt upp till 35 dagar efter transport. De är mycket känsliga för temperaturer över 25 °C. Sida 28–30 i CCAC-dokumentet, sida 13 i den här läsinstruktionen.
- Antalet individer i en grupp kan påverka klogrodors aptit, där grupper om 5–6 individer stimulerar varandra till att äta. Sida 39–40 i CCAC-dokumentet, sida 16 i den här läsinstruktionen.
- Lämplig berikning för klogrodor är till exempel flytande objekt på ytan som ger dem en större trygghet och möjlighet att gömma sig, det måste dock finnas gott om utrymme kvar för att lätt nå ytan och andas. Stenar kan erbjuda en mer komplex miljö, de måste dock vara av en storlek som inte lockar grodorna att försöka äta dem. Plastväxter bör användas med försiktighet om de innehåller delar som lätt kan gå av och ätas upp av grodorna. Sida 42–44 i CCAC-dokumentet, sida 16–17 i den här läsinstruktionen.

- En mycket viktig aspekt för amfibier är deras miljö som har stor inverkan på deras välfärd, den bör enligt CCAC vara en självklar del i välfärdsbedömningen. Sida 53–55 i CCAC-dokumentet, sida 19 i den här läsinstruktionen.
- Välfärdsbedömning hos amfibier är utmanande då tecken på dålig välfärd kan vara svåra att se. CCAC har på sida 54 i sitt dokument en lista med välfärdsindikatorer som är lämpliga att titta efter, de finns på sida 19–20 i den här läsinstruktionen.
- En indikator på dålig välfärd kan vara mycket aggressiva interaktioner mellan individer som hålls i grupp. Sida 54 i CCAC-dokumentet, sida 19 i den här läsinstruktionen.
- CCAC menar att negativ stimulering eller begränsning av resurser för amfibier bör endast användas när det inte finns något annat alternativ. Sida 61 i CCAC-dokumentet, sida 22 i den här läsinstruktionen.

# Innehåll

Sveriges 3R-centers sammanfattning av CCAC's guide för amfibier .....	1
Bakgrund.....	1
En snabb överblick.....	1
Om CCAC och omfattning av CCAC guidelines: Amphibians .....	1
Innehåll läsinstruktion.....	2
Medskick.....	2
Introduktion, sida 6–12 .....	7
Beteendebiologi, sida 8 .....	7
Sinnen sida 8–9 .....	7
Anatomi och fysiologi, sida 9–10 .....	7
Källor till .....	7
Faciliteter, sida 13–18 .....	7
Djurrum och lokaler där försök utförs, sida 13 .....	7
Vatten, sida 14.....	8
Hållning av djur i laboratoriemiljö, sida 14–15 .....	8
Utrymmeskrav, sida 15–16 .....	8
Design av amfibiers utrymmen, sida 17.....	9
Vattensystem, sida 17.....	9
Substrat, sida 17–18 .....	9
Inredning, sida 18.....	9
Ledning och personal, sida 19–26.....	10
Hantering av miljön, sida 19 .....	10
Ljus, sida 19–20 .....	10
Temperatur och luftfuktighet, sida 20–22 .....	10
Luft- och vattenkvalitet, sida 23–24.....	11
Ljud och vibrationer, sida 24–25 .....	11
Skadedjurskontroll, sida 25 .....	12
Personal, sida 25–26 .....	12
Anskaffning, sida 27–32 .....	12
Ursprung, sida 27 .....	12
Föreskrifter, sida 27 .....	12
Inför transport, sida 28 .....	12

Transport, sida 28–30.....	13
Ankomst, sida 30–31.....	13
Karantän, sida 31–32.....	13
Avel, sida 33–38 .....	13
Ålder och kondition, sida 33–34 .....	14
Faktorer att ta hänsyn till vid avel, sida 34–35 .....	14
Artificiell inducering av avel, sida 35 .....	14
Ägg, sida 36 .....	15
Skötsel av unga djur, sida 36–38.....	15
Husering, sida 39-46 .....	15
Identifiering, sida 39 .....	15
Tillsyn, sida 39.....	16
Skötsel, sida 39–40 .....	16
Näring, utfodring och vatten, sida 40–42.....	16
Berikning, sida 42–44 .....	16
Mänsklig kontakt och hantering, sida 44 .....	17
Rengöring och sanering, sida 45 .....	17
Journalföring, sida 46.....	17
Hantering och fixering, sida 47–48.....	18
Hantering, sida 47 .....	18
Manuell fixering, sida 47 .....	18
Kemisk fixering, sida 48 .....	18
Hälsa och smittkontroll, sida 49–52.....	18
Förebyggande arbete, sida 49–50.....	18
Hälsobedömning samt sjukdomsidentifiering, sida 50–51 .....	18
Vanliga sjukdomar och tillstånd, sida 51–52 .....	18
Sjukdomsutbrott, sida 52.....	19
Välfärdsbedömning, sida 53–55.....	19
Välfärdsindikatorer, sida 54 .....	19
Experimentella procedurer, sida 56–57.....	20
Djurmodeller, sida 57–58.....	20
Administration av substanser, sida 58.....	21
Insamling av kroppsvätskor och vävnader, sida 58–59.....	21

Implantat, sida 60.....	21
Procedurer för genetiskt modifierade amfibier, sida 60-61.....	21
Avbildning, sida 61 .....	22
Beteendestudier, sida 61 .....	22
Reglering av födo- och vätskeintag, sida 62 .....	22
Insamling av oocyter, sida 62.....	22
Anestesi och analgesi, sida 62-65 .....	22
Operativa ingrepp, sida 66 .....	23
Postoperativ vård, sida 66 .....	23
Avlivning, sida 67-69.....	23
Efter avslutat försök, sida 70.....	23
Säkerhet, sida 71 .....	24

## Introduktion, sida 6–12

Här definieras olika begrepp som kommer användas framöver och en introduktion till vad amfibier är för slags djur. I dokumentet används termen "must" för obligatoriska krav. Termen "should" används för att ange en skyldighet, för vilka eventuella undantag måste motiveras och godkännas av animal care committee som kan liknas vid en blandning av Sveriges djurskyddsorgan och regionala etiska nämnder. Man trycker på att amfibier är mycket olika däggdjur och att gruppen amfibier innefattar olika arter som har skilda behov, både mellan arterna och i olika livsstadier inom arten. Guiden fokuserar på amfibier som antingen köps in eller tas ifrån det vilda till en laboriemiljö. Guiden innefattar inte försök som sker på vilda amfibier eller amfibier i de livsstadier som inte omfattas av lagstiftningen, till exempel ägg eller embryon. Guiden riktas generellt mot alla amfibier men speciellt mot de två vanligast använda arterna i Kanada, Afrikansk klogroda (*Xenopus laevis*) och Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Dokumentet är inte en fullständig guide för alla arter, ytterligare efterforskningar för den aktuella arten som hålls kan vara nödvändiga.

## Beteendebiologi, sida 8

I stycket finns information om gemensamma nämnare när det gäller beteenden för alla amfibier och flera exempel på behov som stämmer in för många arter. Amfibier innefattar många olika arter som har skilda behov, även inom samma art skiljer sig behoven åt i olika livsstadier.

## Sinnen sida 8–9

Här finns information om vilka sinnen amfibier använder i jakt på föda, vid kommunikation mellan artfränder och om hur olika ljudfrekvenser och vibrationer påverkar dem.

## Anatomi och fysiologi, sida 9–10

Stycket tar upp flera viktiga anatomiska och fysiologiska aspekter som är relevanta för flera arter av amfibier

## Källor till variation sida, 10–12

Det här stycket tar upp variationer som kan finnas inom en art beroende på art, stam, livsstadier, kön, hälsa, miljöeffekter och effekter från tidigare erfarenheter.

## Faciliteter, sida 13–18

### Djurrum och lokaler där försök utförs, sida 13

Stycket är en lista över viktiga aspekter som ska finnas i rum där amfibier hålls och vistas i. Den svenska föreskriften, 15 kap. 5 §, Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur (SJVFS) (2019:9), stämmer överens med att försöksdjur inte ska kunna rymma men den specificerar inte hur till skillnad mot CCAC-dokumentet där man bland annat anger att golvbrunnar ska vara försedda med nät. Liksom CCAC-dokumentet anges det i svenska föreskrifter att all utrustning i rummet ska vara säkrad så att varken djur eller människor kan komma till skada, 15 kap. 2 § SJVFS (2019:9). Försöksdjuren ska enligt samma paragraf inte heller kunna skada utrustningen. I CCAC-dokumentet anges det att golv, väggar och tak ska vara vattentäta i rum där amfibier hålls, för att underlätta rengöring. De svenska föreskrifterna anger istället att de ska vara utformade på ett

sådant sätt att de underlättar rengöring och vara av ett material med ett ytskikt som tål den regelbundna rengöringen som erfordras, 15 kap. 8–10 §§ SJVFS (2019:9).

I CCAC-dokumentet finns följande mening: *Facilities should ensure there is adequate separation between the primary containment of different species, as there is the potential for the transmission of some pathogens.*

I den svenska föreskriften i 16 kap. 21 § SJVFS (2019:9) reglerar man istället detta genom att ange att inkompatibla arter att de inte får hållas i samma rum.

Angående temperatur och luftfuktighetsreglering anges det i 15 kap. 25 § SJVFS (2019:9) att det ska finnas larmsystem som larmar vid över- och undertemperaturer samt för om något felar med systemet. Däremot finns det inga krav på att det ska finnas larm för luftfuktighet, vilket CCAC anger ska finnas i sitt dokument. I 15 kap. 19 § SJVFS (2019:9) anges däremot att temperaturen och relativ luftfuktighet ska vara anpassad efter arten som hålls och i det allmänna rådet till paragrafen anges att den relativa luftfuktigheten bör mätas dagligen, om den är viktig för den aktuella arten.

## Vatten, sida 14

Stycket behandlar hur klor i vatten ska tas bort och olika sätt det kan göras på så att vattnet blir säkert för djuren. Bland annat nämns det att ett larm bör finnas på plats som varnar för klor. Förutom att vattnet ska vara anpassat och säkert för arten nämns inte något sådant larm i SJVFS (2019:9), men det kan vara värt att uppmärksamma att klor kan förekomma i kranvatten. Texten behandlar även hur vatten kan säkras från andra typer av kontamineringar så som koppar eller bly. Det är viktigt att ha i åtanke att ”för rent” vatten även kan påverka amfibiers hälsa och välstånd negativt. Efter rening kan därför tillsättning av salter och spårämnen behövas. Vattnet kan även behöva åldras för att tillåta att en mikrobiell kultur bildas.

## Hållning av djur i laboriemiljö, sida 14–15

Under rubriken finns information om bland annat vilken utrustning, vilka inställningar på vattenflöde och vilket material som är lämpligt vid hållning av amfibier som försöksdjur. Amfibier är en grupp djur med många olika behov, även inom den egna arten till följd av deras olika livsstadier. CCAC nämner kort att lämpliga gömställen **bör** finnas till skillnad mot de svenska föreskrifterna där det står att, i alla fall groddjur, **ska** kunna gömma sig och dessutom alla samtidigt (25 kap. 3 § SJVFS (2019:9)). Till paragrafen följer även ett allmänt råd som anger hur gömställena bör utformas beroende på art.

## Utrymmeskrav, sida 15–16

Stycket behandlar kraven på amfibiers utrymmen i Kanada. I 25 kap. 5 § SJVFS (2019:9) anges de krav som gäller i Sverige, vilket inte stämmer överens med den informationen som finns i CCAC.

### **Afrikansk Klogroda**

För information om vilka mått som gäller i Sverige se tabell 1, 25 kap. 5 § SJVFS (2019:9).

### **Leopardgroda**

För information om vilka mått som gäller i Sverige se tabell 2, 25 kap. 5 § SJVFS (2019:9).



## **Yngel**

För information om hur yngel får hållas i Sverige se 25 kap. 5 § SJVFS (2019:9).

## **Design av amfibiers utrymmen, sida 17**

Här finns information om hur utrymmet för amfibier bör utformas på bästa sätt för att uppmuntra naturligt beteende. Långsmala utrymmen bör undvikas. De svenska föreskrifterna anger i 25 kap. 5 § SJVFS (2019:9), tabell 2 och 3 att både halvkvatiska, landlevande och trädlevande groddjur ska kunna ligga helt under vattenytan till skillnad mot CCAC-dokumentet som endast nämner att semiakvatiska amfibier ska kunna ligga helt under vatten.

## **Klogroda**

I SJVFS (2019:9) finns det till skillnad mot CCAC-dokumentet inget direkt skrivet om att man bör hålla afrikanska klogrodor i utrymmen med mörka sidor, däremot kan man i de allmänna råden till 25 kap. 2–4 §§ SJVFS (2019:9) läsa att de bör få tillgång till gömställen eller kamouflerande inredning anpassat efter artens behov. Det står även i det allmänna rådet till 4 § SJVFS (2019:9) att groddjur och kräldjur bör ha möjlighet att vistas inom områden med olika temperatur- och ljusintensiteter.

## **Vattensystem, sida 17**

I stycket rekommenderar man att vattenbyte bör ske minst två gånger i veckan, gärna efter utfodring. Det finns också information om vilka system man kan använda sig av. I 25 kap. 4 § SJVFS (2019:9) anges det bland annat att vattenförsörjningen ska anpassas till de enskilda groddjurens och kräldjurens behov och toleransgränser, men man går inte i djupare detalj.

## **Substrat, sida 17–18**

Stycket behandlar när och vilka olika typer av substrat kan vara lämpliga. Paddor vill gärna kunna gräva och gömma sig i substratet. Sphagnummossa är ett lämpligt substrat för mindre salamandrar. Vidare tar CCAC upp vad som bör tas i beaktande i val av substrat och ger ytterligare exempel. De allmänna råden i 25kap. till 2–3 §§ SJVFS (2019:9) behandlar bottensubstrat, där nämns bland annat att groddjur som inte är helakvatiska bör ha tillgång till bottenmaterial. Materialet och dess innehåll av fukt bör vara anpassat efter artens behov.

## **Inredning, sida 18**

CCAC-dokumentet trycker på vikten för amfibiers behov av att kunna kamouflera och gömma sig och behandlar även hur man kan uppfylla dessa behov. I en underrubrik finns det tips om vad som lämpar sig som gömställen för just klogrodor. De är bytesdjur och bör under alla livsstadier ha tillgång till gömställen. Plaströr eller plastbehållare är bra alternativ. Gömställen av keramik eller terrakotta kan också vara lämpliga, det är viktigt att materialet man väljer inte kontaminerar vattnet. De allmänna råden i 25kap. till 2–3 §§ SJVFS (2019:9) anger att groddjur och kräldjur bör ha tillgång till gömställen eller kamouflerande inredning anpassade efter artens behov. Det står även att groddjur bör ha gömställen på djurutrymmets botten.

## Ledning och personal, sida 19–26

### Hantering av miljön, sida 19

Här kan man läsa om hur man på ett praktiskt sätt upprätthåller en lämplig miljö gällande till exempel ljus och värme för amfibier i en facilitet för djurförsök.

#### Ljus, sida 19–20

Under rubriken Ljus finns information om vilket sorts ljus som kan vara lämpligt samt vikten av mörker- och ljusperioder för amfibier. Det finns amfibier som är beroende av UVB för att må bra, det finns även amfibier som inte kräver UVB och som till och med kan må dåligt av det. Man ska vara noggrann med den aktuella artens behov av ljus, något som också krävs av 25 kap. 4 § SJVFS (2019:9). I 15 kap. 22–23 §§ SJVFS (2019:9) anges vad som allmänt gäller för svenska försöksdjur angående ljus.

#### Temperatur och luftfuktighet, sida 20–22

I CCAC-dokumentet, uppdelat i underrubrikerna nedan, finns detaljerad information om vad man bör tänka på gällande temperatur och luftfuktighet.

##### Temperatur

Omgivningens temperatur ska anpassas efter arten som hålls. Lämplig temperatur kan variera stort mellan olika arter, men även inom samma art beroende på vilket beteende/aktivitet som individen vill utföra. Dessutom utsätts ofta vilda amfibier för varierande säsongstemperaturer. Många amfibier reglerar sin temperatur med hjälp av miljön. Tabell 1 på sida 21 i CCAC-dokumentet informerar om lämpliga temperaturintervaller för groddjur, salamandrar och maskgroddjur. Tabell 2 på sida 21 visar vilka temperaturer man föreslås starta på beroende på vilket habitat arten hittas i det vilda. I 15 kap. 19 § SJVFS (2019:9) anges allmänt vad som gäller för svenska försöksdjur angående temperatur. 25 kap. 4 § SJVFS (2019:9) anger att temperaturen ska vara anpassad efter groddjur och kräldjurs behov.

##### Klogroda

Den optimala temperaturen för afrikanska klogrodor är enligt CCAC-dokumentet 18–22 °C. Den bör inte sjunka under 16 °C eller överstiga 24 °C. Temperaturen bör hållas så jämn som möjligt utan hastiga förändringar. Den västafrikanska klogrodan (*Xenopus tropicalis*) kommer från varmare områden och vuxna individer bör hållas i temperaturer mellan 24–25 °C. För både den afrikanska och västafrikanska klogrodans yngel bör temperaturen ligga på 27 °C.

##### Axolotl

Bör enligt CCAC-dokumentet hållas i en temperatur av 16–21 °C.

##### Larver av salamander

Larver av salamandrar som i det vilda återfinns i Kanada mår generellt bra i temperaturer mellan 10–12 °C. För övriga yngel är vanligtvis 18–22 °C lämpligt. Kolla upp artspecifika behov för den art som kommer hållas.

##### Luftfuktighet

Behovet varierar mellan olika arter men generellt kräver små amfibier och amfibier vars ursprung är områden med hög luftfuktighet, så som regnskogar, en nästan mättad fuktighet i luften. Behoven måste bedömas för varje art, vilket SJVFS

(2019:9) håller med om i 15 kap. 18 och 19 §§. I CCAC:s stycke finns en kortare punktlista över metoder som hjälper när man vill hålla en hög luftfuktighet. Det handlar om att justera ventilationen, tillsätta material som håller fukt i djurutrymmet samt tillsätta fukt i form av en dimmaskin.

## Luft- och vattenkvalitet, sida 23–24

I CCAC-dokumentet, uppdelat i underrubrikerna nedan, finns detaljerad information om vad man bör tänka på gällande luft- och vattenkvalitet.

### Luftkvalitet

Luftflödet genom rummet måste vara tillräcklig och anpassad efter artens/arternas behov. Vilket flöde som är lämpligt beror även på luftens temperatur och luftfuktighet. En för hög omsättning av luft riskerar att skapa en allt för torr miljö. En för låg omsättning kan skapa kondens, mikrobiell tillväxt och spridning samt korrosion av metall. Generellt behöver rum som håller akvatiska arter en större luftomsättning jämfört med rum som håller arter som lever på land. 15 kap. 18 § SJVFS (2019:9) anger att ventilationen ska säkerställa en lämplig inomhusmiljö samt att djuren inte får utsättas för drag eller föroreningar som påverkar deras hälsa och välbefinnande negativt.

### Vattenkvalitet

Vattnets kvalitet är väldigt viktig för akvatiska amfibiers hälsa och ska övervakas. Vattnet bör bytas ut i linje med artens behov med tanke på den mikrobiella kulturen som finns på amfibiers hud. Det är mycket viktigt att vattnet inte innehåller några föroreningar eller skadliga metaller. Viktiga variabler i vattnet att övervaka är pH och konduktivitet. I ett nystartat system eller när det har skett en större förändring så som problem med utrustning eller en ökad densitet av djur bör ammoniak, nitrit, nitrat och syre särskilt övervakas. När hälsoproblem eller problem med utrustning uppstår bör förutom ovanstående värden även alkalinitet övervakas. Tabell 3 på sida 24 i CCAC-dokumentet redovisar de värden som generellt är lämpliga för de olika parametrarna men det kan variera för olika arter.

### Klogroda

Klogrodors behov stämmer i många fall överens med det som redovisas i tabell 3 (sida 24), men i den vetenskapliga litteraturen har man funnit rekommendationer för en högre alkalinitet, på 50–200 mg/L CaCO<sub>3</sub> och även varierande rekommendationer när det gäller vattnets hårdhet.

### Axolotl

Axolotler är särskilt känsliga för föroreningar och kemikalier i vattnet. En viss koncentration av salt är däremot viktigt för axolotlers hälsa.

## Ljud och vibrationer, sida 24–25

Stycket tar upp hur amfibier påverkas av ljud och vibrationer, man har bland annat sett att ljud och vibrationer påverkar amfibiers fortplantning negativt, ger ökad vaksamhet och högre nivåer av stresshormoner. Forskningen som har gjorts är mycket begränsad och troligtvis finns det en skillnad mellan olika arter. 15 kap. 24–26 §§ SJVFS (2019:9) tar upp bestämmelser för ljud som gäller i Sverige, men vibrationer nämns inte.

## Skadedjurskontroll, sida 25

För mer information hänvisas man till ett tidigare utgivet dokument (CCAC guidelines: Husbandry of animals in science) och även till den sektionen som kallas för 6.7 i *CCAC guidelines: Amphibians* som finns på sida 45, som handlar om rengöring och sanering. CCAC-dokumentet anser att det är viktigt att tänka på hur foder förvaras och att motverka skadedjur fysiskt istället för med hjälp av kemikalier. 15 kap. 15 § SJVFS (2019:9) anger att lagerutrymmen som innehåller foder och strö/bäddmaterial ska vara skyddade mot skadedjur och insektsangrepp så långt det är möjligt.

## Personal, sida 25–26

CCAC beskriver viktiga aspekter de anser att personal som arbetar med amfibier i en försöksdjurmiljö bör ta hänsyn till. Amfibier ska regelbundet ha tillsyn av tränad personal, en tillsyn som ska utföras på ett sätt som stör djuren minimalt. Personal ska tillgodose amfibiers dagliga behov, så som vatten, mat och renhållning. De ska också kunna upptäcka tecken på bristande välfärd och hälsoproblem. Sveriges föreskrifter angående tillsyn av djur i försök finns i 11 kap. 4–5 §§ och 16 kap. 13–14 §§ SJVFS (2019:9). CCAC skriver även att journaler ska föras så att djuren kan följas över tid och därmed underlätta upptäckten av förändringar. Läs om Sveriges föreskrifter angående journalers innehåll i kap. 8, SJVFS (2019:9). Förutom tillsynen av själva djuren tillägger CCAC, att djurens miljö och den eventuella utrustningen som upprätthåller miljön ska kontrolleras dagligen.

## Anskaffning, sida 27–32

### Ursprung, sida 27

CCAC rekommenderar i det aktuella stycket att djuren av olika anledningar **bör** vara destinationsuppfödda. Det stämmer överens med den svenska föreskriften där det i 10 kap. 2 § SJVFS (2019:9) anges att grodor av arterna Afrikansk klogroda *Xenopus laevis*, *Xenopus tropicalis*, *Rana temporaria* och *Rana pipiens* **ska** vara destinationsuppfödda, det är även en av de grundläggande principerna för djurförsök i Sverige enligt 7 kap. 4 § djurskyddslagen (2018:1192). Dock finns det undantag mot destinationsuppfödning som anges i 10 kap. 3 § SJVFS (2019:9).

### Föreskrifter, sida 27

I originaltexten anges det att både anläggningar, forskare och transportörer ska ha koll på den aktuella lagstiftningen och föreskrifter för de arter de hanterar och information om bestämmelser i Kanada. Bland annat finns information om hotade arter. 10 kap. 9 § SJVFS (2019:9) anger när man får göra djurförsök på hotade arter i Sverige.

### Inför transport, sida 28

I Sverige gäller detsamma som anges i CCAC guiden, det vill säga att djur som importerats måste åtföljas av ett hälsointyg. I Sverige ska detta ske i enlighet med ett av Europeiska gemenskapernas råd fastställt formulär. Mer detaljer om hälsointyget finns i Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 1996:24) om införsel av djur, sperma, ägg och embryon, 10 §. I 27 § finns mer information om vad som gäller för införsel av reptiler och groddjur. CCAC nämner även i sitt stycke vikten av att ha allt pappersarbete i ordning för att undvika förseningar.

## Transport, sida 28–30

I stycket finns allmän information för viktiga aspekter att beakta när amfibier ska transporteras. Transporten bör anpassas till en årstid med temperatur som fungerar för den aktuella arten, om det inte är möjligt bör åtgärder vidtas för att säkerhetsställa att djuren inte utsätts för en temperatur som ligger utanför den de kan hantera. Planera transporten så att den tar den kortaste och snabbaste rutt. Flytta på transporten om extrema väderförhållanden väntas. I 2 kap. 13 § djurskyddslagen (2018:1192) finns mer information om hur transport av djur får gå till. I Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om transport av levande djur (2019:7) finns mer detaljerad information om transport i allmänhet och för olika djurslag. I stycket *transportation* sida 28–30 i CCAC-dokumentet finns mer information om vilka typer av transportbehållare som är lämpliga, lämplig inredning och uppdelning av djur.

### Klogroda

Klogrodor blir stressade av transporter, man har sett ökade stresshormoner och en minskad vikt upp till 35 dagar efter transport. De är mycket känsliga för temperaturer över 25 °C.

### Larver

För larver av grodor och axolotler är påsar fyllda med 1/3 vatten och 2/3 luft lämpliga transportbehållare.

## Ankomst, sida 30–31

I originaltexten finns information om hur ankomsten av nya djur bör förberedas. Innan djuren anländer bör akvarierna/burarna vara förberedda och uppstartade. Undvik att föra med substrat eller vatten från transportbehållaren till akvariet/buren för att minska risken för smittspridning. Kontrollera djurens hälsa vid ankomst.

## Karantän, sida 31–32

I CCAC-dokumentet finns mer om vikten av karantän och hur den bör utformas. Innan amfibier används i försök bör de under en period hållas avskilda från andra djur för att undvika smittspridning och få tid för att acklimatiseras.

### Klogroda

Rekommendationerna varierar mellan 7–10 dagar och upp till 30 dagar. Det finns även de som rekommenderar en betydligt längre period för att säkerhetsställa att vissa parasiter inte finns närvarande, det gäller då främst för individer som är vildfångade. Information om hur vildfångade djur får användas som försöksdjur i Sverige finns i 10 kap. 3, 5–6 § SJVFS (2019:9). De svenska föreskrifterna nämner även att särskild hänsyn gällande karantän bör tas för vildfångade djur 10 kap. 5 § SJVFS (2019:9).

### Axolotl

Det rekommenderade minimumet för karantän är 7–10 dagar.

## Avel, sida 33–38

Originaltexten behandlar den stora variationen bland amfibier när det gäller avel och hur det många gånger är utmanande att föda upp dem i fångenskap.

## **Ålder och kondition, sida 33–34**

I stycket finns information om vad som allmänt gäller för amfibier. Underrubrikerna som följer tar upp specifika aspekter för klogroda och axolotl. Innan avel påbörjas bör riktmärken i form av en hälsobedömningsmall finnas på plats.

### **Klogroda**

Honor av afrikanska klogroda (*Xenopus laevis*) kan avlas på när de är mellan 1–5 år gamla. De bör inte avlas på mer än varje till var tredje månad. Idealet vore att de fick en viloperiod på sex månader mellan avelstillfällena. Hanarna kan paras fram tills de är tre år gamla och 2–3 gånger per månad.

Honor av västafrikansk klogroda (*Xenopus tropicalis*) kan börja avlas på vid 6–9 månaders ålder, med 4–6 månaders mellanrum i upp till 5-8 års ålder. Åldern är detsamma även för hanar. Anpassningar med exempelvis längre viloperioder bör göras med tanke på kondition och kvalitet på ägg och embryon, det är något som gäller för båda arterna.

### **Axolotl**

Enligt CCACs dokument måste honorna uppnå en ålder på 12 månader innan avel kan påbörjas, för hanar gäller åldern 9-12 månader. Både hanar och honor kan avlas på upp till 7–8 års ålder. Honor kan avlas på varannan månad men mer idealt är var tredje månad. Hanar kan avlas på var fjärde vecka. I SJVFS (2019:9) nämns inga sådana krav.

## **Faktorer att ta hänsyn till vid avel, sida 34–35**

I CCAC-dokumentet finns information om amfibiers fortplantning. En del faktorer är gemensamma för många arter, som att larverna är helakvatiska. En annan gemensam aspekt för alla amfibier är att miljön de hålls i måste uppmuntra till naturliga beteenden.

### **Klogroda**

Hanar och honor ska vara separerade innan aveln påbörjas. För den afrikanska klogrodan (*Xenopus laevis*) är god vattenkvalitet viktigt. Man har även sett att berikning i form av ett konstgjort näckrosblad ger god effekt på fortplantning. För den västafrikanska klogrodan (*Xenopus tropicalis*) har rätt temperatur stor betydelse, den bör ligga mellan 22–24 °C.

### **Axolotl**

Även om vuxna axolotler kan hållas i grupp finns det en risk att det leder till försämrade avelsresultat. Avelsakvarium ska hållas vid en lägre temperatur av 15–16 °C. Det bör finnas blad eller stenar i akvariet och vattenflödet bör vara avstängt vid avel. Temperaturen bör sänkas ytterligare till 11–12 °C över en period på 24 timmar, vilket stimulerar produktionen av spermatorer.

## **Artificiell inducering av avel, sida 35**

Olika metoder av artificiell inducering av avel beskrivs, bland annat med hjälp av hormoner.

### **Klogroda**

Man kan artificiellt inducera ägglossning hos honorna genom att injicera hormoner (gonadotropin).

### **Axolotl**

Enligt CCACs dokument behövs normalt sett inga hormoninjektioner då det är lätt att få axolotler att leka. Enligt svenska experter råder det olika meningar om detta.

### **Ägg, sida 36**

Stycket behandlar hur ägg från amfibier tas om hand på bästa sätt, både de som läggs i anläggningen och de som samlas från vilda amfibier. CCAC tar även upp att vuxna amfibier kan tas från det vilda för att lägga ägg i anläggningen och sedan släppas ut igen. I 10 kap. 3, 5–6 §§ SJVFS (2019:9) finns information om hur vilda djur får användas i försök i Sverige, 11 kap. 17 och 20 §§ behandlar hur vilda försöksdjur får återföras till sin naturliga miljö.

### **Skötsel av unga djur, sida 36–38**

CCAC-dokumentet informerar om hur unga amfibier bör skötas för att uppnå en hög överlevnadsgrad, med fokus på klogroda och axolotl i underrubrikerna. Det är viktigt med daglig tillsyn och att döda individer plockas bort för att bibehålla god vattenkvalitet och hälsa i gruppen. Unga amfibiers behov kommer förändras under de olika livsstadierna, något man bör vara uppmärksam på. Använd rätt utrustning vid förflyttning, så som pipetter och mjuka nät.

### **Klogroda**

5–10 dagar efter befruktningen ska utfodringen av ynglen påbörjas och ske minst två gånger per vecka. Det är viktigt att undvika överutfodring som försämrar vattnets kvalitet. När ynglen börja utveckla ben kan man gradvis övergå till foder för vuxna djur. Ynglen bör hållas tillsammans med andra av liknande storlek. Unga grodor bör få tillgång till vila på ytan, till exempel i form av flytande objekt, då de ännu inte är starka simmare. Vid förflyttning bör man skopa upp dem i en behållare hellre än att använda nät.

### **Axolotl**

Larverna måste sorteras efter storlek då risk för kannibalism finns. De bör utfodras dagligen, men undvik att ge för mycket foder. Mer information om vad de bör utfodras med i olika stadier finns på sida 37 i dokumentet.

### **Husering, sida 39-46**

CCAC guidelines: *Amphibians* hänvisar till *The CCAC guidelines: Husbandry of animals in science*. Det finns inte mycket mer information i *CCAC guidelines: Amphibians* mer än att, med hänsyn till djurens välfärd, bör huseringen simulera naturliga miljöer för den art som hålls.

### **Identifiering, sida 39**

*CCAC guidelines: Amphibians* hänvisar till *The CCAC guidelines: Husbandry of animals in science* för mer information om märkning. Det är viktigt att akvarierna/burarna är tydligt uppmärkta. Om individer behöver märkas för identifiering ska den minst invasiva metoden användas. Det är dock vanligt att amfibiers naturliga skillnader i utseendet kan användas som en metod för identifiering. 9 kap. SJVFS (2019:9) tar upp bestämmelser för märkning av försöksdjur i Sverige.

## **Tillsyn, sida 39**

Amfibier ska regelbundet ha tillsyn av utbildad personal. Tillsynen ska utföras på ett sätt som stör djuren minimalt. Det ska även föras journaler för att kunna följa djuren och upptäcka förändringar. Förutom tillsynen av själva djuren ska också djurens miljö och den eventuella utrustningen som upprätthåller miljön kontrolleras. Sveriges föreskrifter angående tillsyn av djur i försök finns i 11 kap. 4–5 §§ och 16 kap. 13–14 § SJVFS (2019:9).

## **Skötsel, sida 39–40**

Under respektive underrubrik finns mer detaljerad information om skötsel av klogroda och axolotl. Generellt kan många arter av amfibier hållas i grupper men bör då sorteras efter storlek eftersom det finns risk för kannibalism.

### **Klogroda**

Dessa djur bör hållas i stabila grupper med andra individer av liknande storlek. Antalet individer i en grupp kan påverka grodornas aptit, där grupper om 5–6 individer stimulerar varandra till att äta. Densiteten får dock inte bli för hög då grodorna kan skada varandra under utfodring och vattenkvaliteten kan försämrats. Man har också sett att för hög densitet bland annat hämmar tillväxt.

### **Axolotl**

Hålls vanligtvis ensam, utom vid parningstider. Stycket tar även upp i hur stora utrymmen man med framgång huserat axolotler, information om vilka utrymmeskrav det finns i Sverige hittar du i 25 kap. 5§ SJVFS (2019:9).

## **Näring, utfodring och vatten, sida 40–42**

Information om vad och hur olika amfibier bör utfodras finns i stycket i CCAC-dokumentet. Många amfibier behöver triggas av matens rörelser för att komma igång att äta. Generellt ska amfibier få den typ av diet de lever på i det vilda eller en typ av foder som i stort efterliknar deras naturliga diet. Hos många arter av amfibier är det lämpligt att utfodra 1–3 gånger i veckan.

### **Klogroda**

Insekt är ett vanligt inslag i klogrodors naturliga diet. Det finns olika typer av pelleterat foder för klogrodor som de gärna äter. Det kan vara fördelaktigt att utfodra dem i slutet av dagen för att efterlikna deras naturliga beteenden.

### **Axolotl**

Utfodras lämpligen 3 gånger i veckan. Det är viktigt att fodret sjunker ner till botten för att axolotlerna ska äta det.

## **Berikning, sida 42–44**

Exempel på lämplig berikning finns i stycket tillsammans med vilka faktorer som är viktiga att tänka på vid val av berikning. Berikningen ska vara anpassad efter arten och individens behov. Amfibier ska så långt som det är möjligt kunna bete sig naturligt utan att det finns risk för skador.

### **Klogroda**

Lämplig berikning är till exempel flytande objekt på ytan som ger klogrodorna en större trygghet och möjlighet att gömma sig, det måste dock finnas gott om utrymme kvar för att lätt nå ytan och andas. Stenar kan erbjuda en mer komplex



miljö, de måste dock vara av en storlek som inte lockar grodorna att försöka äta dem. Man har även sett att klogrodor föredrar bottensubstrat i form av grus. Plastväxter bör användas med försiktighet om de innehåller delar som lätt kan gå av och ätas upp av grodorna.

### **Axolotl**

Det saknas information med vetenskaplig grund om vilken typ av berikning axolotler uppskattar.

## **Mänsklig kontakt och hantering, sida 44**

I originaltexten finns information om hur amfibier påverkas av mänsklig hantering och vad som kan göras för att hanteringen ska bli så säker som möjligt. Amfibier bör hanteras så lite som det är möjligt då hanteringen lätt orsakar stress och skador. När de hanteras bör fuktade nitrilhandskar (undvik Latex och handskar med puder i) användas eftersom rester av till exempel lotion och tvål kan skada amfibier. Dessutom kan den mänskliga hudens normala surhet, naglar och ojämnheter i händerna skada amfibiers känsliga hud.

### **Klogroda**

En bra metod för förflyttning av klogrodor är att använda en mindre behållare att lyfta upp dem i tillsammans med vatten från akvariet. Finmaskade nylonnät kan också användas och vid rätt användning anses de inte skada klogrodornas känsliga hud och stressa dem lika mycket som vid hantering med hjälp av händer. Om hantering med hjälp av händer krävs finns det två metoder för att hålla dem: 1) Placera klogrodans nacke mellan tummen och pekfingeret, låt kroppen vila på handflatan, 2) håll handen över klogrodans rygg med pekfingeret mellan bakbenen, resten av fingrarna håller fast grodan runt kroppen.

### **Axolotl**

CCAC-dokumentet anger att finmaskade nylonnät bör användas vid hantering. Axolotler är hala och det är lätt att skada dem vid hantering med hjälp av händer. Ett annat alternativ är dock att hantera djuren i kärl, vilket en svensk expert rekommenderar till följd av att nylon kan skada djurens hud.

## **Rengöring och sanering, sida 45**

Här beskrivs hur miljön kring amfibier ska rengöras och saneras. Rutinerna för rengöring ska anpassas efter hur djuren hålls och hur de utfodras. För akvatiska djur måste särskild hänsyn tas för att störa vattnets balans så lite som möjligt. För klogrodor är det viktigt att försöka undvika stora förändringar i vattnet. För landlevande amfibier bör avföring städas bort dagligen. Bottensubstratet bör inte bytas mer än någon gång per år för att inte störa den mikrobiella balansen. Generellt räcker det att göra rent djurutrymmen och utrustning med varmt vatten, rengöringsmedel ska användas med försiktighet då amfibier lätt skadas av dessa. Om medel krävs bör livsmedelsklassat hypoklorit användas och ytan ska sköljas och torka innan den kommer i kontakt med amfibier.

## **Journalföring, sida 46**

CCAC hänvisar till ett tidigare utgivet dokument, *CCAC guidelines: Husbandry of animals in science*, för mer detaljer kring journalföring. I 8 kap. SJVFS (2019:9) kan du läsa om vad som krävs gällande journalföring för försöksdjur som hålls i Sverige.

## Hantering och fixering, sida 47–48

### Hantering, sida 47

Läsaren hänvisas tillbaka till den tidigare rubriken *Mänsklig kontakt och hantering* på sida 44 i CCAC-dokumentet. Här nämns det endast att amfibier endast bör hanteras när det är absolut nödvändigt och tiden för hanteringen ska hållas till ett minimum.

### Manuell fixering, sida 47

Information om hur olika amfibier kan fixeras och vad man bör undvika finns i stycket i CCAC-dokumentet. Metoden för manuell fixering varierar med amfibiens kroppsform. Förutom att många amfibier har känslig hud och lätt skadas av hantering så är överhettning ett problem för många, särskilt mindre, amfibier.

### Kemisk fixering, sida 48

Kort information om när och varför kemisk fixering kan vara nödvändig finns i stycket, för mer information hänvisas läsaren vidare till rubriken *Anestesi* på sida 62–63. Kemisk fixering med hjälp av anestesi kan vara nödvändig för amfibier som är mycket små, eller på andra sätt är svåra att hantera, samt där fysisk hantering riskerar att skada djuret eller orsaka mycket stress.

## Hälsa och smittkontroll, sida 49–52

Alla amfibier bör inkluderas i ett hälsoprogram utformat av försöksdjurveterinär eller annan expert. CCAC listar här de parametrar som de anser ska inkluderas.

### Förebyggande arbete, sida 49–50

Information om vilka åtgärder CCAC anser bör vidtas för att förhindra smittspridning och sjukdomar finns beskrivna i stycket. Strategiska åtgärder för att undvika sjukdomar bör inkludera ett program för smittbekämpning och ett system för övervakning och journalföring för att underlätta hälsobedömningar.

## Hälsobedömning samt sjukdomsidentifiering, sida 50–51

CCAC-dokumentet beskriver att rutiner för hälsobedömningar ska finnas, det bör även finnas rutiner för hur vanliga hälsoproblem ska hanteras och behandlas. I Sverige ska en plan för förebyggande djurhälsovård finnas skriftligt, enligt 16 kap. 5 § SJVFS (2019:9), och innehålla följande: regelbundna hälsokontroller och hälsoinventeringar, mikrobiologisk övervakning, hantering av sjukdomsutbrott, definitioner av hälsoparametrar, förfaranden vid introduktion av nya försöksdjur på anläggningen samt rutiner för hygien.

### Vanliga sjukdomar och tillstånd, sida 51–52

Här finns i CCAC-dokumentet detaljerad information om vanligt förekommande sjukdomar och tillstånd hos amfibier. Många infektioner härrör från sår i huden. Andra bidragande orsaker till infektioner inkluderar stress från osanitära miljöer, långvarig exponering för kyla och för många djur på en för liten yta. I stycket beskrivs vanliga syndrom och sjukdomar hos amfibier så som Red Leg, svampinfektioner, tumörer och Ranavirus.

## **Sjukdomsutbrott, sida 52**

Stycket beskriver hur CCAC anser att ett sjukdomsutbrott ska hanteras och ger exempel på detta, så som att en plan ska finnas på plats för hur sjukdomsbrott ska hanteras. Det ska finnas möjlighet att isolera sjuka djur och förhindra ytterligare spridning. Det är viktigt att en veterinär är involverad vid ett utbrott för att säkerställa rätt hantering. Om djuren måste avlivas ska kropparna och inredning från djurutrymmena destrueras på ett sådant sätt som förhindrar ytterligare smittspridning. Utrymmen där djuren vistats ska desinficeras för att hindra ytterligare spridning. 16 kap. 5 § SJVFS (2019:9) anger att det ska finnas en skriftlig plan för hantering av sjukdomsutbrott, planen ska uppdateras vid behov och behandla de sex punkter som anges i paragrafen.

## **Välfärdsbedömning, sida 53–55**

CCAC beskriver hur de anser att välfärd ska bedömas. För amfibier måste välfärdsbedömningen inte bara anpassas till den art den gäller för utan även för det livsstadiet arten befinner sig i. Bedömningarna ska innefatta både observationer och andra parametrar som ger information om hälsa, beteenden och fysiologi. Det ska finnas tillräcklig journalföring om händelser kring djuren för att kunna ta hjälp av vid bedömningen av djurets tillstånd. En annan mycket viktig aspekt för amfibier är deras miljö som har stor inverkan på deras välfärd och den bör vara en självklar del i välfärdsbedömningen.

## **Välfärdsindikatorer, sida 54**

I detta stycke beskriver CCAC-dokumentet indikationer på god välfärd hos amfibier. Amfibier inkluderar en mängd olika arter som lever i flera mycket varierande miljöer i det vilda, sådana faktorer ska tas i beaktande i en välfärdsbedömning. En god kunskap i artens biologi och beteenden är nödvändig för att kunna göra en ändamålsenlig bedömning av välfärden.

Följande parametrar kan enligt CCAC generellt användas i välfärdsbedömningen hos amfibier:

### **Beteendeindikationer**

- Förändringar gällande födointag. Exempel på en förändring kan vara mängd föda som konsumeras och tiden det tar att konsumera födan.
- Övriga beteenden, den här parametern kräver att kunskap finns om vilka beteenden som är normala för arten/individerna i den miljö de befinner sig i.
- Sociala interaktioner, en indikator på dålig välfärd kan vara mycket aggressiva interaktioner mellan individer som hålls i grupp.

### **Fysiologiska indikationer**

- Nivåer av kortikosteroider. Det finns en relation mellan nivåerna av kortikosteroider och infektionskänslighet. Hormonet är också ett mått på stress.
- Tillväxt och reproduktion. Ökad mängd stresshormoner kan hämma tillväxt och metamorfos hos larver.
- Hudens färg och utseende.
- Förändringar i avföringens färg och/eller form.

## **Klogroda**

Följande är exempel på beteendeförändringar som bör uppmärksammas:

- plötsliga förändringar i aktivitetsnivån
- äter inte ordentligt
- minskande rätningsreflexer dvs. positionen i vattnet
- hudförändringar så som torr, flagnande eller sår. Det är normalt för klogrodor med hudavfall men uppmärksamma om mängden hudavfall förändras.

### **Axolotl**

Hudens färg, formen på ryggen och svansen form är viktiga välfärdsindikatorer. Tecken på hälsoproblem kan visas genom blek färg samt en fläckig eller krullad ryggen eller svans.

## **Experimentella procedurer, sida 56–57**

I stycket finns aspekter som CCAC anser är viktiga att ha i åtanke för experimentella procedurer. Metoden som orsakar minst lidande för att nå målen för försöket ska användas. Åtgärder för att minska det lidande som djuret riskeras att utsättas för ska vidtas. Det finns enligt CCAC studier som visat att amfibier kan sända ut varnande hormoner när de är stressade och man bör därför undvika att genomföra större procedurer på djur i samma rum som där de huseras.

Rutiner ska finnas på plats för procedurer som upprepas, dessa bör innehålla hur ofta och under hur lång tid proceduren får upprepas och hur många gånger proceduren får utföras på samma individ. Dessa bedömningar bör göras med tanke på hur proceduren påverkar djurets välfärd, både på kort och lång sikt.

Innan ett försök påbörjas ska slut- och avbrytningspunkter finnas för att minska djurens lidande. Det ska finnas en plan för när behandlingar ska sättas in, när försöket ska avbrytas och när djuret ska avlivas. Det kan vara svårt definiera en avbrytningspunkt för amfibier eftersom de inte visar samma spektrum av kliniska tecken som kan hittas hos många andra försöksdjur. Välfärdsindikatorer så som brist på aptit, hudförändringar, ödem, viktförändringar, svårighet med balansen i vattnet och stresshormoner kan användas för att definiera slutpunkter. Med tanke på att många amfibier varken äter eller rör på sig regelbundet kan dessa faktorer vara svårbedömda. Pilotförsök bör genomföras vid nya typer av försök för att fastställa slutpunkter.

I Sverige är etiska godkännanden en förutsättning för att ett djurförsök ska få genomföras enligt 7 kap. 9 § djurskyddslagen (2018:1192). Mer bestämmelser finns även i 7 kap. 10–11 §§ djurskyddslagen (2018:1192) och 7 kap. 6, 8–10 §§ djurskyddsförordningen (2019:66). 2 kap. 5 § SJVFS (2019:9) anger att för flera arter krävs ett etiskt godkännande redan i tidiga livsstadier. 2 kap. 14–25 §§ SJVFS (2019:9) talar om hur en ansökan går till och vad den ska innehålla. Där finns även information om undantag från kravet av en etisk ansökan till exempel vid observationer på fritt levande djur. 7 kap. SJVFS (2019:9) handlar enbart om den djurförsöksetiska prövningen, mycket ur de regionala djurförsöksetiska nämndernas perspektiv.

## **Djurmodeller, sida 57–58**

Här finns en kortare text som beskriver vad forskare bör tänka på när amfibier används som modelldjur. Till exempel att när amfibier används i forskning behöver hänsyn tas till de speciella behov som olika arter har, även i de olika livsstadier.

## **Administration av substanser, sida 58**

CCAC-dokumentet beskriver i detta stycke tekniker för administration av olika substanser. Fler råd riktade specifikt mot klogrodor och axolotler finns i underrubriker. För akvatiska arter är nedsänkning i substansen den metod som oftast är att föredra, förutsatt att det är en lämplig metod för substansen som ska administreras. Eftersom många landlevande amfibier också har en hud som är genomtränglig för vätska kan även de administreras genom nedsänkning.

## **Insamling av kroppsvätskor och vävnader, sida 58–59**

I CCAC-dokumentet finns information om hur blod, avföring och urin kan samlas in. Det finns också en egen underrubrik för blodtagning på klogroda.

### **Blod**

Att samla blod från amfibier kan vara utmanande på grund av att de ofta är små och deras blodkärl kan vara svåra att hitta. Anestesi kan vara nödvändigt för att fixera djuren och för att minska stress. Stycket beskriver vanliga platser på amfibier för blodtagning, blodmängder och viktiga aspekter att tänka på.

### **Avföring och urin**

Det finns ett par metoder beskrivna för hur urin och avföring kan samlas in. En metod för urinsamling hos grodor är att hålla dem över en behållare samtidigt som grodans buk försiktigt masseras. För avföring kan grodan först utfodras och sedan placeras i en behållare där avföringen lätt kan samlas in. En annan metod är att försiktigt spruta kloaken med en liten mängd saltlösning som sedan aspireras tillbaka och på så vis kunna insamla färsk avföring.

## **Implantat, sida 60**

Stycket informerar om vanliga anledningar för att förse amfibier med implantat, olika typer av implantat som kan användas och problem som kan uppstå. För amfibier handlar många implantat om identifiering. Så kallade VIE (visible implant elastomer) är metoden som CCAC anser kan vara den bästa av de tillgängliga metoderna som inte innefattar naturliga skillnader i utseendet. Metoden innebär att en färgad tvåkomponentsplast injiceras i djurets överhud. Det finns fall då implantat i amfibier har emigrerat och även försvunnit ut ur kroppen.

## **Procedurer för genetiskt modifierade amfibier, sida 60–61**

Information finns i CCAC-dokument vad man, enligt CCAC, bör tänka på när genetiskt modifierade amfibier används. Genetisk modifiering kan påverka djurens välfärd och den bör ständigt utvärderas. Information om användning av genetiskt modifierade djur i Sverige finns i 2 och 13 kap. miljöbalken (1998:808), förordning (2000:271) om innesluten användning av genetiskt modifierade organismer, samt Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 1995:33) om användning av genetiskt modifierade djur. 14 kap. 7 § SJVFS (2019:9) finns information om hur genetiskt modifierade djur får framställas i Sverige.

### **Provsamling för genotypning**

Den minst invasiva metoden som uppfyller kraven ska användas, vilket är i enighet med 14 kap. 8–9 §§ SJVFS (2019:9).

### **Fenotypning**

Procedurer som är tänkta för vildtypsdjur är ibland inte lämpliga för genetiskt modifierade amfibier som har annorlunda fenotyp. Fenotyper är heller inte alltid stabila, de kan ändras med tid och ålder vilket i förlängningen innebär att välfärden kan förändras.

## **Avbildning, sida 61**

Stycket innehåller information om aspekter att tänka på i samband med att amfibier ska avbildas. Även om försök där djuret behöver avbildas ett flertal gånger innebär att färre djur används så innebär det även att djuret kommer utsättas för stress vid varje bildtagning. Stressen kommer av att djuret många gånger behöver hanteras, få injektioner, ges anestesi, transporteras, eventuellt få biverkningar av försök och fastas.

## **Beteendestudier, sida 61**

Information finns i CCAC-dokumentet om vanliga beteendestudier på amfibier samt var man bör tänka på för bästa resultat. För att lyckas med en beteendestudie krävs det djur som är väl aklimatiserade i den miljö de hålls, att de är friska och att de har en god välfärd. När det är möjligt bör djuren motiveras med belöningar i form av mat istället för att använda aversiva metoder. Negativ stimulering eller begränsning av resurser bör endast användas när det inte finns något annat alternativ. När aversiva metoder är nödvändiga ska den minst aversiva alltid väljas och den ska användas under kortast möjliga tid.

## **Reglering av födo- och vätskeintag, sida 62**

I originaltexten finns information om viktiga aspekter angående reglering av amfibiers födo- och vätskeintag. I försök där någon form av reglering sker gällande föda och vätska ska tydliga avbrytningspunkter finnas och noggrann övervakning ske. I 2 kap. 15 § SJVFS (2019:9) finns information om att avbrytningspunkter alltid ska ingå i ansökan om etiskt godkännande. Det nämns även i 4 kap. 4 § SJVFS (2019:9) att vid planeringen av ett djurförsök ska försöksledaren särskilt överväga, motivera och beskriva avbrytningspunkten. Den 5 § i samma kapitel anger att i djurförsök ska ha så tidig och skonsam avbrytningspunkt som möjligt med tydliga bedömningskriterier. CCAC skriver att vid reglering av födo- och vätskeintag för amfibier behöver man ha i åtanke att matsmältningssystemet hos amfibier skiljer sig från matsmältningssystemet hos varmblodiga arter och de inte äter lika regelbundet.

## **Insamling av oocyter, sida 62**

I stycket finns kortare information kring insamling av oocyter. Djuren måste vara i god kondition om oocyter ska samlas in. Om insamling ska ske från samma individ mer än en gång ska tillräcklig tid för återhämtning finnas mellan tillfällena. Det ska även finnas en gräns för hur många gånger oocyter får samlas från en individ, antalet gånger bör baseras på individens hälsa och oocyternas kvalitet. Den följande veckan efter ingreppet ska djuren övervakas extra noggrant efter inflammationer eller andra indikatorer på att de mår dåligt.

## **Anestesi och analgesi, sida 62–65**

Information om administrering av anestesi och analgesi, preparat som rekommenderas och omständigheter för återhämtning finns i CCAC-dokumentet. Som för andra arter kräver amfibier anestesi eller analgesi när de ska utsättas för en

procedur där de potentiellt kommer uppleva smärta och obehag. Hos amfibier kan det vara svårt att se tecken på smärta och lidande, vilket inte betyder att de inte är i behov av lindring. Medel som verkar lugnande kan även vara nödvändiga vid procedurer som kräver mycket hantering. Detta för att minska stress och risk för skador vid flyktförsök. Under tiden djuret är påverkat är det viktigt att de behålls i en kroppstemperatur som är lämplig för arten.

## **Operativa ingrepp, sida 66**

Information om vad man bör tänka på i samband med operativa ingrepp på amfibier finns i stycket. Aspekter som tas upp är bland andra att amfibier bör fastas innan ingrepp, hur lång fasta som krävs beror på arten. De anger att det är viktigt att amfibier inte torkar ut under ingrepp, bland annat rekommenderar man att akvatiska arter bör hållas åtminstone delvis i vatten under ingreppet. En svensk expert inom området menar dock att det kan försvåra precisionen under proceduren och att det viktigaste är att djuren hålls blöta.

## **Postoperativ vård, sida 66**

Åtgärder som underlättar återhämtning finns i stycket i CCAC-dokumentet. Eftersom nedsänkning i preparat är en vanlig administreringsmetod för akvatiska amfibier är det för återhämtningsprocessen viktigt för återhämtningen att djuren noggrant sköljs av och placeras i vatten fritt från preparat.

## **Avlivning, sida 67–69**

Läsaren hänvisas vidare till CCAC *guidelines on: euthanasia of animals used in science* för generella råd gällande avlivning. I stycket finns råd riktat mot amfibier. Avlivning ska ske med den minst aversiva metoden och utföras av kunniga personer. Döden måste alltid bekräftas och djuren får inte lämnas obehövade innan bekräftelsen är gjord. Mer om vad som gäller i Sverige hittar du 12 kap. SJVFS (2019:9) Av de avlivningsmetoder som nämns i dokumentet är överdos av narkosmedel en godkänd metod i Sverige, inerta gaser är däremot inte en godkänd metod. Dekapitering på medvetslösa djur är en godkänd metod även i Sverige, likaså är slag mot huvudet en godkänd metod, men den är ålders- eller viktbegränsad. Avlivning med hjälp av kraftig nedkylning/frysning är inte en godkänd metod i Sverige.

## **Efter avslutat försök, sida 70**

CCAC-dokumentet tar här upp olika metoder för avlivning och vad som kan hända amfibier efter ett avslutat försök. I Sverige ska försöksdjur avlivas efter avslutat försök, när slutpunkten har uppnåtts eller när det tagits ur försöket med undantag för om en försöksdjursveterinär eller expert bestämmer att försöksdjuret ska fortsätta att leva eller det inte framgår i det etiska godkännandet att försöksdjuret ska avlivas, 11 kap. 9–13 §§ SJVFS (2019:9). Försöksdjur får i allmänhet inte användas i mer än en procedur enligt 11 kap. 14 § SJVFS (2019:9), men undantag finns, vilka du kan läsa om i 11 kap. 15–16 §§ SJVFS (2019:9).

I Sverige får försöksdjur utplaceras i hem, återutsättas till det vilda eller återförs till annat djurhållningssystem under förutsättning att försöksdjurets hälsotillstånd tillåter det, att största möjliga ansträngning har gjorts för att värna om försöksdjurets välbefinnande samt att det inte innebär någon fara för folkhälsan, djurhälsan eller miljön. Du kan läsa mer om utplacering och frisläppning i 11 kap. 17–18, 20 §§ SJVFS (2019:9).

CCAC-dokumentet anger att det lokala regelverket ska följas vid hantering av biologiska avfall. I Sverige är hantering av biologiskt avfall inte reglerat i någon av djurskyddsföreskrifterna, man är istället hänvisad till Arbetarskyddsstyrelsens föreskrifter om arbete med försöksdjur (AFS 1990:11).

## Säkerhet, sida 71

CCAC-dokumentet anser att faciliteter ska ha rutiner och riskbedömningar som informerar om riskerna som kan finnas i arbetet med amfibier. CCAC anser även att personalen bär ett eget ansvar för att följa de rutiner som finns samt för att söka information och i allmänhet hålla sig uppdaterade om smittor och inför varje försök se över vad det finns för risker. Amfibier kan smitta människor med ett flertal olika zoonoser, så som salmonella. Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om förebyggande och särskilda åtgärder avseende hygien m.m. för att förhindra spridning av zoonoser och andra smittämnen (2013:14) behandlar vilka åtgärder som ska tas i de fall det föreligger risk för smitta och spridning. Det finns även amfibier som avger ett sekret från huden som är giftigt för människor. Därför är det viktigt att tänka på hygien och på att rätt utrustning används, Arbetsmiljöverkets föreskrifter om arbete med djur samt allmänna råd om tillämpningen av föreskrifterna (AFS 2008:17) behandlar bland annat arbete med giftiga djur och skyddsutrustning.