

Stöd vid val av avlivningsmetod för möss



Foto: Sören Andersson/2See AB

Innehåll

Bakgrund	3
Inledning	4
Avblodning av medvetslösa djur	8
Dekapitering	10
Halsdislokation	12
Inerta gaser	14
Injektion av kemiska preparat på medvetslösa djur	16
Koldioxid	18
Kraftigt slag mot huvudet	20
Narkosmedel	22
Kontrollmetoder	26
Referenser	29

Bakgrund

Det här stödmaterialet har Sveriges 3R-center tagit fram på uppdrag av Sveriges nationella kommitté för skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål. Stödmaterialet är avsett för alla som arbetar med möss som försöksdjur. Tillsammans med nationella kommitténs expertgrupp har Sveriges 3R-center sammanställt fakta och vetenskaplig litteratur om alla godkända avlivningsmetoder för möss som används i forskning. Sveriges 3R-center har också varit i kontakt med verksamheter som arbetar med möss och samlat in deras erfarenheter när det gäller bedövning inför avlivning, avlivning och kontrollmetoder. Dessa erfarenheter redovisas som en separat del för varje avlivningsmetod i materialet. Erfarenheterna är inte återgivna som citat, utan är formulerade på ett sätt som passar materialets struktur.

Materialet omfattar alla metoder som enligt svensk lagstiftning om försöksdjur är godkända att använda för bedövning, avlivning och kontroll av död hos möss. Metod för bedövning behandlas under rubriken narkosmedel, därefter följer en rubrik för respektive godkänd avlivningsmetod. Samtliga metoder för kontroll av död är samlade under rubriken kontrollmetoder. I varje metodavsnitt finns rekommendationer baserade på vetenskaplig litteratur samt erfarenheter som centret samlat in från verksamheter i Sverige som arbetar med möss som försöksdjur. I slutet av materialet redovisas de referenser som har använts i sammanställningen. Använd gärna referenslistan för att läsa mer om respektive metod.

Inledning

Avlivning

Avlivning avser varje avsiktligt framkallad process som leder till att ett djur dör. Majoriteten av de möss som föds upp för att användas i försök avlivs förr eller senare av olika anledningar. Att avliva ett djur kan exempelvis vara aktuellt när en avbrytningspunkt har uppnåtts, ett djur har fel genupsättning och därför inte kan användas, eller vid överskott av djur. Avlivning kan också vara nödvändigt för att kunna studera organ eller vävnader i slutskedet av ett försök.

Val av metod

Vid avlivning ska den mest skonsamma metoden för djuret användas. Vilken metod som är mest skonsam i det aktuella fallet kan bero på faktorer som platsen där avlivningen ska ske, vilken utrustning som finns tillgänglig och vem det är som ska utföra avlivningen. Andra faktorer att ta hänsyn till vid val av metod är musens ålder, kön, stam och eventuella skador eller sjukdomar. Valet av metod bör baseras på vetenskapliga evidens med musens ålder, kön och stam i åtanke. I en nödsituation när ett försöksdjur omedelbart måste avlivas får andra metoder än dem som beskrivs i detta dokument användas.¹

Avlivningen är en process med olika moment som kan upplevas som stressande eller smärtsamma för mössen. Det kan handla om att fånga in, hantera, fixera, separera möss som har hållits tillsammans, föra ihop möss som är okända för varandra, främmande miljöer, transporter och själva avlivningsmetoden i sig. Musens tidigare erfarenheter spelar också roll. Det finns till exempel forskning som tyder på att möss som tidigare utsatts för inhalationsanestesi blir mer stressade nästa gång de utsätts för detta. Det kan vara svårt att helt undvika stress under avlivningen, men det är viktigt att i varje enskilt fall minimera stressen för djuren.

Rekommendationer för att minska stress hos möss i samband med avlivning

- Hantera alltid möss varsamt och undvik att rutinmässigt fånga in, lyfta och förflytta dem i svansen. Varsamt hanterade möss blir inte lika stressade när de hanteras.
- När det är möjligt, använd alltid musens hembur när den ska andas in någon form av gas för bedövning eller avlivning.
- Undvik att sätta samman möss som inte har hållits i samma bur före avlivning.
- Undvik att avliva i närheten av andra möss, då de riskerar att påverkas negativt och bli stressade.
- Den person som avlivar möss ska vara utbildad, tränad och bekväm med den metod som används.
- Dämpa belysningen vid hantering av vakna möss om det är möjligt.

¹ 12 kap. 2 §, SJVFS (2019:9)

Den person som avlivar möss

Den person som avlivar ska vara utbildad och tränad i den metod som används för att kunna utföra avlivningen på det mest skonsamma sättet.² Det är också viktigt att den som utför avlivningen känner sig bekväm med metoden och att avliva, både för sin egna psykiska hälsa och för mössens välfärd. Den som avlivar ska även kunna känna igen tecken på smärta och stress, och kunna bekräfta medvetlöshet och död hos möss.

Personer som avlivar djur kan påverkas emotionellt och psykiskt. Fysiska avlivningsmetoder kan ha en större påverkan hos den som avlivar jämfört med metoder som inte är fysiska. Ett fenomen som förekommer är så kallad *compassion fatigue*. Compassion fatigue (empatitrötthet) kan utvecklas när någon utsätts för den stress som det innebär att visa omsorg för djur samtidigt som djuren orsakas rädsla, smärta eller ångest, till exempel i ett försök eller vid en avlivning. Någon som drabbas av compassion fatigue kan bli deprimerad, frustrerad och få en begränsad förmåga att ge djur den omsorg de behöver, vilket i sin tur kan påverka djurens välfärd negativt.

Tydliga rutiner och långsiktig planering är viktigt för att motverka compassion fatigue. Nedan följer en lista från North American 3Rs Collaborative (fritt översatt av Sveriges 3R-center) med förslag på åtgärder för att motverka compassion fatigue:

- Uppmuntra och respektera varandras gränser mellan arbete och privatliv. Ta pauser under arbetet, återhämtning är viktigt. Hjälpt varandra och ordna gärna aktiviteter som ökar motivation och samarbete.
- Respektera och värdesätt bandet som kan uppstå mellan försöksdjur och de som arbetar med dem. Uppmärksamma djurens värde och bidrag till forskningsframsteg, ordna gärna en minnesplats för djuren.
- Tillåt och schemalägg gärna positiva interaktioner med försöksdjuren såsom träning och lek.
- När det är möjligt, arbeta för att ge försöksdjur nya hem istället för att avliva dem.
- Främja egenvård som god kosthållning, återhämtning, sömn och träning.
- Hjälpt och stötta varandra genom att turas om med tuffare arbetsuppgifter som till exempel avlivning.
- Arbeta med 3R och försök att hela tiden hitta nya vägar för att förfina, ersätta och minska djurförsök.
- Förespråka en öppen dialog om djurförsök, både internt och gentemot allmänheten.
- Främja en öppen kommunikation där alla känner sig trygga med att dela med sig av sina tankar och synpunkter.

²Tabell 2, 12 kap. 29 § SJVFS (2019:9)

Metod för bedövning

Narkosmedel är den enda tillåtna bedövningsmetoden inför avlivning av möss, men det är också en avlivningsmetod i sig. Information om narkosmedel som bedövningsmetod och avlivningsmetod finns under rubriken Narkosmedel.

Avlivningsmetoder för möss

Följande metoder är godkända för avlivning av möss:

- avblodning av medvetslösa djur
- dekapitering
- halsdislokation
- inerta gaser
- injektion av kemiska preparat på medvetslösa djur
- koldioxid
- kraftigt slag mot huvudet
- överdos av narkosmedel.

Några av metoderna kräver särskilda omständigheter eller är förenade med särskilda villkor.³

Kontrollmetoder

Efter avlivningen måste döden bekräftas innan vidare åtgärder företas med kroppen. Godkända kontrollmetoder för möss är bekräftelse av att cirkulationen har upphört permanent, eller att rigor mortis (likstelhet) har inträtt förutsatt att det inte finns någon risk för lidande. När varken upphörd cirkulation eller rigor mortis kan användas, kan döden säkerställas genom destruktion av hjärnan, avblodning eller halsdislokation.⁴

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

Här har vi samlat erfarenheter som gäller för flera olika avlivningsmetoder. Erfarenheter som är specifika för en viss metod finns beskrivna under respektive metod i materialet.

- Vi har utformat tydliga rutiner som är lätta att följa, vilket minimerar stress under hela avlivningsprocessen.
- När vi transporterar möss till rummet för avlivning sker det lugnt, ljuset i rummet dämpas eller burens ovansida täcks för att skydda mössen mot starkt ljus.
- Om möjlighet finns avlivar jag gärna i förrummet utanför djurrummet för att andra möss inte ska höra ljud eller känna lukter från de som avlivas.
- Jag täcker över de burar med möss som behöver stå och vänta innan avlivning med en handduk, operationsduk eller liknande. Detta minskar synintrycken och gör det mörkare, vilket kan vara lugnande för mössen.

³ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

⁴ 12 kap. 7 § SJVFS (2019:9)

- Vi pratar med studenter och nya doktorander om avlivning innan de börjar arbeta med djuren. Vi följer också upp hur det känns efter ett tag.
- Vi planerar in avlivningsarbetet så att det finns gott om tid att genomföra det utan att behöva stressa. Vi vill inte riskera att påverka djurens sinnesstämning negativt med vår stress.
- När många djur ska avlivas under en och samma vecka rekommenderar vi vår personal att dela upp avlivningarna mellan flera dagar. Detta görs i de fall djuren inte riskerar att utsättas för lidande. När det är möjligt kan avlivningarna även spridas ut mellan andra arbetsuppgifter. Det kan vara psykiskt påfrestande att avliva under en längre period utan paus.
- För att minska stressen hos djuren tycker vi att det är viktigt att de avlivas av en lugn person i en lugn miljö.
- Vi är noga med att all utrustning, läkemedel med mera är väl förberett innan avlivningen påbörjas.
- Jag tränar mycket för att känna mig säker på metoden som jag använder.

Avblodning av medvetslösa djur

Att tänka på

- Metoden är godkänd för möss i alla åldrar.⁵
- Musen ska vara medvetslös innan avlivningen påbörjas.⁶

Metoden i korthet

Metoden får endast utföras på medvetslösa möss och innebär att halspulsådern (ovanligt på möss) eller minst ett av de centrala blodkärlen, såsom stora kroppspulsådern, öppnas med hjälp av till exempel en sax eller en skalpell.⁷

Djurvälfärd

Eftersom musen ska vara medvetslös vid avblodning är det främst val av narkosmedel och narkosdjup som är avgörande för djurvälståndet under avlivningen. Musen kan även vara medvetslös av annan anledning, såsom skada eller sjukdom. För att säkerställa att musen är medvetslös kan smärtresponsten testas. Ett sätt att bedöma smärtresponsten är att testa musens avvärjningsreflex genom att bestämt nypa den i en tass. Om musen är medvetslös saknar den helt reflexen att dra åt sig benet. Avvärjningsreflexen bör testas strax innan avblodningen påbörjas eftersom narkosdjupet kan variera över tid. Testet bör göras i baktassarna då forskning visar att bakbenens reflexer är bättre indikatorer än frambenens. Det är viktigt att medvetslöshet säkerställs före avblodning eftersom avblodning leder till cirkulationssvikt, vilket är ett ångestframkallande tillstånd.

Fysiologi

Vid avblodning minskar blodvolymen drastiskt och blodtrycket sjunker. Det orsakar cirkulations- och organsvikt, vilket så småningom leder till död.

Praktiska aspekter

Utrustning måste finnas redo för att söva med narkosmedel innan avblodning genomförs. För att öppna blodkärl behövs ett hjälpmedel som en sax eller en skalpell. Utrustningen måste regelbundet ses över och hållas skarp för att säkerställa en snabb och effektiv avlivning.

Rekommendationer

Det är viktigt med val av narkosmedel och övervakning under narkos eftersom det är de mest kritiska faktorerna för djurvälståndet vid denna avlivningsmetod. Fysiska avlivningsmetoder som avblodning kan ha en större negativ psykisk påverkan hos den som avlivar, jämfört med metoder som inte är fysiska. Det är viktigt att den som utför metoden känner sig bekväm med metoden och är villig att utföra den, både för den egna psykiska hälsan och för mössens välfärd.

⁵ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

⁶ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

⁷ 12 kap. 26 § SJVFS (2019:9)

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

- Vi tycker det är viktigt att musen ligger kvar i sövningsmasken under hela proceduren. Först när musen är avblodad och har dött, tas den ur masken.
- Hos oss ingår denna metod i en praktisk utbildning som alla behöver gå med godkänt resultat innan de får möjlighet att arbeta självständigt med djuren.
- I vår ”standardavlivningsmetod” för djurtekniker ingår uppklipp av diafragma och hjärta för att säkerhetsställa död, så vi gör detta på alla djur vi avlivar. Metoden är bra på så sätt att den är säker, men ganska tidskrävande när man avlivar många djur under en dag.

Dekapitering

Att tänka på

- Dekapitering kan vara en lämplig metod för möss som är 10 dagar gamla eller yngre då få andra avlivningsmetoder är möjliga att använda.
- Metoden är en godkänd avlivningsmetod för möss i alla åldrar när andra metoder inte är möjliga att använda.⁸
- Metoden kräver att mössen hanteras.

Metoden i korthet

Dekapitering innebär att huvudet hastigt skiljs från kroppen med hjälp av en giljotin, sax eller liknande.

Djurvälfärd

Dekapitering är en metod som snabbt leder till medvetslöshet och död när den utförs korrekt. Forskning har hittills inte kunnat visa huruvida möss är medvetna och upplever smärta efter dekapitering. Det finns en risk för misslyckad dekapitering vilket kan vara förenat med lidande. För att upprätthålla en god djurvälfärd är det avgörande att metoden utförs med rätt teknik. Vid dekapitering på vakna möss måste de först fångas in och fixeras, vilket kan vara förenat med stress. Undvik att utföra dekapitering i närheten av andra möss då de riskerar att påverkas negativt och bli stressade.

Fysiologi

Kort efter dekapitering upphör all hjärnaktivitet. Metoden utlöser en stark sympatisk aktivitet och frisättning av stresshormoner (katekolaminer) från binjuremärgen. Den massiva blodförlust som dekapitering orsakar leder till att hjärnan snabbt drabbas av syrebrist, vilket gör att ingen hjärnaktivitet kan fortgå. Dekapitering orsakar ingen kemisk kontaminering av vävnader.

Praktiska aspekter

Giljotiner avsedda för möss finns att köpa. För möss som är 10 dagar gamla eller yngre kan en skarp sax användas. Användning av giljotin eller andra vassa redskap innebär en skaderisk för den person som avlivar djuret. Väl utarbetade rutiner kan minska risken för skador. Utrustningen måste regelbundet ses över och hållas skarp för att säkerställa en snabb och effektiv avlivning. Ett hjälpmedel för fixering kan underlätta placeringen av djuret vid avlivning av vakna möss, samt minska risken för skador hos den som avlivar. Ett sådant hjälpmedel kan till exempel vara en plastkon som musen placeras i.

Rekommendationer

Kunskap och färdighet i att använda metoden är av yttersta vikt. För att säkerställa att en god teknik upprätthålls krävs regelbunden träning och uppföljning. Dekapiteringsträning kan med fördel ske på medvetslösa eller döda möss, men det är viktigt att komma ihåg att det inte är detsamma som att utföra metoden på en

⁸ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

vaken mus. Fysiska avlivningsmetoder som dekapitering kan ha en större negativ psykisk påverkan hos den som avlivar jämfört med metoder som inte är fysiska. Det är viktigt att den som utför metoden känner sig bekväm med metoden och att avliva, både för den egna psykiska hälsan och för mössens välfärd. Vid avlivning med denna metod kan hantering och fixering vara starka stressfaktorer för musen. Stressen kan minskas genom att hantera möss varsamt och rutinmässigt undvika att fånga in, lyfta och förflytta dem i svansen, även före avlivningsmomentet. Dekapitering kan vara en lämplig metod för möss som är 10 dagar gamla eller yngre då få andra avlivningsmetoder är möjliga att använda.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

- Jag använder dekapitering som avlivningsmetod för musungar som är yngre än en vecka gamla. Jag är noggrann med att avliva ungarna en bit från föräldrarna för att de inte ska höra ljuden som ungarna ger ifrån sig. Om avlivningen inte är akut flyttar jag dem till ett annat rum för att inga andra möss ska märka av avlivningen.
- Vid dekapitering av musungar är jag noggrann med att använda en vass och tillräckligt stor sax. Jag utför dekapiteringen bestämt och utan att tveka. För att undvika att råka klippa av musens tassor så håller jag fast dem eller för saxen från nacken och fram mot huvudet, istället för tvärtom.

Halsdislokation

Att tänka på

- Metoden är godkänd för möss i alla åldrar.⁹
- Metoden kräver att mössen hanteras.
- Metoden kräver mycket träning och god kunskap om tekniken.
- Metoden är tidseffektiv vid avlivning av enstaka djur.

Metoden i korthet

Halsdislokation är en manuell avlivningsmetod som innebär att nackkotorna separeras så att det uppstår en dödlig ryggmärgsskada.

Djurvälfärd

Halsdislokation är en metod som snabbt leder till medvetslöshet och död när den utförs korrekt. För att kunna utföra halsdislokation på vakna möss måste de först fångas in och fixeras, vilket kan vara förenat med stress. För att upprätthålla en god djurvälfärd är det avgörande att metoden utförs med rätt teknik. Det finns en risk för misslyckad halsdislokation, vilket kan orsaka lidande. Halsdislokation som utförs genom att rycka i svansen, utan att applicera ett tillräckligt tryck på nacken, innebär en ökad risk för ryggmärgsbrott på fel ställe i ryggraden. En dislokation som sker längre ner i ryggraden kan leda till att musen fortsätter andas, förblir vid medvetande och utsätts för lidande. Undvik att utföra halsdislokation i närheten av andra möss då de riskerar att påverkas negativt och bli stressade. Forskning har inte kunnat visa huruvida möss är vid medvetande eller känner smärta efter en halsdislokation, men det bedöms som osannolikt med tanke på den skada som uppstår i ryggmärgen. Om en felaktig dislokation utförs på medvetslösa möss finns det en risk att de vaknar upp till smärta och lidande.

Fysiologi

När nackkotorna separeras uppstår en dödlig skada högt upp på ryggmärgen, andningen upphör och hjärndöd uppstår. Tekniken orsakar ingen kemisk kontaminering av vävnader.

Praktiska aspekter

Det finns olika tekniker för att utföra halsdislokation, men grundprincipen är densamma. Halsdislokation är en manuell metod som innebär att musen först fixeras genom ett fast grepp i musens svansrot och med ett bestämt tryck på nacken, precis bakom musens skalle. När musen är fixerad dislokteras nacken med en bestämd rörelse och ett tryck nedåt och framåt på nacken, samtidigt som ryggraden sträcks med ett kontrollerat drag i svansroten. Istället för en hand bakom skallen kan ett hjälpmedel, såsom en stängd sax eller liknande, användas för att fixera musen och genomföra avlivningen. Utöver eventuella hjälpmedel krävs ingen särskild utrustning och metoden kan därmed utföras till en låg kostnad.

⁹ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

Rekommendationer

Kunskap och färdighet i att använda metoden är av yttersta vikt. För att upprätthålla en god djurvälstånd är det avgörande att metoden utförs med rätt teknik. Övning på medvetlösa möss eller möss som har avlivats med annan metod är nödvändigt, men det är viktigt att komma ihåg att det inte är detsamma som att utföra metoden på en vaken mus. Fysiska avlivningsmetoder som halsdislokation kan ha en större negativ psykisk påverkan hos den person som avlivar jämfört med metoder som inte är fysiska. Det är viktigt att den som utför metoden känner sig bekväm med metoden och att avliva, både för sin egna psykiska hälsan och för mössens välfärd. Vid avlivning med denna metod kan hantering och fixering vara starka stressfaktorer för musen. Stressen kan minskas genom att hantera musen varsamt och rutinmässigt undvika att fånga in, lyfta och förflytta den i svansen, även före avlivningsmomentet.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

- Alla i vår forskningsgrupp får först träna på sövda djur för att bli säkra på metoden. Om någon i gruppen inte känner sig bekväm med metoden kan ofta en alternativ metod användas.
- Jag sover gärna först och avlivar sedan genom halsdislokation. Om det handlar om en akut avlivning, utför jag halsdislokation utan att söva för att musen ska slippa stressen som det innebär att bli sövd. Jag tycker det är viktigt att vara säker på metoden och att genomföra avlivningen snabbt. Jag använder gärna ett hjälpmedel som är smalt och hårt, som en burkortshållare i metall.
- Jag använder endast halsdislokation om musen är akut sjuk för att slippa transportera den till en sövningsstation. Om musen är sjuk och har ett nedsatt allmäntillstånd upplever jag att metoden är snabb och enkel. Jag är dock inte bekväm med att utföra halsdislokation på en vaken, fullvuxen och frisk mus.
- Jag tycker det är viktigt att hantera mössen lugnt och att träna mycket på metoden så att dislokationen kan utföras snabbt utan tvekan.
- Om gallret på burens används som underlag vid halsdislokation är det viktigt att gallret sitter ordentligt på burens så att ytan blir stabil. Vi undviker att avliva när det är andra möss i burens, vi använder en tom bur istället.
- När vi avlivar med halsdislokation ser vi alltid till att burkompisarna inte ser eller hör.
- Jag låter alltid musen sitta på något den kan klamra sig fast i som ett galler eller en stege så att den sitter stadigt och inte försöker springa runt.
- Jag är noga med att hålla ett fast och bra grepp om musen för att minimera risken att den flyr och därmed blir mer stressad. Om musen verkar orolig brukar jag hantera den extra varsamt. Detta gör jag genom att plocka upp den med hjälp av en stege eller en tunnel och sedan hålla den i handen en stund före avlivningen.

Inerta gaser

Det finns flera inerta gaser som kan användas vid avlivning. Argon och kvävgas är vanligt förekommande.

Att tänka på

- Metoden är en godkänd avlivningsmetod för möss i alla åldrar.¹⁰
- Metoden är inte lämplig för möss som är 10 dagar gamla eller yngre.
- Metoden kräver ingen fixering.
- Avlivningen kan ske i hemburen.
- Flera djur kan avlivas samtidigt.
- Forskning tyder på att argon och kvävgas är obehagligt för möss att andas in.

Metoden i korthet

Inerta gaser tränger undan syret i luften. Inandning av inerta gaser i hög koncentration orsakar syrebrist och så småningom död.

Djurvälfärd

Endast ett fåtal studier har undersökt hur möss reagerar på avlivning med inerta gaser. Det är känt att syrebristen som uppstår innan mössen blir medvetslösa ger upphov till andnöd. Obehaget som det innebär kommer sannolikt att förstärkas om avlivningen även innebär hantering, transport, obekant miljö eller omgruppering av djuren. Dessa faktorer bör därför undvikas så långt det är möjligt. Till skillnad från koldioxid orsakar kvävgas inte ökad motorisk aktivitet eller att mössen hoppar, varav det senare är ett tecken på stark stress.

Fysiologi

Det har inte undersökts vid vilken koncentration av inerta gaser som syrebrist inträffar hos möss. Hos råttor, kaniner och mink uppstår syrebrist och så småningom död vid en koncentration >98 % av argon eller kväve. Syrebristen leder till andningsdepression och permanenta hjärnskador. Hos råttor har man även sett blödningar i lungblåsorna, men om det kan förekomma hos möss är inte känt.

Praktiska aspekter

Argon och kvävgas reagerar inte med andra ämnen och är inte brännbara eller explosiva. De har inte heller någon lukt eller färg, vilket gör det svårt att upptäcka eventuella läckor. Argon är i dagsläget ett dyrare alternativ jämfört med kvävgas. Gaserna levereras i gastuber med högt tryck. Genom en tryckregulator, gasledning och en flödesmätare kan gasen ledas in i en kammare där mössen placeras. Kammarens storlek, täthet, utformning, inredning och antalet möss kan ha betydelse för hur kammaren fylls med gas. Det kan i sin tur påverka hur snabbt mössen blir medvetslösa. Kammaren bör vara utformad på ett sådant sätt att mössen inte kan skada sig. Under tiden avlivningen pågår ska mössen övervakas visuellt.

¹⁰ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

Rekommendationer

När det är möjligt bör ett högt gstryck in i kammaren undvikas då det kan orsaka kalla luftdrag och höga ljud som kan stressa mössen. Undvik också att blanda möss från olika burar och använd alltid hemburen när det är möjligt för att minska stressen. Vid en skada, sjukdom eller stress kan mössens andning vara påverkad. För möss vars andning är påverkad bör lämplig bedövning innan avlivningen eller en annan avlivningsmetod övervägas då mössen annars kan uppleva avlivningen som mer obehaglig. Möss som är 10 dagar gamla eller yngre kan fortsätta leva länge trots syrebrist. Vid avlivning av möss i den åldern bör därför en annan avlivningsmetod övervägas.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

Sveriges 3R-center har inte mottagit några erfarenheter från verksamheter när det gäller avlivning med argon och kvävgas.

Injektion av kemiska preparat på medvetslösa djur

Att tänka på

- Metoden är en godkänd avlivningsmetod för möss i alla åldrar.¹¹
- Musen ska vara medvetslös innan avlivningen påbörjas.¹¹

Metoden i korthet

Musen injiceras med ett kemiskt preparat som är avsett för avlivning av möss. Vid injektionen ska musen vara medvetslös.¹²

Djurvälfärd

Eftersom musen ska vara medvetslös vid injektion av kemiska preparat är det främst val av narkosmedel och narkosdjup som är avgörande för djurvälferden under avlivningen. Musen kan vara medvetslös av annan anledning, såsom skada eller sjukdom. För att säkerställa att musen är medvetslös kan smärtresponsern testas. Ett sätt att bedöma smärtresponsern är att testa musens avvärjningsreflex genom att bestämt nypa den i en tass. Om musen är medvetslös saknar den helt reflexen att dra åt sig benet. Avvärjningsreflexen bör testas strax innan injektionen påbörjas då narkosdjupet kan variera över tid. Testet bör göras i baktassarna då forskning har visat att bakbenens reflexer är bättre indikatorer än frambenens.

Fysiologi

De fysiologiska effekterna varierar kraftigt beroende på vilket kemiskt preparat som injiceras. Preparatet kan till exempel ha paralytisk effekt eller påverka cirkulation och andning.

Praktiska aspekter

Medvetslösa möss får avlivas genom injektion av kemiska preparat som inte har någon sövande effekt samt är avsedda för möss och för ändamålet. I undantagsfall kan en regional djurförsöksetisk nämnd godkänna avlivning med andra kemiska preparat om det finns vetenskapliga skäl. Det finns kemiska preparat som kan utgöra en risk för människor att hantera, såsom neuromuskulärt blockerande preparat. Avlivade möss kan behöva hanteras med försiktighet beroende på vilket preparat som har injicerats för att inte utgöra en risk för människor, djur eller miljön.

Rekommendationer

Det är viktigt med val av narkosmedel och övervakning under narkos eftersom det är de mest kritiska faktorerna för djurvälferden vid denna avlivningsmetod. Läs mer om narkosmedel under rubriken Narkosmedel.

¹¹ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

¹² 12 kap. 12-13 §§ SJVFS (2019:9)

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

Sveriges 3R-center har inte mottagit några erfarenheter från verksamheter när det gäller avlivning genom injektion av kemiska preparat.

Koldioxid

Att tänka på

- Metoden är endast godkänd för möss äldre än 10 dagar.¹³
- Metoden kräver ingen fixering.
- Avlivningen kan ske i hemburen.
- Flera möss kan avlivas samtidigt.
- Metoden orsakar smärta, rädsla och ångest.

Metoden i korthet

Inandning av koldioxid i en koncentration om 30% eller högre orsakar medvetlöshet och syrebrist som så småningom leder till död.

Djurvälfärd

I den vetenskapliga litteraturen finns det inget entydigt svar på om en långsam eller snabb tillförsel av koldioxid till kammaren är bäst. Det är känt att koldioxid orsakar stress, ångest och smärta oavsett hur snabbt kammaren fylls. Obehaget kommer sannolikt att förstärkas om avlivningen även innebär hantering, transport, obekant miljö eller omgruppering av djuren. Dessa faktorer bör därför undvikas så långt det är möjligt. Vid avlivning med koldioxid kan medvetlösa möss misstas för döda. Medvetlösa möss kan återhämta sig och vakna upp igen, vilket kan innebära ett stort lidande, i synnerhet om mössen har placerats i ett kylskåp eller i en frys vid tidpunkten för uppvaknandet.

Fysiologi

Avlivning med koldioxid påverkar kroppen på flera olika sätt, varav några nämns här. Hög koldioxidhalt i inandningsluften leder till ökad koncentration av koldioxid i blodet som i sin tur stör syra-basbalansen i kroppen. Koldioxiden sänker pH-värdet i blodet, vilket framförallt påverkar andning och cirkulation. Kroppen svarar då med att försöka ventileras bort koldioxiden från blodet genom hyperventilation, det vill säga en snabb och ytlig andning. Eftersom halten koldioxid är så hög i inandningsluften kan inte blodets pH-värde normaliseras. Det leder till frisättning av stresshormoner som stimulerar receptorer i hjärta och kärl, vilket ger en förhöjd hjärtfrekvens och ett förhöjt blodtryck. Till följd av det utvidgas perifera kärl och det uppstår lungblödningar, lungödem och hjärnblödningar, varpå musen dör.

Praktiska aspekter

Koldioxid har en högre densitet än luft och är varken brännbar eller explosiv, vilket gör den enkel och säker att hantera. Jämfört med andra avlivningsmetoder är koldioxid ett billigare alternativ. Koldioxiden levereras i gastuber med ett högt tryck. Genom en tryckregulator, gasledning och en flödesmätare kan gasen ledas in i kammaren med möss. Kammaren bör vara utformad på ett sådant sätt att mössen inte kan skada sig och kan övervakas visuellt under avlivningen. Kammarens storlek, täthet, utformning, inredning och antalet möss har betydelse för hur kammaren fylls med koldioxid, vilket i sin tur påverkar hur snabbt mössen blir medvetlösa. Det finns automatiska system som kan tillföra koldioxid till

¹³ 12 kap. 14 § SJVFS (2019:9)

enskilda burar eller flera burar samtidigt med hjälp av skåp eller anslutning till ett helt IVC-system. Utrymmet ska kunna fyllas på med koldioxid gradvis till dess att koldioxiden utgör 80 % av luften inne i kammaren med möss.

Rekommendationer

När det är möjligt bör ett högt gastryck in i kammaren undvikas då det kan orsaka kalla luftdrag och höga ljud som kan stressa mössen. Vid en skada, sjukdom eller stress kan mössens andning påverkas. För möss vars andning är påverkad bör en lämplig bedövning innan avlivningen eller annan metod övervägas då mössen annars kan uppleva avlivningen som mer obehaglig. Undvik att blanda möss från olika burar och använd alltid hemburen när det är möjligt för att minska stressen. Om en särskild kammare används ska den tömmas på koldioxid mellan avlivningarna. Behåll flödet av koldioxid under en minut efter att mössen tagit det sista andetaget för att vara säker på att andningen har upphört helt. Tänk på att koldioxid är en tung gas och att det inte räcker med att öppna locket för att den ska vädras ut. Koldioxiden behöver hållas ut på en väl ventilerad yta.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

- Vi har en skriftlig instruktion som är lätt att följa. Instruktionen inkluderar både själva avlivningsmomentet och hur det automatiska systemets funktion säkerställs före avlivningen. Instruktionen gör att alla gör lika och känner sig trygga i utförandet, vilket leder till att alla kan hjälpa till med avlivningarna.
- Jag tycker att det är bra med ett automatiskt system som är programmerat så att flödes hastigheten är förinställd och inte behöver regleras manuellt.
- Vi avlivar alltid i hemburen för att stressa mössen mindre.
- När det sitter flera möss i samma bur där inte alla ska avlivas inväntar vi nästa burbyte. Vid burbytet låter vi de möss som ska avlivas sitta kvar i den gamla hemburen och flyttar övriga möss till en ny bur. Mössen som ska avlivas får då sitta kvar och avlivas i hemburen som de känner sig trygga i.
- Vi kontrollerar regelbundet att all utrustning är i gott skick och att den fungerar som den ska.
- Jag har gärna lämplig berikning i buren under avlivningen.
- Om mössen inte avlivas i sin hembur rengör vi utrymmet som de avlivas i så att de inte känner lukten från andra möss som varit rädda.
- När mössen inte avlivas i sin hembur täcker jag utrymmets botten med till exempel papper för att mössen inte ska bli blöta eller nedsmutsade av urin och avföring.

Kraftigt slag mot huvudet

Att tänka på

- Metoden får endast användas för ett mindre antal möss.¹⁴
- Metoden är godkänd för möss i alla åldrar.¹⁵
- Metoden kräver att mössen hanteras.
- Metoden kräver mycket träning och god kunskap om tekniken.

Metoden i korthet

Ett kraftigt välriktat slag mot musens bakhuvud orsakar omedelbar medvetslöshet och död.

Djurvälfärd

Kraftigt slag mot huvudet är en metod som snabbt leder till medvetslöshet och död när den utförs korrekt. Det finns en risk för felaktigt utförande vilket kan vara förenat med lidande. En god teknik är avgörande för att upprätthålla en god djurvälfärd. För att kunna utföra ett kraftigt slag mot huvudet på vakna möss måste de först fångas in och fixeras, vilket kan vara förenat med stress. Om det finns andra möss i närheten riskerar dessa att påverkas negativt av de stressade mössens larm och feromoner.

Fysiologi

Ett kraftigt välriktat slag mot bakhuvudet orsakar hjärnskakning med efterföljande hjärnskador. Slaget orsakar skador i kraniet och närliggande vävnader varpå det centrala nervsystemet upphör att fungera. Metoden leder till omedelbar medvetslöshet och död eftersom de normala hjärnfunktionerna upphör.¹⁴

Praktiska aspekter

Det finns olika tekniker för att utföra metoden varav en är att placera musen på en yta, såsom ett galler, där den får grepp och kan hålla sig fast. Musen hålls sedan i svansen och slås hårt i huvudet bakom öronen med en hård stav eller liknande tillhygge. Det krävs ingen särskild utrustning för att utföra metoden och den kan därmed utföras till en låg kostnad. Metoden kräver hög koncentration och god träffsäkerhet hos personen som avlivar och är endast tillåten för ett mindre antal möss.

Rekommendationer

Kunskap och färdighet i att använda denna metod är av yttersta vikt. Det krävs regelbunden träning och uppföljning för att säkerställa att rätt teknik används. Fysiska avlivningsmetoder som kraftigt slag mot huvudet kan ha en större negativ psykisk påverkan hos den som avlivar jämfört med metoder som inte är fysiska. Det är viktigt att den som utför metoden känner sig bekväm med metoden och är att avliva, både för sin egna psykiska hälsa och för mössens välfärd. Vid avlivning med denna metod på vakna möss är hanteringen en potentiell stressfaktor. Stressen

¹⁴ 12 kap. 18 § SJVFS (2019:9)

¹⁵ Tabell 1, 12 kap. 8 § SJVFS (2019:9)

kan minskas genom att hantera musen varsamt och rutinmässigt undvika att fånga in, lyfta och förflytta den i svansen, även före avlivningsmomentet.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

Sveriges 3R-center har inte mottagit några erfarenheter från verksamheter när det gäller metoden kraftigt slag mot huvudet.

Narkosmedel

Att tänka på vid narkos med inhalationsmedel

- Metoden är godkänd för möss i alla åldrar.¹⁶
- Metoden kräver ingen fixering.
- Bedövning och avlivning kan ske i hemburen.
- Flera djur kan bedövas eller avlivas samtidigt.
- När narkosmedel används som avlivningsmetod tar det lång tid innan mössen dör, det kan därför vara aktuellt att använda ytterligare en avlivningsmetod.
- Metoden kan ge upphov till olika typer av postmortala förändringar beroende på vilket preparat som används.

Att tänka på vid narkos med injektionsmedel

- Metoden är godkänd för möss i alla åldrar.¹⁶
- Metoden kräver att mössen hanteras.
- Metoden lämpar sig bäst vid avlivning av enstaka djur.
- Metoden kan ge upphov till olika typer av postmortala förändringar beroende på vilket preparat som används.

Metoden i korthet

En överdos av narkosmedel orsakar andningsdepression och cirkulationssvikt, vilket leder till medvetslöshet och död.

Djurvälstånd

Inhalationsmedel

Forskning har visat att möss upplever flera olika inhalationsmedel som obehagliga eller olustiga i varierande grad. Att inandning av inhalationsmedlen kan upplevas som obehagliga eller olustiga behöver inte betyda att de orsakar smärta, men det innebär att mössen i de flesta fall undviker gasen. Möss som tidigare blivit exponerade för inhalationsmedel kan reagera negativt och bli mer stressade när de utsätts för det nästa gång. Obehaget kommer sannolikt att förstärkas om djuren även utsätts för transport, en obekant miljö eller omgruppering. Dessa faktorer bör därför undvikas så långt det är möjligt.

Injektionsmedel

För att kunna utföra en injektion måste musen först fångas in och fixeras, vilket kan vara förenat med stress. En del preparat kan ge upphov till smärta beroende på hur det injiceras. Det är därför viktigt att ha god kännedom om det aktuella injektionspreparatet och eventuella biverkningar. En felaktigt utförd injektion kan orsaka djuret lidande.

¹⁶ 12 kap. 18 § SJVFS (2019:9)

Fysiologi

Narkosmedel leder till medvetslöshet genom att påverka det centrala nervsystemet. Vid överdosering är medvetslösheten irreversibel. Initialt hämmas andningen för att till slut upphöra helt vilket leder till cirkulationssvikt och död. Narkosmedel kan ge upphov till olika typer av postmortal förändringar beroende på vilket preparat som används.

Praktiska aspekter

Inhalationsmedel

Arbetsmiljöverket föreskriver gränsvärden för maximal exponering av narkosgaser för personal, eftersom de kan orsaka allvarliga skador som minnesproblem, leverskador och missfall.^{17,18} Vid arbete med narkosgas måste skriftliga instruktioner finnas tillgängliga på arbetsplatsen.¹⁹ Det ska även finnas ett utsug som för bort överskottsgas.²⁰ Förgasare, gasledningar, bärgas (såsom luft eller syre) och en kammare eller mask är exempel på utrustning som vanligen krävs. Kammarens storlek, täthet, utformning, inredning och antalet möss har betydelse för hur kammaren fylls med gas, vilket i sin tur påverkar hur snabbt mössen blir medvetslösa. Om enbart narkosgas används, krävs exponering under flera minuter för att en mus ska dö. Det kan därför vara aktuellt att komplettera med ytterligare en metod för avlivning när narkosdjupet är tillräckligt. För att säkerställa att musen är medvetslös kan smärtresponser testas. Ett sätt att bedöma smärtresponser är att testa musens avvärjningsreflex genom att bestämt nypa den i en tass. Om musen är medvetslös saknar den helt reflexen att dra åt sig benet. Avvärjningsreflexen bör testas strax innan avlivning med annan metod påbörjas då narkosdjupet kan variera över tid. Testet bör göras i baktassarna, då forskning har visat att bakbenens reflexer är bättre indikatorer än frambenens.

Injektionsmedel

Narkotikaklassade preparat måste förvaras i låsta utrymmen och användningen ska bokföras.²¹ Injektionsmedel och avlivade möss ska hanteras med försiktighet för att inte utgöra en risk för människor, djur eller miljö. Injektion av narkosmedel kan vara en tekniskt utmanande metod som kräver mer erfarenhet och övning jämfört med användning av narkosgas. Injektionsmedel lämpar sig bäst vid avlivning av enstaka möss. När ett större antal möss ska avlivas kan metoden vara tidskrävande och bli kostsam. Det kan även vara svårt att hålla den koncentrationsnivå som krävs för att utföra upprepade injektioner under en längre tid.

Rekommendationer

Inhalationsmedel

Använd gärna hemburen när det är möjligt. Undvik ett högt gastryck in i kammaren då det kan orsaka kalla luftdrag och höga ljud som kan stressa mössen. Komplettera gärna med en annan avlivningsmetod när narkosdjupet är tillräckligt.

¹⁷ AFS 2001:7

¹⁸ AFS 2018:1

¹⁹ 5 § AFS (2001:7)

²⁰ 7 § AFS (2001:7)

²¹ LVFS 2011:9

Vid skada, sjukdom eller stress kan mössens andning vara påverkad. För möss vars andning är påverkad bör en annan metod för avlivning övervägas. Vid avlivning av neonatala möss kan det vara aktuellt att överväga en annan avlivningsmetod, eftersom dessa möss kan överleva syrebrist under en längre tid.

Injektionsmedel

Det finns flera faktorer som kan orsaka onödigt obehag vid en injektion. Volym, injektionsställe, administreringsätt, injektionsmedlets temperatur, injektionshastighet, musens intag av foder och vatten före injektionen, samt kanylens storlek är faktorer som kan ha betydelse för musens välfärd. Vid avlivning med denna metod kan hantering och fixering vara starka stressfaktorer för möss. Stressen kan minskas genom att hantera musen varsamt och rutinmässigt undvika att fånga in, lyfta och förflytta den i svansen, även före avlivningsmomentet.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

- Vi söver möss med Isofluran. När musen är tillräckligt sövd, klipps buken och bröstkorgen upp. Vi tar blodprov, samlar in relevanta organ för försökets undersökningar och avlägsnar hjärtat. Om en mus som inte ingår i ett försök ska avlivas, söver vi med Isofluran och klipper sedan upp bröstkorg och avlägsnar hjärtat för att säkerställa död. Vi låter alltid musen ligga kvar i masken med Isofluran under hela proceduren, även när retroorbitalt blodprov tas.
- Vi söver först med Isofluran, därefter utförs halsdislokation på den sövda musen. För att säkerställa död kontrollerar vi att rigor mortis har inträtt.
- Vi söver med Isofluran och först när djuret är avblodat (via hjärta, stora kroppspulsådern eller annat stort blodkärl) och döden är säkerställd, tas den ur masken.
- Hos oss ingår metoden att söva med narkosmedel, öppning av bröstkorg och hjärtklipp i en praktisk utbildning där alla behöver ha ett godkänt resultat innan de får möjlighet att arbeta självständigt med djuren.
- Jag ser till att utrymmet där mössen sövs är rent. Möss känner av om andra rädda möss har varit där och jag vill inte stressa upp dem i onödan.
- Jag kontrollerar alltid avlivningsstationen innan jag hämtar möss inför avlivning. Mössen ska inte behöva sitta och vänta i onödan om till exempel Isofluran behöver fyllas på eller om någon anestesislång behöver bytas. Jag vill att det ska gå så snabbt som möjligt mellan det att djuren hämtas för avlivning till det att sövning och avlivning påbörjas.
- Jag tycker det är viktigt att vara medveten om att olika beteenden kan visa sig beroende på vilken genotyp musen har. Till exempel blir vissa stammar mer stressade när Isofluran sätts på och därmed hoppar runt mer i buren, medan andra tar längre tid på sig att somna och behöver sövas under en lite längre tid.
- Jag tippar alltid buren lite åt ena sidan innan jag byter från Isofluran till koldioxid, för att säkerställa att musen verkligen sover.

- När jag avlivar med en injektion av narkosmedel använder jag pentobarbital. Ofta somnar mössen in stilla och snabbt, vilket känns bra. Doseringen är viktig, det känns inte bra om musen måste få ytterligare en dos för att den första inte var tillräcklig.
- Jag söver möss i ett labb och perfunderar eller dissekerar i ett annat labb, så att de vakna mössen inte är i samma rum.
- Jag ser till att förbereda och plocka fram all utrustning och alla läkemedel innan avlivningen påbörjas.
- Vi tränar och hanterar mössen varsamt under hela deras vistelse hos oss. I all hantering använder vi oss av en Vetbed från början till slut. Mössen känner igen Vetbeden och kan känna trygghet i att ha den med sig. Hos oss avlivas alla möss en och en, de väntande mössen förvaras i ett separat rum. När vi ska avliva med Isofluran vänjer och tränar vi mössen genom att placera munstycket på nosen för att de ska känna igen momentet när det är dags för avlivning. Vid sövning hålls musen i Vetbeden, munstycket hålls ovanför musens huvud och vi låter den tunga gasen falla ned mot musen. Detta gör vi eftersom mössen kan bli stressade av att munstycket placeras direkt mot nosen, lukten av Isofluran är dessutom stark. Munstycket placeras mot nosen först när musen har börjat somna. När mössen sövs i en låda låter vi lådan vara tom på gas innan den placeras i den. Vi upplever att sövningen blir lugnare om gasen fylls på gradvis. Vi täcker lådan med tyg eller liknande för att lugna dem, även här kan Vetbeden vara med i botten på lådan för att ge trygghet. När vi använder pentobarbital ges den antingen som en intraperitoneal injektion eller som en intravenös injektion i svansen. De somnar snabbast av den intravenösa injektionen i svansen. När vi ger injektionen är Vetbeden med för att skapa trygghet.

Kontrollmetoder

Att tänka på

Efter att en mus har avlivats ska alltid en kontrollmetod tillämpas för att säkerställa att musen är död innan vidare åtgärder företas. Detta kan göras genom att bekräfta att cirkulationen har upphört permanent, eller att rigor mortis (likstelhet) har inträtt förutsatt att det inte finns någon risk för lidande. När varken upphörd cirkulation eller rigor mortis kan användas kan döden säkerställas genom destruktion av hjärnan, avblodning eller halsdislokation.²²

Kontrollmetoder i korthet

Bekräftelse av att cirkulationen har upphört permanent

Vissa avlivningsmetoder kan leda till att cirkulationen upphör permanent, till exempel dekapitering och avblodning av medvetslösa möss. Att cirkulationen har upphört kan också säkerställas genom att klippa upp bröstkorgen och destruera hjärtat, andra livsuppehållande organ eller de centrala blodkärlen såsom stora kroppspulsådern. Genom att under en längre period, gärna med något hjälpmedel, kontrollera att djuren inte andas och att de saknar puls, kan man fastställa att dessa funktioner har upphört permanent.

Rigor mortis (likstelhet)

Efter döden stelnar muskulaturen, så kallad rigor mortis. Stelheten beror på att muskelcellerna får syrebrist och att proteinerna aktin och myosin i muskulaturen binds samman. Genom att försäkra sig om att rigor mortis har inträtt kan döden säkerställas. Denna metod är endast tillåten om mössen inte riskerar att utsättas för lidande. Att invänta rigor mortis kan vara tidskrävande. Hur snabbt rigor mortis inträffar och hur länge den kvarstår är beroende av flera faktorer såsom temperatur, ålder, fysisk aktivitet, muskelmassa och eventuella patologier. Forskning har visat att tydlig rigor mortis kan inträda i käkleden en timme efter döden vid en inomhustemperatur om $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Det kan dock ta upp till tre timmar innan tydlig rigor mortis uppstår i musens extremiteter.

Destruktion av hjärna

Metoden innebär att musens hjärna destrueras manuellt efter avlivning. Destruktionen kan göras med hjälp av ett smalt och vasst instrument som sticks in och roteras i musens hjärna genom öppningen mellan skallen och halskotpelaren. Instrumentet ska först föras in fram mot hjärnstammen och därefter bak mot ryggmärgen. Denna kontrollmetod är inte vanlig vid avlivning av möss.

Avblodning

Metoden innebär att halspulsåderna (ovanligt på möss) eller minst ett av de centrala blodkärlen, såsom stora kroppspulsådern, öppnas med hjälp av till exempel en sax eller en skalpell.

Läs mer på sida 8.

²² 12 kap. 7 § SJVFS (2019:9)

Halsdislokation

Det finns olika tekniker för att utföra halsdislokation, men grundprincipen är densamma. Halsdislokation är en manuell metod som innebär att musen först fixeras med hjälp av ett fast grepp i musens svansrot och ett bestämt tryck på nacken, precis bakom musens skalle. När musen är fixerad dislokeras nacken med en bestämd rörelse och tryck nedåt och framåt på nacken, samtidigt som ryggraden sträcks med ett kontrollerat drag i svansroten. Det finns en risk för misslyckat utförande, vilket kan orsaka djuret lidande. Halsdislokation som utförs enbart genom att rycka i svansen, utan att applicera ett tillräckligt tryck på nacken, innebär en ökad risk för ryggsmärtsbrott på fel ställe i ryggraden. Om en felaktig dislokation utförs på medvetlösa möss finns det en risk att de vaknar upp till smärta och lidande.

Läs mer på sida 12.

Rekommendationer

Välj en kontrollmetod som du är bekväm med och som kompletterar avlivningsmetoden du har valt. Var beredd att utföra en avlivningsmetod om musen fortfarande skulle vara vid liv vid kontroll.

Erfarenheter från verksamheter i Sverige

- Uttag av organ och blodprovstagning är vår vanligaste åtgärd vid slutet av våra studier. Därmed är avblodning med avlägsnande av livsviktiga organ vår vanligaste metod för att säkerställa döden.
- Vi kontrollerar att rigor mortis inträtt på möss som vi har sövt och utfört halsdislokation på.
- Jag klipper upp diafragman och hjärtat, det är väldigt definitivt och det finns ingen risk att musen vaknar igen.
- I vår ”standardavlivningsmetod” för djurtekniker ingår uppklipp av diafragma och hjärta för att säkerställa död, så vi gör detta på alla djur som vi avlivar. Metoden är bra på så sätt att den är säker, men ganska tidskrävande när man avlivar många djur under en dag.
- Jag tycker att halsdislokation känns som en osäker metod att använda för att säkerställa död. Om jag skulle göra fel är det inte säkert att jag märker att musen fortfarande lever om den är djupt medvetlös. När jag använder halsdislokation kompletterar jag med ytterligare en metod som säkerställer att cirkulationen har upphört.
- Jag låter mössen ligga länge efter avlivning och kontrollerar alltid att rigor mortis har inträtt för att vara säker på att de har dött. Under tiden jag väntar utför jag andra arbetsuppgifter i samma rum.
- Vid avlivning med överdos av narkosmedel observerar vi mössen en extra stund efter att cirkulationen har upphört för att säkerställa att de verkligen är döda innan vi lägger dem i frysen. På så sätt minimerar vi risken för att de skulle vakna upp i frysen.

- Jag kontrollerar att rigor mortis har inträtt genom att lägga mössen uppradade i en bur under tiden jag arbetar med andra saker i samma rum. Eftersom jag vet exakt hur de låg från början kan jag enkelt se om de har ändrat ställning.

Referenser

Inledning

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

<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Boivin, G.P., Bottomley, M.A., Schiml, P.A., Goss, L. & Grobe, N. (2017). Physiologic, Behavioral, and Histologic Responses to Various Euthanasia Methods in C57BL/6NTac Male Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* (56): 69-78.

Charbonneau, R., Niel, L., Olfert, E., von Keyserlingk, M. & Griffin, G. (2010). CCAC guidelines on: euthanasia of animals used in science.

<https://ccac.ca/en/guidelines-and-policies/the-guidelines/types-of-animal-guidelines.html> (2023-10-02).

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050 (2023-10-02).

Hurst, J.L. & West, R.S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7(10): 825-826.

Marquardt, N., Feja, M., Hünigen, H., Plendl, J., Menken, L., Fink, H. & Bert, B. (2018). Euthanasia of laboratory mice: Are isoflurane and sevoflurane real alternatives to carbon dioxide? *PLoS ONE* 13(9): e0203793.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203793>.

North American 3Rs Collaborative. (2023). *Compassion Fatigue Resiliency*.

<https://www.na3rsc.org/compassion-fatigue/> (2023-06-29).

SJVFS 2019:8. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om slakt och annan avlivning av djur*.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur*.

Avblodning av medvetlösa djur

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

<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Chaudry, I.H., Wang, P., Singh, G., Hauptman, J.G. & Ayala, A. (1993). Rat and Mouse Models of Hypovolemic-Traumatic Shock. I Schlag, G., Redl, H. (red.). *Pathophysiology of Shock, Sepsis, and Organ Failure*. Springer, Berlin, Heidelberg. 371-372. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76736-4_28.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur*.

Dekapitering

American Veterinary Medical Association (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Clarkson, M.J., Martin, E.J. & McKeegan, D.E.F. (2022). A review of methods used to kill laboratory rodents: issues and opportunities. *Laboratory Animals* 56(5): 419-436. doi: 10.1177/00236772221097472.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

Hurst, J.L. & West, R.S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7(10): 825-826.

Iwarsson, K. & Rehbinder, C. (1993). A study of different euthanasia techniques in guinea pigs, rats and mice. Animal response and post mortem findings. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 20(4):191-205. <https://doi.org/10.23675/sjlas.v20i4.738>.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur*.

Halsdislokation

American Veterinary Medical Association (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Carbone, L., Carbone, E.T., Yi, E.M., Bauer, D.B., Lindstrom, K.A., Parker, J.M., Austin, J.A., Seo, Y., Gandhi, A.D. & Wilkerson, J.D. (2012). Assessing Cervical Dislocation as a Humane Euthanasia Method in Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 51(3): 352-356.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

Hurst, J.L. & West, R.S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7(10): 825-826.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Inerta gaser

American Veterinary Medical Association (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Burkholder, TH., Niel, L., Weed, JL., Brinster, L.R., Bacher, J.D. & Foltz, C.J.S. (2010). Comparison of carbon dioxide and argon euthanasia: effects on behavior, heart rate, and respiratory lesions in rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 49(4): 448–453.

Detotto, C., Isler, S., Wehrle, M., Vyssotski, A.L., Bettschart-Wolfensberger, R. & Gent, T.C. (2019). Nitrogen gas produces less behavioural and neurophysiological excitation than carbon dioxide in mice undergoing euthanasia. *PLoS ONE* 14(1): e0210818. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210818>.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

Leach, M.C., Bowell, V.A., Allan, T.F. & Morton, D.B. (2002). Aversion to Gaseous Euthanasia Agents in Rats and Mice. *Comparative Medicine* 52(3): 249-257.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Injektion av kemiska preparat på medvetslösa djur

American Veterinary Medical Association (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Navarro, K.L., Huss, M., Smith, J.C., Sharp, P., Marx, J.O. & Pacharinsak, C. (2021). Mouse Anesthesia: The Art and Science. *ILAR Journal* 62(1-2): 238-273.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Koldioxid

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

<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Boivin, G.P., Bottomley, M.A., Schiml, P.A., Goss, L. & Grobe, N. (2017). Physiologic, Behavioral, and Histologic Responses to Various Euthanasia Methods in C57BL/6NTac Male Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* (56): 69-78.

Creamer-Hente, M.A., Lao, F.K., Dragos, Z.P. & Waterman, L.L. (2018). Sex- and Strain-related Differences in the Stress Response of Mice to CO Euthanasia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 57(5): 513-519.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

Iwarsson, K. & Reh binder, C. (1993). A study of different euthanasia techniques in guinea pigs, rats and mice. Animal response and post mortem findings. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 20(4):191-205. <https://doi.org/10.23675/sjlas.v20i4.738>

Marquardt, N., Feja, M., Hünigen, H., Plendl, J., Menken, L., Fink, H. & Bert, B. (2018). Euthanasia of laboratory mice: Are isoflurane and sevoflurane real alternatives to carbon dioxide? *PLoS ONE* 13(9): e0203793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203793>

Moody, C.M., Chua, B. & Weary, D.M. (2014). The effect of carbon dioxide flow rate on the euthanasia of laboratory mice. *Laboratory Animals* 48(4): 298–304. doi: 10.1177/0023677214546509.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Quagliato, L., Freire, R. & Nardi, A. (2018). The role of acid-sensitive ion channels in panic disorder: a systematic review of animal studies and meta-analysis of human studies. *Translational Psychiatry* 8(1): 185. doi: 10.1038/s41398-018-0238-z.

Ziemann, A.E., Allen, J.E., Dahdaleh, N.S., Drebot, I.I., Coryell, M.W., Wunsch, A.M., Lynch, C.M., Faraci, F.M., Howard, M.A. 3rd., Welsh, M.J. & Wemmie, J.A. The amygdala is a chemosensor that detects carbon dioxide and acidosis to elicit fear behavior. *Cell* 139(5):1012-21. doi: 10.1016/j.cell.2009.10.029.

Kraftigt slag mot huvudet

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

<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Clarkson, M.J., Martin, E.J. & McKeegan, D.E.F. (2022). A review of methods used to kill laboratory rodents: issues and opportunities. *Laboratory Animals* 56(5): 419-436. doi: 10.1177/00236772221097472.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

Hurst, J.L. & West, R.S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7(10): 825-826.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Universities Federation for Animal Welfare. (1972). *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. 4 uppl. Longman Group limited.

Narkosmedel

AFS 2001:7. *Arbetsmiljöverkets föreskrifter om anestesigaser samt allmänna råd om tillämpningen av föreskrifterna.*

AFS 2018:1. *Arbetsmiljöverkets föreskrifter och allmänna råd om hygieniska gränsvärden.*

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

<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf> (2023-10-02).

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

Hurst, J.L. & West, R.S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7(10): 825-826.

Leach, M.C., Bowell, V.A., Allan, T.F. & Morton, D.B. (2002). Degrees of aversion shown by rats and mice to different concentrations of inhalational anaesthetics. *Veterinary Record* 150(26): 808-815. doi: 10.1136/vr.150.26.808.

Laferriere, C.A. & Pang, D.S. (2020). Review of Intraperitoneal Injection of Sodium Pentobarbital as a Method of Euthanasia in Laboratory Rodents. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 59(3): 254-263. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000081.

LVFS 2011:9. *Läkemedelsverkets föreskrifter om kontroll av narkotika.*

Marquardt, N., Feja, M., Hünigen, H., Plendl, J., Menken, L., Fink, H. & Bert, B. (2018). Euthanasia of laboratory mice: Are isoflurane and sevoflurane real alternatives to carbon dioxide? *PLoS ONE* 13(9): e0203793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203793>.

Navarro, K.L., Huss, M., Smith, J.C., Sharp, P., Marx, J.O. & Pacharinsak, C. (2021). Mouse Anesthesia: The Art and Science. *ILAR Journal* 62(1-2): 238-273.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Son, Y. (2010). Molecular mechanisms of general anesthesia. *Korean Journal of Anesthesiology* 59(1): 3-8. doi: 10.4097/kjae.2010.59.1.3.

Turner, P.V., Brabb, T., Pekow, C. & Vasbinder, M.A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 50(5): 600-613.

Kontrollmetoder

Capas-Peneda, S., Gonçalves-Monteiro, S., Oliveira, B. & Duarte-Araújo, M. (2016). How do you tell how long has a mouse been dead? Rigor mortis as a tool to estimate mice time of death (TOD) in animal house facilities [Poster]. *FELASA Congress*, 13-16 Juni, Bryssel, Belgien. doi: 10.13140/RG.2.2.15399.09127

Carbone, L., Carbone, E.T., Yi, E.M., Bauer, D.B., Lindstrom, K.A., Parker, J.M., Austin, J.A., Seo, Y., Gandhi, A.D., & Wilkerson, J.D. (2012). Assessing Cervical Dislocation as a Humane Euthanasia Method in Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 51(3): 352-356.

Hawkins, P., Prescott, M.J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D.M. & Golledge, H.D.R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals* 6(9): 50. doi: 10.3390/ani6090050.

SJVFS 2019:9. *Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om försöksdjur.*

Har du tips till det här dokumentet eller har du en idé som du tycker att Sveriges 3R-center borde arbeta med? Skriv gärna till oss! **3Rcenter@jordbruksverket.se**



Sveriges 3R-center

551 82 Jönköping

Telefon 0771-223 223

3Rcenter@jordbruksverket.se

www.jordbruksverket.se/3R