



Studie av råttans välfärd i metabolismburar

Study of the welfare of rats in metabolism cages

Lena Lidfors



Sveriges Lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Avdelningen för etologi och djurskydd

Skara 2009

Rapport 21

*Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Environment and Health
Section of Ethology and Animal Welfare*

Report 21

ISSN 1652-2885

Studie av råttans välfärd i metabolismburar

Study of the welfare of rats in metabolism cages

Lena Lidfors

Uppdragsforskning bekostad av och utförd vid AstraZeneca R&D Mölndal (före detta Astra Hässle AB) på uppdrag av dåvarande avdelningschef John Bräutigam, och slutfört via nuvarande Bioscience avdelning, sektionschef Birgitta Ryberg för Animal Science and Technology.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	5
SUMMARY.....	7
1. BAKGRUND.....	9
2. LITTERATURGENOMGÅNG	10
2.1 Vad är metabolism?.....	10
2.2 Hur mäter man metabolism?.....	10
2.3 Hur bygger man sin egen metabolismbur?.....	11
2.4 Vilka metabolismburar finns att köpa?.....	11
2.5 Vilken specialutrustning krävs vid metabolismstudier?.....	12
2.6 Vilka problem finns det med metabolismburar?	13
2.7 Hur lång acklimatiseringsperiod behövs i metabolismburar?	13
2.8 Vilka beteendeförändringar uppvisar råttor?.....	14
2.9 Vilka alternativa typer av metabolismburar har utvecklats?	15
2.10 Vilka alternativ finns vid urinuppsamling?	16
2.11 Vilka alternativ finns vid faecesinsamling?	17
2.12 Slutsatser från litteratursammanställningen	17
3. SYFTE	18
4. MATERIAL OCH METODER.....	19
4.1 Försöksuppläggning och djur	19
4.2 Mätning av totalradioaktivitet	21
4.3 Mätning av kortikosteron	22
4.4 Mätning av kroppstemperatur.....	22
4.5 Vägningar och renlighetsregistreringar	22
4.6 Beteenderegistreringar och analys.....	23
4.7 Statistik	23
5. RESULTAT	25
5.1 Recovery av substans	25
5.2 Kortikosteron	27
5.3 Kroppstemperatur	29
5.4 Kroppsvikt	31
5.5 Födointag	33
5.6 Vattenintag	36
5.7 Inaktivitet.....	38
5.8 Renlighet och putsningsbeteende	39
5.9 Undersökande beteende.....	42
5.10 Onormala beteenden	43
5.11 Placering i buren.....	43
6. DISKUSSION	46
6.1 Recovery	46
6.2 Kortikosteron	47
6.3 Kroppstemperatur	48
6.4 Kroppsvikt	48
6.5 Födointag	49
6.6 Vattenintag	50
6.7 Inaktivitet.....	51
6.8 Renlighet och putsningsbeteende	52
6.9 Undersökande beteende.....	53

6.10 Onormalt och socialt beteende	53
6.11 Placering i buren.....	54
6.12 Sammanlagd utvärdering av burarna.....	54
7. SLUTSATSER	56
8. TILLKÄNNAGIVANDE.....	57
9. REFERENSER	58
10. BILAGOR	62

SAMMANFATTNING

Metabolismburar används för att samla urin, faeces och ibland även gaser i utandningsluften från råttor. Eftersom råttan får sitta ensam i metabolismburen, och för att metabolismburen är liten, har gallergolv och saknar berikning har man utgått ifrån att denna typ av bur bör vara mycket stressande för råttan. Det har dock gjorts ytterst få studier på hur olika kommersiellt tillgängliga metabolismburar påverkar råttans välfärd i dessa burar. Syftet med denna studie var att utvärdera fem olika typer av metabolismburar för råttor med avseende på beteende, fysiologi och utsöndring av en substans (recovery).

Studien genomfördes på AstraZeneca R & D Mölndal (f.d. Astra Hässle AB). De undersökta metabolismburarna var: A) Tecniplast liten (314 cm², 12 cm hög, rund, plast), B) Tecniplast stor (500 cm², 18 cm hög, rund, plast), C) Jencons Metabowl (471 cm², 14 cm hög, rund, glas), E) UNO ACME (542 cm², 16.5 cm hög, fyrkantig, rostfritt stål), F) Prototyp av en ny bur (529 cm², 19.5 cm hög, fyrkantig, plast, hål i väggen för social kontakt). Kontrollburen (D) utgjordes av en Makrolon III-bur (800 cm², 18 cm hög, fyrkantig försedd med spån) i vilken råttorna hölls parvis innan testet, och individuellt under testet. Testning av burarna delades upp i två försöksomgångar, experiment 1 och 2, på grund av begränsningar i hur många mätningar som kunde göras inom samma tidsperiod. I experiment 1 testades burarna A, B, C och D separat för vardera könet, medan i experiment 2 testades burarna E, F och D med båda könen samtidigt. Totalt 52 råttor (Sprague-Dawley) där hälften utgjordes av honor (11 v.) och hälften av hanar (8 v.) vid placering i burarna testades (vikt ca 230 g. vid ankomst en vecka tidigare). Råttorna hölls individuellt i alla burtyperna under 11 dagar, och hade fri tillgång på foder och vatten. De gavs en radioaktivt märkt substans dag 0 eller 5 i studien. Råttorna togs ut ur burarna varje dag och vid samma tid för att mäta kroppstemperaturen (DAS-5001 Console™ System), och för att väga råttor, foder och vatten. Urin, faeces och sköljvatten vägdes och frystes för senare bestämning av totalradioaktivitet. Kortikosteron analyserades med "Coat-A-Count Rat Corticosterone" (DPC) i urinen. Beteendet filmades med hjälp av time-laps videoutrustning med infrarött ljus, och videobanden analyserades sedan med momentan intervallregistrering var 6:e minut. Statistisk analys gjordes med en tre-vägs variansanalys för effekt av burtyp, kön och dag, samt med t-test för skillnader mellan de olika metabolismburarna och kontrollburen.

Resultaten visar på signifikanta effekter av burtyp på foderåtgång ($p < 0.01$, C lägre än D), vattenåtgång ($p < 0.0001$, C och E lägre än D), viktökning ($p < 0.05$, C lägre än D), kroppstemperatur ($p < 0.01$, C lägre än D från dag 2, B lägre än D från dag 8) och kortikosteron ($p < 0.05$, A, B och C lägre än F, B lägre än E). Det var inga signifikanta effekter av burtyp på recovery av en substans, och det fanns inte heller några signifikanta effekter av att ge råttorna substansen dag 0 eller dag 5. Det fanns signifikanta effekter av kön på recovery, kroppstemperatur, viktökning, foderåtgång och vattenåtgång ($p < 0.0001$), samt på kortikosteron ($p < 0.01$) där hanarna överlag hade högre värden än honorna. Det var signifikanta effekter av dag i metabolismburen på kortikosteron ($p < 0.0001$, med en kraftig minskning under de första 4 dagarna), tillväxt ($p < 0.0001$, ökade med tiden), foderåtgång ($p < 0.0001$, lägre dag 1-2), vattenåtgång ($p < 0.0001$, lägre dag 1-6 speciellt för honor), och kroppstemperatur ($p < 0.0001$). För beteendena förekom det signifikanta effekter av burtyp och dag på ligger (bur; $p < 0.0001$, dag; $p < 0.01$, mindre än för D utom C), nosa på buren ($p < 0.0001$, mindre än D utom dag 1) och putsning ($p < 0.0001$, mer än D utom C). Det var inga signifikanta effekter av kön på dessa beteenden. Det var bara få observationer av

onormalt beteende, dvs. jaga svansen (7 gånger) och pendla med huvudet (5 gånger). Råttorna registrerades oftast i närheten av burväggarna, och i B låg de ofta i gången till foderträget.

Slutsatserna från denna studie är att det inte verkar spela någon roll i vilken typ av metabolismbur eller vid vilken tid efter placeringen i metabolismburen som en substans ges. Det tar ca fyra dygn innan råttorna har acklimatiserats till metabolismburen. Välfärden för råttorna i Jencons Metabowl (C) blir nedsatt på grund av svårigheter att nå fodret på grund av burens konstruktion. Hur länge råttorna sitter i metabolismburen, inom de testade 11 dygnen, verkar inte ha så stor betydelse för råttans välfärd.

Utifrån denna studie rekommenderas följande:

- En acklimatiseringsperiod på fyra dygn bör eftersträvas, men ett dygn kan vara tillräckligt med en optimal bur.
- Tecniplast stora bur (B) bör användas istället för den lilla buren (A), men helst med den lilla foderautomaten.
- Jensions Metabowl (C) måste utveckla bättre fodertilldelning och bör göras lättare att sätta ihop.
- Den nya metabolismburen (F) bör utvecklas och testas igen mot den stora Tecniplastburen (B).
- Honor och hanar bör testas separat, och man bör tänka igenom vilket kön som är bäst för studien.
- Vilken typ av metabolismbur forskaren bör välja beror på studien. Men, forskaren behöver väga för- och nackdelar med varje metabolismbur för att både uppnå goda forskningsresultat och för att upprätthålla en god välfärd för råttorna i försöket.

SUMMARY

Metabolism cages are used to collect urine, faeces and sometimes also gases in the exhalation air from rats. Because the rat has to sit alone in the metabolism cage, and because the metabolism cage is small, has grid floor and lack environmental enrichment the general conception is that this type of cage is very stressful for the rat. However, there are only few studies on how commercially available metabolism cages affect the welfare of rats in these cages. The aim of this study was to evaluate five types of metabolism cages for rats with respect to behaviour, physiology and recovery of a substance.

The study was carried out at AstraZeneca R & D Mölndal (former Astra Hässle AB). The metabolism cages were: A) Tecniplast small (314 cm², 12 cm high, round, plastic), B) Tecniplast large (500 cm², 18 cm high, round, plastic), C) Jencons Metabowl (471 cm², 14 cm high, round, glass), E) UNO ACME (542 cm², 16.5 cm high, square, stainless steel), F) Prototype of new cage (529 cm², 19.5 cm high, square, plastic, holes in the wall for social contact). The control was a Makrolon III-cage (D, 800 cm², 18 cm high, square with wood shavings) which rats were kept in pair-wise before the test, and individually during the test. Experiment 1 tested cages A, B, C and D with the sexes separately, whereas experiment 2 tested cages E, F and D with both sexes. A total of 52 rats (Sprague-Dawley) of which half were females (11 w.) and half males (8 w.) at placement in the cages were tested (weight apr. 230 g. at arrival one week earlier). The rats were kept individually in all cages during 11 days, and had ad libitum access to food and water. They were given a radioactive labelled substance on day 0 or 5 of the study. Rats were taken out of the cage every day at the same time to measure body temperature (DAS-5001 Console™ System), and to weigh rats, food and water. Urine and faeces was removed, and cages were washed on place. Corticosterone was measured by Coat-A-Count Rat Corticosterone (DPC) in urine. Behaviour was recorded by video time laps equipment with infra red light, and analysed with instantaneous recordings at 6 min. intervals. The data was tested with a three-way Analysis of Variance for effect of cage, sex and day, and with t-test for differences between separate metabolic cages and the control cage.

The results show significant effects of cage type on food intake ($p < 0.01$, C lower than), water intake ($p < 0.0001$, C and E lower than D), weight gain ($p < 0.05$, C lower than D), body temperature ($p < 0.01$, C lower than D from day 2, B lower than D from day 8) and corticosterone ($p < 0.05$, A, B and C lower than F, B lower than E). There were no significant effects of cage type on recovery of a substance, neither were there any significant effects of giving the substance on day 0 or day 5. There were significant effects of sex on recovery, body temperature, weight gain, food intake and water intake ($p < 0.0001$), and on corticosterone ($p < 0.01$) with males having over all higher values than females. There were significant effects of day in the metabolism cage on corticosterone ($p < 0.0001$, with a sharp decline during the first 4 days), weight gain ($p < 0.0001$, increasing with time), food intake ($p < 0.0001$, lower day 1-2), water intake ($p < 0.0001$, lower day 1-6 especially females), and body temperature ($p < 0.0001$). The behavioural results showed significant effects of cage type and day on lying (cage; $p < 0.0001$, day; $p < 0.01$, less than D except C), sniffing the cage ($p < 0.0001$, less than D except on day 1) and grooming ($p < 0.0001$, more than D except C). There were no significant effects of sex on these behaviours. There were only few observations of abnormal behaviours, i.e. tail chasing (7 times) and wagging the head (5 times). The rats were most often recorded to stay in close vicinity of the cage walls, and in B they were often lying in the feed trough alley.

The conclusions from this study are that it does not seem to matter in which metabolism cage or at which time after being placed in the metabolism cage a substance is given. It takes about four days before the rats have been acclimatized to the metabolism cage. The welfare of the rats in the Jencons Metabowl is reduced due to difficulties to reach the feed due to the construction of the metabolism cage. How long time the rats are sitting in the metabolism cage, within the tested 11 days, does not seem to have such a large effect on the welfare of the rat.

Based on this study the following recommendations are made:

- An acclimatization period of four days should be aimed at, but one day may be enough with an optimal cage.
- Tecniplast large cage (B) ought to be used instead of the smaller cage (A), but preferably with the small feeding automate.
- Jencons Metabowl (C) should develop a better feeding delivery and should be made easier to put together.
- The new metabolism cage (F) should be developed and tested again against the large Tecniplast cage (B).
- Females and males should be tested separately and the researcher should consider which gender is best for the study.
- Which type of metabolism cage the researcher should select depends on the study. However, the researcher needs to weigh the pros and cons with each metabolism cage in order to both reach good research results and to keep a good welfare for the rats in the study.

1. BAKGRUND

Metabolismburar används främst för att samla urin och faeces från råttor, eller andra djur, men kan även användas för att samla gaser ur utandningsluften. På senare år har de börjat kritiserats starkt och forskare har fått anmärkningar i etiska ansökningar om att metabolismburar inte är förenliga med god djuromsorg. Av den anledningen beslöts att i en studie utreda vad man kan göra för att utveckla metabolismburen för att förbättra råttans välfärd. Avsikten är att testa de metabolismburar som är vanligast på marknaden, samt en nyligen framtagen bur som inte har testats tidigare. En litteraturgenomgång och några mindre pilotstudier gjordes innan den mer omfattande studien genomfördes. I denna rapport redovisas endast litteraturgenomgången och huvudstudien.

2. LITTERATURGENOMGÅNG

2.1. Vad är metabolism?

För att klara ut begreppen runt metabolism har den veterinära uppslagsboken av Blood & Studdert (1990) anlitats.

Metabolism (=ämnesomsättning) är summan av de fysiska och kemiska processerna av vilka levande organiserad substans är uppbyggd och upprätthållen (anabolism), och genom vilken stora molekyler bryts ned till mindre molekyler för att göra energi tillgänglig åt organismen (catabolism). Huvudsakligen handlar dessa processer om avyttrandet av de näringsämnen som absorberas in i blodet som en följd av matsmältningen.

Basal metabolism är den minimala energin som går åt för att upprätthålla andning, cirkulation, tarmrörelser, muskeltonus, kroppstemperatur, körtelaktivitet, och de andra autonoma funktionerna i kroppen.

Metabolisk hastighet är med vilken fart kroppen omsätter energi. Basal metabolisk hastighet (BMR) är med vilken fart kroppens energiförbrukning sker när den hålls helt i vila.

Metabolit är vilken substans som helst som produceras under metabolism. **Metaboliskt vatten** är vattnet som produceras i kroppen genom oxiderande ämnesomsättning av föda; det representerar 5-10% av kroppens vattenutnyttjande.

Medfött fel i metabolism är ett genetiskt bestämt biokemiskt fel där en specifik enzymlast producerar ett metaboliskt hinder som kan ha patologiska konsekvenser vid födelsen. Metabolisk defekt är generellt en medfödd brist som finns vid födelsen, men som inte nödvändigtvis är tydlig kliniskt under flera månader efteråt. Bristen skapar ett metaboliskt fel som leder till ansamling av slutprodukter som orsakar kliniska symptom.

2.2. Hur mäter man metabolism?

När man vill mäta ämnesomsättningen av ett näringsämne eller en särskild substans, som man kan ha administrerat på olika sätt, måste frågeställningen vara klar innan man väljer metoden. I farmakokinetikstudier mäts hur och med vilken hastighet en substans bryts ned och utsöndras från kroppen. Den viktigaste utsöndringsvägen för de flesta farmaka är njurarna, där substansen filtreras genom glomeruli och delvis återabsorberas av tubuli (Goth, 1981). Vid mätning av de substanser där man vet att utsöndringen sker via njurarna räcker det att endast samla urin för vidare analyser. I de fall man inte vet hur stor del som utsöndras via urin, faeces och utandningsluften behöver man däremot använda sig av en metod som klarar av alla dessa funktioner samtidigt.

För att kunna följa en substans utsöndringsvägar kan det vara nödvändigt att göra en radioaktiv märkning av substansen. En vanlig metod är att man mäter total recovery, vilket är hur stor andel av en radioaktivt märkt substans som lämnat ett djurs kropp efter ett visst antal dagar. Man bör få ut 90-100% recovery, eftersom man inte vet om resterande mängd stannat i djuret eller tagit sig ut på annat sätt. Här krävs en mycket bra utrustning som både kan samla in urin och faeces, samt ibland även utandningsluften.

I följande text kommer jag att beskriva olika typer av metabolismburar, som enligt Dreyer (1969a) första gången beskrevs i en studie av Mitchell 1924. Därefter kommer olika

problem vid insamlingar av utsöndringsprodukterna att tas upp eftersom man måste beakta att de kan förändras så fort de lämnar kroppen.

2.3. Hur bygger man sin egen metabolismbur?

Metabolismburar och dess funktion beskrivs i flertalet handböcker över råttan som försöksdjur (Short & Woodnott, 1969; Petty, 1982; Waynforth & Flecknell, 1992). Det beskrivs även i flera artiklar hur man kan bygga sin egen metabolismbur, vilket både skulle bli billigare och ge bättre resultat (Haley m.fl., 1965; Lambooy, 1967; Dreyer, 1969a; Blass, 1972; Halladay, 1973; Eggum, 1973; Saunders & Mackerer, 1977). De viktigaste aspekterna vid tillverkning av en metabolismbur är att djuret går på ett gallergolv som tillåter urin och faeces att falla igenom nätet till uppsamlingskärl. Buren placeras ovanpå en trattanordning så att urin som faller på trattens sidor leds ut via en sidoarm medan faeces pellets trillar i en samlingsburk. (Waynforth & Flecknell, 1992). De metabolismburar man kan bygga själv är relativt små och runda, men typen av material till själva buren kan variera mellan nät, metall, plast och glas (Haley m.fl., 1965; Lambooy, 1967; Dreyer, 1969a; Blass, 1972; Halladay, 1973; Eggum, 1973; Saunders & Mackerer, 1977). Dreyer (1969a) beskriver även konstruktionen av en relativt avancerad diskutrustning till metabolismburar som används i kvävebalans studier.

2.4. Vilka metabolismburar finns att köpa?

Efterforskningar har lett fram till att fyra företag som tillverkar metabolismburar har identifierats; Tecniplast från Italien, UNO från Nederländerna, Jencons och Harvard Apparatus från England. Troligtvis finns andra tillverkare i t ex USA och Asien, men de här beskrivna tycks vara vanligast i Europa. Tecniplast metabolismbur går att köpa via Scanbur A/S (Danmark). Jencons metabolismbur kan även användas till att samla upp utandningsluften och den säljs direkt av företaget (Jencons (Scientific) Limited, Storbritannien Metabowl Metabolism Cage). UNO Metabolic Cages kan köpas direkt från tillverkaren (UNO Roestvaststaal BV, Nederländerna). I tabell 1 beskrivs tillverkningsmaterial, form och storlek på de kommersiellt tillgängliga metabolismburarna. Samma burtyp säljs ibland i olika storlek beroende på om man vill testa mus, råtta (stor eller liten) eller marsvin.

Tabell 1. Olika typer av kommersiellt tillgängliga metabolismburar

Märke	Material	Utseende	Golvyta (cm ²)	Höjd (cm)	Övrigt
Tecniplast	Makrolon	Rund	314	12	Mus, råtta
Tecniplast	Makrolon	Rund	500	18	Marsvin
Jencons	Glas	Rund	363	16	Mus, Minor Metabowl
Jencons	Glas	Rund	491	25	Råtta, Metabowl Mk
UNO ACME	Rostfritt stål	Fyrkantig	146	7.6	Mus
UNO ACME	Rostfritt stål	Fyrkantig	233	10.8	Råtta
UNO ACME	Rostfritt stål	Fyrkantig	542	16.5	Marsvin
Harvard Appar.	Plast	Rund	343	20.3	Mus, liten råtta, gerbil
Harvard Appar.	Plast	Rund	555	22.8	Stor råtta, marsvin

2.5. Vilken specialutrustning krävs vid metabolismstudier?

Beroende på studiens frågeställning eller vilken substans man vill undersöka i en metabolismbur kan extra utrustning behövas till buren. I vissa studier kan det vara viktigt att blockera enzymatiska reaktioner i urinen genom att snabbt kyla ned eller frysa den efter det att den har lämnat djuret. Substanser som är instabila i rumstemperatur är steroider, katekolaminer, vitaminer och indolaminer (Petty, 1982). En enkel metod är att placera kolven för urinuppsamling i en bägare med torr is för att få en snabb nedkylning (Falkmer & Waller, 1994). Denckla (1969) har utvecklat en enkel metod där urinen faller på en teflonpanna med heptan under vilken torr is placerats som gör att urinen omedelbart fryser. Företaget UNO har utvecklat en metabolismbur med en nedkylningskapacitet från +5 till -4° C och man kan placera 12 metabolismburar i en särskild reol. Tecniplast har också en särskild reol som kan hålla upp till 12 metabolismburar med separat nedkylningskapacitet ned till -15° C. Man ställer själv in med vilket tidsintervall provrören skall frysas ned. Leathwood & Plummer (1969) beskriver hur de samlade urin vid 0° C i två olika typer av metabolismburar.

För att hindra kvävet i urinen från att omvandlas till ammoniak kan man ha svavelsyra (200 ml) i uppsamlingskolven (Petty, 1982; Jan-Erik Lindberg, personlig kommunikation). Ett lager flytande paraffin förhindrar absorption av atmosfärisk ammoniak från syran och förlust av syra genom avdunstning (Petty, 1982). Faulkner & Lambooy (1961) samlade urin i bärnstensfärgade flaskor som skyddades från bakteriekontaminering av toluen. Faeces avlägsnades dessutom ofta och hölls torrt i kyla tills analysen.

I vissa studier kan man vilja ha en noggrann mätning av frekvens, duration och när under dygnet foder- och vattenintaget sker, och för detta ändamål har Stoynev & Ikonov (1979) utvecklat en särskild registreringsapparat som kopplas till foderautomaten och vattennippeln. Det finns även foderautomater som kan programmeras så att råttan bara får tillgång till fodret vid vissa tider. Flertalet av de kommersiella foderautomaterna finns i olika utformning beroende på om man vill ge råttan pellets, mjölfoder eller uppblött foder. Man bör dock tänka igenom följderna av att ge ett visst foder. Man har funnit att Wistar Kyoto råttor hållna på gallergolv och givna ett delvis renat kaseinprotein baserat foder, troligen malt, utvecklade hårbollar, vilket visade sig i dålig aptit och ömma magar (Krugner-Higby m.fl., 1996).

Det finns studier där man behöver injicera substanser intrakraniellt samtidigt som råttan vistas i metabolismburen (Blass, 1972). För detta krävs extra arrangemang med en högre bur och en svirvel så att råttan inte trasslar in sig eller försöker ta loss katetern (Blass, 1972).

Metabolismburar där man kan mäta både urin, faeces och CO₂ kan behövas vid farmakokinetikstudier där man behöver mäta en substans utsöndringshastighet. Saunders & Mackerer (1977) beskriver hur en sådan metabolismbur kan byggas och redovisar en studie av utsöndringshastigheten i den buren. Man mätte radioaktiva substanser som utsöndrades efter en enda dos 26-[¹⁴C] kolesterol. Mindre än 1 % av den administrerade radioaktiviteten återfanns i urinen, medan 61 % återfanns i faeces och 19 % i utandad CO₂ (Saunders & Mackerer, 1977). Råttorna hölls 3 dagar i metabolismburen för att komma i balans innan de injicerades. Buren Saunders & Mackerer (1977) beskriver påminner mycket om Jencons metabolismbur som tycks vara den enda på marknaden som är gjord av glas och kan användas just för CO₂-mätning.

2.6. Vilka problem finns det med metabolisburar?

Vid användning av ovan beskrivna metabolisburar sker ofta en kontaminering av urinen från faeces (Leathwood & Plummer, 1969; Dreyer, 1969b). Detta kan kontrolleras genom att mäta glutamat dehydrogenas aktiviteten i urinen. Leathwood & Plummer (1969) har utvecklat en typ av metabolisbur där råttan har ett mycket begränsat rörelseutrymme för en komplett separation av urin och faeces. Vid jämförelse med två andra mer traditionella typer av metabolisburar fann man att den egna med begränsat rörelseutrymme fungerade mycket bra (Leathwood & Plummer, 1969). Hanråttor hölls i denna metabolisbur 2 timmar/dag under 4 dagar, samt 14-18 timmar över en natt med tillgång till vatten men inget foder. I de traditionella metabolisburarna hölls de 14-18 timmar över natt utan foder. Den s.k. Bollmanburen bygger på samma princip, men används framförallt vid korttidsstudier för att samla in andra produkter som t ex magsaft (Kraus, 1980). Generellt innebär dock dessa burar en ännu mer restriktiv miljö än traditionella metabolisburar. Eftersom de förväntas påverka råttan mer läggs mindre vikt vid att beskriva dem i denna rapport.

2.7 Hur lång aklimatiseringsperiod behövs i metabolisburar?

I beskrivningen över UNO BV metabolisburen anges att forskare som använt buren har föreslagit att det kan ta upp till 96 timmar för djuren att aklimatisera sig till vattenflaskorna och foderautomaterna (Brochyr, UNO BV).

I en studie hölls 10 veckor gamla råttor (5 hanar, 8 honor) individuellt i metabolisburar av rostfritt stål under 20 dagar, och de klappades varje morgon innan deras urin samlades in (Gomez-Sanches & Gomez-Sanches, 1991). Under de första 4 dagarna efter placering i metabolisburen var kortikosteron och aldosteron i råtturin högre än under den resterande perioden (Gomez-Sanches & Gomez-Sanches, 1991). 19-Nordeoxycortikosteron, som är en mineralokortikoid som anses spela in vid utvecklingen av för högt blodtryck (Hall m.fl., 1979), var snarare lägre dag ett men visade stor individuell variation och var mycket högre hos honorna än hos hanarna (Gomez-Sanches & Gomez-Sanches, 1991). I studien vägdes varken foder eller råttor och man spekulerade att råttorna inte åt normalt i början p.g.a. av stressen att leva ensamma. Efterhand som foderintaget normaliserades så gjorde saltintaget det också, vilket troligen ledde till att aldosteronnivån minskade. Studiens slutsats är att när urinutsöndring av steroider är tänkt att användas som en indikator på basal steroidproduktion är det nödvändigt att ha en aklimatiseringsperiod på minst 4 dagar för att uppnå stabil utsöndring, även när djuren är vana vid hantering. I en annan studie hölls 6 stycken 8 veckor gamla hanråttor tre dagar i en hembur, därefter tre dagar i en metabolisbur och sedan tre dagar i hemburen igen (Eriksson m.fl., 2004). Viktökningen minskade något och en högre mängd faeces producerades, men kortikosteronnivån i faeces förändrades inte under de tre dagarna i metabolisburen (Eriksson m.fl., 2004). Under de tre dagarna efter perioden i metabolisburen minskade immunoglobulin A (IgA) i faeces, och författarna tolkade resultaten som att hållning i metabolisbur är milt stressande för unga hanråttor (Eriksson m.fl., 2004).

Damon m.fl. (1986) jämförde 10 råttor i metabolisburar med 10 råttor i vanliga polycarbonatburar (kontroll). Råttorna i metabolisburar minskade initialt i vikt och

ökningen i vikt därefter var signifikant lägre än för kontrollrättorna (Damon m.fl., 1986). Foderintaget sjönk initialt för de rättor som hölls i metabolismburar, men dag 3 var det inga signifikanta skillnader mellan grupperna. Råttor i metabolismburar drack signifikant mindre än kontrollrättorna, men när man normaliserade vattenintaget till kroppsvikten var det inga signifikanta skillnader mellan grupperna efter dag 5 (Damon m.fl., 1986). De drar slutsatsen att för toxicitetsstudier behövs en aklimatiseringsperiod på minst 3-5 dagar för att foder- och vattenintaget ska hinna återgå till det normala. I en annan studie hölls rättor i metabolismburen 3 dagar för att komma i balans innan de injicerades med en dos 26-[¹⁴C] kolesterol (Saunders & Mackerer, 1977).

Ett annat mått på att rättorna kan vara stressade är mätning av kroppstemperaturen. Studier på råttor har visat att de kan få en ökning av rektaltemperaturen på ca 1,2°C 20-40 minuter efter att de har blivit utsatta för stress (Briese & de Quijada, 1970). En viktig komponent bakom ökningen av kroppstemperatur efter det att djuren har blivit utsatta för stress är förmedlat av prostaglandin som frisätts i centrala nervsystemet, och det kan därför betraktas som en feber (Kluger, m.fl., 1987). Kroppstemperaturen kan även öka som en inlärd förväntan på hantering (Eikelboom, 1986).

2.8. Vilka beteendeförändringar uppvisar rättor?

Det har inte gått att finna någon studie där man jämfört rättors beteende mellan metabolismburar och andra inhysningssystem. Däremot finns det många studier som jämfört isolering eller individuell hållning med gruppställning. Effekten på beteendet av olika typer av berikningar i rättans bur har också undersökts.

Hurst m.fl. (1997) fann att individuellt hållna rättor uppvisade minskad aktivitet (förflyttade sig mindre) och ökning av självriktade beteenden (jaga svansen, svansmanipulering, putsning) och beteenden kopplade till flykt (undersöka och bita på burgaller) eller sökande av social information (undersöka avgränsning till grannar). Svansmanipuleringen har föreslagits vara en ersättning för social interaktion (Baenninger, 1967). Hurst m.fl. (1997) fann att individuellt hållna råtthanar som hade kunnat upprätthålla kontakt med grannrättor via olika avgränsningar uppvisade mindre aggression när de senare blandades. De Jong m.fl. (2005) har föreslagit att social isolering av rättor orsakar långvariga förändringar i deras fysiologi och beteende. Forskning har även visat att rättor föredrar att vara i grupp även i situationer som orsakar social stress, som t ex vid hög beläggning (Hurst m.fl., 1999). Gruppställning av rättor har visat sig minska effekten av stress efter att de har förlorat i ett socialt konfrontationstest (Ruis m.fl., 1999). Minskad stress har också påvisats i gruppställning vid rutinskötsel och hanteringsprocedurer (Sharp m.fl., 2002).

Rock m.fl. (1997) visade att rättor var mer aktiva i rostfria stålburar med gallergolv än i polykarbonatburar med strö under natten, men inte dagtid. Det var inga skillnader i foderintag hos individuellt hållna rättor, men hos gruppställna rättor var foderintaget signifikant större i de rostfria stålburarna än i polykarbonatburarna (Rock m.fl., 1997). Vidare visade forskarna att de två burtyperna inte påverkade kroppstemperaturen, hjärtfrekvensen eller det genomsnittliga diastoliska eller systoliska blodtrycket. Carder & Berkowitz (1970) visade att rättor som först tränats att äta foder från en skål och sedan tränats att trycka på en spak för att få foder fortsatte att trycka på spaken även när en skål med foder senare ställdes in. Rättorna gjorde detta så länge endast en eller två tryckningar

krävdes för att få fodret, men när 10 tryckningar krävdes åt råttorna hellre foder ur skålen (Carder & Berkowitz, 1970).

I flera studier har man låtit råttor välja i vilken typ av bur de vill vistas, s.k. preferens tester. I en studie fann man att råttor som fick välja mellan 8 olika typer av burar som modifierats utifrån en Makrolon II bur valde en avlång, rektangulär design, 18 cm hög och med svartmålad bakre vägg (Von Weiss & Taylor, 1985). I en serie av preferensstudier fick råttor välja mellan att gå ut i 4 olika armar som ledde till olika typer av inhysningar (Blom, 1993). Råttorna valde följande: 1) Burstorlek motsvarande en Makrolon IV framför mindre burar, 2) Burform som var avlång framför kvadratisk, 3) Burhöjd på 14 cm (standard) eller lägre framför högre, hanar föredrog en burhöjd där de kunde stå på bakbenen, 4) Ljusstyrka på mer än 100 lux undveks av både albino och pigmenterade råttor, 5) Bäddmaterial föredrogs framför gallerolv, och material som kunde manipuleras föredrogs framför det som bestod av små partiklar (Blom, 1993). Även Manser m.fl. (1995) har funnit att råttor väljer burar med spån framför burar med gallerolv för att vila i, men att de under den aktiva tiden vistas lika mycket i båda burtyperna.

Man har även preferenstestat vilka former av berikningar råttorna föredrar i burarna. Individuellt hållna råttor föredrog att vistas i burar som hade en bolåda framför burar som saknade en bolåda (Townsend, 1997; Manser m.fl., 1998). En enkel modell av bolåda med rökfärgad plast bestående av tre väggar och ett tak föredrogs framför andra bolådor (Manser m.fl., 1998). Råttor som hade bolåda i buren uppvisade mer undersökande beteende och mindre rädsla, och vid vila vistades de till största delen i bolådan (Townsend, 1997). Råttor lärde sig att lyfta dörrar av olika tyngd (max 1600 g för 710 g hanråtta) för att få tillgång till burar med bolådor med eller utan bomaterial (Manser m.fl., 1998). I en studie registrerades den tid hanråttor vistades i burar där man testade preferensen för 15 olika föremål, samt effekten av ljus. Råttorna vistades 78 % av tiden i en mörkare bur och visade signifikant preferens för träblock med hål, golfbollar och små träbollar (Chmiel Jr. & Noonan, 1995). Hirsjärvi (1994) fann att råttor visade intresse för pappersdukar, men undvek interaktioner med gnagpinnar. Det finns en mängd andra studier att referera till, men de här återgivna ger åtminstone en bild av några av de preferenser råttor har visat.

Det som är utmärkande när man håller råttor i metabolismburar är framförallt ensamhållning, gallerolv, liten golvyta, avsaknad av berikningar och en ljus omgivning utan möjlighet att dra sig undan. De rapporterade studierna ovan har visat att dessa faktorer kan upplevas som stressande och därmed påverkas råttans välfärd negativt.

2.9. Vilka alternativa typer av metabolismburar har utvecklats?

Alternativa typer av metabolismburar beskrivs endast i ett fåtal artiklar (Thompson & Campbell, 1966; Von Weigelt, 1970). Dessa har gjorts rektangulära, vilket ansågs leda till att råttan inte behöver extra tid för att anpassa sig till metabolismburen (Thompson & Campbell, 1966). I den första studien hade foder och vatten placerats intill varandra i en särskild del utanför buren så att konsumtionen skulle bli enkel att mäta (Thompson & Campbell, 1966). Kontaminering från foder, vatten eller faeces skulle därmed kunna undvikas, och minimal avdunstning från urinen ske (Thompson & Campbell, 1966). En mätning av buren enligt artikelns figur och skalangivelser visar dock att buren var ca 220 cm² i buryta och 12 cm hög, vilket är mindre än många metabolismburar som används.

Von Weigelt (1970) utgick vid konstruktionen av en alternativ metabolisbur från en Makrolonbur II, vilken också är en relativt liten bur för en råtta.

2.10. Vilka alternativ finns vid urinuppsamling?

Ett sätt att åtgärda kritiken mot metabolisburar skulle kunna vara att utveckla andra metoder än den traditionella metabolisburen.

För insamling av urin finns det olika metoder, men utgångspunkten bör vara att det orsakar råttan så litet obehag som möjligt. Jackson & Sutherland (1984) har utvecklat en anordning för urinuppsamling som kan återanvändas. Den kan användas både på honor och på hanar. Anordningen klistras fast på råttans rakade buk under normal fasthållning. Jackson & Sutherland (1984) jämförde råttor som fått denna anordning påsatt med råttor som hölls i konventionella burar och fann inga skillnader i foder- och vattenintag eller i insulinutsöndring. Råttan kan hållas i sin vanliga bur med denna urinuppsamlingsanordning

En annan metod för insamling av urin beskrivs av Horst m.fl. (1988) som opererade in en kateter i urinröret på hanråttor. Djuret behöver då inte sitta i metabolisbur och kan röra sig fritt i hemburen. Nackdelen var att endast 50 % av djuren hade fungerande kateter efter en vecka, p.g.a. kristallisering av urin, blödningar, katetern hade lossnat från urinröret och det vanligaste problemet att djuret själv tog bort katetern. En annan nackdel är att djuret måste sövas för implantering av katetern, men om en annan operation ändå görs samtidigt kan det vara mer motiverat.

Om man vill ha små mängder urin från en råtta kan man bara lyfta upp den och hålla den över ett uppsamlingskärl (Waynforth & Flecknell, 1992). Det brukar vara råttans reaktion när den blir stressad att urinera. Khosho m.fl. (1985) beskriver en modell där man tejpade fast en 5 ml polystyrenmugg över urinröret och sedan masserade svansroten med ena handens fingrar. Man fick då 0.1-0.8 ml urin från 80 % av råttorna inom några sekunder, och övriga råttor urinerade när man upprepade proceduren efter 5-10 minuter.

I en nyligen publicerad översiktsartikel beskrivs olika metoder för att samla urin från både råttor och andra försöksdjur (Kurien, m.fl., 2004). De menar att de grundläggande aspekterna för urinuppsamling bör vara: 1) lätt att samla, 2) kvaliteten på det uppsamlade, 3) undvikandet av kontaminering, 4) svårighetsgraden av de använda metoderna, 5) nivån av smärta som djuret utsätts för, och 6) förfining av metoder för att minska stress, smärta eller oro (Kurien, m.fl., 2004).

2.11. Vilka alternativ finns vid faecesinsamling?

För insamling av faeces finns det utvecklat s.k. analkoppar. Hur man tillverkar dessa av flexibla polyetylenflaskor beskrivs på flera ställen (Frape m.fl., 1970; Smyth, 1979; Waynforth & Flecknell, 1992). Analkoppen fästs med tejp vid råttans svans. Hanar används främst till analkoppar eftersom de har ett dubbelt så långt anogenitalt avstånd jämfört med honorna. Analkoppen töms företrädesvis varje morgon, eftersom faeces produktionen är störst på natten. En stor fördel med analkoppen är att koprofagi hindras, vilken kan ha inverkan på studier av näringsbalans. Man har uppskattat att råttor särskilt vid hållning på gallergolv intar 50-65% av den producerade faeces.

2.12. Slutsatser från litteratursammanställningen

Trots omfattande litteratursökning, studiebesök på olika anläggningar och diskussioner med forskare har inga publikationer av råttors beteende i metabolismburar kunnat återfinnas. Det finns nästan inget om råttans viktförändring, temperaturförändring och utsöndring av stresshormoner under tiden den vistas i metabolismburen.

Följande slutsatser om hur framtida metabolismburar bör utformas med hänsyn till råttans välfärd dras med utgångspunkt från litteratur, studiebesök och kontaktade personer:

- Buren bör vara fyrkantig
- Buren bör vara större än idag, t ex marsvinsstorlek till normalstor råtta
- Buren bör vara högre än idag, så att råttan kan ställa sig på bakbenen, och ev. för att öka luftvolymen i buren
- Buren bör ha ett stabilt och bekvämt golv
- Ventilationen bör vara tillfredsställande genom att taket består av nät istället för hel platta
- Social kontakt bör upprätthållas mellan burarna via t ex hål eller genom att två djur hålls tillsammans
- Avdunstning av urin måste minimeras genom korta uppsamlingstrattar och rör, tillverkade av glas, med ev. kylning av uppsamlingsbehållaren
- Kontaminering av urin från faeces och foderrester bör minimeras
- Alla delar måste tåla upprepade autoklaveringar
- Berikningsföremål av autoklaverbar och icke gnagvänlig plast bör testas, t ex bolåda, rör, klätterställning eller något hängande i taket
- Utveckling av en automat där råttan kan trycka på en pedal för att få foder skulle kunna öka råttans aktivitet, och göra det möjligt att mäta foderintaget mer exakt
- Acklimatiseringsperiod på minst 4 dagar bör tillämpas innan substanser ges och viktiga mätningar börjar utföras

Sammanfattningsvis bör man göra en noggrann avvägning mellan burens storlek, utformning och berikning i förhållande till vad man vill mäta. Litteraturstudien visade att det saknas information om råttors beteende och fysiologi i metabolismburar, varför det ansågs viktigt att utföra en omfattande studie på några av de vanligast förekommande metabolismburarna.

3. SYFTE

Syftet med denna studie var att utvärdera fyra typer av metabolismburar för råttor under 11 dagar med avseende på recovery i studien, fysiologi och beteende. Avsikten var att besvara ett antal frågeställningar, där variablerna indelades i primära och sekundära. Följande frågeställningar är primärvariabler som används för att avgöra vilken bur som fungerade mest optimalt:

- 1) I vilken typ av metabolismbur är recovery (dvs. andel tilldelad substans som kan återuppsamlas från råttan) högst?
- 2) I vilken typ av metabolismbur sker den minsta förhöjningen av kortikosteron under de första fem dagarna?
- 3) I vilken typ av metabolismbur uppvisar råttan lägst nivå av stressinducerad hypertermi?
- 4) I vilken typ av metabolismbur ökar råttorna mest i vikt, samt äter och dricker de mest?
- 5) Hur många dagar tar det innan råttorna har acklimatiserat sig till metabolismburarna, och är tiden olika lång för olika burtyper?

Följande frågeställningar är sekundärvariabler och användes för deskriptiva syften:

- 6) I vilken typ av metabolismbur är råttan mest aktiv?
- 7) I vilken typ av metabolismbur utför råttan mest undersökande beteende?
- 8) Var i metabolismburen vistades råttorna mest?
- 9) Uppvisar råttorna någon typ av onormala eller stereotypa beteenden, och i vilken typ av metabolismbur förekommer detta minst?
- 10) I vilken typ av metabolismbur håller sig råttan renast?

4. MATERIAL OCH METODER

4.1. Försöksuppläggning och djur

Under juni-augusti 1998 genomfördes studien på Astra Hässles (numera AstraZeneca R&D Mölndal) djuravdelning. Innan studien startade skickades en ansökan in till Göteborgs djurförsöksetiska nämnd och den tillstyrktes 1997-06-18 utan anmärkningar (diarienummer 124/97). Fyra olika typer av metabolismburar jämfördes i två steg:

Experiment 1:

- A) Tecniplast metabolismbur (314 cm², 12 cm hög, Makrolon, rund) 8 st.
- B) Tecniplast metabolismbur (500 cm², 18 cm hög, Makrolon, rund), 8 st.
- C) Jencons Metabowl (471 cm², 14 cm hög, glas, rund, gallertak), 8 st.
- D) Makrolon III bur (800 cm², 17-18 cm hög, 9 cm under fodertråget), kontrollgrupp, individuell hållning, aspspån på botten, 8 st.

Experiment 2:

- D) Makrolon III bur (800 cm², 17-18 cm hög, 9 cm under fodertråget), kontrollgrupp, individuell hållning, aspspån på botten, 8 st.
- E) UNO ACME (542 cm², 16.5 cm hög, rostfritt stål, fyrkantig), 8 st.
- F) Experimentalavdelningens nya bur (529 cm², 19.5 cm hög, Makrolon, fyrkantig), 4 st.

Metabolismburar i behandlingarna A, C och D fanns på företaget sedan tidigare. Metabolismburna A hade målats svarta på sidorna för att ge råttorna en mer avskild miljö. Fyra burar till behandling B köptes in via Scanbur A/S. Åtta burar och tillhörande reol till behandling E lånades av Astra Draco (numera AstraZeneca R&D Lund). Fyra prototypburar till behandling F lånades av Experimentalavdelningen vid Malmö Allmänna Sjukhus. De sistnämnda burarna placerades bredvid varandra så att råttorna kunde ha noskontakt genom hålen på sidorna. Uppsamlingsrören för faeces, urin och sköljvatten var av plast i behandling A och B, samt av glas i behandling C. Urin och sköljvatten samlades direkt i plastflaskor i behandling E och F, medan faeces hälldes över i plastpåsar från en uppsamlingskorg i behandling E, samt från ett nät under gallergolvet i behandling F. Kontrollråttorna hölls i samma typ av bur som innan studien startade, med enda skillnaden att de under studietiden hölls individuellt.

Djurrummet hade en 12:12 timmars ljus: mörker cykel med grynings och skymningsljus under 30 minuter. Rummet hade även en nattlampa som skulle efterlikna stjärnljus. Temperaturen var i genomsnitt 21.1°C (Min 20.7, Max 21.5) och luftfuktigheten var i genomsnitt 44.4% (Min 41, Max 46) under hela försökstiden.

I studien användes totalt 52 råttor, 8 djur per burtyp utom för behandling F där endast 4 råttor testades. Behandling D med kontrollråttor upprepades för de två omgångarna så att totalt 16 kontrollråttor följdes. Råttorna var av Sprague-Dawley ras (Möllegård & Bomholt A/S, Danmark (numera Taconic)) där hälften var hanar och hälften honor. Hanarna var 7 veckor och honorna 10 veckor (ca 230 g.) vid ankomst till djuravdelningen. De gavs en aklimatiseringsperiod om minst 7 dagar då de hölls 2 st. tillsammans i Makrolon III. Minst två dagar innan studiestart flyttades djuren över till burar i samma rum som studien senare utfördes. På grund av videoutrustningens och rummets begränsningar följdes 4 råttor/metabolismburstyp åt gången, varvid försöket fick två upprepningar i experiment 1.

Honor och hanar testades då var för sig. I experiment 2 följdes båda könen samtidigt, och ingen upprepning gjordes.



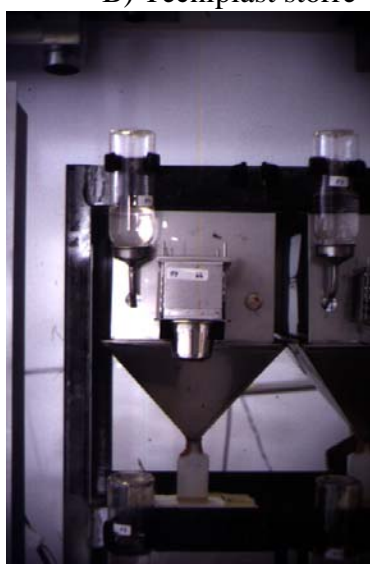
A) Tecniplast lilla



B) Tecniplast större



C) Jencons Metabowl



E) UNO ACME



F) Experimentalavdelningens

Figur 1. Översikt över de metabolismburar som undersöktes i studien (Foto: Lena Lidfors)

Råttorna hölls i metabolismburarna under 11 dagar. De hade fri tillgång till vatten och foder (R3, Lactamin, Vadstena (numera Lantmännen)) i alla behandlingar. Fodret var malt i behandling A, B och E, medan hela pellets gavs i foderautomat i behandling C och F. I den senare behandlingen kunde de plocka ut pellets och äta dem på gallergolvet. Kontrollrättor kunde gnaga på fodret genom foderhäcken i gallerloppet. Råttorna gick i samma metabolismbur under hela försöket, för att minska ev. stress orsakad av burbyten. Burväggar och gallergolv sköljdes noggrant med vatten varje dag medan råttorna lyftes över till en separat Marolonbur II för registrering av kroppstemperatur och vägning.

4.2 Mätning av totalradioaktivitet

För att kunna utvärdera hur väl metabolismburarna fungerar i att ge svar i hur substanser bryts ned och elimineras från kroppen gavs råttorna en radioaktivt märkt (^{14}C) känd substans. Här valdes en substans som tidigare har visat sig elimineras främst via urin och faeces, och därför analyserades dessa parametrar med avseende på recovery, dvs. andelen tilldelad radioaktiv substans som kunde återuppsamlas och analyseras från råttan, totalradioaktivitet. Den radioaktivt märkta substansen hade vid test en radiokemisk renhet på 95 %. Lösningen med substansen förvarades fryst fram till dagen för administrering.

Endast djuren i burarna A, B, C, och E fick substansen, eftersom det var de enda burar utformade för en tillfredsställande insamling av urin, faeces och sköljvatten. Hälften av råttorna (2/burtyp/upprepning) gavs substansen strax innan de placerades i någon av metabolismburarna och den andra hälften gavs substansen dag 5 efter placering i metabolismburen. Substansen administrerades av en van djurtekniker per oralt med sond som ledde ned till magsäcken. Råttorna gavs 4 ml/kg kroppsvikt av den upptinade substansen, och de hade vägts på morgonen samma dag. Varje spruta med substans vägdes på en särskild våg (A30, Mettler Toledo AB, Sverige) innan och efter doseringen. Detta gjordes för att få den totalt givna mängden radioaktivitet.

Alla provrör vägdes och försågs med en etikett innan de sattes på metabolismburen. Kolvarna för urin, faeces och sköljvatten var märkta med försöksserienummer, djur id, typ av metabolismbur (A, B, C, eller E, samt burordning A, B, C eller D), uppsamlingsintervall (24 tim. intervall), typ av prov (urin, skölj el. faeces), den radioaktivt märkta substansen, samt administreringsdag (0 eller 5). Varje dag byttes uppsamlingskolven för urin och faeces från de senaste 24 timmarna. Ev. faecesrester flyttades med pincett till avsedd kolv. Metabolismburen sköljdes med 40 ml kranvatten via en sprayflaska och sköljvattnet samlades i en separat uppsamlingskolv. Vägning av kolvar innehållande urin, faeces och sköljvatten gjordes med en särskild våg (A30, Mettler Toledo AB, Sverige) och vikten dokumenterades. Därefter pipetterades 1 ml urin över till rör för kortikosteronanalys, och urin och sköljvatten överfördes till plastflaskor märkta som tidigare. Proven förvarades i frys i väntan på vidare analys.

Mätning av den totala radioaktiviteten i urin, faeces och sköljvattnet utfördes med hjälp av Wallac 1409 Liquid Scintillation Counter (LSC). En viss mängd urin (vägd) från varje samlat intervall fördes över till glasvialer och 10 ml Ready-Safe (Beckman) scintillation cocktail tillsattes och räknades i LSC. Sköljvattnet behandlades på samma sätt. En viss mängd faeces (vägd) från varje samlat intervall homogeniserades med en Ultra-Turrax T5 och förbrändes i en Sample Oxidazer model 307 (Packard) och CO_2 fångades upp i en lösning med hjälp av Oximate 80 robotic (Packard). Proverna mättes sedan tillsammans

med PermaFluor scintillation cocktail i LSC. Genom att mäta radioaktiviteten och vikten av urin, faeces resp. skölvattnet räknas den totala recovery genom att addera värdena under hela tidsperioden per råtta och dividera med den givna mängden radioaktivt inmärkt substans.

4.3. Mätning av kortikosteron

Mätning av kortikosteron gjordes på urin insamlat under 24 timmar för vart och ett av de 11 dyggen råttorna gick i metabolismburen. Efter att ha registrerat vikt på den insamlade urinmängden skakades röret för att blanda de olika skikten och ett prov på 1 ml urin drogs upp och placerades i ett eppendorfrör som frystes i -20°C inför vidare analys.

Alla provrör skickades till Institutionen för Klinisk Kemi vid SLU. Extrahering med dietyleter (Fluka) gjordes för att urinen i vissa prover var kontaminerad med faeces- och foderrester. Extraktion görs för att undvika konjugat vid bestämning av kortikosteron, men inte vid bestämning av kortisol. Analyserna gjordes med Coat-A-Count Rat Corticosterone test (Diagnostic Product Cooperation, California).

4.4. Mätning av kroppstemperatur

Identitets- och temperatur mätningssystemet DAS-5001 Console™ System och IPTT, Implantable Programmable Temperature Transponder (BioMedic Data System, PLEXX, Nederländerna) användes för att mäta råttornas kroppstemperatur. Varje råtta fick en transponder som via en mottagare registrerar djurets identitetsnummer och dess kroppstemperatur. Under acklimatiseringsperioden och minst 3 dagar före placering i metabolismburarna sövdes råttorna med Forene® (Isofluran) varefter transpondern fördes in subkutant vid nacken. Råttornas kroppstemperatur registrerades dagen före flytten till metabolismburen, och sedan en gång per dag under de 11 dagarna i metabolismburen. Rummets temperatur dokumenterades från den display som visade djurrummets temperatur vilken erhöles via den kontinuerliga och centrala registreringen av djurrummets klimat.

4.5. Vägningar och renlighetsregistreringar

Råttorna vägdes vid ankomst, dagen före placering i metabolismburen och därefter varje dag under de 11 dagarna i de olika burtyperna i en Makrolon II bur placerad på en vågplatta (PR8001, Mettler Toledo AB, Sverige).

I samband med vägningarna registrerades hur rena råttorna var, dvs. deras förmåga att hålla pälsen i gott skick. Denna parameter är ett av tecknen på god djurvälstånd.

Bedömningen gjordes enligt följande skala:

- 1) Råttan ok., vit, glansig, tät och jämn päls
- 2) Råttan något smutsig, röd (porfuri) runt ögon och näsborrar
- 3) Råttan mycket smutsig och kutryggig, håret hade rest sig (piloerektion)

Vid tveksamhet om vilken gradering råttan skulle ges kunde även 1.25, 1.5, 1.75, 2.25 och 2.5 gradering ges.

Foderbehållarna och vattenflaskorna vägdes med dess innehåll före och efter tilldelning för att kunna beräkna dygnskonsumtion (kl.8-10 varje dag). Vägning av foder resp. vatten gjordes även för de parvis hållna råttorna dagen innan de placerades i metabolismburarna, och en genomsnittlig konsumtion per råtta räknades ut. Alla vägningar gjordes på samma våg som användes för viktregistrering av råttorna.

4.6. Beteenderegistreringar och analys

Råttorna videofilmades ett dygn innan de placerades i metabolismburen, samt alla 11 dygnen då det satt i metabolismburen. Fyra videokameror och två infraröda lampor för filmning under den mörka tiden monterades så att 12 metabolismburar och 4 Makrolonburar filmades samtidigt. Videon som användes var en Time Lapse Video Cassette Recorder (Panasonic AG-6124) inställd på "24 time mode". Det innebär att videon registrerar en bild per sekund under 24 timmar. Inspelning styrdes så att varje kamera bandades under 50 sekunder varefter den skiftade till nästa kamera enligt en viss ordning.

Analys av videobandens beteenden gjordes av samma person med hjälp av en momentan intervallregistrering var 6:e minut av följande beteenden:

- foderintag; krupit in i gång till fodret och/eller vidrörde fodret
- vattenintag; slickade på vattennippeln
- inaktiv; låg ned utan att röra sig
- putsning; slickade pälsen, förde framtassarna över ansiktet, krafsade med tassarna mot kroppen
- undersökande; nosade på burens väggar, tak, gallergolv, etc.
- onormalt; onormala rörelsemönster med stereotypa sekvenser, dvs. rörelsen upprepades många gånger, utan något mål och uppfattades som meningslös
- freezing; stannade upp i en rörelse och var stilla under minst 10 minuter
- social; nosade genom hål i väggen på grannråttan
- övrigt; alla andra beteenden som inte har definierats ovan

Registreringar gjordes även av var i buren råttan befann sig enligt följande:

- mitten av buren
- utmed burväggen, vidrörde väggen med kroppen
- fodret; krupit in i gången till fodret eller hade huvudet intill fodret

4.7. Statistik

Studiens ursprungliga upplägg diskuterades med statistiker på AstraZeneca R & D i Mölndal inom avdelningen Biostatistics, och de gjorde även de statistiska analyserna. Alla beräkningar och analyser har gjorts i SAS version 6.12 (Statistical Analysis System Inc., Cary, USA). Eftersom de statistiska analyserna och alla figurerna gjordes på engelska har figurernas X- och Y-axlar och annan text i figurerna behållits på originalspråket. De exakta p-värdena, F-värdena och frihetsgraderna från alla de statistiska analyserna har lagts i tabeller i bilaga 3.

Alla värden är registrerade som icke-negativa mått och analyserade på en logaritmisk skala. Medelvärden och SD har beräknats för varje dag, bur och kön för de separata

parametrarna. En tre-vägs variansanalys (PROC ANOVA) har använts för att testa vilka variabler som har en signifikant effekt för metabolismburtyp, dag och kön, samt interaktioner mellan dessa variabler.

Vid statistisk analys av recovery summerades de tre värdena (urin, faeces och sköljvatten) som erhöles för varje djur och dag till en daglig procent av total recovery. Logaritmen av dessa kvantiteter användes sedan i analysen. Modellen för variansanalysen innehåller huvudeffekter för DAG (dagen efter substansadministrering, med en nivå för var och en av de sju dagarna), BUR (A, B, C och E), KÖN (hona resp. hane), och SUBST (0 resp. 5 som var dagarna [Måndag och Fredag] då substanserna administrerades). Dessutom lades tvåvägsinteraktionerna DAG*BUR, DAG*KÖN, BUR*KÖN och tre-vägsinteraktionen DAG*BUR*KÖN till modellen. En autoregressiv korrelationsstruktur användes för att tillåta korrelationer bland värdena som erhöles för samma djur mellan olika dagar.

Kortikosteronvärden erhöles från dag 1 och framåt för metabolismburarna A, B, C, E och F. Eftersom inga värden erhöles från bur D (kontrollbur) jämfördes värdena mellan de olika metabolismburarna. Tre-vägs variansanalys användes med huvudeffekterna DAG (dag 1-11), KÖN (hona resp. hane), BUR (A, B, C, E och F), och två- resp. tre-vägsinteraktioner. En randomiserad effekt för de olika djuren inkluderades i variansanalysens modell tillsammans med en autoregressiv felstruktur för upprepade mätningar på samma djur.

Råttornas kroppstemperatur mättes varje dag från dag -1 (dag före placering i metabolismburen) till dag 11. Logaritmen av dessa värden användes vid analysen. Tre-vägs variansanalys användes med huvudeffekterna DAG (dag -1 till 11), BUR (de 7 nivåerna A, B, C, D.ABC, D.EF, E, och F), KÖN (hona resp. hane), och två resp. tre-vägsinteraktioner.

För varje djur normaliserades vikterna från dag 1 till 11 genom att dela dem med vikterna för motsvarande djur för dag 0 (vikten strax innan de placerades i metabolismburen). Dessa viktsdifferenser, vars logaritmer användes för de statistiska analyserna, återspeglar därmed viktsförändringen jämfört med dag 0.

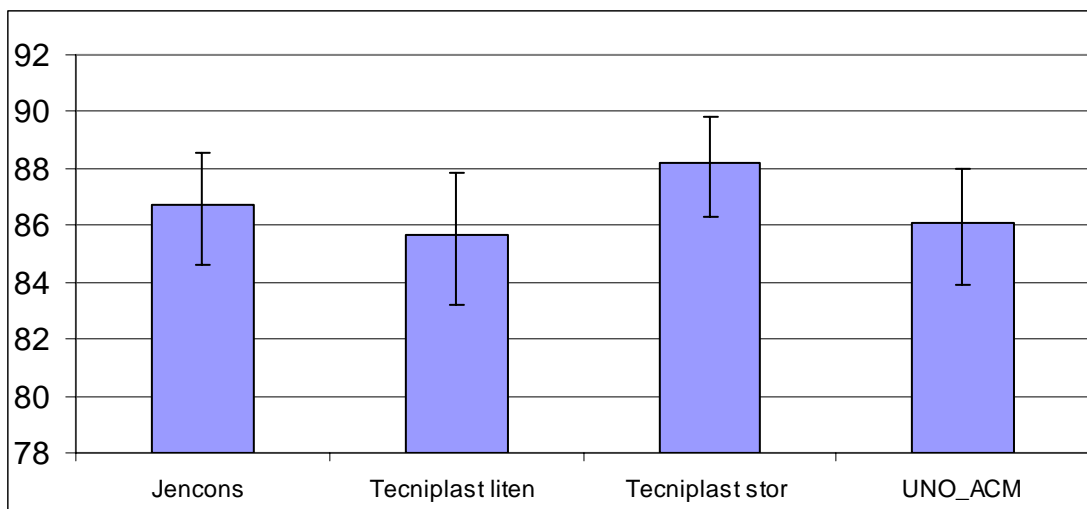
Råttornas viktsdifferens, foderkonsumtion, vattenintag, beteenden och placering i buren analyserades med tre-vägs variansanalys med huvudeffekterna DAG (0-11), KÖN (hona resp. hane), och BUR (A, B, C, D.ABC, D.EF, E, och F), och två resp. tre-vägsinteraktioner. Endast resultaten för placering i mitten av buren, placering utmed burväggen och placering vid fodret analyserades eftersom placering vid vattnet hade för få registreringar.

För att kunna ta fram den bur som fungerade bäst i studien användes en poängbedömning där 5 gavs till den bur som gav bäst resultat ned till 1 för den bur som gav sämst resultat. Med bäst menades högst procentuell recovery, lägst kortikosteronhalt, lägst kroppstemperatur, högst tillväxt, högst foderintag och högst vattenintag. För var och en av de fem primärvariablerna gavs denna poäng, vilket ledde fram till en slutpoäng vid summering. Den metabolismbur som fick högst slutpoäng fungerade bäst i studien. Burar som får en låg recovery, under 90 %, anses generellt ge ett gränsresultat som föranleder vidare utvärdering av substansen effekt.

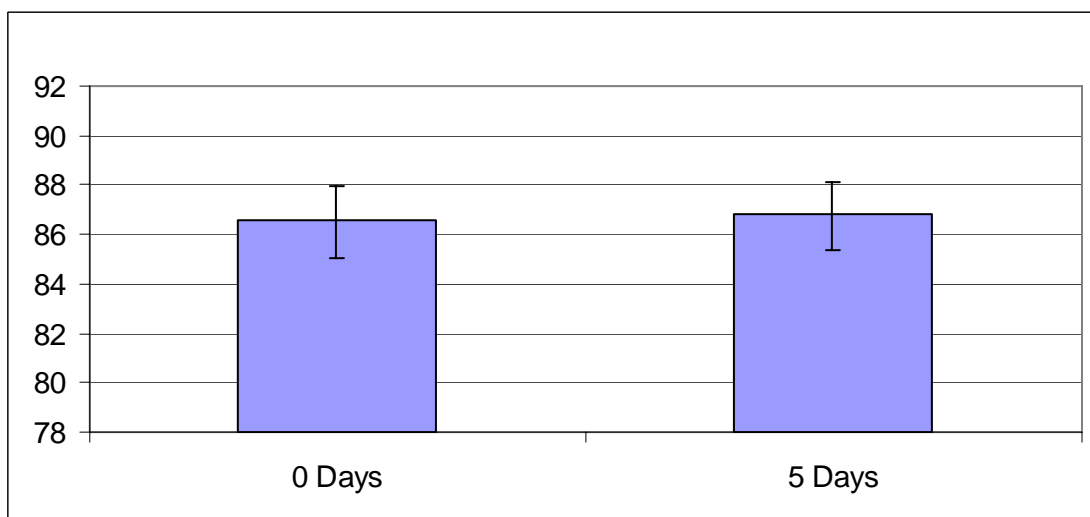
5. RESULTAT

5.1. Recovery av substans

Andelen radioaktivt märkt substans som blev återuppsamlad under de 7 första dyggen skiljde sig inte signifikant åt mellan metabolisburarna (n.s., $F=0.67$, Fig.2). Det var inte heller någon signifikant skillnad mellan om substansen gavs dag 0 eller dag 5 efter placering i metabolisburen (n.s., $F=1.56$, Fig.3). Av den radioaktivt märkta substansen utsöndrades i genomsnitt 52.9-57.7 % via faeces, 25.6-31.9 % via urinen och 2.9-3.9 % via tvättvattnet.

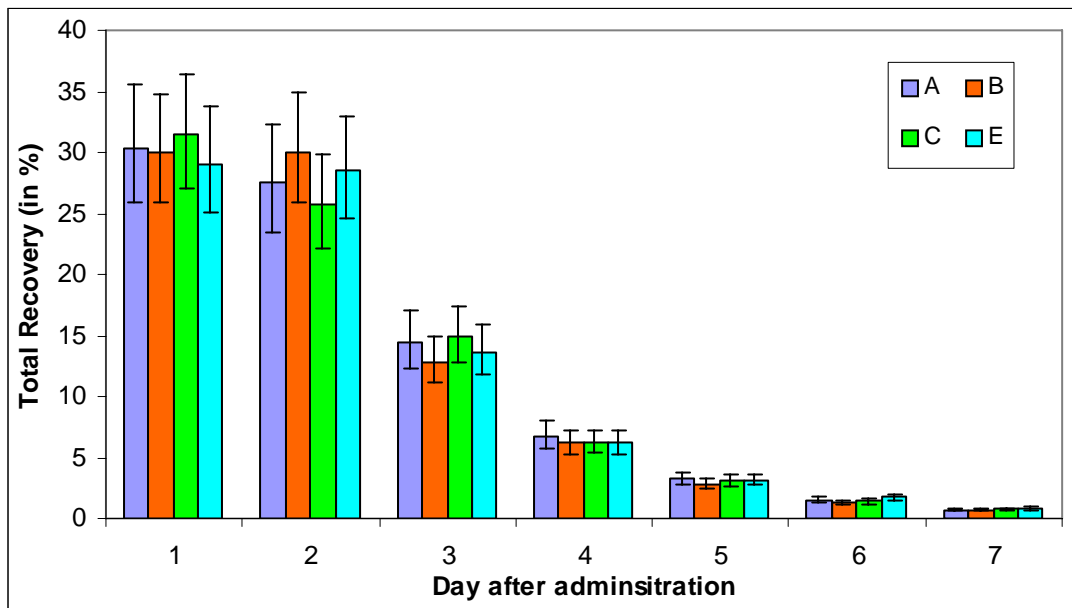


Figur 2. Genomsnittlig total recovery (%) \pm 95% konfidensintervall för fyra metabolisburar under 7 dagars uppsamling av substans.



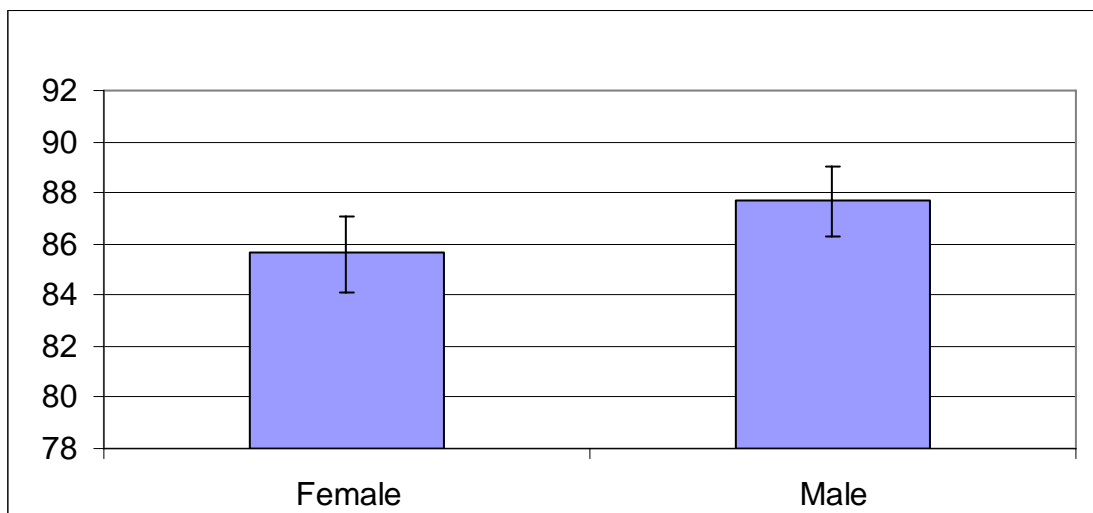
Figur 3. Genomsnittlig total recovery (%) (\pm 95% konfidensintervall) för råttor som fick substansen dag 0 resp. dag 5 efter placering i metabolisburen.

Andelen radioaktivt märkt substans som blev återuppsamlad skiljde sig signifikant åt mellan dagarna ($p < 0.001$, $F = 1109.93$, Fig.4). Det var högst recovery dag 1 och 2, och därefter minskade den för varje dag.

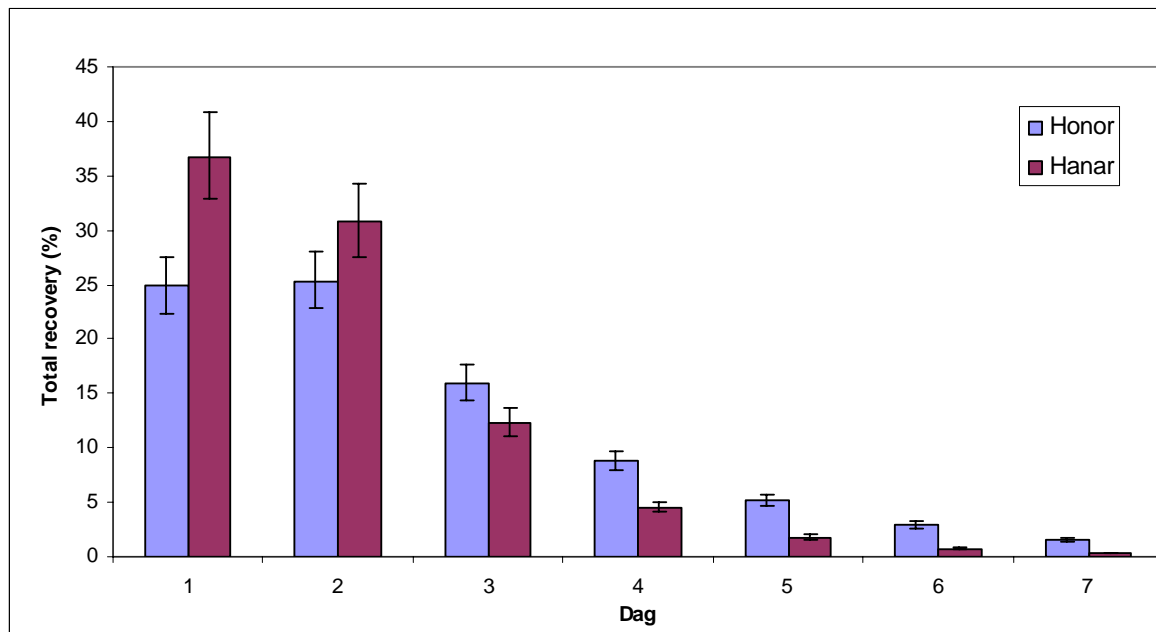


Figur 4. Genomsnittlig recovery (\pm 95% konfidensintervall) för fyra metabolisburstyper under de 7 första dagarna efter det att substansen givits.

Andelen radioaktivt märkt substans som blev återuppsamlad skiljde sig signifikant åt mellan könen ($p < 0.001$, $F = 190.35$) och total recovery var signifikant högre för hanar än för honor (Fig.5). Det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och könen ($p < 0.001$, $F = 75.99$) där hanarna hade en högre recovery dag 1-2 medan honorna hade en högre recovery dag 3-7 efter tilldelning av substansen (Fig.6).



Figur 5. Genomsnittlig totalrecovery (%) (\pm 95% konfidensintervall) för hon- resp. hanråttor under de 7 första dagarna efter det att substansen givits.

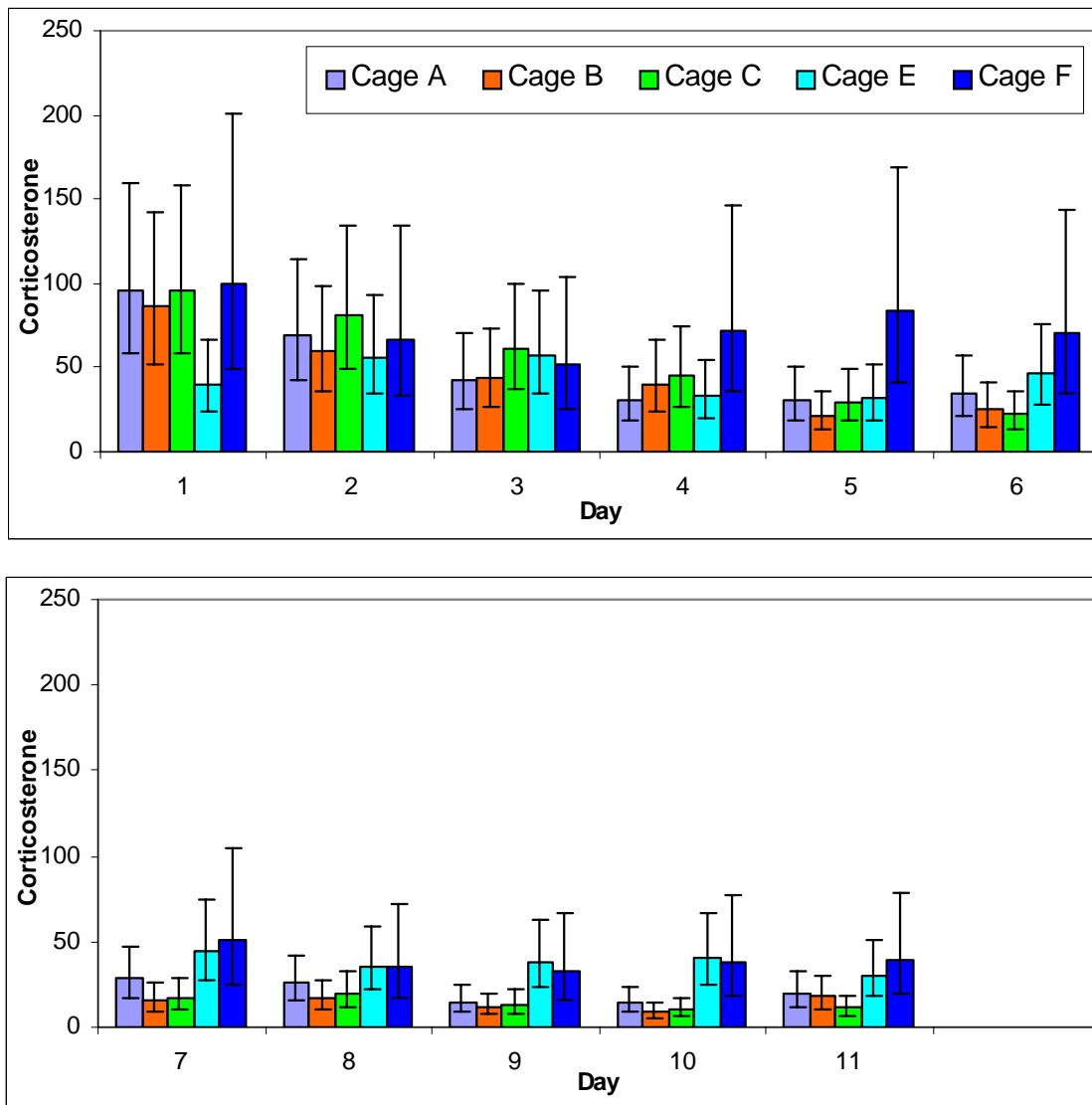


Figur 6. Genomsnittlig recovery (\pm 95% konfidensintervall) för hon- resp. hanråttor under de 7 första dagarna efter det att substansen givits.

Det var inga signifikanta skillnader för två-vägsinteraktionerna mellan dagar och metabolismburar, mellan metabolismburar och kön och för tre-vägsinteraktionen mellan dagar, metabolismburar och kön.

5.2. Kortikosteron

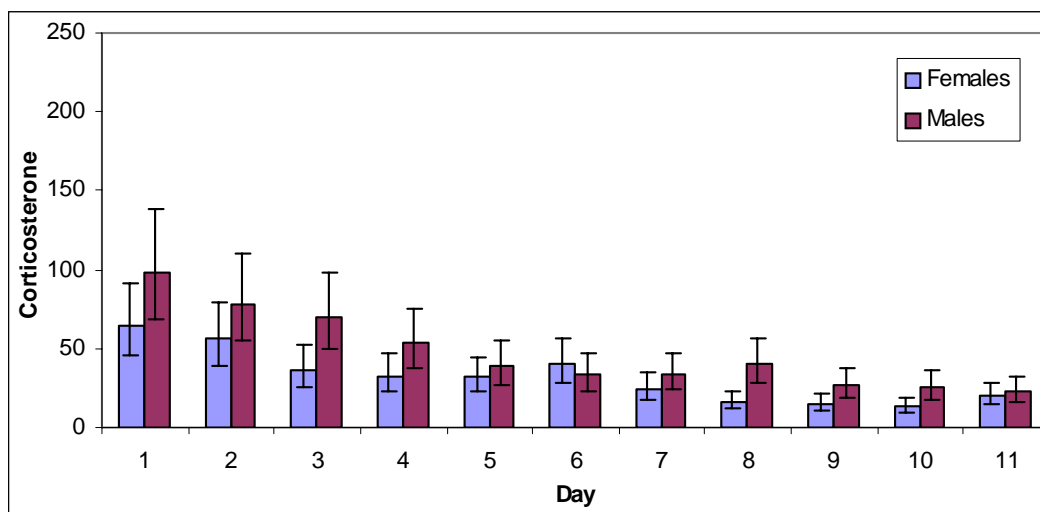
Halterna av kortikosteron i urin från dag 1 till dag 11 skiljde sig signifikant åt mellan dagarna ($p < 0.001$, $F = 10.70$) och metabolismburarna ($p < 0.01$, $F = 3.39$), och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och metabolsimburarna ($p < 0.05$, $F = 1.53$). Halterna av kortikosteron minskade under de första fyra dagarna som råttorna satt i metabolismburarna A, B och C, varefter de höll sig relativt konstanta (Fig.7). I metabolismburarna E och särskilt F var minskningen inte lika stor och det var en större spridning orsakad av individuella skillnader (Fig.7). Sett över alla dagar var de största skillnaderna mellan burarna B och F (med kortikosteronhalter i F som var 2.17 gånger högre än i B, $p = 0.002$) och burarna C och F (med kortikosteronhalter i F som var 1.96 gånger högre än i B, $p = 0.006$).



Figur 7. Genomsnittlig kortikosteronhalt (μl , \pm SD) i dygnsurin från råttor placerade i fem olika metabolisburar under 11 dagar ($n=8/\text{bur}$ i A, B, C och E, $n=4/\text{bur}$ i F).

Det var signifikanta skillnader mellan könen ($p<0.01$, $F=8.53$) och en signifikant interaktion mellan dagarna och könen i kortikosteronhaltererna ($p<0.05$, $F=1.98$). De genomsnittliga kortikosteronhaltererna var högre för hanar än för honor under alla dagar utom dag 6 (Fig. 8).

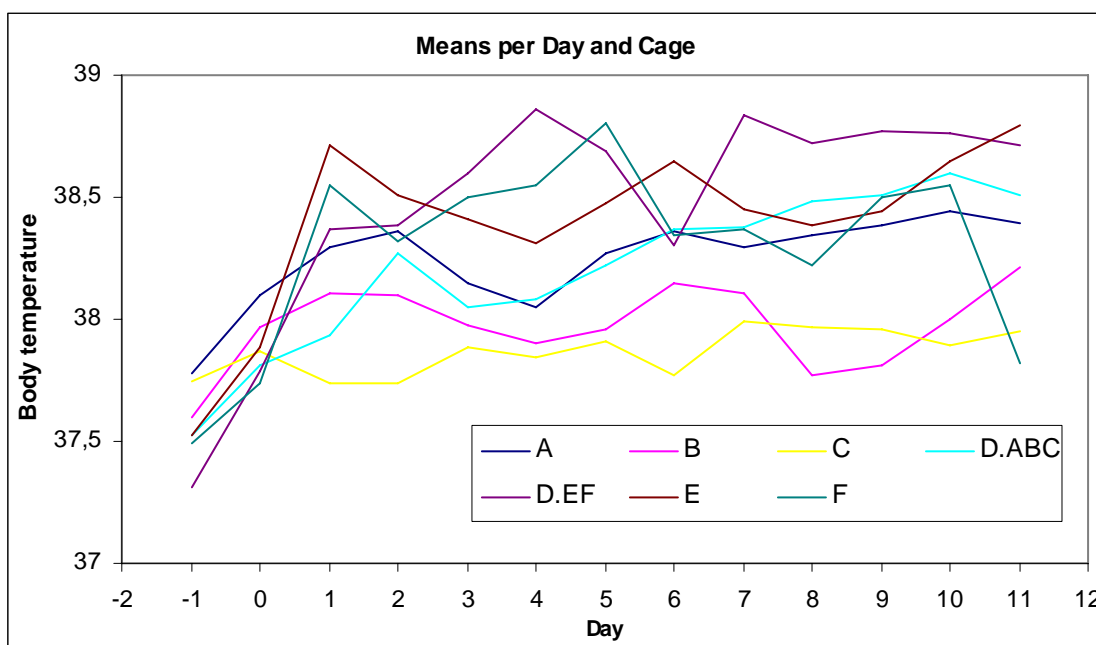
Det var inga signifikanta skillnader för interaktionen mellan metabolisburarna och könen eller för tre-vägsinteraktionen.



Figur 8. Genomsnittlig kortikosteronhalt (μl , \pm SD) i dygnsurin från hon- resp. hanrättor placerade i fem olika metabolismburar under 11 dagar ($n=8/\text{bur}$ i A, B, C och E, $n=4/\text{bur}$ i F).

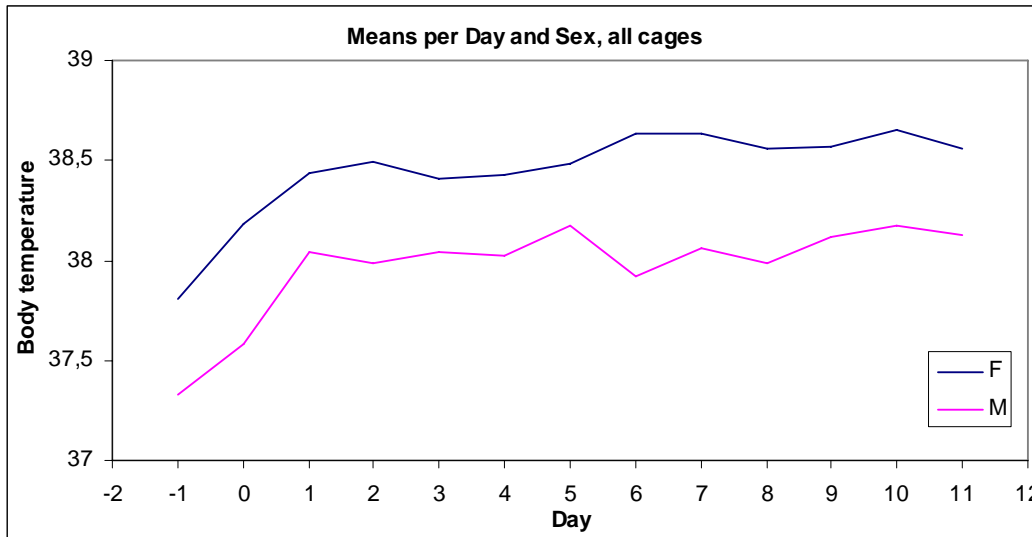
5.3. Kroppstemperatur

Råttornas kroppstemperatur skiljde sig signifikant åt mellan burarna ($p<0.01$, $F=3.70$) och dagarna ($p<0.001$, $F=21.78$), och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p<0.001$, $F=2.91$). Kroppstemperaturen var lägre dagen innan och samma dag som råttorna placerades i metabolism- resp. kontrollburarna (Fig.9). Under vistelsen i metabolismburarna hade bur C och B en lägre kroppstemperatur än övriga burar (Fig.9).



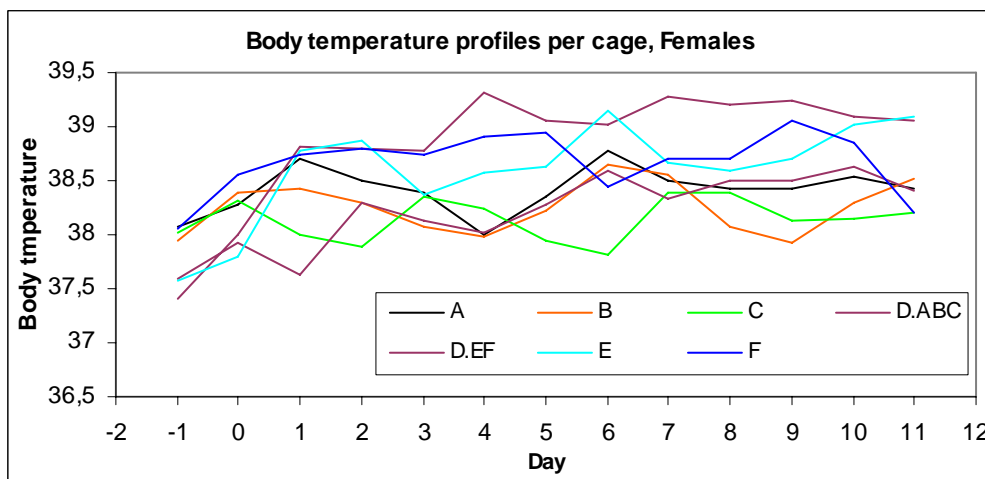
Figur 9. Kroppstemperatur ($^{\circ}\text{C}$) hos rättor av båda könen för 5 typer av metabolismburar och kontrollburar under 13 dagar ($n=8/\text{bur}$ i A, B, C, E, D.ABC och D.EF, $n=4/\text{bur}$ i F).

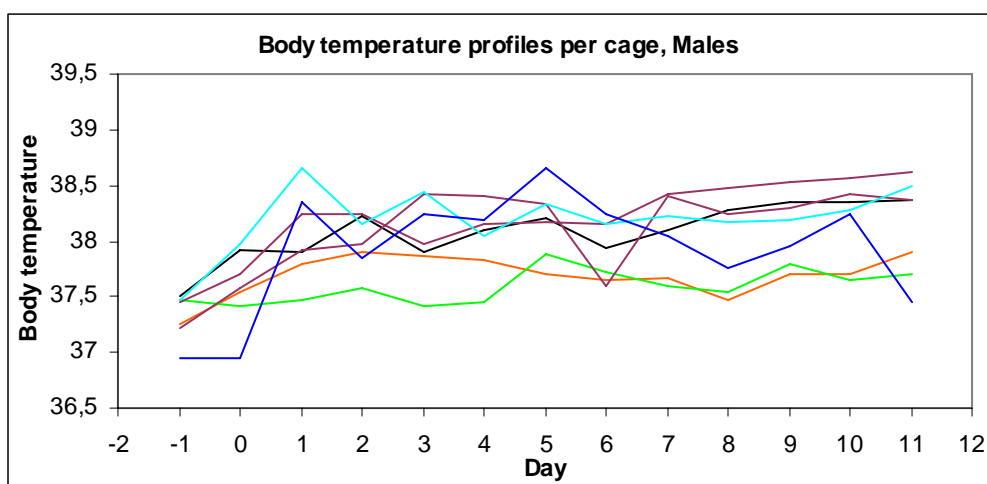
Råttornas kroppstemperatur skiljde sig signifikant åt mellan könen ($p < 0.001$, $F = 28.25$) och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och könen ($p < 0.05$, $F = 1.83$). I genomsnitt var kroppstemperaturen hos honorna cirka 1.0-1.5% högre än hos hanarna under alla dagarna i studien (Fig.10).



Figur 10. Kroppstemperaturen (° C) hos honor (F) och hanar (M) för 5 typer av metabolismburar och kontrollburar under 13 dagar ($n = 26$ per kön).

Det var även en signifikant tre-vägsinteraktion mellan dagarna, burarna och könen ($p < 0.001$, $F = 1.90$). I figur 11 visas därför kroppstemperaturen för varje separat bur för honor respektive hanar. Det är dock svårt att se några tydliga skillnader mellan burarna över dagarna. Den enda faktor som inte var signifikant var interaktionen mellan burarna och könen (n.s., $F = 1.25$).



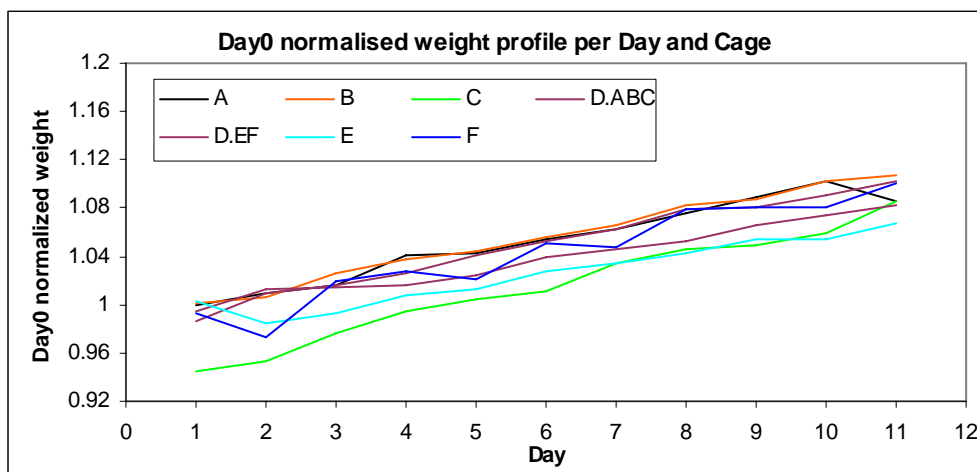


Figur 11. Genomsnittlig kroppstemperaturen (°C) för 5 typer av metabolisburar (A, B, C, E, F) och kontrollburar (D.ABC + D.EF) för honor (högst upp) och hanar (längst ner) under 11 dagar (n=8/bur i A, B, C, E, D.ABC och D.EF, n=4/bur i F).

5.4. Kroppsvikt

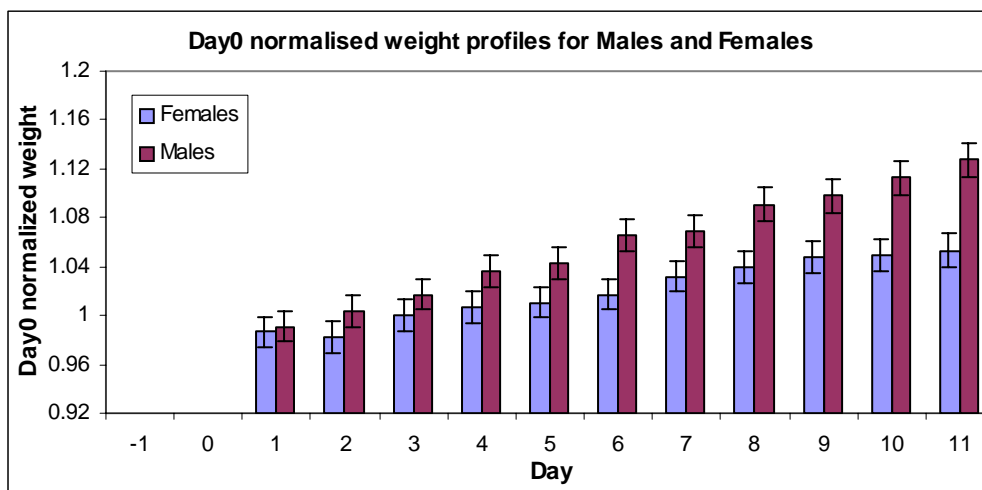
Råttornas kroppsvikt jämfört med dag 0 förändrades signifikant mellan dagarna ($p < 0.001$, $F = 29.48$) och burarna ($p < 0.05$, $F = 3.09$), och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p < 0.001$, $F = 1.78$). Den genomsnittliga viktökningen för råttorna visar på en liknande tendens för alla burar, men vissa skillnader i medelvärdet kan ses (Fig.12).

Vid ett parvis test av viktsförändringen relaterat till dag 0 mellan burarna A, B, C, E och F med dem i bur D skiljde sig bur A och B inte signifikant från viktsförändringen i bur D (A: $p = 0.807$, B: $p = 0.581$), och de följde samma mönster av att öka i vikt med tiden. I bur C däremot skiljde sig viktsförändringen signifikant från viktsförändringen i bur D ($p = 0.006$). Råttorna i bur C hade minskat i vikt dag 1 och ökade sedan inte lika mycket i vikt som råttorna i bur D, men vid dag 11 skiljde de sig inte längre från bur D. Resultaten är mycket lika för bur E och F, även om övergripande skillnader inte kan visas. En viktsminskning skedde dag 2 i både bur E och F ($p = 0.074$ för bur E och $p = 0.037$ för bur F). Värdena för bur E var systematiskt mindre än för bur D, men inte signifikant ($p = 0.293$), medan inga sådana systematiska skillnader förekom när man jämförde bur D och F ($p = 0.786$).



Figur 12. Differensen i kroppsvikt jämfört med dag 0 för råttor av båda könen i de 5 metabolismburarna jämfört med kontrollburarna under de 11 dagarna i burarna (n=8/bur i A, B, C, E, D.ABC och D.EF, n=4/bur i F).

Råttornas förändring av kroppsvikten skiljde sig signifikant åt mellan könen ($p < 0.001$, $F = 30.0$), och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och könen ($p < 0.001$, $F = 5.31$). Viktökningen över de 11 dagarna råttorna satt i metabolismburarna var större för hanar än för honor (Fig.13). Det var ingen signifikant interaktion mellan burarna och könen (n.s., $F = 1.40$). Eftersom tre-vägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen inte var signifikant (n.s., $F = 0.98$) kan skillnaderna förväntas vara mycket lika i alla burarna.

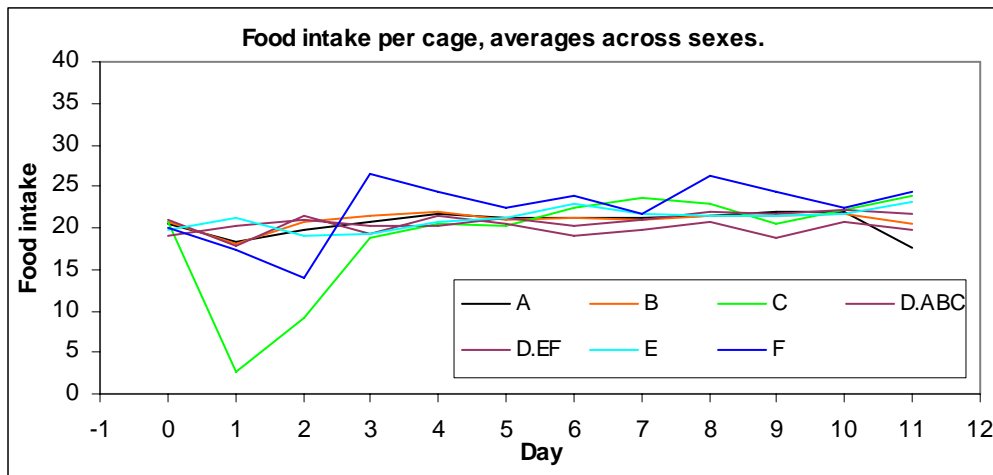


Figur 13. Viktökningen jämfört med dag 0 för hon- respektive hanråttor för samtliga burar (n=26 per kön).

Under de första fyra dagarna i metabolismburarna var det inga generella skillnader i viktsförändringen mellan djur som fick substans dag 0 och de som inte fick substans dag 0 i bur A, B och E. För bur C och dagarna 1, 3 och 4 tycks viktsförlusten jämfört med dag 0 vara större hos djuren som fick substans än för djuren som inte fick substans.

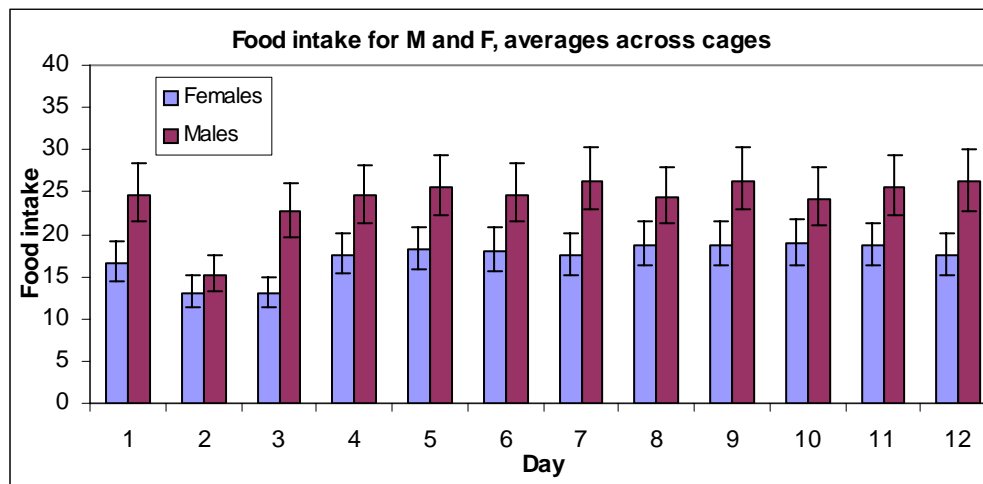
5.5. Födointag

Den mängd foder råttorna åt per dygn under de 11 dagarna i metabolism- och kontrollburarna skiljde sig signifikant åt mellan dagarna ($p < 0.001$, $F = 6.24$) och burarna ($p < 0.01$, $F = 3.38$). Det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p < 0.001$, $F = 3.77$). I metabolismbur C och F uppvisas ett ganska varierat foderintag mellan dagarna (Fig.14). I bur C var det en stark nedgång dag 1, och de åt i stort sett ingenting, medan de dag 2 åt ungefär hälften av den mängd råttorna i övriga burar åt och först dag 3 hade de kommit upp till samma nivå som övriga burar (Fig.14). I bur F uppvisade råttorna en mindre kraftig nedgång i foderintaget dag 1 och 2, verkade äta mer dag 3, varefter de närmade sig de andra burarna i foderintagsnivå (Fig.14).



Figur 14. Genomsnittligt foderintag (gram) per dygn för råttor av båda könen i fem metabolismburar (A, B, C, E, F) jämfört med kontrollburar (D.ABC, D.EF) under ett kontrolldygn (dag 0) och därefter 11 dygn i burarna ($n = 8$ /bur i A, B, C, E, D.ABC och D.EF, $n = 4$ /bur i F).

Den mängd foder råttorna åt per dygn i burarna skiljde sig signifikant åt mellan könen ($p < 0.001$, $F = 84.77$). Hanarna hade ett betydligt större foderintag än honorna hade under alla 11 dyggen i metabolism- och kontrollburarna (Fig.15). Det var inga signifikanta skillnader för interaktionerna mellan dagarna och könen (n.s., $F = 1.43$), mellan burarna och könen (n.s., $F = 1.41$) eller för tre-vägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen (n.s., $F = 0.89$). Detta gör att skillnaderna i mängden foder som konsumerades mellan hanar och honor kan antas vara lika för alla burarna.

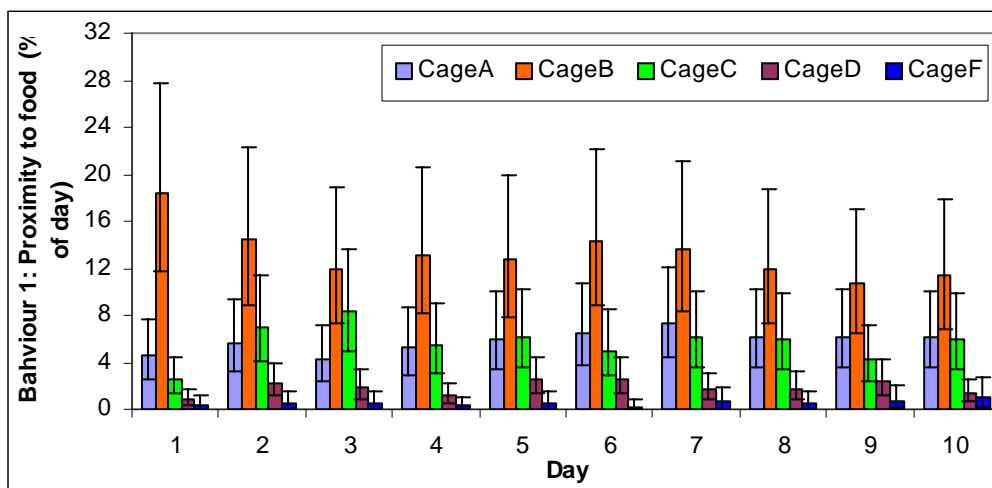


Figur 15. Genomsnittligt (\pm SE) foderintag (gram) för hon- resp. hanråttor ($n=26$ per kön) under de 11 dagarna de var placerade i fem olika typer av metabolisburar eller Makrolon III-burar (kontrollbur).

Eftersom hälften av djuren fick substans dag 0 och andra hälften dag 5 i burarna A, B, C och E undersöktes även om djuren med och utan substans skiljde sig åt i foderintag de första fyra dyggen. Administreringen av substans tycks inte ha påverkat foderintaget hos djuren i burarna A, B och E. I bur C tycktes de djur som fick substans dag 0 ha ett lägre foderintag dag 1 än dem som inte gavs substans.

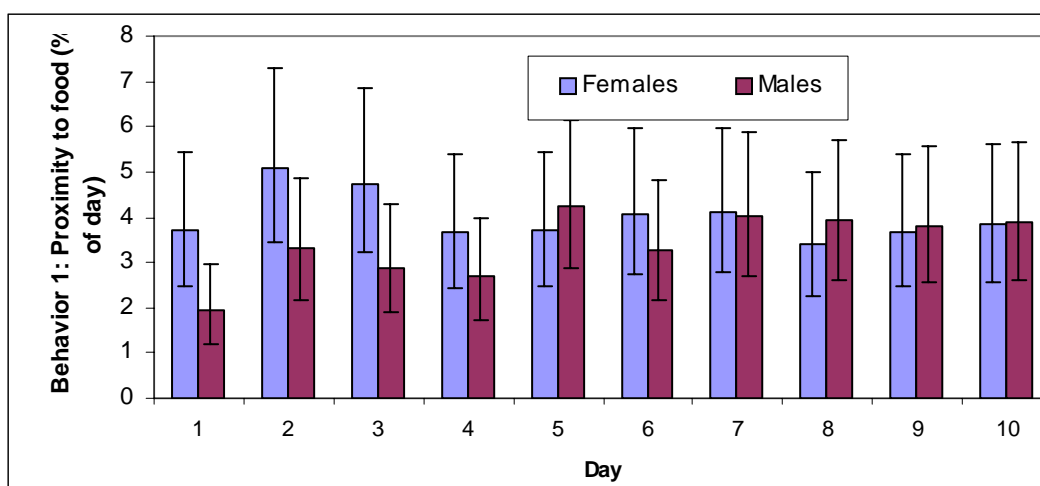
Råttornas foderintagsbeteende som innebar att de hade krupit in i gången till fodret eller att de vidrörde fodret skiljde sig signifikant åt mellan dagarna ($p<0.05$, $F=2.05$) och burarna ($p<0.001$, $F=22.69$). Det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p<0.05$, $F=1.54$), vilket innebär att skillnader mellan burarna kan bero på dagen eller att skillnader mellan burar kan observeras vissa dagar men inte andra dagar.

Beteendet foderintag hade störst andel registreringar för bur B, men det var en stor spridning i materialet (Fig.16). I bur B observerades råttorna ofta liggandes inne i gången som ledde fram till foderskålen, men eftersom det inte gick att se skillnad på om de endast låg eller åt när de vistades i gången registrerades alla placeringar i gången som foderintag. Burarna A och C hade relativt snarlika medelvärden för beteendet foderintag (Fig.16). Även bur A hade en gång in till foderskålen, men den var betydligt trängre än för bur B. Bur F hade mycket låga medelvärden och låg under kontrollburens medelvärde för beteendet foderintag (Fig.16).



Figur 16. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för beteendet foderintag hos råttor av båda könen hållna i metabolisburarna A ($n=8$), B ($n=8$), C ($n=8$) och F ($n=4$) jämfört med dem hållna i kontrollburarna D ($n=16$).

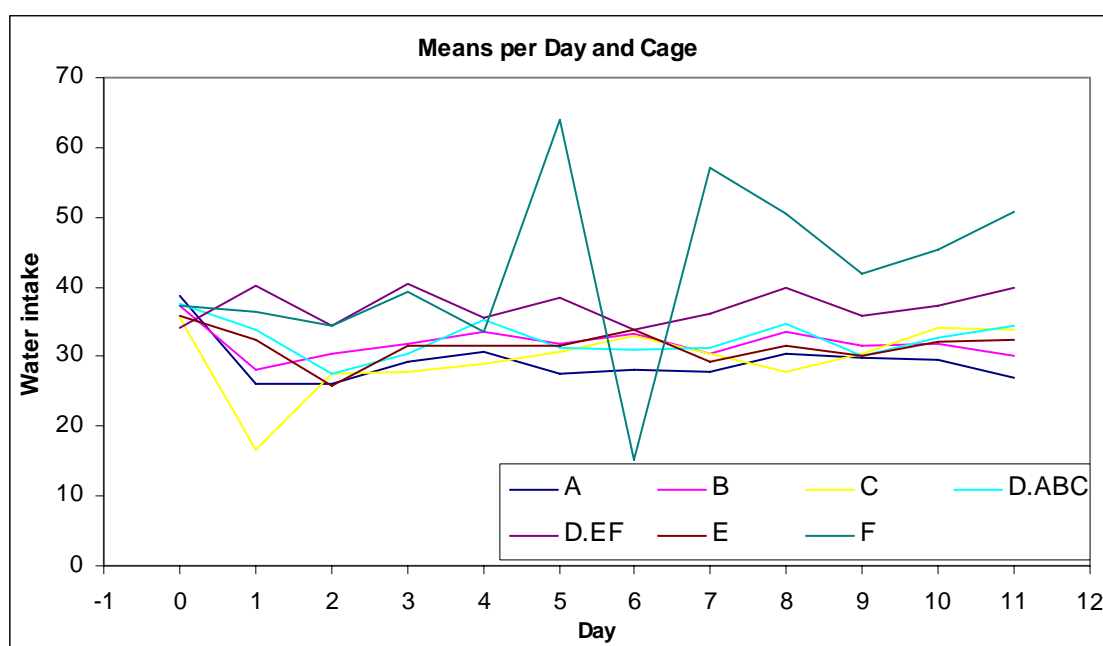
Det var inga signifikanta skillnader mellan könen i foderintagsbeteendet ($n.s.$, $F=0.75$). Honorna tycks ha haft ett något större foderintag dag 1-4, varefter de låg mycket nära hanarna i medelvärde (Fig.17). Dessa data pekar dock i helt motsatt riktning mot resultaten av mängden foder som konsumerades per dygn, där hanarna låg signifikant högre än honorna varje dygn (Fig.15). Det var inga signifikanta skillnader för interaktionerna mellan dagarna och könen ($n.s.$, $F=1.38$), burarna och könen ($n.s.$, $F=1.00$), eller för trevägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen ($n.s.$, $F=0.98$).



Figur 17. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för beteendet foderintag hos råttor av hon- resp. hankön ($n=26$ per kön).

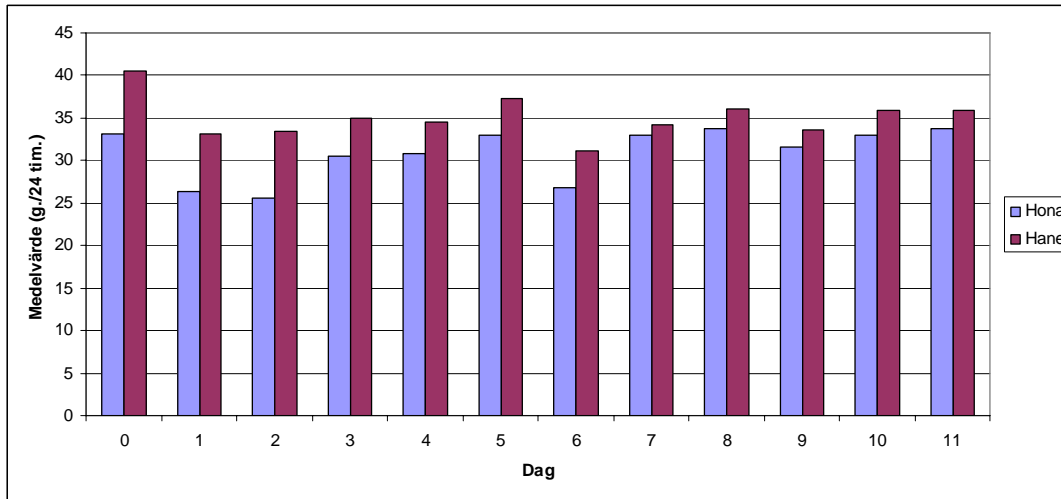
5.6. Vattenintag

Mängden vatten som råttorna drack per dygn skiljde sig signifikant åt mellan dagarna ($p < 0.001$, $F = 7.75$) och burarna ($p < 0.001$, $F = 8.67$), och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p < 0.001$, $F = 2.58$). Vattenintaget var lågt dag 1 i bur C (Fig.18). Vattenintaget i bur F visar från dag 5 så avvikande värden att det inte kan ges så stor betydelse. Eftersom det tycktes vara skillnader i vattenintaget mellan de andra burarna, så har varje burtyp även jämförts parvis med kontrollburarna. Djuren i burarna A och B visar inga skillnader i vattenintag när de jämförs med bur D ($p = 0.056$ resp. $p = 0.825$). Över alla dagar är vattenintaget i bur C lägre än i kontrollburen D ($p = 0.002$). Vattenintaget i bur E är generellt lägre än i motsvarande kontrollbur D ($p = 0.002$). Det är svårt att ange något generellt om vattenintaget i bur F eftersom det avviker så drastiskt från kontrollburen D vissa dagar (Fig.18). Men, förutom de extrema dagarna 5, 6 och 7 skiljer det sig inte så mycket från kontrollburen D, och skillnaden är inte signifikant ($p = 0.294$).



Figur 18. Medelvärde för vattenintag (gram) per dygn hos råttor av båda könen i fem typer av metabolismburar (A, B, C, E, F) jämfört med kontrollburar (D.ABC, D.EF) under ett kontrolldygn (dag 0) och därefter 11 dygn i burarna ($n = 8$ /bur i A, B, C, E, D.ABC och D.EF, $n = 4$ /bur i F).

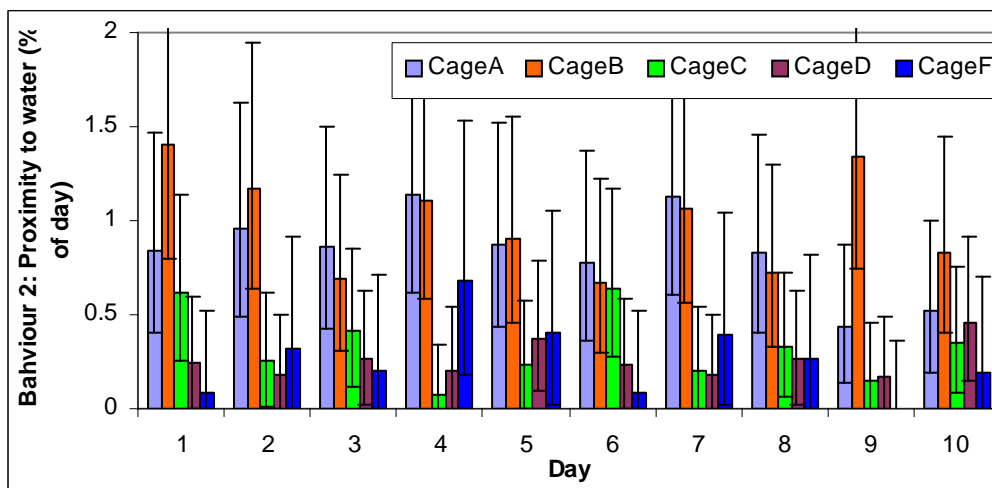
Det var en signifikant skillnad i mängden vatten råttorna drack mellan könen ($p < 0.001$, $F = 22.74$), samt för interaktionerna mellan dagarna och könen ($p < 0.01$, $F = 2.38$) och burarna och könen ($p < 0.01$, $F = 3.02$). Hanarna hade generellt ett större intag av vatten än honorna (Fig.19). Det var ingen signifikant tre-vägsinteraktion mellan dagarna, burarna och könen (n.s., $F = 1.32$).



Figur 19. Medelvärde (\pm SE) för vattenintag (gram) hos råttor av honkön ($n=26$) och av hankön ($n=26$).

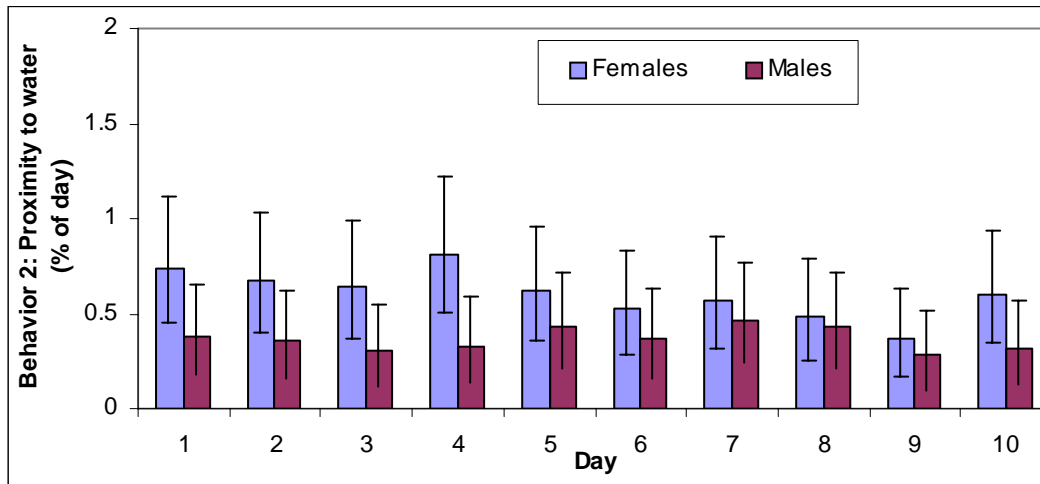
Eftersom hälften av djuren i bur A, B, C och E fick substans dag 0 och andra hälften fick det dag 5 har en analys för vattenintaget gjorts. Administrering av substans tycks inte ha lett till några skillnader i vattenintaget.

Beteendet att slicka på vattennippel eller hålla nosen intill vattennippeln visar på färre signifikanta effekter. Det var signifikanta skillnader mellan burarna ($p<0.001$, $F=14.72$), men inte mellan dagarna (n.s., $F=0.61$) eller för interaktionen mellan dagarna och burarna (n.s., $F=1.18$). Det innebär att man inte kan visa att beteendet skiljde sig mellan de 10 dagarna. Beteendet vattenintag var högst för metabolismburarna A och B (Figur 20). Medelvärdena ligger betydligt högre än kontrollburen D, men uppvisar också en mycket stor spridning (Figur 20). Jämfört med kontrollburen D ligger medelvärdena för burarna C och F högre vissa dagar och lägre andra dagar och de visar inte på något stabilt mönster över dagarna (Figur 20).



Figur 20. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för beteendet vattenintag hos råttor av båda könen hållna i metabolismburarna A ($n=8$), B ($n=8$), C ($n=8$) och F ($n=4$) jämfört med dem hållna i kontrollburarna D ($n=16$).

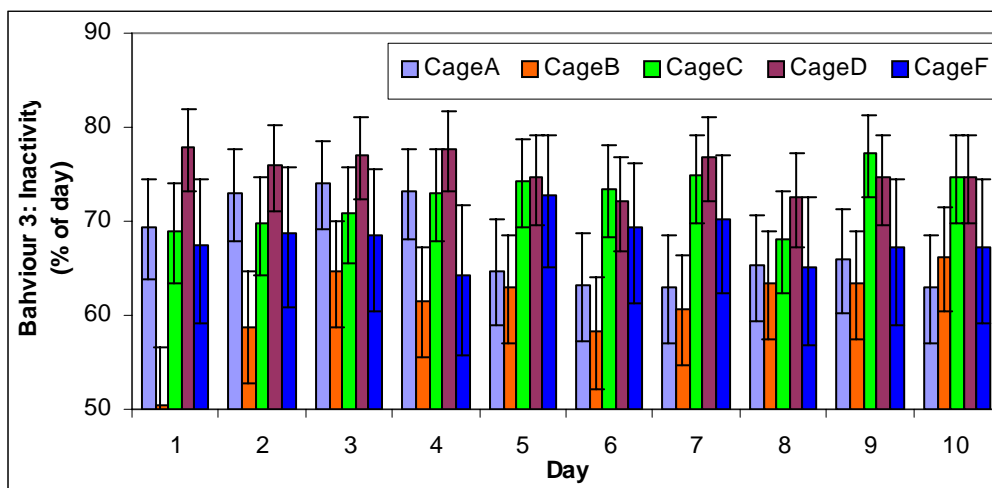
Det var signifikanta skillnader mellan könen i beteendet vattenintag ($p < 0.01$, $F = 8.81$). Honorna verkade ha mer vattenintagsbeteende än hanarna alla 10 dagarna (Figur 21). Detta står dock i stark kontrast till resultaten av mängden vatten som konsumerades av råttorna (Figur 19), där hanarna generellt drack mer vatten än honorna. Det var inga signifikanta skillnader för interaktionerna mellan dagarna och könen (n.s., $F = 0.40$) eller burarna och könen (n.s., $F = 1.59$), eller för tre-vägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen (n.s., $F = 1.16$).



Figur 21. Medelvärde i procent ($\pm SE$) per dygn för beteendet vattenintag hos råttor av hon- resp. hankön ($n = 26$ per kön).

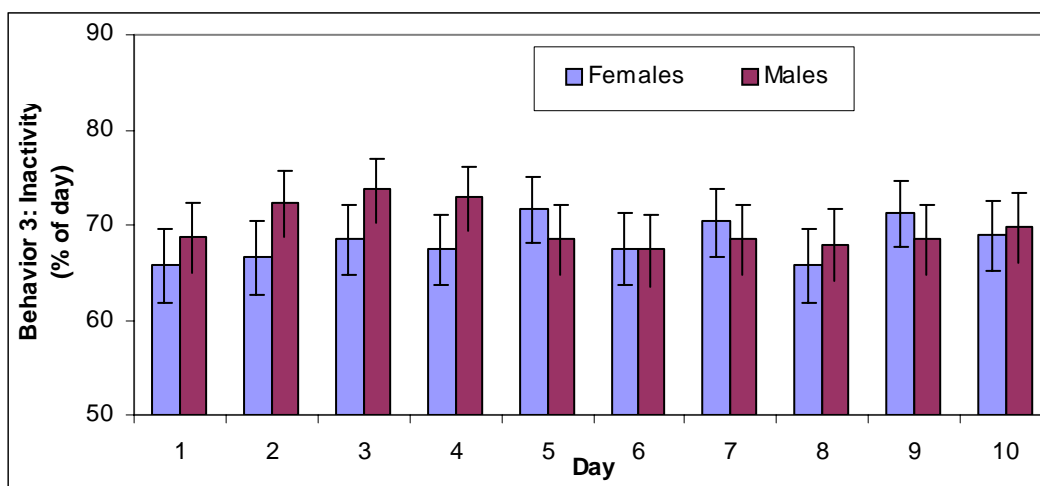
5.7. Inaktivitet

Andelen av registreringarna som råttorna var inaktiva, dvs. låg ned utan att röra sig, utgjorde den största andelen av registreringarna (Fig.22). Det var signifikanta skillnader för beteendet inaktivitet mellan dagarna ($p < 0.01$, $F = 2.68$) och burarna ($p < 0.001$, $F = 8.42$), samt för interaktionen mellan dagarna och burarna ($p < 0.001$, $F = 2.37$). Råttorna tycktes vara mest inaktiva i kontrollburarna, men i metabolismbur C var råttorna också ganska inaktiva från dygn 5 och framåt (Fig.22). Den lägsta inaktiviteten registrerades i metabolismbur B (Fig.22).



Figur 22. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för beteendet inaktiv hos råttor av båda könen hållna i metabolismburarna A ($n=8$), B ($n=8$), C ($n=8$) och F ($n=4$) jämfört med dem hållna i kontrollburarna D ($n=16$ eller 8).

För beteendet inaktivitet var det inga signifikanta skillnader mellan könen (n.s., $F=0.64$), men det var en signifikant interaktion mellan dagarna och könen ($p<0.01$, $F=3.03$). Hanarna verkade vara mer inaktiva dag 1-4, 8 och 10, medan honorna verkade vara något mer inaktiva dagarna 5, 7 och 9 (Fig.23). Det var inga signifikanta interaktioner mellan burarna och könen (n.s., $F=1.97$) eller för tre-vägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen (n.s., $F=1.25$).

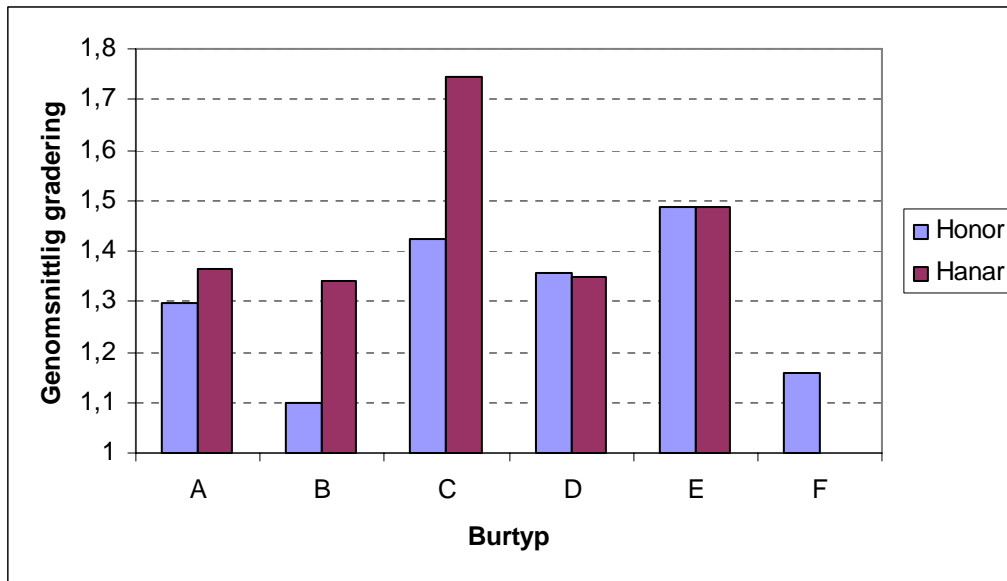


Figur 23. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för beteendet inaktiv hos råttor av hon- resp. hankön ($n=26$ per kön).

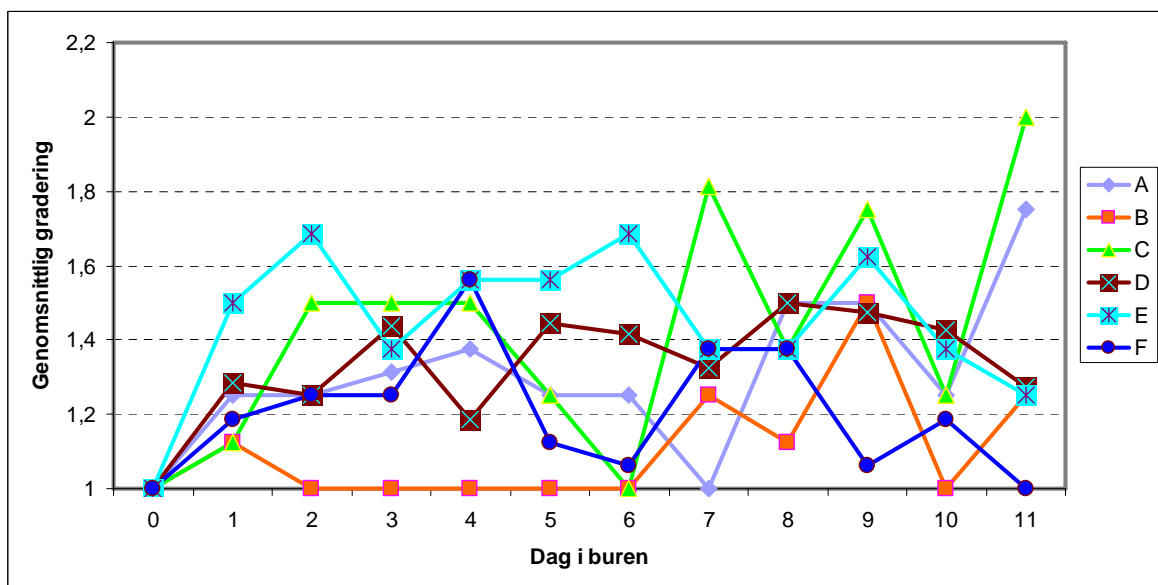
5.8 Renlighet och putsningsbeteende

Råttornas renlighet som bedömdes enligt en tregradig skala (1-3) visade att det var endast bur C och E som hade en genomsnittligt sämre bedömning än bur D som var kontrollburen (Fig.24). Under de 11 dagarna i metabolismburarna erhöll råttor av hankön en något sämre

gradering, men det är särskilt bur C och E som har högre värden. Dessa värden är dock inte testade statistiskt.



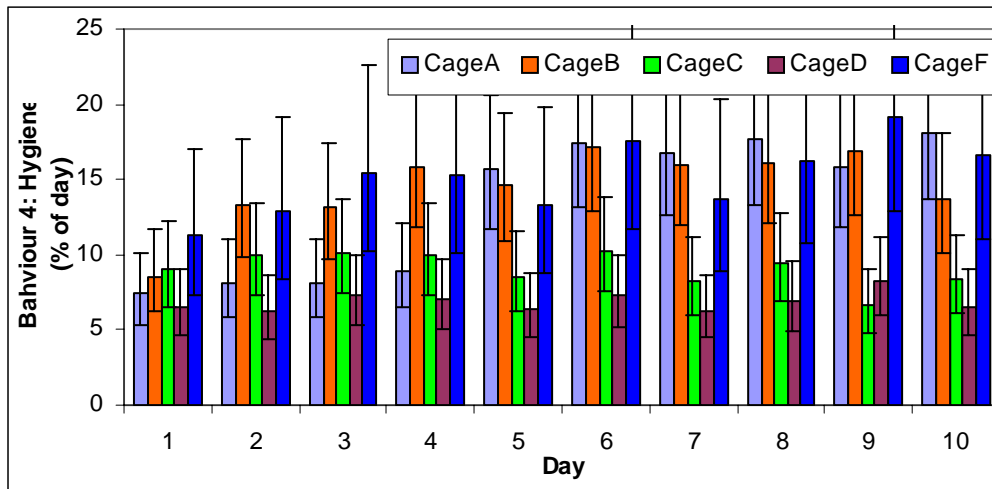
Figur 24. Genomsnittlig gradering av råttornas renlighet i fem olika metabolismburar jämfört med kontrollbur (D) för honor (n=4/bur) resp. hanar (n=4/bur) under 11 dygn. I bur F anges det genomsnittliga värdet för två hanar och två honor och i bur D är n=8/bur.



Figur 25. Genomsnittlig gradering av renlighet hos råttor av honkön i fem olika metabolismburar (A, B, C, E, F) jämfört med kontrollburar (D) strax före placering i burarna (dag 0, gradering=1 för samtliga) och under 11 på varandra följande dagar i burarna (n=8/bur utom för F där n=4).

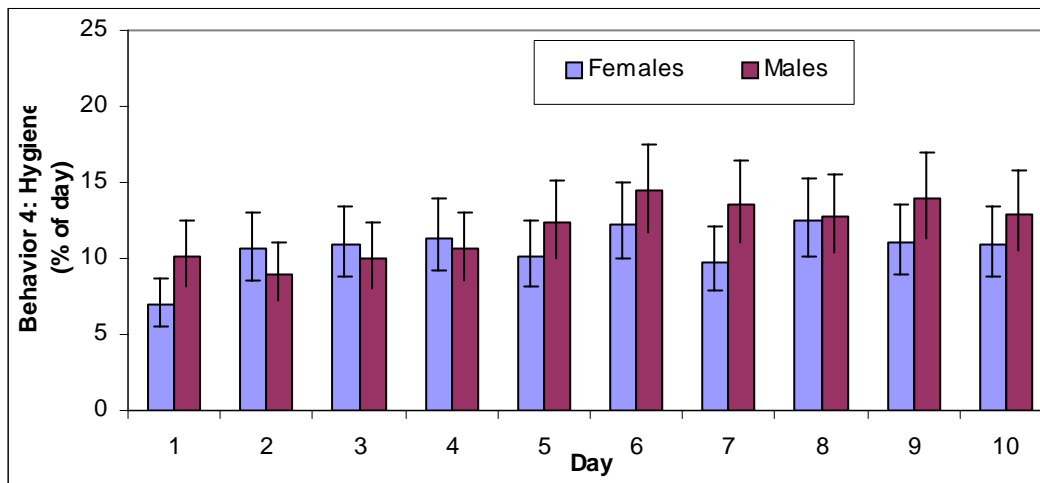
Råttornas putsning av den egna pälsen skiljde sig signifikant åt mellan burarna ($p < 0.001$, $F = 8.58$) och dagarna ($p < 0.001$, $F = 4.19$), och det var även en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p < 0.001$, $F = 2.12$). Det registrerades en högre andel putsningsbeteenden hos råttorna i alla metabolismburar än i kontrollburarna (Fig. 26). Det verkade även vara en högre andel putsningsbeteenden i bur F, B och A än i bur C och E

(Fig.26). Andelen putsningsbeteenden ökade med tiden som råttorna hade suttit i metabolismburen (Fig.26).



Figur 26. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för putsningsbeteende hos råttor av båda könen hållna i metabolismburarna A (n=8), B (n=8), C (n=8) och F (n=4) jämfört med dem hållna i kontrollburarna D (n=16).

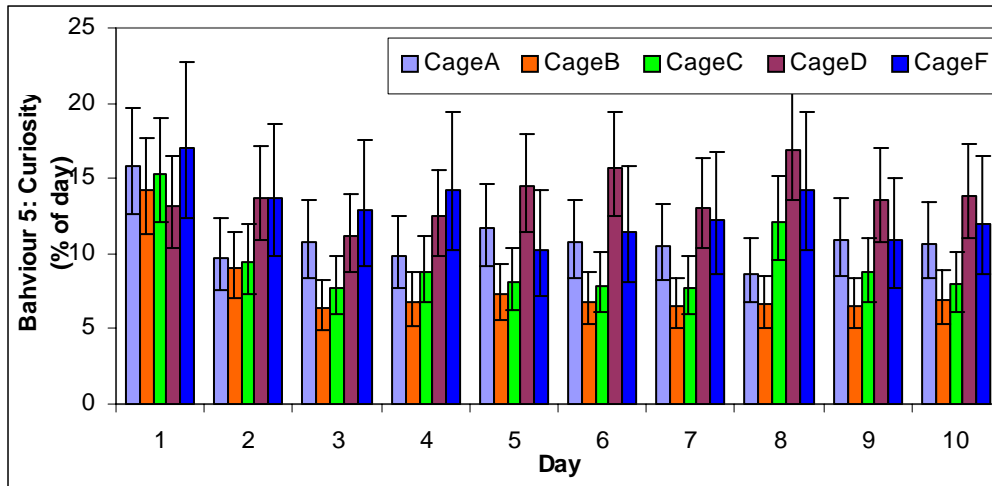
Putsningsbeteendet skiljde sig inte signifikant åt mellan könen (n.s., $F=1.21$), men det var en signifikant interaktion mellan dagarna och könen ($p<0.01$, $F=3.00$). I figur 27 är andelen putsningsbeteenden högre för hanarna än honorna alla dagar utom dag 2, 3 och 4. Det var ingen signifikant interaktion mellan burarna och könen (n.s., $F=0.63$), eller för trevägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen (n.s., $F=1.13$).



Figur 27. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för putsningsbeteende hos råttor av hon- resp. hankön (n=26 per kön).

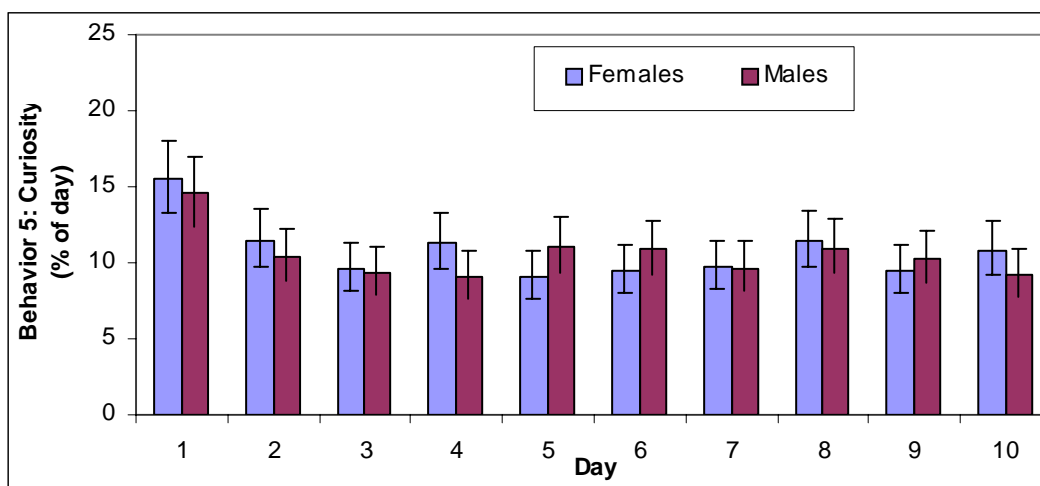
5.9. Undersökande beteende

Råttornas undersökande beteende, i.e. nosade på burens väggar, tak, gallergolv, etc., visade på signifikanta skillnader mellan burarna ($p < 0.001$, $F = 11.27$) och dagarna ($p < 0.001$, $F = 7.00$), samt en signifikant interaktion mellan dagarna och burarna ($p < 0.01$, $F = 1.79$). Råttorna uppvisade en högre andel undersökande beteenden i kontrollburen och bur F än i de andra metabolismburarna (Fig.28). Första dagen i de nya burarna uppvisade dock råttorna i alla burtyperna mycket undersökande beteende (Fig.28).



Figur 28. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för undersökande beteende hos råttor av båda könen hållna i metabolismburarna A ($n = 8$), B ($n = 8$), C ($n = 8$) och F ($n = 4$) jämfört med dem hållna i kontrollburarna D ($n = 16$).

Det undersökande beteendet skiljde sig inte åt mellan könen (n.s., $F = 0.09$), eller för interaktionerna mellan dagarna och könen (n.s., $F = 1.81$), mellan burarna och könen (n.s., $F = 1.71$) eller för trevägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen (n.s., $F = 1.01$).



Figur 29. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för undersökande beteende hos råttor av hon- resp. hankön ($n = 26$ per kön).

5.10. Onormala beteenden

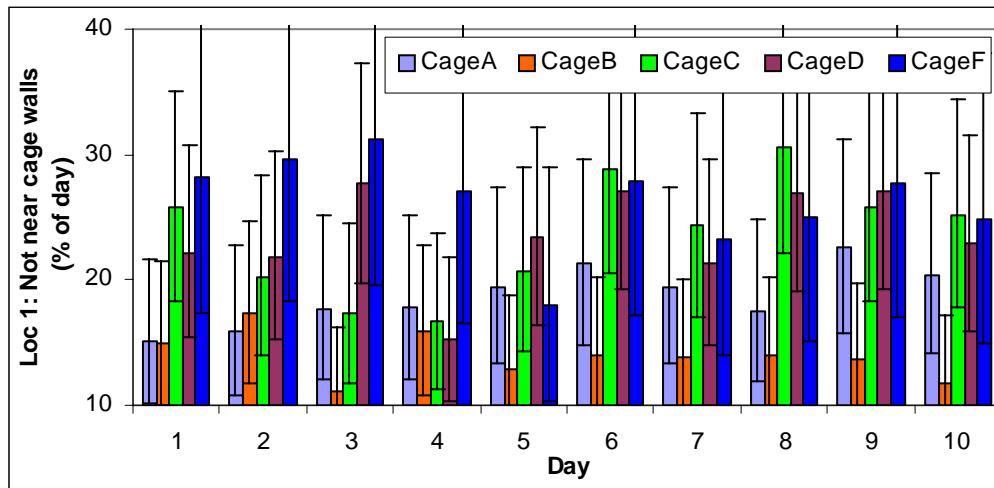
Råttorna uppvisade få onormala beteenden varför inga statistiska analyser gjordes av dessa. Inom gruppen onormalt beteende observerades två beteenden, huvudvaggande då råttan stod stilla och förde huvudet upp och ned upprepade gånger, samt svansjagande då råttan sprang runt i en cirkel och jagade sin egen svans. Huvudvaggande observerades endast nattetid totalt 5 gånger hos 3 honrättor i bur C (3 gånger), i bur B (1 gång) och i bur D (1 gång, kontroll). Svansjagande observerades både nattetid och dagtid totalt 7 gånger hos två honrättor och två hanrättor i bur B (6 gånger) och i bur C (1 gång). Vi sökte även efter om råttorna utförde beteendet ”freezing”, men vi fick inga registreringar av detta. Ingen råtta utförde båda de onormala beteendena. Beteendena registrerades dag 1 (5 gånger), dag 2 (1 gång), dag 4 (3 gånger), dag 8 (2 gånger) och dag 11 (1 gång) sedan råttorna placerades i metabolismburen.

5.11. Placering i buren

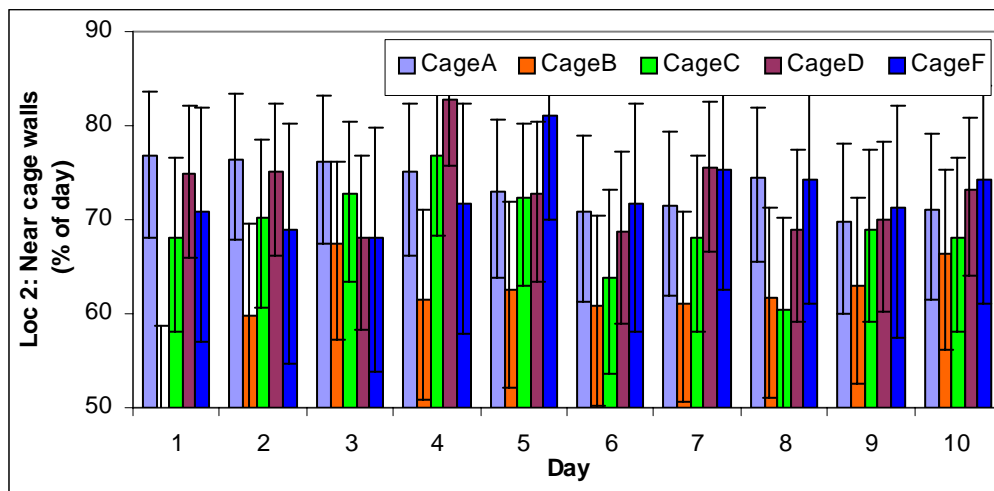
Råttornas placering i buren skiljde sig signifikant åt mellan burarna för registreringar mitt i buren ($p < 0.01$, $F = 4.19$), och vid fodret ($p < 0.001$, $F = 30.32$), men det var ingen signifikant skillnad för placering utmed burväggen (n.s., $F = 2.28$). Det var ingen signifikant skillnad mellan dagarna eller för interaktionen mellan dagarna och burarna på var i buren råttorna vistades (n.s., se bilaga 3 för F-värdena). Råttorna vistades mest i mitten av bur C, F och till viss del bur D (Figur 30). I bur A och D vistades råttorna mer utmed burväggen (Figur 30), och i bur B vistades råttorna mest vid fodret, eg. i fodergången som var så stor så att de kunde krypa in och lägga sig i den (Figur 30).

Det var en signifikant skillnad mellan könen ($p < 0.05$, $F = 5.53$) och en signifikant interaktion mellan dagarna och könen ($p < 0.05$, $F = 2.41$) i råttornas placering utmed burväggen, men inte för placering mitt i buren eller vid fodret (n.s., se bilaga 3 för F-värdena). Hanarna vistades något mer i mitten av buren, medan honorna vistades mer utmed burväggen (Fig.31). Det var ingen större skillnad mellan könen i hur mycket de vistades vid fodret.

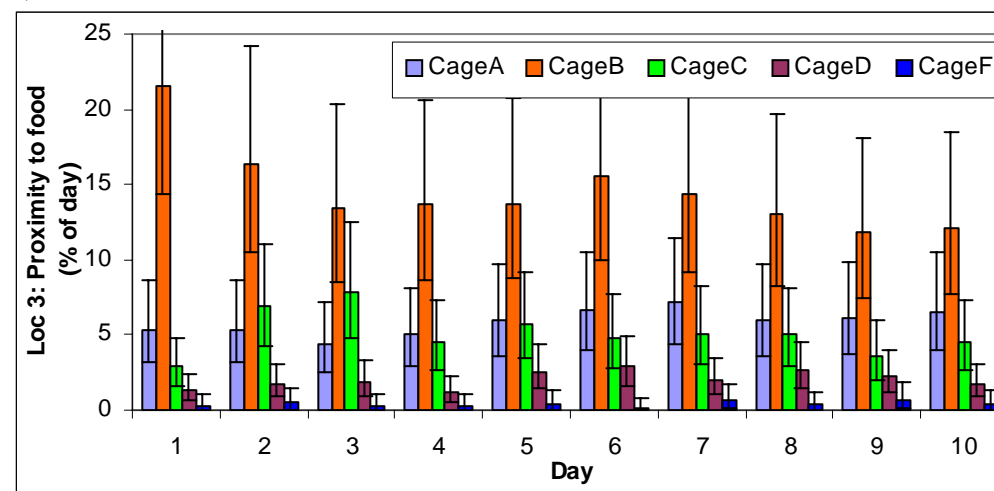
Det var inga signifikanta interaktioner mellan burarna och könen eller för trevägsinteraktionen mellan dagarna, burarna och könen i hur mycket råttorna vistades i de tre olika delarna av buren (n.s., se bilaga 3 för F-värdena).



a)

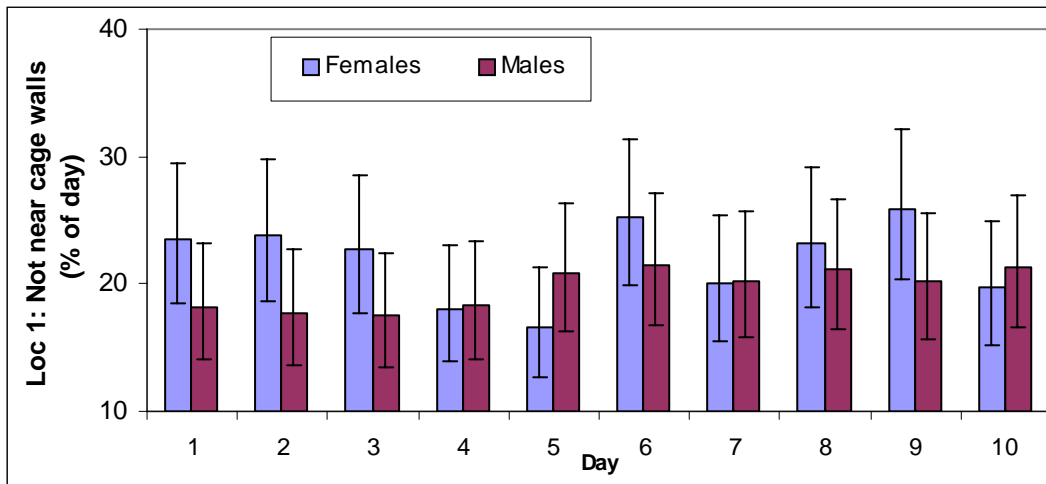


b)

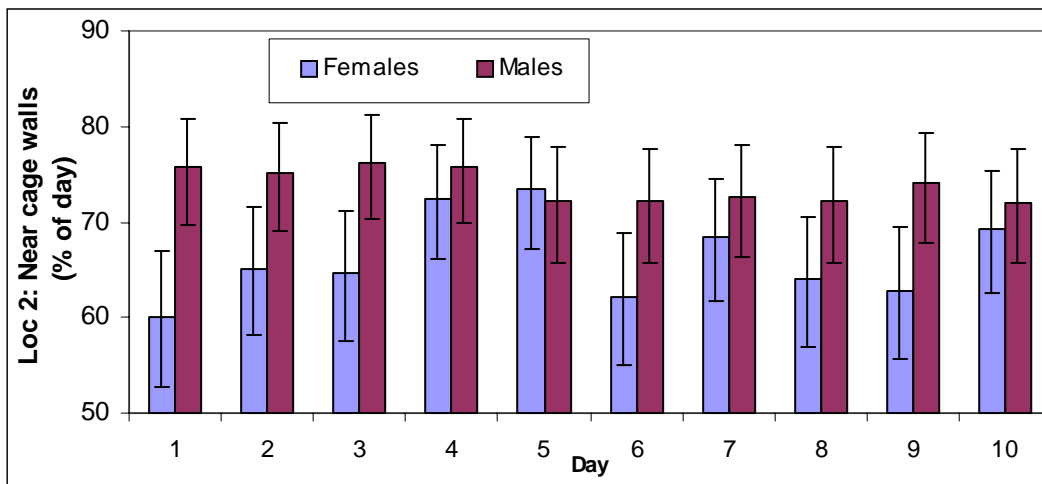


c)

Figur 30. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för placering a) i mitten av buren, b) utmed burväggen eller c) vid fodret hos råttor i olika typer av metabolismburar under 10 dagar ($n=8$ /burtyp).



a)



b)

Figur 31. Medelvärde i procent (\pm SE) per dygn för placering a) i mitten av buren eller b) utmed burväggen hos råttor av hon- resp. hankön ($n=26$ per kön).

6. DISKUSSION

Denna studie visar att metabolismburstyp hade en effekt på råttors kortikosteronhalt i urin, kroppstemperatur, viktökning, foderintag, vattenintag, inaktivitet, putsningsbeteende, undersökande beteende och var i buren de vistades. De enda parametrar som inte påverkades av metabolismburstyp var recovery av en känd substans. Vidare var förekomst av onormala beteenden ej påverkade, men de var för få för att kunna testa statistiskt. De mätta parametrarna diskuteras kort varefter en total bedömning av burarna görs.

6.1 Recovery

Att recovery av en känd substans inte visade några skillnader mellan metabolismburarna kan bero på att de metabola processerna i råttorna fungerar ungefär likvärdigt oberoende av om de påverkas negativt av buren eller inte. Eftersom det inte har gått att finna några publicerade studier som har jämfört recovery på just detta sätt kan hypotesen inte testas mot andra studier. Att de metabola processerna fungerar enligt ett ganska bestämt tidsförlopp stöds av grundläggande fysiologisk forskning (Claassen, 1994; Randall m.fl., 1997). Recovery var högst de två första dagarna och minskade successivt under de 7 dagarna.

Då en av hypoteserna var att råttorna skulle vara mer stressade de första dagarna i metabolismburen skulle detta kunna påverka utsöndringshastigheten av substansen. Hälften av råttorna fick därför substans dag 5 istället för strax innan de placerades i metabolismburen, som är det ordinarie försöksförfarandet. Ingen skillnad kunde påvisas mellan dessa två administreringsdagar i recovery, vilket överensstämmer med att det inte skiljde sig mellan burtyperna trots att vissa burar tycktes fungera sämre för råttorna.

Den totala recoveryn under de 7 dyggen nådde inte upp till mer än i genomsnitt 87% och det ger ett något lägre utfall än förväntat, vilket skulle leda till att samtliga burar anses ge för låg recovery. En anledning kan vara att de personer som genomförde studien inte var lika vana vid att ta hand om faeces, urin och att skölja av buren så noggrant så att all radioaktivt märkt substans följde med. En annan anledning kan vara att det behövdes fler dagar för att samla in all substans för att öka möjlighet att få en bättre recovery. Ytterligare en anledning kan vara att råttorna lyftes ur metabolismburen en gång per dag för att mäta kroppstemperatur och väga dem, vilket kan ha lett till att urin eller faeces hamnade utanför buren. Alla råttor utsattes för samma behandling så det borde inte ha påverkat själva jämförelsen av metabolismburarna.

Recovery skilde sig åt mellan könen och det blev totalt sett en bättre recovery från hanarna. Hanarna utsöndrade också mer av substansen dag ett och två i metabolismburen än dag 3-7 då honorna utsöndrade högre andel substans. Hos den unga råttan förekommer det inga könsskillnader i metabolismen av substanser (Conney, 1967), men från ca 30 dagars ålder börjar en könsskillnad utvecklas och den är helt utvecklad vid 50 dagars ålder (Skett m.fl., 1978). I denna studie var hanarna 49 dagar vid ankomst medan honorna var 70 dagar. Könsskillnaderna beror huvudsakligen på en ökning i enzymaktiviteten hos hanarna vid denna period, medan enzymaktiviteten hos honorna håller sig konstant eller minskar något (Claassen, 1994).

6.2 Kortikosteron

Kortikosteronhalterna i urin var som högst när råttorna hade suttit i metabolismburarna det första dygnet, varefter de sjönk under de följande tre dygnen. Gomez-Sanchez & Gomez-Sanchez (1991) fann också att kortikosteronhalterna var högre de 4-5 första dygnen i en metabolismbur jämfört med de senare dygnen. I denna studie var det burtyp A, B och C som visade samma mönster av en minskad kortikosteronhalt i dygnsurinen. Burtyp E och F minskade också, men hade högre nivåer än A, B och C under de resterande dagarna. En anledning till detta kan vara att burtyp E och F jämfördes i försöket med båda könen i samma rum, och för bur F kunde råttor av båda könen nosa på varandra genom hål i väggarna. Tidigare studier har visat att kortikosteronhalter i plasma är lägre för råttor som hålls individuellt än för råttor som hålls i grupper om 20 stycken (Barrett & Stockham, 1963). Honråttor visar stora skillnader i plasmanivåerna av luteiniserande hormon (LH), follikel stimulerande hormon (FSH), prolaktin, progesteron och östradiol, vilket även har effekter på andra fysiologiska värden och en del beteenden (Claassen, 1994). Eftersom honråttorna visar östrus var 4-5 dygn kan det dessutom ha påverkat hanarnas kortikosteronhalter. Det var dock ingen signifikant effekt av BUR*KÖN, och det gick inte att se något tydligt mönster av könsskillnader i bur E och F. När burtyp A, B och C testades hade vi valt en design där honorna testades först och därefter hanarna. På det viset minimerades eventuella störningar mellan könen.

Hanarna hade i denna studie generellt en högre kortikosteronhalt i dygnsurinen än honorna. Brown & Grunberg (1995) fann att hanråttor hade högre kortikosteronnivåer när de hölls många på en liten yta, medan honor hade högre nivåer när de hölls individuellt. Gomez-Sanches & Gomez-Sanches (1991) fann inga könsskillnader i kortikosteron eller aldosteron, men 19-Nordeoxycortikosteron var högre hos honorna än hos hanarna när de hölls individuellt i metabolismburar av rostfritt stål under 20 dagar från 10 veckors ålder. När det gäller studier av metabolism av olika substanser skiftar det mellan könen beroende på vilken substans man testar (Claassen, 1994). Hanarnas högre halt av kortikosteron i denna studie kan eventuellt vara kopplat till att de hade ett högre foder- och vattenintag och en högre tillväxt. Dock var det inga könsskillnader i aktivitetsnivån och de flesta beteendena.

Ett problem med att använda kortikosteronhalter i dygnsurin är att den inte gick att jämföra med kontrolldjuren som var placerade i ordinarie burar med ströbädd. Jag utgår därför ifrån att de kortikosteronvärden som erhöles dag 5-11 är normalvärdena. Gomez-Sanches & Gomez-Sanches (1991) fick ca 400 ng/24 tim. kortikosteron i urin från metabolismburar andra dygnet och ca 100 ng/24 tim. dag 5-16, men med den ökade halt dag 18-20 (ca 200 ng/24 tim.). Fördelen med att analysera från dygnsurinen är att de toppar och dalar man normalt får när det gäller kortikosteronhalter (Claassen, 1994) jämnas ut till ett medelvärde per 24 timmar. Denna studie visar att detta dygnsvärde gav ett bra mått på råttornas stressnivå de första dygnen i metabolismburen och att stressnivån verkade vara låg även om råttorna satt i metabolismburarna så länge som 11 dygn, vilket ofta inte rekommenderas ur djurvälståndssynpunkt. Det kan till och med vara så att råttorna inte blir stressade förrän efter dag 16 som visats i en studie (Gomez-Sanches & Gomez-Sanches, 1991). Från denna studie kan vi inte dra några slutsatser om hur kortikosteronhalterna låg från dag 12 och framåt, men det finns en möjlighet att råttorna skulle ha upplevt en viss stress om de hade fått sitta längre än 11 dygn.

6.3 Kroppstemperatur

Kroppstemperaturen visade inte på några tydliga skillnader mellan burarna och den skiftade en del mellan dagarna för alla burtyperna. Eftersom det var mycket aktivitet i rummet orsakat av alla mätningar kan djuren ha påverkats av detta och därmed kan vissa djur ha haft en högre kroppstemperatur när man tog ut dem ur buren. Eikelboom (1986) fann att kroppstemperaturen hos råttor ökar som en respons på att de förväntar sig att bli hanterade. Eftersom vi tog ut råttorna vid samma tid varje dag kan de ha lärt sig rutinerna och av den anledningen fått en ökad kroppstemperatur över de 11 dagarna. Stressinducerad hypertermi, dvs. en ökning av kroppstemperatur orsakad av hantering och stress är visat i tidigare studier på råttor (Briese & de Quijada, 1970; Kluger m.fl., 1987; Briese & Cabanac, 1991).

Kroppstemperaturen var högre hos honorna än hos hanarna, men de hade även en viss cyklicitet så att vissa dagar var skillnaderna gentemot hanarna större. Detta kan hänga ihop med honornas östruscykler (Claassen, 1994).

I denna studie var det en interaktion mellan bur, kön och dag, vilket gör att man inte kan dra någon slutsats om vilken av de tre faktorerna som hade störst betydelse för hur kroppstemperaturen förändrades. Generellt verkade B och C ha de lägsta kroppstemperaturerna, medan kontrollerna, E och F hade högre kroppstemperatur under dagarna i metabolismburarna. Alla burar såg ut att ha haft litet lägre kroppstemperatur under kontrollmätningarna i Makrolonburen dagen innan de placerades i metabolismburarna. Spridningen mellan burarna var större för honorna än för hanarna.

Vid mätning av kroppstemperaturen lyftes råttorna ur metabolism- eller kontrollburen och bars i en Makrolonbur till för-laboratoriet strax intill djurrummet. Det är möjligt att råttorna på denna korta stund hann få en förändring i sin kroppstemperatur. Det tar bara några minuter för råttor att få en ökning i kroppstemperaturen efter det att de har lyfts ur sin bur (Briese & de Quijada, 1970). Om de samtidigt reagerade olika individuellt på hanteringen, dvs. vissa kanske blev stressade av att hanteras medan andra inte blev det, blir tolkningen av kroppstemperaturen ännu svårare.

6.4 Kroppsvikt

Viktökningen hos råttorna i metabolismburarna följde den för kontrollråttorna väl utom för dem i bur C, och i någon mån bur E och F. Anledningen till att råttorna i bur C gick ner första dygnet i buren och sedan inte lyckades hämta upp den nergången förrän på slutet av de 11 dagarna är troligen att de hade svårt att nå fodret som var placerat bakom ett gallerförsatt glaströr. Råttorna var tvungna att sticka in huvudet och en del av framkroppen för att komma åt att bita i foderpellets bakom gallret. De verkade behöva några dagar för att lära sig detta. På några av dessa C-burar hade personalen bant isär gallret så att råttorna skulle komma åt fodret bättre. Det rapporterades även att man ibland lägger in foderpellets direkt på gallergolvet när man ser att råttor har problem att nå fodret. Detta leder dock till att faeces och urin blir kontaminerat med foderspill.

Råttorna i bur E låg också lägre i viktökning än kontrollråttorna under hela studien. Eftersom de inte skilde sig åt från kontrollråttorna i foderintag är denna skillnad svår att förklara. Möjligen kan de ha förflyttat sig mer i E-buren eftersom den var mörkare, och råttor normalt är aktiva nattetid när det är mörkt, och därmed kan de ha gjort av med mer energi. Det var för mörkt inne i E-burarna för att kunna videofilma dem, så detta är bara spekulationer.

Råttorna i bur F hade en kraftig minskning i viktökningen andra dygnet, men eftersom de för övrigt ligger parallellt med kontrollråttorna är detta svårt att förklara. Det var även färre råttor i bur F så en råtta som minskar i vikt ger ett större genomslag. Sorensen m.fl. (2008) fann att hanråttor ökade mindre i vikt under de fem dygn de hölls i metabolismburar jämfört med före eller efter det att de satt i metabolismburarna.

Generellt sett ökade hanarna snabbare i vikt än honorna i denna studie. Det tillhör den normala könsskillnaden i tillväxt och vuxenstorlek som är utmärkande för råttor. Viktökningen som sker med stigande ålder är starkt beroende av kön och vilken avelslinje djuret tillhör (Claassen, 1994). Yamauchi m.fl. (1981, i Claassen, 1994) fick en viktsökning från 4-9 veckors ålder på ca 130 g för honor och ca 220 g för hanar vid en rumstemperatur på 22° C.

De råttor som fick den radioaktivt märkta substansen dag 0 istället för dag 5 hade generellt samma tillväxt. Men, råttorna i bur C hade lägre tillväxt dag 1, 3 och 4 när de fick substansen dag 0. Detta kan indikera att erhållandet av substans ytterligare ökade den eventuella "stress" det innebar att placeras i bur C.

6.5 Födointag

Mängden foder som råttorna åt skilde sig åt mellan burarna, och det var särskilt i bur C som råttorna åt mindre. Anledningarna till detta har diskuterats i anslutning till viktökningen (se ovan). Det är angeläget att tillverkarna av bur C görs medvetna om de problem råttorna har att nå fodret. Buren skulle säkert kunna utvecklas med en kortare gång in till fodret och även en uppsamling av foderspillet när de gnager på fodret genom gallret. Idag kan även det foderspillet lätt trilla ner genom gallergolvet och kontaminera urin och faeces.

Hanarna åt mer foder än honorna och detta återspeglar väl den ökade tillväxten hanarna hade (se ovan). I en studie av Sherman råttor som hölls individuellt i metabolismburar under 3 månader åt hanråttorna en större mängd foder än honråttorna när de var 5, 6, 7, 12 och 16 veckor gamla. Dessa värden räknades om i förhållande till djurens kroppsvikt och då åt hanråttorna mer vid 5, 6 och 7 veckors ålder medan honråttorna åt mer vid 12 och 16 veckors ålder (Cizek & Nocenti, 1965). I denna studie var honorna 11 veckor vid placeringen i metabolismburarna, och de åt under de 11 dagarna i genomsnitt 17.2 g. foder per dygn. Cizek & Nocenti (1965) visade att honråttorna åt i genomsnitt 15 g foder per dygn när de var 7 veckor och 19 g. när de var 12 veckor. I denna studie var hanarna 8 veckor vid placering i metabolismburarna och de åt då i genomsnitt 24.6 g. foder per dygn, vilket är betydligt mer än i studien av Cizek & Nocenti (1965) som fann att hanråttor åt 17 g. vid 7 veckor och 22 g. vid 12 veckors ålder. Skillnaderna kan bero på att det är större könsskillnader i både total vikt, tillväxthastighet och därmed metabolism mellan Shermanråttorna från 1965 och Sprague Dawleyråttorna från 1999. Yamauchi m.fl. (1981 i

Claassen, 1994) fann inga skillnader i foderintag mellan könen när råttorna var 5 veckor gamla, men när de var 10 veckor hade hanarna ett högre foderintag än honorna. Det borde vara så att hanar har ett högre behov av näringsintag pga. av sin högre tillväxthastighet. Man kunde även tänka sig att de förbränner mer energi genom en ökad aktivitet, men vi fann inga skillnader i inaktivitet mellan könen så det förklarar inte skillnaderna i denna studie.

Den hälft av råttorna som fick substans dag 0 jämfört med de råttor som fick substans dag 5 skilde sig inte åt generellt i foderintag, men i bur C hade råttorna ett lägre foderintag under dag 1 när de hade fått substans dag 0. Detta kan tolkas som att deras metabolism gick långsammare under den dag då de åt sämst i bur C. Det påverkade dock inte den totala recoveryn av substans från bur C.

När man jämför beteenderegistreringarna av att råttorna åt foder med det totala dygnsintaget av foder skiljer det sig åt framförallt på grund av att råttorna i bur B kröp in i fodergången och låg där under lång tid. Eftersom det inte gick att skilja på att vara i gången och äta mot att vara i gången och inte äta säger den registreringen inte något om det totala ätbeteendet. I bur A hade råttorna också en fodergång, men de verkade inte ligga i den när de inte åt, och dygnsmedelvärdena för bur A och C ligger relativt nära varandra. I bur C var det lätt att se när råttorna åt, och precis som för totalintaget foder erhöles här ett lägre värde dag 1 än för de andra dagarna. Utifrån de observationerna föreslås det att råttorna i bur C antingen inte hade hittat fodret dag 1 eller så försökte de inte att nå fodret som låg längre in i den smala gången. Efterhand som de blev hungrigare ansträngde de sig troligen mer för att nå fodret, vilket ledde till att medelvärdet för foderintagsbeteende var högre dag 2 och allra högst dag 3. För bur F var dygnsmedelvärdena för foderintagsbeteende mycket låga över alla dygnen. Detta överensstämmer inte med den totala mängd de åt som hade ungefär samma medelvärde som för de andra burarna, inklusive kontrollburen. I bur F kunde råttorna plocka ut foderpellets ur automaten och äta dem var som helst i buren. Man återfann ofta halvätta foderpellets på gallergolvet vid de dagliga vägningarna och insamlingarna. När råttor åt pellets över gallergolvet ökade kontamineringen av urin och faeces, vilket är en nackdel för denna metabolismbur och det skulle behöva åtgärdas innan buren kan bli kommersiell. Foderintagsbeteendet gav inte heller en bra återspeglning av könsskillnaderna, eftersom honråttorna tycktes äta något mer dag 1-4, medan den totala mängden foder som gick åt var signifikant högre för hanråttorna vid alla 11 dygn. Eventuellt kan skillnaderna bero på att honråttorna åt långsammare än hanråttorna.

6.6 Vattenintag

Dygnsintaget av vatten skiljde sig inte åt från kontrollburarna i metabolismbur A och B. För bur C var vattenintaget lägre över alla dagarna, och det var särskilt lågt dag 1 och dag 6. Medan nedgången i vattenintag dag 1 kan vara kopplat till placeringen i buren eller administrationen av substansen, kan inte nedgången dag 6 förklaras av någondera av dessa faktorer. Vattenintaget var också lägre för bur E, och hade avvikande värden dag 5, 6 och 7. Under dag 5 och 7 kan det eventuellt ha berott på läckage från vattenflaskorna. Under dag 6 var vattenintaget lika lågt som för bur C, och det finns ingen bra förklaring till varför det var så dag 6. Vattenintaget återspeglar i viss mån foderintaget, och i bur C dag 1 var både foderintag och vattenintag reducerade. Dock ser man inte samma samband för dag 6. Korrelationsanalyser mellan foder- och vattenintag har inte gjorts på grund av de olika

burarna, de två könen, de två administrationsdagarna av substans och de upprepade mätningarna inom bur.

Hanarna hade ett högre dygnsvattenintag än honorna, och detta har även visats i tidigare studier där de två könen har varit lika gamla (Cizek & Nocenti, 1965). Detta återspeglar åter igen att det finns ett samband mellan foderintag och vattenintag. Vattenintaget har i tidigare studier visat sig variera mycket mellan inavlade linjer av råttor, vilket har lett till att fördelningen mellan vatten och foderintag också varierar mycket mellan linjerna även om inte foderintaget varierar så mycket mellan linjerna (Walsh, 1980).

Beteendeobservationerna av vattenintag visade dock att honorna oftare registrerades utföra vattenintag än hanarna. Detta kan antingen bero på att honorna tog längre tid på sig att ta in samma vattenmängd som hanarna, eller på att beteenderegistreringarna inte avspeglar det totala vattenintaget på ett korrekt sätt.

Beteendet att ta in vatten visade också på skillnader mellan burarna, och skärskilt bur A och B hade betydligt fler registreringar av vattenintag än kontrollburen. Det överensstämmer inte med resultaten på dygnsmängden av vatten som råttorna intog. Även för bur C och F skiljde sig värdena åt mot kontrollburen, men där var de lägre vissa dagar och högre andra dagar. Dessa skillnader beror troligen på att det räckte att råttan hade nosen inom ett visst avstånd från vattennippeln för att det skulle registreras som vattenintag. Detta visar på de problem det innebär att göra beteenderegistreringar om de inte avspeglar djurets beteende korrekt. Eftersom metabolismburen är relativt liten kan råttorna ha befunnit sig nära vattennippeln bara av en slump, och därmed avspeglar registreringarna inte vad råttorna egentligen gjorde.

6.7 Inaktivitet

Råttorna var över hela dygnet generellt ganska inaktiva, dvs. de låg ned och gjorde inget annat (runt 70% av observationerna). Detta överensstämmer ganska väl med en tidigare studie som fann att gruppållna Sprague-Dawley hanråttor var inaktiva 74% av dygnet (Spangenberg, 2007). Hurst m.fl. (1997) fann att individuellt hållna hanråttor hade minskad aktivitet. En tidigare studie fann att hanråttor var betydligt mer aktiva nattetid när de hölls i rostfria stålburar med gallerbotten än när de hölls i polycarbonatburar med strö, men att det inte var några skillnader i den låga aktiviteten dagtid som registrerades i båda burtyperna (Rock m.fl., 1997). I samma studie hade individuellt hållna råttor högre diastoliskt blodtryck och en tendens till högre systoliskt blodtryck och generellt blodtryck än gruppållna råttor (Rock m.fl., 1997).

Det var en stor skillnad mellan burarna och råttorna i kontrollburen tycks ha varit mest inaktiva (drygt 75% av observationerna), vilket överensstämmer med tidigare resultat (Rock m.fl., 1997; Spangenberg, 2007). I bur B registrerades råttorna ha en väldigt låg inaktivitet, men det beror på att de låg i fodergången och då registrerades som foderintagsbeteende. Det var ganska stora skillnader inom burtyp och mellan dygnet. Det kan finnas olika orsaker till detta. Tex hade djuren i bur C en lägre inaktivitet, dvs. de var mer aktiva, dag 1-4, än råttorna i kontrollburen. Råttorna i bur A var däremot avsevärt mindre inaktiva än dem i kontrollburen alla 11 dagar, och råttorna i bur F var något mindre inaktiva än kontrollburens råttor under samtliga dagar. I denna burtyp kunde de ha social kontakt med varandra genom hålen i burväggen. Hurst (1997) visade att individuellt hållna

hanråttor som kunde upprätthålla en kontakt med grannråttorna genom olika avskiljare visade mindre aggressivitet när de senare blandades.

Det var inga könsskillnader i inaktivitet och det skiljde sig mellan dagarna, men dag 1-4 var hanarna något aktivare och därefter varierade det något mellan dagarna.

6.8 Renlighet och putsningsbeteende

Råttorna i bur C och E, särskilt hanråttorna i bur C, hade en sämre gradering på renlighetsbedömningen än råttorna i kontrollburen, samtidigt som andelen putsningsbeteende hos råttorna i bur C inte avvek nämnvärt från råttorna i kontrollburen. Råttorna i bur E kunde inte observeras via video på grund av att den hade ogenomskinliga sidor, så vi vet inte om de putsade sig mindre. Det är intressant att notera att de råttor som bedömdes som rena i bur A, B och F också putsade sig mer än kontrollråttorna. I kontrollburarna, som hade spån på botten, putsade sig råttorna ca 6-7% av observationerna, medan de i bur A, B och F putsade sig i genomsnitt 16-17% av observationerna. Renlighetsbedömningen gav en sämre gradering ju längre tid råttorna satt i metabolismburarna. Detta kan tolkas som att råttorna trots ökat putsningsbeteende i metabolismburarna inte lyckades hålla sig helt rena. Råttor kan börja putsa sig som en respons på att de placeras i en främmande miljö (Bindra & Spinner, 1958; Bolles, 1960), och putsning som utförs under en hög vakenhetsnivå har beskrivits som en omriktat beteende som kan vara viktig för att återställa det homeostatiska tillståndet (Cohen & Price, 1979; Jolles m.fl., 1979). Administrering av adrenocorticotropiskt hormon har visat sig inducera mycket putsning av den egna pälsen hos råttor (Gispen & Isacson, 1981; Spruijt & Gispen, 1983). Hurts m.fl. (1997) fann att individuellt hållna hanråttor putsade sig mer än gruppållna hanråttor. Det ökade putsningsbeteendet i metabolismburarna kan därför tolkas som ett uttryck för stress-inducerad putsning som följd av upplevd stress i metabolismburen.

Det var inga signifikanta skillnader mellan könen i andelen putsningsbeteende, och renlighetsbedömningen visade bara en något mer märkbar skillnad mellan könen för bur C, medan kontrollburens värden var lika. I tidigare studier har man funnit att när råttor placeras individuellt i en främmande miljö putsar sig hanar mer än honor (Woods, 1962; Hughes, 1968), medan andra har funnit att honor putsar sig mer än hanar (Hannigan m.fl., 1987) och åter andra inte har fått någon skillnad mellan könen (Moore, 1986; Hughes & Pither, 1987). När en juvenil rått placeras hos individuellt hållna råttor putsade sig hanråttorna betydligt mer än honråttorna, men när ett främmande föremål placerades i deras bur tenderade honråttorna att putsa sig mer (Thor, m.fl., 1988).

6.9 Undersökande beteende

Råttorna uppvisade en högre andel undersökande beteende i kontrollburen och bur F än i de övriga burarna. Detta kan bero på att bur A, B och C var runda, relativt små och att de inte stimulerade råttorna till att nosa så mycket. I kontrollburen hade råttorna spånet som de kunde nosa i och även gräva i, vilket kunde leda till att nya dofter kom fram. I bur F hade råttorna hål i väggarna som på en eller två sidor ledde in till grannburen där en annan råtta satt. Tanken med att ha hål mellan råttorna var just att det skulle stimulera deras sociala och undersökande beteende och på så viss fungerade detta bra. Hurst m.fl. (1997) har också funnit att individuellt hållna hanråttor undersökte gränserna till grannråttor.

Andelen undersökande beteende var högst dag 1 då det låg runt 15% av observationerna. Resterande dagar låg det på 6-10% av observationerna i bur A, B och C, medan det låg på 11-17% i bur F och kontrollburen. Råttor har i tidigare studier uppvisat en hög andel undersökande beteende när de introduceras till en ny miljö, men beteendet avtar snabbt med tiden (Barnett, 1963).

Det var inga signifikanta könsskillnader i andelen undersökande beteende. I en tidigare studie fann man att individuellt hållna hanråttor undersökte en juvenil råtta som placerades i deras bur under längre tid än vad honråttor gjorde (Thor m.fl., 1988). Författarna menade att könsskillnaderna var större än vad man har funnit i tidigare studier när råttor placeras i en främmande bur.

6.10 Onormalt och socialt beteende

Det var endast ett fåtal onormala beteenden hos råttorna, dvs. att de jagade sin egen svans och att de vaggande med huvudet upp och ner upprepade gånger. Detta var något överraskande eftersom det är ganska onormala förhållanden för en råtta att vistas ensam på gallergolv i en liten bur med mycket ljusinsläpp. Tidigare studier har funnit att individuellt hållna råttor hade en ökning i självriktade beteenden som t ex att jaga sin egen svans, manipulera sin egen svans och att putsa sig (Hurst m.fl., 1997). I denna studie hölls råttorna individuellt under endast 11 dagar, och de onormala beteendena kanske tar längre tid för att utvecklas. Den linje av råttor som användes i denna studie anses också vara ganska lugn, och en mer aktiv råttlinje kanske lättare skulle ha utvecklat onormalt beteende. Dock har råttor i preferenstest valt burar med spån istället för gallergolv (Blom, 1993), och de har även varit beredda att lyfta en lucka med tyngder för att kunna komma in till en bur med bäddmaterial när de har vistats på gallergolv (Manser m.fl., 1996).

De onormala beteendena registrerades 7 gånger i bur B, 4 gånger i bur C och en gång i kontrollburen. Vid en jämförelse med de andra parametrarna skulle man ha förväntat sig högst antal registreringar av onormala beteenden i bur C, eftersom råttorna där hade problem med att nå fodret. Bur B tycktes fungera bäst för de andra parametrarna och det är därför förvånande att råttorna överhuvudtaget uppvisade onormal beteenden i den buren, samt i kontrollburen. De onormala beteendena kanske i första hand är ett uttryck för att råttorna hölls individuellt.

6.11 Placering i buren

Råttorna vistades totalt sett över alla burtyperna mest utmed väggarna av metabolismburen. Detta beror på att råttor normalt undviker öppna ytor och håller sig nära väggar och andra strukturer för att inte bli upptäckta av rovdjur (Barnett, 1963). Att råttorna vistades något mer i mitten av buren i bur C, F och D kan bero på att de inte kände sig trygga utmed väggarna som var gjorda av genomskinlig plast. Von Weiss & Taylor (1985) fann att råttor föredrog en bur som hade en svartmålad bakre vägg framför en som hade genomskinliga sidor. Bur A hade målats med svart färg på sidorna för att ge råttorna en mer skyddad miljö. I bur B kröp råttorna ut i fodergången och låg där under längre tider. Detta kan utgöra en nackdel om de urinerar och avger faeces i gången, men för råttorna tillgodoser det förmodligen deras normala beteende behov av att kunna krypa in i en gång vid vila. Tidigare studier har visat att råttor föredrar burar som har en bolåda (Townsend, 1997; Manser m.fl., 1998). Vid planeringen av denna studie diskuterades det om en bolåda som stod direkt på gallret så att urin och faeces fortfarande skulle fara ned genom gallret hade varit en bra berikning av metabolismburen. Men, för att inte ha för många parametrar som varierade vid utvärderingen valde vi att inte berika burarna i detta test. Sorensen m.fl. (2008) utvecklade och testade ett lådformat berikningsföremål på 12 hanråttor som hölls individuellt i metabolismburar under fem dygn. De fann att råttorna med berikningslådan ökade mer i vikt efter de fem dyggen i metabolismburen, samt att de hade lägre faecesmängd och lägre urinkreatinin under de fem dyggen i metabolismburen, vilket ledde till att de drog slutsatsen att råttornas välfärd till viss del var bättre när de fick ha en berikningslåda i metabolismburen (Sorensen m.fl., 2008). I ett uppföljande preferenstest vistades råttorna mest i tunneln mellan de berikade och de icke berikade metabolismburarna (Sorensen m.fl., 2008).

Det var ingen signifikant effekt av dag i studien i var de valde att vistas i buren. Det kan tolkas som att de redan dag 1 valde ett ställe att vistas på och att det sedan inte varierade över studien.

Hanarna vistades signifikant mer utmed burväggen än vad honorna gjorde, men det var inga skillnader mellan könen i att vistas mitt i buren eller i fodergången. Eftersom detta inte ger någon entydig bild är det svårt att spekulera kring varför det blev så.

Social isolering av råttor har föreslagits orsaka långsiktiga förändringar i deras fysiologi och beteende (de Jong m.fl., 2005), och råttor har visat sig föredra att vistas i grupp även när de utsätts för social stress (Hurst m.fl., 1999). En bra form av berikning skulle därför kunna vara att hålla två råttor tillsammans i metabolismburen. Då skulle de få stimulans genom social kontakt, och man skulle kunna dela alla värden med två för att kunna jämföra med tidigare studier. Det skulle dock behövas dubbelt så många råttor då, vilket gör att man inte uppnår "Reduce" inom 3R-begreppen, men man skulle kanske uppnå "Refine" istället (Russel & Burch, 1959).

6.12 Sammanlagd utvärdering av burarna

För att kunna avgöra vilken av metabolismburarna som har fungerat bäst rangordnades de från "bäst" (5) till "sämst" (1) utifrån en jämförelse mellan varje metabolismbur och kontrollburen (bur D, individuell hållning i Makrolonbur). Detta gjordes för parametrarna recovery, kortikosteron, kroppstemperatur, kroppsvikt, födointag och vattenintag (Tabell

15). Beteendet bedömdes inte kunna läggas in i denna rangordning. När det gäller t ex kroppstemperatur blir rangordningen A (bäst) följt av E, F, sedan B och sist C (sämst) (Tabell 13). Totalt sett fick B den bästa bedömningen, därefter A och E (Tabell 13). Metabolismburarna C och F fick sämst bedömning. En anledning till att F fick så låg total rangpoäng är att den inte ingick i registreringarna av recovery och därmed tappade poäng. Därutöver blev kortikosteronhalterna väldigt höga, troligen på grund av att båda könen hölls så nära varandra att de kunde ha noskontakt genom hålen i väggen. Dessutom var inte foder- och vattentilldelningen så väl fungerande som den borde vara i en fullt utvecklad och kommersiellt användbar metabolismbur. Bur C föll ut med låga poäng i alla parametrar utom recovery, vilket är viktigt att beakta eftersom den används mycket inom forskningen och det är den enda kommersiellt tillgängliga metabolismburen för att samla in CO₂.

Tabell 13. De parametrar som mättes har rangbedömts mellan de fem metabolismburarna jämfört med kontrollburen där 5 är bäst och 1 är sämst bedömning för varje parameter. Behovet av acklimatisering för de olika parametrarna har också bedömts utifrån resultaten i denna studie

Parametrar	A	B	C	E	F	Acklimatisering
Recovery	2	5	4	3	-	Ingen
Kortikosteron	4	5	2	3	1	Minst 4-5 dagar
Kroppstemperatur	5	2	1	4	3	Oklart
Kroppsvikt	4	5	1	2	3	Minst 2-3 dagar
Födointag	4	5	1	3	2	3 dagar C, 1 dag övriga
Vattenintag	4	5	1	3	2	4 dagar
Renlighet	4	5	1	2	3	Ingen, sämre med tiden
Total rangpoäng	27	32	11	20	14	Ca 4 dagar

7. SLUTSATSER

Från denna studie kan man dra sex huvudsakliga slutsatser:

1. Metabolismbur B (Tecniplast stora) fungerade bäst på grund av att råttorna hade högst recovery, lägst kortikosteron i dygnsurin, högst viktökning och högst foder- och vattenintag.
2. Metabolismbur C (Jencons Metabowl) fungerade sämst på grund av de svårigheter råttorna hade att komma åt fodret på grund av burens konstruktion, vilket ledde till lägre viktökning och vattenintag, samt sämre recovery när de fick substansen dag 0.
3. Det tog ca fyra dygn innan råttorna hade acklimatiserat sig till metabolismburen, baserat på den sammanlagda utvärderingen av burarna.
4. Recovery fungerade i stort sett lika bra i alla metabolismburar oavsett om substansen gavs dag 0 eller 5.
5. Råttorna låg mindre, nosade mindre på buren och putsade sig mer i metabolismburarna än i kontrollburarna, utom i metabolismbur C. Det var få onormala beteenden i alla burar.
6. De 11 dagarna i metabolismburarna påverkade inte råttornas välfärd för de metabolismburar som fungerade bra.

Med utgångspunkt från dessa slutsatser rekommenderas det att metabolismbur B används i första hand vid metabolismstudier, att råttor ges fyra dygn för acklimatisering och att metabolismbur C utvecklas för att bättre tillgodose råttornas behov av att nå fodret. Vilken typ av bur som bör användas beror på studiens syfte, men det behövs insikt hos forskarna om de olika metabolismburarnas för- och nackdelar vid valet av bur i studien. Detta är viktigt både för att uppnå goda forskningsresultat och för att upprätthålla en god välfärd för råttorna i försöket.

8. TILLKÄNNAGIVANDE

Denna studie hade inte blivit genomförd utan ett stort antal personer som på olika sätt bidragit till den. Först vill jag tacka Gerd Lundgren på DxDPK på AstraZeneca R&D Mölndal för mycket gott samarbete med uppläggning, genomförande och analys av recovery, och för ett stort engagemang i studien totalt. Sedan vill jag tacka Karin Alness och Emma Thorén för att de på ett skickligt och noggrant sätt genomförde den praktiska delen av studien. Här vill jag också tacka Anna-Carin Eliasson och hennes medarbetare i grupp 1 för att de hjälpt till på många olika sätt i det praktiska genomförandet av studien. Anna Hessle tackas för noggrann och snabb avkodning av alla videoband från studien. Nicklas Wallin tackas för analyser av recovery. Markus Abt tackas för en mycket genomgående statistisk bearbetning och analys av denna stora datamängd. Majvi Månsson och hennes medarbetare tackas för att vi fick låna deras nykonstruerade metabolismbur till studien. Christina Jacobson på AstraZeneca R&D Lund tackas för att vi fick låna deras UNO-metabolismbur till studien. Till sista vill jag även rikta ett stort tack till John Bräutigam som gav mig detta uppdrag som har varit mycket lärorikt och intressant, till Ann-Sofie Lindh som på många olika sätt hjälpt till med planering och logistik av pilotstudier och den stora studien och med att få ihop rapporten, samt till Birgitta Ryberg som bidragit till att studien kunnat sammanställas till denna rapport.

9. REFERENSER

- Baenninger, L.P. 1967. Comparison of behavioral development in socially isolated and grouped rats. *Animal Behaviour*, 15: 312-323.
- Barrett, A.M. & Stockham, M.A., 1963. The effect of housing conditions and simple experimental procedures upon the corticosterone level in the plasma of rats. *Journal of Endocrinology*, 26: 97-105.
- Barnett, S. 1963. *The Rat: A Study in Behaviour. Principles of Ethology and Behavioural Physiology, displayed mainly in the Rat.* 1st edition. Aldine Publishing Company, Chicago, USA.
- Bindra, D. & Spinner, N., 1958. Response to different degrees of novelty: The incidence of various activities. *Journal of Experimental Analysis Behaviour*, 1: 341-350.
- Blass, E.M., 1972. An improved rat metabolism cage. *Physiology and Behavior*, 9: 681-683.
- Blom, H., 1993. Evaluation of housing conditions for laboratory mice and rats. Doctoral thesis at The University of Utrecht, Holland, 138 pp.
- Blood, D.C. & Studdert, V.P., 1990. *Baillière's Comprehensive Veterinary Dictionary*, Baillière Tindall, London, p. 575.
- Bolles, R.C., 1960. Grooming behavior in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 53: 306-310.
- Briese, E. & de Quijada, M.G., 1970. Colonic temperature of rats during handling. *Acta Physiologica Latinoamericana*, 20: 97-102.
- Briese, E., Cabanac, M., 1991. Stress hyperthermia: physiological arguments that it is a fever. *Physiology and Behavior*, 49: 1153-1157.
- Brown, K.J., Grunberg, N.E., 1995. Effects of housing on male and female rats: crowding stresses male but calm females. *Physiology and Behavior*, 58: 1085-1089.
- Carder, B. & Berkowitz, K., 1970. Rats' preference for earned in comparison with free food. *Science*, 167: 1273-1274.
- Chmiel Jr., D.J. & Noonan, M., 1995. Preference of laboratory rats for potentially enriching stimulus objects. *Laboratory Animals*, 30: 97-101.
- Cizek, L.J. & Nocenti, M.R., 1965. Relationship between water and food ingestion in the rat. *American Journal of Physiology*, 208: 615-620.
- Claassen, V., 1994. *Neglected factors in pharmacology and neuroscience research.* Elsevier, The Netherlands, 486 pp.
- Cohen, J.A. & Price, E.O., 1979. Grooming in the Norway rat: Displacement activity or "boundary-shift"? *Behavioural Neural Biology*, 26: 177-188.
- Conney, A.K., 1967. Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacology Review*, 19: 317-366.
- Damon, E.G., Eidson, A.F., Hobbs, C.H. & Hahn, F.F., 1986. Effect of acclimation to caging on nephrotoxic response of rats to uranium. *Laboratory Animal Science*, 36: 24-27.
- Denckla, D.W., 1969. Inexpensive low-temperature urine collector. *Journal of Applied Physiology*, 26: 393-394.
- Dreyer, J.J., 1969a. The biological assessment of protein quality: a metabolism cage and mechanical cage-washing aid for use in nitrogen balance studies. *South African Medical Journal*, 43: 3-14 (suppl.).
- Dreyer, J.J., 1969b. The biological assessment of protein quality: trials with a new metabolism cage for rats. *South African Medical Journal*, 43: 15-20 (suppl.).

- Eggum, B.O., 1973. A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs. PhD Thesis, Veterinärhögskolan i Köpenhamn, Landhusholdningsselskabets forlag, p.p. 17-22.
- Eikelboom, R., 1986. Learned anticipatory rise on body temperature due to handling. *Physiology and Behavior*, 37: 649-653.
- Eriksson, E., Royo, F., Lyberg, K., Carlsson, H.E. & Hau, J., 2004. Effect of metabolic cage housing on immunoglobulin A and corticosterone excretion in faeces and urine of young male rats. *Experimental Physiology*, 89: 427-433.
- Falkmer, S. & Waller, T., 1994. *Försöksdjursteknik - en praktisk handledning. Liber utbildning*, Gummessons Tryckeri AB, Falköping, s. 32-34.
- Faulkner, R.D. & Lambooy, J.P., 1961. Intestinal synthesis of riboflavin in the rat. *Journal of Nutrition*, 75: 373-378.
- Frape, D.L., Wilkinson, J. & Chubb, L.G., 1970. A simplified metabolism cage and tail cup for young rats. *Laboratory Animals*, 4: 67-73.
- Gispén, W.H. & Isaacson, R.L., 1981. ACTH-induced excessive grooming in the rat. *Pharmacology and Therapeutics*, 12: 209-246.
- Gomez-Sanchez, E.P. & Gomez-Sanchez, C.E., 1991. 19-Nordeoxycorticosterone, aldosterone, and corticosterone excretion in sequential urine samples from male and female rats. *Steroids*, 56: 451-454.
- Goth, A., 1981. *Medical pharmacology - principles and concepts*. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
- Haley, T.J., Koste, L. & Duncan, F., 1965. Inexpensive rat metabolism cage. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54: 1391.
- Hall, C.E., Gomez-Sanchez, C.E., Holland, O.B. & Nasseth, D., 1979. Influence of 19-Nor-Deoxycorticosterone on blood pressure, saline consumption and serum electrolytes, corticosterone and renin activity. *Endocrinology*, 105: 600-604.
- Halladay, S.C., 1973. An inexpensive metabolism cage for small animals. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 10: 155-156.
- Hannigan, J.H., Blanchard, B.A. & Riley, E.P., 1987. Altered grooming responses to stress in rats exposed prenatally to ethanol. *Behavioral and Neural Biology*, 47: 173-185.
- Hirsjärvi, P., 1994. Effects of cage height and environmental enrichment on rats' behaviour. In: *Welfare and Science* (Ed. Bunyan, J.), Proc. Fifth Symp. Fed. European Lab. Anim. Sci. Assoc. 8-11 June 1993, Brighton, UK. P. 343-344.
- Horst, P.-J., Bauer, M., Veelken, R. & Unger, T., 1988. A new method for collecting urine directly from the ureter in conscious unrestrained rats. *Renal Physiology and Biochemistry*, 11: 325-331.
- Hughes, R.N., 1968. Behaviour of male and female rats with free choice of two environments differing in novelty. *Animal Behaviour*, 16: 92-96.
- Hughes, R.N. & Pither, J.M., 1987. Chronic imipramine effects on exploratory behavior in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 27: 359-362.
- Hurst, J.L., Barnard, C.J., Nevison, C.M. & West, C.D., 1997. Housing and welfare in laboratory rats: welfare implications of isolation and social contact among caged males. *Animal Welfare*, 6: 329-347.
- Hurst, J.L., Barnard, C.J., Tolladay, U., Nevison, C.M. & West, C.D., 1999. Housing and welfare in laboratory rats: effects of cage stocking density and behavioural predictors of welfare. *Animal Behaviour*, 58: 563-586.
- Jackson, A.J. & Sutherland, J.C., 1984. Novel device for quantitatively collecting small volumes of urine from laboratory rats. *Journal of Pharmaceutical Science*, 73: 816-818.

- Jolles, J., Rompa-Barendregt, J. & Gispen, W.H., 1979. Novelty and grooming behavior in the rat. *Behavioural Neural Biology*, 25: 563-572.
- de Jong, J.G., van der Vegt, B.J., Buwalda, B. & Koolhaas, J.M., 2005. Social environment determines the long-term effects of social defeat. *Physiology and Behavior*, 84: 87-95.
- Khosho, F.K., Kaufmann, R.C. & Amankwah, K.S., 1985. A simple and efficient method for obtaining urine samples from rats. *Laboratory Animal Science*, 35: 513-514.
- Kluger, M.J., O'Reilly, B., Shope, T.R., Vander, A.J., 1987. Further evidence that stress hyperthermia is a fever. *Physiology and Behavior*, 39: 763-766.
- Kraus, A.L., 1980. Research methodology. In: *The Laboratory Rat* (Eds. Baker, H.J., Lindsey, J.R. & Weisbroth, S.H.), Academic Press, New York, pp. 2-4
- Krugner-Higby, L., Wolden-Hanson, T., Gendron, A. & Atkinson, R.L., 1996. High prevalence of gastric trichobezoars (hair balls) in Wistar-Kyoto rats fed a semi-purified diet. *Laboratory Animal Science*, 46: 635-639.
- Kurien, B.T., Everds, N.E., R.H. Scofield, 2004. Experimental animal urine collection: a review. *Laboratory Animals*, 38: 333-361.
- Lambooy, J.P., 1967. An inexpensive and efficient small animal metabolism cage. *Laboratory Animal Care*, 17: 351-352.
- Leathwood, P.D. & Plummer, D.T., 1969. Enzymes in rat urine I. A metabolism cage for the complete separation of urine and faeces. *Enzymologia*, 37: 240-250.
- Manser, C.E., Morris, T.H. & Broom, D.M., 1995. An investigation into the effects of solid or grid cage flooring on the welfare of laboratory rats. *Laboratory Animals*, 29: 353-363.
- Manser, C.E., Elliott, H., Morris, T.H. & Broom, D.M., 1996. The use of a novel operant test to determine the strength of preference for flooring in laboratory rats. *Laboratory Animals*, 30: 1-6.
- Manser, C.E., Broom, D.M., Overend, P. & Morris, T.H., 1998. Investigation into the preference of laboratory rats for nest-boxes and nesting materials. *Laboratory Animals*, 32: 23-35.
- Moore, C.L., 1986. Sex differences in self-grooming of rats: Effects of gonadal hormones and context. *Physiology and Behavior*, 36: 451-455.
- Petty, C.M.D., 1982. Nephrology. In: *Research techniques in the rat*. Charles C Thomas Publisher, Springfield, pp. 136-223.
- Randall, D., Burggren, W. & French, K., 1997. *Eckert Animal Physiology- mechanisms and adaptations*. 4th ed., W.H. Freeman and Company, New York, 727 pp.
- Rock, F.M., Landi, M.S., Hughes, H.C. & Gagnon, R.C., 1997. Effects of caging type and group size on selected physiologic variables in rats, *Contemporary Topics*, 36: 69-72.
- Ruis, M.A., te Brake, J.H., Buwalda, B., De Boer, S.F., Meerlo, P., Korte, S.M., Blokhuis, H.J. & Koolhaas, J.M., 1999. Housing familiar male wildtype rats together reduces the long-term adverse behavioural and physiological effects of social defeat. *Psychoneuroendocrinology*, 24: 285-300.
- Russel, W.M.S. & Burch, R.L., 1959. *The principles of humane experimental technique*.
- Saunders, R.N. & Mackerer, C.R., 1977. Metabolism cage for carbon dioxide trapping studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 3: 375-378.
- Sharp, J.L., Zammit, T.G., Azar, T.A. & Lawson, D.M., 2002. Stress-like responses to common procedures in male rats housed alone or with other rats. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, 41: 8-14.
- Short, D.J. & Woodnott, D.P., 1969. *The I.A.T. manual of laboratory animal practice and techniques*, Bantin and Kingman Ltd, London, pp. 43-44.
- Skett, P., Eneroth, P., Gustafsson, J.A., 1978. The development of pituitary control of hepatic steroid metabolism in the rat. *Molecular Cellular Endocrinology*, 10: 21-27.

- Smyth, R.E., 1979. Fecal cup for collection of feces in male rats. *Laboratory Animal Science*, 29: 677-678.
- Sorensen, D.B., Mortensen, K., Bertelsen, T., Vognbjer, K., 2008. Enriching the metabolic cage: effects on rat physiology and behaviour. *Animal Welfare*, 17: 395-403.
- Spangenberg, E., 2007. Housing Laboratory Dogs and Rats- Implications of Physical and Social Activity. PhD Thesis, *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae* 2007:103, Uppsala, Sweden.
- Spruijt, B. & Gispen, W.H., 1983. ACTH and grooming behaviour in the rat. In *Hormones and behaviour in higher vertebrates* (Eds. J. Balthazart, E. Pröve & R. Gilles). FRG: Springer-Verlag, Berlin, pp. 118-136.
- Stoynev, Al. & Ikonov, O., 1979. Method for simultaneous investigation of feeding and drinking behaviours and renal excretory function in small animals. *Acta Physiologica et Pharmacologica Bulgarica*, 5: 77-81.
- Thompson, J.H. & Campbell, L.B., 1966. A new improved metabolism cage for small rodents. *Journal of Medical Laboratory Technics*, 23: 198-200.
- Thor, D.H., Harrison, R.J., Schneider, S.R. & Carr, W.J., 1988. Sex differences in investigatory and grooming behaviour of laboratory rats (*Rattus norvegicus*) following exposure to novelty. *Journal of Comparative Psychology*, 102: 188-192.
- Townsend, P., 1997. Use of in-cage shelters by laboratory rats. *Animal Welfare*, 6: 95-103.
- Von Weigelt, O., 1970. Ein rattenstoffwechselkäfig im baukastenprinzip. *Zeitschrift für Versuchstierkunde*, 12: 68-76.
- Von Weiss, J. & Taylor, G.T., 1985. Einfluss der käfigstruktur auf das wahlverhalten und die spontanmotilität von laborratten, *Zeitschrift für Versuchstierkunde*, 27: 175-184.
- Walsh, L.L., 1980. Differences in food, water and food-deprivation water intake in 16 strains of rats. *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 94: 775-781.
- Waynforth, H.B. & Flecknell, P.A., 1992. Collecting urine, faeces and respired gases. In: *Experimental and surgical technique in the rat*, Second edition, Academic Press, London, pp. 92-99, 370.
- Woods, P.J., 1962. Behaviour in a novel situation as influenced by the immediately preceding environment. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 5: 185-190.

Dagliga rutiner i försöket

När råttorna anländer till djuravdelningen kontrolleras de och placeras sedan 2 st per Makrolonbur. De ges minst 7 dagars aklimatiseringsperiod. Försöksdagbok förs från det råttorna anländer till djuravdelningen och signeras dagligen av den som hanterat råttorna. Några dagar efter ankomst injiceras mikrochips i alla råttor. Ca 12 dagar efter ankomst tas alla 0-prover; kroppstemperatur, renlighetsgrad, kroppsvikt, foderförbrukning, vattenförbrukning, samt beteende från 24 timmars videoinspelning. Dagen därefter placeras råttorna enligt ett randomiserat protokoll i metabolismburarna. Videofilmen byts och inspelningen fortsätter. Under de 12 dagarna i metabolismbur följs schemat enligt följande ordning och vid samma tidpunkt varje dag.

Kl. 8.00 startar registreringarna enligt följande:

1. Skriv upp temperaturen och luftfuktigheten i rummet på protokoll uppsatt på dörren i för lab.
2. Byt videoband
3. Lyft över råttan i en liten Makrolonbur och för mätpennan för kroppstemperatur utmed råttans sidor, när temperaturen syns på displayen sparas värdet på datorn, samt skrivs upp på särskilt protokoll.
4. Placera råttan i Makrolonburen på vågen, väg råttan och skriv upp.
5. Registrera renlighetsgraden på råttan.
6. Tag av kolvarna för urin och faeces medan råttan är utanför buren och placera dem i särskilt ställ, sätt på ny kolv för sköljvatten.
7. Spola av buren med ca 40 ml vatten som samlas i särskild märkt kolv, tag bort kolven med sköljvatten och ställ med övriga kolvar.
8. Sätt nya märkta kolvar för urin och faeces på buren, kontrollera etiketten noga så att inga förväxlingar sker.
9. Sätt tillbaka råttan i buren.
10. Väg foderbehållare och vattenflaska, fyll på nytt foder och vatten.
11. Upprepa proceduren ovan för var och en av de 16 råttorna. När allt är klart stäng dörren in till djurrummet så att råttorna får lugnt.
12. Bär alla kolvar till rum med lab. våg kopplad till dator (PC Log), för mätpenna över etiketten på kolven, ställ kolven på vågen, spara vikten i datorn, samt skriv ned den på särskilt protokoll.
13. Pipettera över 1 ml urin till eppendorfrör, som förses med etikett med råttans nr och datum och sedan placeras i frys.
14. Urin och faeces från de 7 första dagarna efter att råttorna fått substans måste hanteras extra varsamt (radioaktiv, se särskilt papper), och nya rör ska förses med radioaktiv märkta etiketter. Urin hålls i rör och förses med etikett och lock, varefter den placeras i frys. Faeces hålls i plastpåsar och förses med radioaktivt märkt etikett eller AH-etikett med försöksnr, rätt nr och datum.
15. Alla använda rör tas till disken och för lab. ställs iordning.
16. Fyll i försöksdagboken, och beskriv särskilt noga om något hänt eller blivit fel så att man kan ta hänsyn till det vid analysen.

VECKOSCHEMA**Studie:** Metabolismburar 24060 **Djurslag:** Råtta **Försöksledare:** Lena Lidfors

Vecka	Datum	Måndag	Tisdag	Onsdag	Torsdag	Fredag	Lördag	Söndag
24	8-14/6		18 råttor ankomst			Chips injektion		
25	15-21/ 6		Seminarie om studie		Möte om studie	Förbered studie 1		Start 1a 0-värde
26	22-28/ 6	Dag 1 subst.6 r.	Dag 2 16 r. ank.	Dag 3	Dag 4	Dag 5 subst.6 r	Dag 6	Dag 7
27	29/6-5/7	Dag 8	Dag 9	Dag 10	Dag 11	Dag 12 Ut ur bur		Start 1b 0-värde
28	6-12/7	Dag 1 subst.6 r.	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5 subst.6 r	Dag 6	Dag 7
29	13-19/ 7	Dag 8 chips inj.	Dag 9 16 r. ank.	Dag 10	Dag 11	Dag 12 Ut ur bur		
30	20-26/ 7	Väga rör chips inj.			Ställ upp burar	Förbered studie 2		Start 2a 0-värde
31	27/7-2/8	Dag 1 subst.6 r.	Dag 2 16 r. ank.	Dag 3	Dag 4	Dag 5 subst.6 r	Dag 6	Dag 7
32	3-9/8	Dag 8 chips inj.	Dag 9	Dag 10	Dag 11	Dag 12 Ut ur bur		Start 2b 0-värde
33	10-16/ 8	Dag 1 subst.6 r.	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5 subst.6 r	Dag 6	Dag 7
34	17-23/ 8	Dag 8	Dag 9	Dag 10	Dag 11	Dag 12 Ut ur bur		

Tabeller med statistiska analyser

Tabell 1. Statistiska analysresultat för totalrecovery av substans från råttor placerade i olika metabolisburar under 7 dygn. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	6	138	1109.93	0.0001
BUR	3	138	0.67	0.5736
KÖN	1	138	190.35	0.0001
SUBSTANSDAG	1	138	1.56	0.2142
DAG*BUR	18	138	1.14	0.3236
DAG*KÖN	6	138	75.99	0.0001
BUR*KÖN	3	138	1.91	0.1313
DAG*BUR*KÖN	18	138	0.95	0.5186

Tabell 2. Statistiska analysresultat för kortikosteronhalter i dygnsurin från råttor placerade i olika metabolisburar under 11 dygn. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	10	259	10.70	0.0001
BUR	4	259	3.39	0.0100
KÖN	1	259	8.53	0.0038
DAG*BUR	40	259	1.53	0.0284
DAG*KÖN	10	259	1.98	0.0362
BUR*KÖN	4	259	1.07	0.3716
DAG*BUR*KÖN	40	259	0.97	0.5232

Tabell 3. Statistiska analysresultat för kroppstemperatur hos råttor placerade i olika metabolisburar under 11 dygn. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	12	456	21.78	0.0001
BUR	6	456	3.70	0.0013
KÖN	1	456	28.25	0.0001
DAG*BUR	72	456	2.91	0.0001
DAG*KÖN	12	456	1.83	0.0407
BUR*KÖN	6	456	1.25	0.2812
DAG*BUR*KÖN	72	456	1.90	0.0001

Tabell 4. Statistiska analysresultat för kroppsvikt hos råttor placerade i olika metabolisburar under 11 dygn. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	10	380	29.48	0.0001
BUR	6	38	3.09	0.0146
KÖN	1	38	30.00	0.0001
DAG*BUR	60	380	1.78	0.0007
DAG*KÖN	10	380	5.31	0.0001
BUR*KÖN	6	38	1.40	0.2405
DAG*BUR*KÖN	60	380	0.98	0.5239

Tabell 5. Statistiska analysresultat för mängden (g.) föda som råttorna intog när de var placerade i olika metabolisburar under 11 dygn. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	11	418	6.24	0.0001
BUR	6	38	3.38	0.0091
KÖN	1	38	84.77	0.0001
DAG*BUR	66	418	3.77	0.0001
DAG*KÖN	11	418	1.43	0.1566
BUR*KÖN	6	38	1.41	0.2368
DAG*BUR*KÖN	66	418	0.89	0.7216

Tabell 6. Statistiska analysresultat för om råttor utförde beteendet foderintag registrerat momentant var 6:e minut under 24 timmar per dygn 10 dygn i metabolisburar resp. kontrollburar. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	9	234	2.05	0.0351
BUR	4	234	22.69	0.0001
KÖN	1	234	0.75	0.3886
DAG*BUR	36	234	1.54	0.0327
DAG*KÖN	9	234	1.38	0.1968
BUR*KÖN	4	234	1.00	0.4095
DAG*BUR*KÖN	36	234	0.98	0.5020

Tabell 7. Statistiska analysresultat för den vattenmängd som råttorna intog (g.) när de var placerade i olika metabolisburar under 11 dygn. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	11	410	7.75	0.0001
BUR	6	410	8.67	0.0001
KÖN	1	410	22.74	0.0001
DAG*BUR	66	410	2.58	0.0001
DAG*KÖN	11	410	2.38	0.0072
BUR*KÖN	6	410	3.02	0.0068
DAG*BUR*KÖN	66	410	1.32	0.0598

Tabell 8. Statistiska analysresultat för om råttor utförde beteendet vattenintag registrerat momentant var 6:e minut under 24 timmar per dygn 10 dygn i metabolisburar resp. kontrollburar. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	9	234	0.61	0.7900
BUR	4	26	14.72	0.0001
KÖN	1	26	8.81	0.0063
DAG*BUR	36	234	1.18	0.2330
DAG*KÖN	9	234	0.40	0.9337
BUR*KÖN	4	26	1.59	0.2069
DAG*BUR*KÖN	36	234	1.16	0.2567

Tabell 9. Statistiska analysresultat för om råttor var inaktiva registrerat momentant var 6:e minut under 24 timmar per dygn 10 dygn i metabolismburar resp. kontrollburar. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	9	234	2.68	0.0055
BUR	4	234	8.42	0.0001
KÖN	1	234	0.64	0.4228
DAG*BUR	36	234	2.37	0.0001
DAG*KÖN	9	234	3.03	0.0019
BUR*KÖN	4	234	1.97	0.1003
DAG*BUR*KÖN	36	234	1.25	0.1670

Tabell 10. Statistiska analysresultat för om råttor utförde putsningsbeteende registrerat momentant var 6:e minut under 24 timmar per dygn 10 dygn i metabolismburar resp. kontrollburar. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	9	234	4.19	0.0001
BUR	4	234	8.58	0.0001
KÖN	1	234	1.21	0.2717
DAG*BUR	36	234	2.12	0.0005
DAG*KÖN	9	234	3.00	0.0021
BUR*KÖN	4	234	0.63	0.6392
DAG*BUR*KÖN	36	234	1.13	0.2894

Tabell 11. Statistiska analysresultat för om råttor utförde explorativt beteende registrerat momentant var 6:e minut under 24 timmar per dygn 10 dygn i metabolismburar resp. kontrollburar. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
DAG	9	234	7.00	0.0001
BUR	4	234	11.27	0.0001
KÖN	1	234	0.09	0.7663
DAG*BUR	36	234	1.79	0.0061
DAG*KÖN	9	234	1.81	0.0677
BUR*KÖN	4	234	1.71	0.1495
DAG*BUR*KÖN	36	234	1.01	0.4639

Tabell 12. Statistiska analysresultat för om råttorna befann sig i mitten av buren, utmed väggen av buren eller intill fodret registrerat momentant var 6:e minut under 24 timmar per dygn 10 dygn i metabolismburar resp. kontrollburar. Test av fixa effekter (3-vägs variansanalys)

Källa	ND F	DDF	Mitten	Mitten	Vägg	Vägg	Fodret	Fodret
			Typ III F	Pr > F	Typ III F	Pr > F	Typ III F	Pr > F
DAG	9	234	1.43	0.1762	1.70	0.0893	1.03	0.4197
BUR	4	234	4.19	0.0027	2.28	0.0616	30.32	0.0001
KÖN	1	234	0.81	0.3696	5.53	0.0196	0.84	0.3608
DAG*BUR	36	234	1.23	0.1848	1.44	0.0596	1.29	0.1374
DAG*KÖN	9	234	1.69	0.0933	2.41	0.0123	1.22	0.2843
BUR*KÖN	4	234	1.01	0.4032	1.68	0.1550	0.85	0.4967
DAG*BUR*KÖN	36	234	0.87	0.6910	1.07	0.3711	0.74	0.8568

Vid **Institutionen för husdjurens miljö och hälsa** finns tre publikationsserier:

- * **Avhandlingar:** Här publiceras masters- och licentiatavhandlingar
- * **Rapporter:** Här publiceras olika typer av vetenskapliga rapporter från institutionen.
- * **Studentarbeten:** Här publiceras olika typer av studentarbeten, bl.a. examensarbeten, vanligtvis omfattande 7,5-30 hp. Studentarbeten ingår som en obligatorisk del i olika program och syftar till att under handledning ge den studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Arbetenas innehåll, resultat och slutsatser bör således bedömas mot denna bakgrund.

Vill du veta mer om institutionens publikationer kan du hitta det här:
www.hmh.slu.se

DISTRIBUTION:

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Box 234
532 23 Skara
Tel 0511-67000
E-post: hmh@slu.se
Hemsida: www.hmh.slu.se

*Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal
Science
Department of Animal Environment and Health
P.O.B. 234
SE-532 23 Skara, Sweden
Phone: +46 (0)511 67000
E-mail: hmh@slu.se
Homepage: www.hmh.slu.se*
