



Norecopa
Veterinærinstituttet
Postboks 750 Sentrum
0106 Oslo
www.norecopa.no
Saksbehandler: Adrian Smith
(adrian.smith@vetinst.no)
22. juni 2009

Fasting hos gnagere

Innledende begrepsforklaring.....	1
Tolkning av grensetilfeller	2
Juridiske betraktninger	2
Lov om dyrevern.....	2
Lov om dyrevelferd.....	2
Forskrift om forsøk med dyr.....	2
Tradisjon eller vitenskap?	3
Effektene av fasting	4
Effektene på tømning av fordøyelsestraktus og på kroppsvekt.....	4
Effektene på farmakologiske parametre og adferd.....	5
Velferdsindikatorer og fasting.....	6
Retningslinjer om fasting.....	7
Alternativer til fasting	8
Norecopas anbefalinger.....	8
Referanser.....	9

Innledende begrepsforklaring

Dette notatet handler hovedsakelig om effektene av plutselig fasting (*acute food deprivation*) på laboratoriegnavere som er vant til kontinuerlig tilgang på mat. Notatet omtaler ikke konsekvensene av å fjerne drikkevann (*water deprivation*) og heller ikke effektene av fôrrasjonering (*food restriction*).

Et dyr tilfredsstiller sitt behov for mat og vann, ikke bare fordi det oppstår en akutt følelse av tørst eller sult, men fordi det har lært å kjenne sine behov og vet hvordan de kan dekkes

innenfor miljørammene som det lever innenfor. Hvis fraværet av vann eller mat ikke er drastisk eller langvarig, vil de forbigående effektene som dette har på dyrets metabolisme eller hydreringsstatus ha liten effekt på dyrets velferd. Det som er kritisk, er at dyret lærer å endre sin adferd for å tilpasse den til tilgangen på mat og vann over tid (Toth & Gardiner, 2000). En slik situasjon er vanlig i naturen og oppstår under laboratorieforsøk når føret rasjoneres. Slike justeringer er ofte veltolererte sålenge de er innenfor grenser som dyret kan tilpasse seg til. En helt annen situasjon oppstår hvis dyret utsettes for plutselig, uventet og langvarig fravær av mat.

Tolkning av grensetilfeller

Det er mange eksempler på uklare grenser mellom prosedyrer som defineres som dyreforsøk, og de som faller utenfor definisjonen. Såvel forskere som ansvarshavende etterlyser flere konkrete retningslinjer, eller eksempler på prosedyrer som faller i den ene eller andre kategorien. Situasjonen kompliseres når avgjørelser tas ved flere ledd, spesielt hvis aktørene har ulike meninger. Deres subjektive oppfatninger, som er preget av egne erfaringer (ikke nødvendigvis med samme art eller prosedyre), vil være med på å styre prosessen. I tillegg vil kjente psykososiale samfunnsprosesser spille en ikke uvesentlig faktor: personer involvert i avgjørelsen kan ha ulike motiver, eller kan kvie seg for å uttale seg på tvers av andre, spesielt i forhold til personer med antatt høy kompetanse, høyere rang eller lengre erfaring.

Juridiske betraktninger

Lov om dyrevern

Dyrevernlovens §21 sier at dyreforsøk 'og andre' (lignende prosedyrer) 'må gjennomførast såleis at dyret ikkje kjem i fære for å lida meir enn det som er strengt turvande etter føremålet'.

Lov om dyrevelferd

Den nye dyrevelferdsloven (vedtatt i Lagtinget 12.05.09), som skal erstatte dyrevernloven i 2010, gir klare retningslinjer for hvordan vi skal behandle dyr som brukes i forsøk eller undervisningen (§13):

Tillatelse etter første ledd kan ikke gis hvis formålet kan oppnås uten bruk av dyr, eller hvis dyrene kommer i fare for å bli utsatt for unødige påkjenninger og belastninger. Det skal ikke benyttes flere dyr enn nødvendig, og dyrene skal belastes minst mulig.

Forskrift om forsøk med dyr

Forskrift om forsøk med dyr §2 gir unntak fra virkeområdet for bl.a. 'forsøk som angår avl/oppdrett, føring og miljø (husdyr og akvatiske organismer) hvis det ikke er grunn til å anta at forsøket vil medføre en ufysiologisk tilstand hos forsøksdyret'. I tvilstilfeller avgjør forsøksdyrutvalget om en type forsøk kommer inn under forskriften.

Med andre ord må en avgjørelse om fasting ta hensyn til:

- kunnskap om hva som påvirker dyrets fysiologi og adferd (for å 'ha grunn til å tro' eller ikke)
- om dyret fortsatt er innenfor normale fysiologiske grenser
- om den lokale ansvarshavende er i tvil eller ikke

Fysiologen er læren om kroppens normale funksjon. En 'ufysiologisk tilstand' er derfor en tilstand som ikke er normal. Kroppen foretar imidlertid ustanselig små eller større justeringer som reaksjon på indre og ytre forandringer som truer med å skape en unormal tilstand. Mange av disse justeringer er synlige og relativt dramatiske, men allikevel godt innenfor det som kan betegnes som normalt. Reguleringen av cellenes næringsopptak under og mellom måltider er et eksempel på slike tilpasninger. Så lenge dyret får tilgang på fôr i tilstrekkelig mengde like ofte som det pleier å spise, er disse endringene 'fysiologiske'. Hvis, derimot, matforsyningen forringes vesentlig (i kvalitet eller kvantitet), vil kroppen ikke lenger kunne regulere seg innenfor normale grenser, og sykelige (ikke-fysiologiske) tilstander vil oppstå.

Tolkning av juridiske fraser som 'helt forbigående smerte eller ubehag' og 'dyrets normale livsutfoldelse' kan også være vanskelig. Et dyr vil oppfatte endringer i fôrtilgang raskt, og dette vil kunne føre til psykisk stress. Graden av stresset, i forhold til fasting, vil avhenge av dyrearten (hvor ofte den spiser, når på døgnet det spiser i forhold til fastingen, og om fasteperioder er en normal del av livsløpet) og, når det gjelder dyr i fangenskap, individets livserfaring (når og hvor ofte det føres).

Rotter konsumerer ca. 80% av sitt fôrinntak om natten (Rowland, 2007; Strubbe *et al.*, 1986), med topper rundt kl. 20 og kl. 06 (Vermeulen *et al.*, 1997). De fleste laboratoriedyr får kontinuerlig tilgang på fôr. Gnagere innretter sin adferd og dermed sin metabolske aktivitet etter forutsigbare rytmer i sine omgivelser, bl.a. endringer i lysforhold og fôrtilgang. Plutselig fravær av denne forutsigbarheten, spesielt når det gjelder dyrenes basalbehov, må antas å være spesielt stressende, og det er vist at uforutsigbare miljøendringer kan føre til økning i kortisonutskillelse i en rekke virveldyr (Wingfield & Kitaysky, 2002).

Mange av tegnene på tilløp til stress og 'ufysiologiske tilstander' vil bare kunne observeres av personer som har nær tilknytning til dyrene. Prosedyrer som fasting bør derfor diskuteres i et forum hvor såvel forsøksdyrteknikere som forskere og dyreavdelingens ledelse er tilstede.

Tradisjon eller vitenskap?

Dyreforsøk bygger ofte på resultatene av tidligere studier, og prosedyrer hentes derfra. Disse er ikke nødvendigvis optimale (jf. den utstrakte bruken av albinodyr, som ikke er gode dyremodeller for pigmenterte individer). Aksept av slike suboptimale prosedyrer kan gjøre det vanskelig å etablere en alternativ modell, selv om den beviselig er bedre, fordi resultatene må kunne sammenlignes med tidligere studier. På den måten forlenges de suboptimale forholdene, "det uakseptable er blitt det aksepterte".

I noen tilfeller hevdes det at det er gode vitenskapelige grunner for å faste. Noen (men ikke alle) patologer påstår f.eks. at histologiske undersøkelser av leveren er enklere etter fasting

over natten (hepatocytene inneholder mindre glykogen). De fleste patologilaboratoriene faster dyrene over natten før obduksjon for å gjøre det enklere å observere toksikologiske effekter (personlige meddelser). Reaksjoner målt i isolerte celler eller vev vil også påvirkes av om dyret var fastet eller ikke før avliving, og enkelte studier (f.eks. av insulinets innvirkning) betinger fasting. Fasting over natten er mye brukt i farmakologisk forskning, bl.a. for å tømme ventrikkelen før sondeføring. Dermed blir forsøk innenfor biotilgjengelighet og absorpsjon mer standardiserte. I tilfeller hvor store mengder væske skal gis oralt kan ventrikkeltømming være helt nødvendig.

I andre tilfeller kan det derimot virke som om det bare er praktiske årsaker (hensyn til personalets arbeidsdag) som har spilt inn, da fôret ofte fjernes ved slutten av arbeidsdagen. På en norsk arbeidsplass, hvor teknikerne ofte slutter kl. 1530 og ikke kommer på jobb igjen før kl. 0800, kan fasteperioden dermed fort bli minst 17 timer, hvis ikke spesielle tiltak (som innebærer overtidsbetaling eller automatisk utstyr) iverksettes.

Man må være forberedt på svært ulike meninger i en diskusjon om nødvendigheten av fasting.

Effektene av fasting

I motsetning til drikking, som er en respons på cellulær dehydrering og hypovolemi (Toth & Gardiner, 2000) er det fortsatt delvis uklart hvorfor dyr føler sult. Størrelsen på det forrige måltidet er trolig viktigere enn tiden som har gått, noe som tyder på at det er antallet kalorier som er viktigst (Friedman & Stricker, 1976). Metthetsfølelse er trolig også viktig for dyr, som det er for mennesker - denne følelsen er i sin tur påvirket av en rekke faktorer, ikke bare magefylde. Tap av metthetsfølelsen er trolig viktigere for gjenopptak av spising enn en følelse av sult.

Mangelen på kunnskap om faktorene som styrer spiseadferd gjør det vanskelig å evaluere effektene av fasting, noe som ytterligere kompliseres ved at til og med voksne dyr ofte har varierende kroppsvekt og fôrinntak. For eksempel, selv genetisk identiske mus (B6C8F1) kan veie fra 30-48 g (Allaben *et al.*, 1996). Fôrinntak og kaloribehovet kan i tillegg variere med bl.a. genetisk linje, alder, oppstillingsforhold (romtemperatur m.m.), fysiologisk status og muligheten til å mosjonere. Dyr vil dessuten ofte overspise når rikelige førmengder er konstant tilgjengelig og det for øvrig er få aktivitetsmuligheter. Kroppen har bedre mekanismer for å unngå overhydrering enn den har for å begrense overspising.

Effektene på tømming av fordøyelsestraktus og på kroppsvekt

Dersom forskerne mener at det er viktig å faste dyrene for å tømme deler av mage-tarmtraktus, er det viktig å skaffe informasjon om hvor lenge det er nødvendig å faste dyret for å tømme de aktuelle organene. På den måten kan fasteperioden reduseres til det som er helt nødvendig for studiet, og dermed redusere unødig stress eller lidelse. Som nevnt tidligere kan en viss grad av fasting i enkelte situasjoner være nødvendig for å unngå overfylling av magesekken.

Vermeulen *et al.* (1997) viste at ventrikkelen er tom allerede etter 6 timers fasting hos hannrotter (200-250g). Det var ingen statistisk forskjell mellom dyr fastet for 6 timer eller for 18 timer når det gjaldt intestinal tømning.

Markante endringer i kroppssvekt etter fasting er også rapportert: Vermeulen *et al.* (1997) fant en vektreduksjon på ca. 10% etter 18 timers fasting. Andre har rapportert vekttap av opptil 48g i hannrotter som veide 264g, noe som tilsvarer over 18% (Dohm *et al.*, 1983). Claassen ((1994) siterer studier der vekttapet hos rotter varierte fra 3,3% til 18% etter 24 timer, men det var ikke mulig i alle tilfellene å vite om tapet også skyldtes vanndeprivasjon.

Reduksjonen i levervekt kan være relativt større enn reduksjonen i kroppssvekten, og innholdet av frie fettsyrer øker markant (Claassen, 1994).

Det er også viktig å være klar over at fasting kan føre til redusert basal metabolsk hastighet som vedvarer etter at maten er introdusert igjen, mens kroppssvekten er i ferd med å returnere til det normale igjen (Penicaud & Le Magnen, 1980; Bjørntorp & Yang, 1982).

Om dyret taper vekt vil avhenge av om det oppstalles med strø- eller redemateriale eller ikke siden det godt kan hende at et sultent dyr vil spise disse. Dersom kroppssvekt brukes som helseindikator eller endepunkt for fasting, er det viktig å ta hensyn til dette faktum. Dette medfører at for å oppnå fullstendig tømning av tarmen, må dyrene oppstalles i et bur uten strø. I tillegg må de utstyres med en halskrage e.l. for å unngå koprofagi (inntak av caecotrofer, de halvfordøyde produkter av fôrnedbrytningen i blindtarmen). Begge disse tiltakene må antas å være stressende for dyrene.

Effektene på farmakologiske parametre og adferd

Claassen (1994) siterer mange studier som viser endringer i farmakokinetikk som en konsekvens av fasting. Han har skrevet en omfattende tekstbok om faktorene som påvirker dyrene som brukes i farmakologi og nevrofysiologisk forskning. Han konkluderer (sammendrag, kapittel 13):

Fasting causes severe changes in the physiological and biochemical processes of the animal which become more serious with longer duration of food withdrawal.

However, also the often used fasting periods of 16-24 hours bring about important changes which may significantly affect the responsiveness towards experimental stimuli. Fasting effects may vary to a great extent between strains and individuals.

The use of fasting animals in experiments seems therefore only to be permitted when the feeding condition functions as a factor in experimental design.

Fasting kan forventes å forårsake bl.a. stress, aggressiv adferd (som kanskje betinger individuell oppstalling, noe som også er stressfullt for mange gnagere), samt reduksjoner i kroppssvekt, kroppstemperatur og plasma glukosenivåer.

En reduksjon i basal metabolsk hastighet, som vedvarer i perioden etter fasten, er rapportert (Penicaud & Le Magnen, 1980). Effekten av fastingen er størst når den skjer i døgnets mørkefase, når dyrene er mest aktive – signifikante reduksjoner i levervekt og glykogeninnhold, samt økninger i glycerol, frie fettsyrer og acetoacetat kan måles etter 3 timer (Palou *et al.*, 1981). Claassen (1994) siterer en rekke studier som viser økninger i plasmaverdier av glukose, urea, laktat og aminosyrer, en rekke hormoner som f.eks. insulin, glucagon og kortikosteron, samt økt aktivitet i det sympatiske nervesystemet.

Vermeulen *et al.* (1997) undersøkte dyrenes aktivitetsmønstre gjennom fasteperioden ved å filme dyrene og ved å plassere burene på en plate som registrerte bevegelser (vibrasjoner).

Dyr som ble fastet i 18 timer viste økt lokomotorisk aktivitet og en økning i tiden de brukte til å stille seg, noe som medførte at ventrikkelen inneholdt mye hår. Kortere fasteperioder resulterte i mindre endringer i dyrenes fysiologi og adferd.

Toth & Gardiner (2000) siterer en rekke publikasjoner som viser at aktivering av det sympatiske nervesystemet og moderate økninger i plasma glukokortikoider kan måles i rotter fastet i 24 timer, men at disse økningene er mindre enn de som er sett når dyrene stresses med andre stimuli. Endringene kan sogar tolkes som normale adaptive responser til redusert førtilgang. Etter 48 timers fôrdeprivasjon øker glukokortikoidnivåene drastisk og dyrenes naturlige døgnrytme ødelegges. Dette tyder på at fasting lengre enn 24 timer er forbundet med økende metabolsk stress og kanskje en forverring av psykisk stress. Siden det ofte er snakk om inntil 24 timers fasting i dyreforsøk, er slike studier mindre relevante. Spørsmålet er om dyrene "bare" opplever en økt oppmerksomhet på mat ved en plutselig og uforutsett fasteperiode, eller om de opplever 'ufysiologiske tilstander' og virkelig plages.

Effekten som en kort fasteperiode har på dyret vil også påvirkes av om den faller i mørkefasen av lyssyklusen (når dyrene spiser mest) eller ikke. Claassen (1994) siterer studier som viser at en rekke plasmaverdier faller, bl.a. plasmaverdier av glukose, urea, laktat og aminosyrer, mens verdier av bl.a. glyserol og frie fettsyrer øker, samt at rotter avlivet ved begynnelsen av lysefasen etter bare 3 timers fasting har signifikante reduksjoner i levervekt og glykogeninnhold. Disse endringene vil påvirke de biokjemiske prosessene i cellene og man burde derfor forvente forskjeller i effekten av preparater på f.eks. isolerte celler, vev eller organer tatt fra dyr som har vært fastet eller ikke.

Velferdsindikatorer og fasting

I og med at det er relativt vanskelig å detektere tegn på uro og stress hos dyr i den første perioden etter at maten er fjernet, har mange av de publiserte studiene på effekten av fasting benyttet lange fasteperioder kombinert med negative velferdsindikatorer som magesår og andre patologiske forandringer. Albee *et al.* (1987) viste imidlertid at rotter fôret med 15 eller 50% mindre mat enn dagen før, hadde signifikante endringer i en rekke nevrofysiologiske parametre, og at de var betraktelig mer opphisset når de ble fengslet.

Det bør presiseres at det antagelig er store forskjeller på hvordan dyr opplever langvarig uventet fasting og hvordan de opplever kortere eller regelmessige fasteperioder, eller perioder med begrenset mattilgang, som de gradvis er tilvent gjennom trening.

Claassen (1994) påpeker at fasting kan forventes å påvirke den metabolske status sterkt hos dyr som spiser relativt store mengder mat i løpet av døgnet, og at prosessene som settes i gang for å venne dyret til denne nye situasjonen trolig vil omfatte både hormonelle og nervøse endringer.

Retningslinjer om fasting

Det foreligger noen retningslinjer for fasting, men ikke alle disse spesifiserer om dyrene skal tilbys adgang til strømateriale eller ikke.

1. De britiske myndighetene (Home Office, 2003) forlanger at studier som medfører vekttap av mer enn 15% begrunnes godt, og at det søkes om godkjenning. Så lenge ingen andre faktorer er endret, må tillatelse også innhentes for fasting som er lengre enn 16 timer hos mus, hamstre og rotter under 100g, samt for fasteperioder lengre enn 24 timer for bl.a. kaniner og rotter over 100g. Fasting bør unngås i det hele tatt hos marsvin, ilder og spissmus.
2. Det amerikanske Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS, 1997) har utgitt policy-dokumenter om bl.a. prosedyrer som kan være smertevoldende. De skriver at fravær av fôr eller vann utover det som er nødvendig for normale kirurgiske forberedelser kan være eksempler på prosedyrer som skaper mer enn forbigående eller mild stress.
3. I sine interne retningslinjer siterer amerikanske forsøksdyravdelinger ofte en bibliografi utarbeidet av Animal Welfare Information Center (AWIC, 2005). Retningslinjene forventer at det innhentes godkjenning for studier hvor det forventes et vekttap som er større enn 15%.
4. The IACUC Handbook (Silverman *et al.*, 2006) har lignende retningslinjer og siterer erfaringer med å gi halvparten av en rottes dagsrasjon om ettermiddagen, slik at den har spist opp innen 03-tiden om natten. Håndboken presiserer at tarmsystemet ikke vil være tomt, på grunn av koprofagien.
5. Retningslinjene fra OECD for toksisitetstesting (akutt oral toksisitet, www.oecd.org/dataoecd/17/51/1948378.pdf) inneholder detaljerte forslag til fremgangsmåten:

Animals should be fasted prior to dosing (e.g., with the rat, food but not water should be withheld overnight; with the mouse, food but not water should be withheld for 3-4 hours). Following the period of fasting, the animals should be weighed and the test substance administered. The fasted body weight of each animal is determined and the dose is calculated according to the body weight. After the substance has been administered, food may be withheld for a further 3-4 hours in rats or 1-2 hours in mice. Where a dose is administered in fractions over a period of time, it may be necessary to provide the animals with food and water depending on the length of the period.

Det bør bemerkes at denne teksten benytter ordene 'should' og 'may', istedenfor absolutte krav.

Matsuzawa & Sakazume (1994) påpeker at mange retningslinjer for regulatorisk toksisitetstesting krever fasting over natten både for rotter og ikke-gnagere før blodprøvetaking. De dokumenterer effektene av 16 timers fasting på en rekke blodverdier. Forfatterne konkluderer at fasting bør avgjøres i hvert enkelt tilfelle, og ikke lenger bør være et uniformt krav i toksisitetstesting.

Alternativer til fasting

Dette notatet har allerede nevnt flere tiltak som kan føre til at fasteperioden kan reduseres eller utelates. Pilotstudier bør også foretas for å se om det er nødvendig i det hele tatt.

Prior *et al.* (2009) beskriver en raffinering av kull-testen (Charcoal meal test), hvor gnagere rutinemessig fastes over natten (18-24 timer), for så å bli dosert med et potensielt nytt preparat mot diaré eller obstipasjon, og deretter gitt aktivt kull oralt. Dyrene ble avlivet 15 minutter senere for måling av graden av magetømming og intestinal bevegelse. Forfatterne fastet dyrene i henholdsvis 0, 3, 6 og 18 timer før dosering med et kontrollstoff (vann) eller en kjent hemmer av magemotilitet (atropin), for så å gi dyrene kull en time senere.

Resultatene fra dyrene som ble fastet i 6 timer var sammenlignbare med de fra dyrene som ble fastet over natten, dog med mindre vekttap og aggresjon, noe som gjorde det mulig å oppstalle dyrene i grupper.

Levine & Saltzman (1998) nevner gode erfaringer med bruk av sukkerløsninger til dyr i fastetiden for å unngå sultfølelsen.

The IACUC Handbook (Silverman *et al.*, 2006) siterer forsøk på rotter der halvparten av dagsrasjonen ble gitt om ettermiddagen, slik at den var spist opp innen 03-tiden. Håndboken presiserer at tarmsystemet ikke vil være tømt på grunn av koprofagien.

Norecopas anbefalinger

1. Det kan være urealistisk å regne med at man kan utarbeide én standard som dekker alle tilfeller der fasting er aktuelt, men det bør være en betingelse at de fysiologiske og adferdsmessige konsekvensene av fastingen på den aktuelle arten og aldersgruppe er kjent.
2. I alle studier der fasting foreslås, f.eks. før peroral administrasjon, bør behovet for fastingen, graden og varigheten av fasteperioden samt de potensielle konsekvensene for dyrene utredes grundig, om nødvendig ved hjelp av egne pilotforsøk dersom litteraturen er mangelfull. Vurderingene bør foretas av personer som kjenner dyreartene og gjerne også de aktuelle individene godt.
3. Plutselig og uventet fasting bør unngås. Gradvis tilvenning til perioder uten førtilgang, eller til fôrrestriksjoner, tolereres trolig mye bedre.
4. Fasteperioden bør helst være på dagtid, når dyrene spiser mindre mat. Det kan godt hende at tilstrekkelig tømming av magetarmtraktus oppnås etter ca. 6-8 timers faste, slik at forsøket kan begynne på ettermiddagen eller kvelden samme dag.
5. Fasting på 15 timer eller mer bør betraktes som dyreforsøk og bør søkes om på vanlig måte. *Dette gjelder også fasting hvor det er en reell fare for at dyrene kommer til å stå uten tilgang på mat i 15 timer eller mer, f.eks. i situasjoner der ventetiden kan bli lenger enn antatt.* Det må allikevel kunne være opp til den lokale ansvarshavende å avgjøre om en periode med fasting faller inn under definisjonen av dyreforsøk eller begrepet unødig belastning.
6. Enhver fasting (uansett varigheten) bør betraktes som unntaket, ikke regelen, og en tungtveiende vitenskapelig begrunnelse bør foreligge. Begrunnelser basert på praktiske hensyn til operatørene, for å unngå overtidsutbetaling eller fordi det er lange tradisjoner for å faste, er ikke tilstrekkelige.

7. Avgjørelsen bør tas i samarbeid mellom forsøksdyrteknikerne, forskerne, veterinæren og den lokale etiske komitéen.
8. Kryssende hensyn mellom studiets krav og dyrevelferd bør diskuteres. Det må være klart hvem som har det siste ordet dersom konsensus ikke kan oppnås. Under dagens norske system bør dette være den lokale ansvarshavende, eventuelt Forsøksdyrutvalget. Tvil bør komme dyrene til gode.
9. Energitilskudd i fasteperioden, f.eks. i form av en sukkerløsning, bør gis hvor mulig, for å tilfredsstille dyrets energibehov.
10. Tilstrekkelig stell og tilsyn bør etableres og iverksettes. Studier som innebærer fasting bør legges til perioder når det er tilstrekkelig teknisk og vitenskapelig bemanning, for å kunne reagere raskest mulig dersom dyrene oppfører seg anderledes enn forventet.
11. Indikatorer, helst ved bruk av kontinuerlige data (f.eks. vekttag i gram, glykogenlagre i leverceller o.l.) bør identifiseres og brukes aktivt for å kunne følge effekten av fastingen på dyret.
12. Et eller flere humane endepunktet må fastsettes, og disse må brukes aktivt under forsøket, spesielt hvis dyret nærmer seg grensene som er satt opp for forsøket.

Referanser

- Albee RR, Mattsson JL, Yano BL & Chang LW (1987): Neurobehavioral effects of dietary restriction in rats. *Neurotoxicology and Teratology* **9**: 203-11.
- Allaben WT, Turturro A, Leakey JEA, Seng JE & Hart RW (1996): FDA points-to-consider-documents: the need for dietary control for the reduction of experimental variability within animal assays and the use of dietary restriction to achieve dietary control. *Toxicologic Pathology* **24**: 776-781.
- APHIS (1997): Policy #11, Animal Care Resource Guide.
http://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/downloads/policy/policy11.pdf
- Animal Welfare Information Center (2005): Food Deprivation or Water Deprivation.
<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/IACUC/food.htm>
- Bjørntorp P & Yang M (1982): Refeeding after fasting in the rat: effects on body composition and food efficiency. *American Journal of Clinical Nutrition* **36**: 444-449.
- Claassen V (1994): Neglected Factors in Pharmacology and Neuroscience Research: Biopharmaceutics, Animal Characteristics, Maintenance, Testing Conditions. Elsevier. ISBN 0-444-81907-X
- Dohm GL, Tapscott EB, Barakat HA & Kasperek GJ (1983): Influence of fasting on glycogen depletion in rats during exercise. *Journal of Applied Physiology* **55**: 830-833.
- Friedman MI & Stricker EM (1976): The physiological psychology of hunger: a physiological perspective. *Psychological Review* **83**: 409-431.
- Home Office (2003): Home Office Guidance Note on Water and Food Restriction for Scientific Purposes. <http://scienceandresearch.homeoffice.gov.uk/animal-research/publications-and-reference/publications/code-of-practice/housing-of-animals-breeding/waterfoodguidance.pdf>
- Levine S & Saltzman A (1998). An alternative to overnight withholding of food from rats. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* **37**: 59-61.

Matsuzawa T & Sakazume M (1994): Effects of fasting on hematology and clinical chemistry values in the rat and dog. *Comparative Haematology* 4:152-156.

Palou A, Remesar X, Arola LI, Herrera E & Alemany M (1981): Metabolic effects of short term food deprivation in the rat. *Hormone and Metabolic Research* 13: 326-330.

Penicaud L & Le Magnen J (1980): Recovery of body weight following starvation or food restriction in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews Rev.* 4: Suppl 1, 47-52.

Prior H, Pimlott P, Fantham L, Ewart L, Healing G & Valentin J-P (2009): Refinement of a standard gastrointestinal (charcoal meal) study.
<http://www.nc3rs.org.uk/downloaddoc.asp?id=868>

Rowland NE (2007): Food or fluid restriction in common laboratory animals: balancing welfare considerations with scientific inquiry. *Comparative Medicine* 57: 149-160.

Silverman J, Suckow MA & Murthy S (2006): *The IACUC Handbook*. CRC Press. ISBN 978-0-8493-4010-9.

Strubbe JH, Keijser JT, Dijkstra T & Prins AB (1986): Interaction between circadian and caloric control of feeding behaviour in the rat. *Physiology &/ Behaviour* 36: 489-493.

Toth LA & Gardiner TW (2000): Food and water restriction protocols: physiological and behavioral considerations. *Contemporary Topics* 39: 9-17.

Vermeulen JK, De Vries A; Schlingmann F & Remie R (1997): Food deprivation: common sense or nonsense? *Animal Technology* 48: 45-54.

Wingfield JC & Kitaysky AS (2002): Endocrine Responses to Unpredictable Environmental Events: Stress or Anti-Stress Hormones? *Integrative and Comparative Biology* 42:600-609.