

Acklimatisering av zebrafiskar inför försök

Ett stödmaterial från Sveriges 3R-center



Foto: USER_59395, Mostphotos

Innehåll

Bakgrund	3
Inledning	4
Att ta hänsyn till vid acklimatisering av zebrafiskar	6
Vad säger forskning och beprövad erfarenhet om acklimatisering av zebrafisk?	7
När och hur acklimatiseras zebrafiskar i Sverige?	10
Enkätstudie om acklimatisering i Sverige	12
Slutsats	14
Referenser	15

Bakgrund

Det här dokumentet ingår i en serie om acklimatisering som Sveriges 3R-center har tagit fram på uppdrag av Sveriges nationella kommitté för skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål. Serien består av tre delar med fokus på möss, råttor och zebrafiskar. Den här delen är avsedd för alla som arbetar med zebrafiskar som försöksdjur och kan användas som stöd till de skriftliga rutiner som det finns krav på enligt Europaparlamentets och rådets direktiv (2010/63/EU), samt enligt 16 kap. 7 §, Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (2019:9) om försöksdjur.

Materialet har sin grund i vetenskaplig litteratur och den svenska djurskyddslagstiftningen. Utöver det har Sveriges 3R-center, i samarbete med veterinärstudenter vid Sveriges lantbruksuniversitet, samlat in erfarenheter från personer och organisationer som arbetar med möss, råttor och zebrafiskar som försöksdjur i Sverige. Insamlingen gjordes via en enkätstudie i syfte att få en bild av hur acklimatisering genomförs i svenska försöksdjursverksamheter. I slutet av materialet redovisas de referenser som har använts i sammanställningen. Använd gärna referenslistan för att få djupare och mer detaljerad information om det vi tar upp. Du är också välkommen att kontakta Sveriges 3R-center vid ytterligare frågor.

Inledning

Acklimatisering är ett begrepp som kan användas i många olika sammanhang. I detta dokument använder vi begreppet för att beskriva den process som kroppen går igenom för att anpassa sig till förändringar som ofta är kopplade till miljön. Under en acklimatiseringsperiod ges djuret möjlighet att återhämta sig från den stress som en förändring innebär och anpassa sig fysiologiskt till de nya förutsättningarna. Acklimatisering har betydelse både för djurens välfärd och för säkrare forskningsresultat. Hur lång tid acklimatiseringsprocessen tar beror på flera olika faktorer, såsom orsaken till stressen, villkoren i den nya miljön och djurets individuella förutsättningar.

Enligt Europaparlamentets och rådets direktiv (2010/63/EU) om skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål, bilaga III punkt 3.1.a ska introduktion av nya djur omfattas av den hälsostrategi som alla anläggningar ska ha, och i punkt 3.7 ställs krav på att anläggningarna ska ha tillvänjningsprogram för djuren. Vidare anger Kommissionens rekommendation av den 18 juni 2007 om riktlinjer för hållande och skötsel av djur som används för försök och andra vetenskapliga ändamål (2007/526/EG), allmän del, 4.4 att det behövs en period för acklimatisering när försöksdjur ska kunna återhämta sig efter transport, vänja sig vid en ny miljö och vid införande av nya tillsyns- eller skötselrutiner. En acklimatiseringsperiod ska enligt kommissionens rekommendation genomföras även om djuren upplevs vara vid god hälsa. Hur lång tid som krävs beror på vad djuren har utsatts för. Det kan till exempel krävas en längre acklimatiseringsperiod efter långa internationella transporter som stör djurens dygnsrytm jämfört med efter kortare transporter inom landet.

I 16 kap. 7 §, Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (2019:9) om försöksdjur, framgår det att det ska finnas en skriftlig plan för bedömning av försöksdjurens fysiska och psykiska välbefinnande. Planen ska även inkludera tillvänjnings- och träningsprogram anpassade för de aktuella försöksdjuren och djurförsöken. Denna plan ska tas fram av en försöksdjursveterinär eller, i förekommande fall, av en expert. Om en etolog finns knuten till verksamheten ska planen tas fram i samråd med denne. Det finns alltså krav på att försöksdjur ska acklimatiseras, men eftersom det inte framgår hur acklimatiseringen ska genomföras varierar tillvägagångssätten mellan olika organisationer i Sverige.

Vad är stress?

Det är känt att stressade försöksdjur kan påverka forskningsresultaten negativt. Hos ett stressat djur påverkas flera olika fysiologiska funktioner och system vilket leder till en ökad variation av resultaten. Till exempel ökar nivåerna av adrenalin, noradrenalin, kortisol och kortikosteron i blodet. Dessa hormoner utsöndras till viss del i ostressat tillstånd, men produktionen ökar i stressade situationer för att göra kroppen redo att fly eller slåss. Stress under en längre period påverkar dessutom

djurets förmåga att upprätthålla kroppens balans, vilket påverkar immunförsvaret negativt och ökar risken att djuret drabbas av en sjukdom.

Stress är ett svårdefinierat begrepp. Vanligen menas det svar kroppen har på en extern påfrestning, en så kallad stressor. Svaret kan vara både fysiologiskt och beteendemässigt. Stressorer kan vara en mängd olika saker och vad som utgör en stressor kan skilja sig åt mellan olika individer. Exempel på stressorer är social hierarki, en sårskada, utmattning, eller svårighet att hantera omgivningens temperatur. Ofta kan stress kopplas till en förändring i djurets miljö som djuret försöker hantera. Stress behöver inte vara negativ, men långvarig eller kraftig stress kan påverka individen negativt, särskilt om individen saknar kontroll över situationen.

Det finns ett antal olika parametrar som kan användas för att mäta stress hos en fisk, såsom nivåer av glukos och hormonerna kortisol och kortikosteron i blodet, djurets beteende, reproduktionsförmåga eller förändrad konsumtion av foder. Hos zebrafiskar kan kortisol mätas genom att avliva fisken och extrahera kortisol från fiskens vävnader, denna metod förekommer vanligen för yngel och små fiskar. En annan metod är att mäta kortisol som fiskarna släpper ut i vattnet via gälarna. Beteenden som zebrafiskar uppvisar som tyder på stress kan vara ett oregelbundet sim-mönster, att fiskarna visar lite eller inget intresse för foder och att de endast håller sig till botten av akvariet. För att kunna skapa sig en god bild är det nödvändigt att bedöma flera parametrar hos djuret. Att till exempel göra bedömningen endast med hjälp av kortisol har visat sig vara svårt. Vid endast en mätning av kortisol är det oklart vad som faktiskt mäts eftersom kortisol normalt finns i kroppen och kortisol har visat sig kunna vara en indikation på zebrafiskens upplevelse och allmänna välfärd, snarare än bara en stressrespons. Hos andra fiskarter har acklimatisering av kortisolnivåer dessutom visats vara beroende av vattnets temperatur.

Att ta hänsyn till vid acklimatisering av zebrafiskar

För att zebrafiskar ska må bra och ge tillförlitliga resultat i studier efter stressande händelser finns det flera faktorer som behöver hållas i åtanke vid planering av acklimatisering och invänjning till nya rutiner. Sådana faktorer inkluderar:

- Vad fiskarna har varit med om och hur de förberetts för detta.
- Vad forskningen syftar till och vilka parametrar som krävs.
- Hur snabbt fiskarna flyttas in i akvariet efter transport.
- Vattenparametrar inkluderat temperatur, konduktivitet (salthalt), pH, hårdhet (KH), ammoniak (NH_3) och ammonium (NH_4).
- Hantering.

Vi berör dessa faktorer nedan.

Andra faktorer som troligen påverkar behovet av acklimatiseringens längd inkluderar:

- Förändringar gällande rutiner, foder och miljöns utformning.
- Dygnsrytm och ljusstyrka.
- Djurens kön och ålder.
- Omgruppering.

Vad säger forskning och beprövad erfarenhet om acklimatisering av zebrafisk?

Den vetenskapliga litteraturen som behandlar ämnet acklimatisering av zebrafiskar inför försök är mycket begränsad. Förutom vetenskaplig litteratur om zebrafiskar är den här delen därför till stor del baserad på beprövad erfarenhet om zebrafiskar och forskning på andra fiskarter. Därav kan den här delen ge en indikation på acklimatisering av zebrafiskar inför försök, men ger troligen inte en helt rättvis bild, vilket läsare bör ha i åtanke.

Acklimatisering vid ändring av vattenparametrar

Vattenlevande djur kan vara känsliga för skillnader i vattnet, såsom nivå av salthalt, mineralsammansättning, temperatur och surhetsnivå. Acklimatisering av fiskar har därför centrerats mycket runt deras fysiologiska anpassning till en ny vattenkvalitet för att optimera överlevnad direkt efter en flytt. Zebrafiskar har till exempel visat sig ha stor förmåga att anpassa sig till förändringar i vattnets hårdhet (mängden mineraler i vattnet), men med förändringar i gälarna till följd. Studien som upptäckte detta visade bland annat att olika genuttryck i gälarna ändrades vid vattenförändringen och att det krävdes omkring 7 dagars acklimatisering för de flesta av dessa värden att återgå till normala nivåer efter att fiskarna sakta fått vänja sig till ändrad hårdhet under 7 dagar. För vissa värden som mättes visade det sig inte vara tillräckligt med 14 dagars acklimatisering efter invänjningen till det nya vattnet. Författarna konstaterade därför att acklimatiseringen måste vara noga genomtänkt innan försök om vattnets hårdhet ska förändras.

Uppackning av zebrafiskar

Under transport försämras kvaliteten på transportvattnet eftersom fiskarna förbrukar syre och andelen koldioxid ökar, vilket leder till en försurning av vattnet. Försurningen är till viss del fördelaktig då den skiftar jämvikten från den mycket giftiga ojoniserade ammoniak (NH₃) till den betydligt mindre giftiga joniserade formen ammonium (NH₄⁺). När transportpåsen öppnas frigörs koldioxiden och vattnets pH ökar. Jämvikten skiftar då tillbaka mot den giftiga ojoniserade ammoniak vilket allvarligt kan skada, eller till och med döda, fisken. För den som arbetar med fiskar är det därför viktigt att ha kunskaper inom grundläggande vattenkemi.

Följande bör göras för en så säker uppackning som möjligt:

- Temperaturen i transportpåsen ska långsamt justeras så att den överensstämmer med temperaturen i systemet som fiskarna ska flyttas till.

Detta görs lämpligen genom att placera den fortfarande förslutna transportpåsen i ett vattenbad eller liknande.

- När vattentemperaturen är justerad ska transportpåsen öppnas och fiskarna snabbt flyttas över till ett akvarium som innehåller anläggningens vatten med hjälp av en håv. Vatten från transportpåsen ska undvikas att tas med till det nya akvariet i så stor utsträckning som möjligt.
- Vattnet som fisken har transporterats i ska desinficeras och sedan kasseras enligt gällande regler och föreskrifter.

Acklimatisering efter transport

Forskning har visat att både yngel och vuxna zebrafiskar uppvisar ett flertal tecken på stress i samband med transport, vilket indikerar att de blir starkt stressade av detta. Till följd av tecknen på stress bör fiskarna acklimatiseras innan de hanteras, används i avel eller ingår i försök. De fåtal vetenskapliga studier och andra publiceringar som behandlar ämnet acklimatisering av zebrafiskar hävdar att det behövs en acklimatiseringsperiod som är 2–5 veckor lång. Längden av acklimatisering som behövs korrelerar troligen med tiden som fisken har spenderat i transportpåsen. För fiskar som har transporterats korta sträckor, till exempel inom en anläggning, räcker det troligen med några dagars acklimatisering innan de kan användas i forskning. Däremot kan zebrafiskar som transporteras nationellt och internationellt behöva ett flertal veckors acklimatisering.

En studie gjord på afrikanska vandrarmalar (*Clarias gariepinus*) som transporterades i 3 timmar visade att transport höjde nivåerna av kortisol i plasman. Det tog sedan 48 timmar för nivåerna att återgå till det normala. Studier av tambaqui (*Colossoma macropomum*) som transporterats i 8 timmar har visat att både nivåer av kortisol och glukos i plasman höjs under transport. För glukos hade nivåerna minskat drastiskt efter 24 timmar och var tillbaka på basnivå efter 72 timmar. Nivåerna av kortisol hade däremot fortfarande inte återgått till basnivå efter 96 timmar när försöket avslutades. I ett annat försök transporterade man abborrar (*Perca fluviatilis*) i 4 timmar. Efter transporten dröjde det mellan 7 och 14 dagar innan basnivåer av kortisol och glukos återställdes. Samma försök uppmätte också de högsta nivåerna av kortisol och glukos 2 dagar efter transport.

Åtgärder för att minska behovet av acklimatisering

Det är möjligt att behovet av acklimatisering kan minskas med hjälp av olika åtgärder inför transport. Till exempel behöver zebrafiskar kortare tid till acklimatisering efter en 72 timmar lång transport om nitrifikationsbakterier tillsätts i transportvattnet. Forskning på olika fiskarter har också visat att hudproblem och dödlighet minskar om salt tillsätts i transportvattnet. Dessutom har en studie gjord på kungslaxar (*Oncorhynchus tshawytscha*) visat att stressresponsen i form av glukos, kortisol och laktaskoncentrationer, och därmed tiden som behövs för acklimatisering, kan minskas genom att träna fiskar med positiv förstärkning innan transport. Fiskar som hade tränats till att associera obehagliga omständigheter

innan transport med utfodring uppvisade också bättre chanser till överlevnad i samband med transporten.

Även hur snabbt invänjning till det nya vattnet görs kan påverka den längd av acklimatisering fiskarna behöver. I ett forskningsprojekt på fiskarten tambaqui visade man att om fiskarna fick 30 minuter att vänja sig vid det nya vattnet återgick uppmätta värden till normala nivåer snabbare än om de gavs 0 eller 60 minuter till att vänja sig vid vattnet. Förflyttning till det nya vattnet bör därmed ske snabbt, men inte helt utan invänjning. Se avsnitt om uppackning av zebrafiskar ovan för mer information.

Acklimatisering efter hantering

Hantering, i synnerhet om den innebär att fisken tas upp i luft, är mycket stressande för fiskar och bör följas av en tids acklimatisering om stressrespons inte är av intresse för forskningen. Zebrafiskar har visat att de snabbt reagerar på att bli jagade och fångade med håv. Efter 15 minuter uppmättes kraftigt förhöjda kortisolnivåer, som nådde en topp efter 30 minuter och var tillbaka på basnivå först efter 2 timmar. Under denna tid uppmättes också skillnader i uttryck av olika typer av mRNA. Studier som undersökt hur kortisol varierar efter hantering av abborre (*Perca fluviatilis*) och afrikansk vandarmal (*Clarias gariepinus*) uppmätte att det tog 4, respektive 6 timmar för nivåerna av kortisol att återgå till det normala.

I en studie gjord på östlig moskitfisk (*Gambusia holbrooki*) kom man fram till att det tar 3–4 timmar för fiskarnas beteende att stabiliseras inför ett beteendeförsök som inleddes med att fiskarna flyttades till mindre, enskilda, behållare. Under acklimatiseringen simmade fiskarna snabbare och gjorde färre långsamma svängningar än normalt. Den litteraturstudie som gjordes i samband med försöket visade att de flesta forskare som gjorde liknande tester acklimatiserade fiskarna i mindre än en timme, vilket därmed kan ha gett felaktiga resultat.

Hos kungslaxar har man också sett att temperaturen fiskarna bor i kan påverka kroppens reaktion på stress. I studien blev glukosnivåer hos hanterade laxar som bodde i varmare vatten högre än hos de som bor i kallare vatten och även om kortisolnivåerna ökade liknande oavsett vattentemperatur minskade de långsammast hos laxar som bodde i kallare vatten. När de istället höll fiskarna instängda en längre tid ökade kortisolnivåerna snabbast och glukosnivåerna blev högre hos fiskar i varmare vatten jämfört med fiskar som bodde i kallare vatten.

När och hur acklimatiseras zebrafiskar i Sverige?

I en enkätstudie om acklimatisering genomförd på initiativ från Sveriges 3R-center slutförde 10 personer enkäten som innehöll frågor om zebrafiskar. Det relativt låga antalet svarande, i kombination med att det inte framgår vilken verksamhet de svarande tillhör, bör beaktas när slutsatser dras. Syftet med enkäten var att undersöka när och hur acklimatisering av zebrafiskar genomfördes i Sverige.

Zebrafiskar acklimatiseras oftast vid ankomst till en ny anläggning

Deltagare som svarade ja på frågan **Acklimatiseras zebrafiskar vid ankomst till din anläggning?** fick möjlighet att i fritext beskriva hur länge deras zebrafiskar acklimatiserades. Det var sex deltagare (60%) som svarade ja på frågan och beskrev acklimatiseringsperiodens längd. De svarande acklimatiserade alla sina zebrafiskar i minst en veckas tid efter ankomst men ofta längre än så, upp till flera månader. Övriga svarande acklimatiserade inte zebrafiskar vid ankomst till anläggningen, kände inte till om det genomfördes på deras anläggning eller valde att inte besvara frågan.

När deltagarna i enkäten fick frågan **Acklimatiseras zebrafiskar vid omgruppering på din anläggning?** Var det tre stycken (30%) som svarade ja på frågan och beskrev acklimatiseringsperiodens längd. De svarande acklimatiserade sina zebrafiskar i en till två veckor vid omgruppering. Övriga svarande acklimatiserade inte zebrafiskar vid omgruppering, kände inte till om det genomfördes på deras anläggning eller valde att inte besvara frågan.

På frågan **Acklimatiseras zebrafiskar vid flytt inom er anläggning?** Var det två deltagare (20%) som svarade ja på frågan och beskrev acklimatiseringsperiodens längd. Båda de svarande acklimatiserade sina zebrafiskar i minst en veckas tid efter flytt inom anläggningen. Övriga svarande acklimatiserade inte zebrafiskar vid flytt inom anläggningen, kände inte till om det genomfördes på deras anläggning eller valde att inte besvara frågan

Det fanns två deltagare (20%) som svarade ja på frågan **Acklimatiseras zebrafiskar vid förändring av dygnsrytm på din anläggning?** En av de svarande acklimatiserade under två veckor. Den andra svarande beskrev att en förändring av dygnsrytmen skedde gradvis, med två till tre timmar per dag, för att ge möjlighet till acklimatisering. Övriga svarande acklimatiserade inte zebrafiskar vid förändrad dygnsrytm, kände inte till om det genomfördes på deras anläggning eller valde att inte besvara frågan.

Uppackning och uppväxt är viktiga faktorer för hur zebrafiskar acklimatiseras

Enkättagarna fick möjlighet att i fritext kortfattat beskriva hur de genomförde acklimatisering av zebrafisk. Vi fick in sex beskrivningar av tillvägagångssätt, dessa listas nedan.

- De sätts i tankar och får växa till sig innan de sätts i avel eller försök.
- Det beror på vattenparametrarna, jag ändrar parametrarna långsamt under ca en veckas tid. Om det handlar om embryon så flyttas de direkt till den nya miljön.
- Vi har dem en vecka i sina hemakvarier innan vi påbörjar experiment. Nästan alltid handlar det dock om att fiskarna föds upp inom faciliteten och används sedan som vuxna i experiment, och perioden från fertilisering till experimentet påbörjas är den perioden jag tänker på som acklimatiseringen.
- Vid nyinköp till anläggning kommer fiskarna i påsar. Dessa läggs i avsedda akvarier för temperatur-acklimatisering. Påsarna öppnas och vattenbyte sker succesivt i påsarna under några timmar för anpassning till rådande vattenkvalitet. Vid försök används samma vatten som i djurhållningen så anpassning till ny vattenkvalitet är inte nödvändig. Vid flytt till försöksakvarier acklimatiseras fiskarna under något dygn innan försöksstart.
- Vuxna fiskar ankommer i påsar. Påsarna placeras i akvarievatten tills temperaturen överensstämmer. Efter det flyttas fiskarna med en håv över till akvariet. Vattnet som fiskarna transporterades i desinficeras och hälls sedan ut, det töms inte i akvariet på grund av biosäkerhet och de stresshormoner som finns kvar efter transporten.
- Fisken lämnas ifred med normal utfodring etcetera i den nya miljön.

Enkätstudie om acklimatisering i Sverige

Enkätstudien som undersökte hur olika djur acklimatiseras i Sverige genomfördes under hösten år 2022. Enkäten skickades ut till de nätverk av djurskyddsorgan, försöksdjursveterinärer och djurtekniker som Sveriges 3R-center har kontakt med. Enkäten sändes även till de försöksledare som under åren 2018–2022 fått etiskt tillstånd beviljat för försök på något av de aktuella djurslagen. Mottagarna kunde sprida enkäten vidare eftersom länkarna inte var personliga. Enkäten fanns tillgänglig på både svenska och engelska. Tre versioner av enkäten fanns där mottagaren uppmanades svara för de djurslag hen arbetade med, möss, råttor eller zebrafiskar. Frågorna var desamma för alla versioner. Alla svar var anonyma och det går därmed inte att avgöra om flera svar kom in från samma verksamhet. Totalt slutförde 153 personer enkäten, varav 105 personer svarade gällande möss, 38 personer gällande råttor och 10 personer gällande zebrafisk. En stor majoritet av de svarande var forskare, se tabell 1. De två näst största grupperna bestod av försöksdjurstekniker eller djurvårdare samt försöksdjursveterinärer.

Tabell 1. Fördelningen av de svarandes arbetsroller.

Arbetsroll	Antal svarande
Forskare	108
Försöksdjurstekniker eller djurvårdare	15
Försöksdjursveterinär	11
Laboratorietekniker eller biomedicinsk analytiker	8
Föreståndare för djurens välbefinnande och skötsel	7
Djurhuschef	2
Tillståndshavare	1
Annat	1
Totalt	153

Skriftlig plan för acklimatisering

Enligt Nationella djurskyddsrapporten 2022 är en av de vanligaste förekommande bristerna vid fysiska kontroller inom försöksdjursområdet kopplade till kontrollpunkten ”Det finns skriftliga planer om förebyggande djurhälsovård, djurskyddsrelaterade åtgärder samt bedömning av försöksdjurens fysiska och psykiska välbefinnande”. I den kontrollpunkten ingår den skriftliga planen för acklimatisering. Även svaren från vår enkätstudie tyder på att det kan finnas brister i den skriftliga planen för acklimatisering. Bristerna kan enligt enkätstudien finnas i planens utformning och tillgänglighet, samt i tillämpningen av planen. Ett flertal av de svarande var osäkra på vad den skriftliga planen innehöll och var den gick att hitta. På frågan om vilka typer av källor som ligger bakom den skriftliga planen för acklimatisering tydde enkäten på att egna erfarenheter var den vanligaste källan. För de som svarade på enkäten var även lagstiftning och vetenskapliga studier två

viktiga resurser. En svarande beskrev specifikt att andra vetenskapliga studier inom samma område konsulterades för att tillämpa ett liknande tillvägagångssätt i syfte att öka jämförbarheten mellan studier.

Slutsats

För de som arbetar med fiskar verkar det vara allmänt känt att djuren behöver ges möjlighet att vänja sig vid nya vattenparametrar direkt efter transport. Eftersom att de flesta zebrafiskar sedan föds upp på anläggningen har vidare acklimatisering av djuren efter andra stressande händelser, så som hantering och flytt inom anläggningen, sällan gjorts. Med grund i de studier som använts i sammanställningen av detta stödmaterial verkar det dock som att acklimatisering vid fler tillfällen bör övervägas och studeras vidare.

Vetenskaplig kunskap om acklimatisering av zebrafiskar inför försök är fram till idag dåligt undersökt. Trots det bör varje forskare säkerställa att de zebrafiskar de använder i forskning har acklimatiserats under en tillräckligt lång tidsperiod. Det är viktigt eftersom stresspåverkade djur kan påverka forskningsresultat negativt. Baserat på kunskapen vi uppmärksammat i detta stödmaterial är det inte självklart hur länge zebrafiskar bör acklimatiseras, men studier föreslår 2–5 veckor efter transport.

Efter hantering finns det inga rekommendationer för acklimatisering av zebrafisk, men baserat på andra små fiskarter och beroende på vilken typ av studie fisken ska användas till, bör sådan acklimatisering ske i 3–6 timmar. Det är också möjligt att fiskar kan behöva kortare tid för acklimatisering om de tränas och vänjs vid det som ska hända, eller vid stressade händelser i allmänhet. Till exempel skulle träning kunna leda till att zebrafiskar inte behöver jagas lika mycket med håven, vilket är ett moment som forskning har visat ökar kortisolnivåerna i samband med hantering. Vad vi kan konstatera är att den tid som behövs för att fiskar ska acklimatiseras efter att ha blivit utsatta för stress beror på en mängd olika faktorer och en avvägning måste därför göras i varje fall.

Till sist vill vi trycka på att vetenskaplig litteratur bör konsulteras för att ge vägledning i hur stress påverkar den typ av forskning som ska genomföras. I fallet med zebrafisken är det däremot svårt att göra och kunskap om andra fiskarter eller egna studier kan därför vara till hjälp. När acklimatiseringsperiod väljs är det bra att fundera över om det kan vara tillräckligt att de parametrar som är relevanta för försöket återgår till stabila nivåer, medan andra fortsatt håller på att stabiliseras. För beteendeförsök eller andra studier av hela fisken är det troligen nödvändigt med en längre acklimatiseringsperiod för att fiskarna ska acklimatiseras fullständigt, om inte stressrespons är av intresse för försöket.

Referenser

Inledning

Bundgaard, C.J., Kalliokoski, O., Abelson, K.S. & Hau, J. (2012). Acclimatization of mice to different cage types and social groupings with respect to fecal secretion of IgA and corticosterone metabolites. *In Vivo*. 26(6): 883–888.

Europaparlamentets och rådets direktiv (2010/63/EU) om skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål.

Jordbruksverket. (2023). Nationell djurskyddsrapport 2022.

<https://www2.jordbruksverket.se/download/18.4fe886187b62c76d2340f/1682405344123/ovr647.pdf> (Hämtad 2023-11-15).

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

Vad är stress?

Abelson, K.S.P., Adem, B., Royo, F., Carlsson, H-E. & Hau, J. (2005). High plasma corticosterone levels persist during frequent automatic blood sampling in rats. *In Vivo: International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research*. 19(5): 815–819.

Aleström, P., D'Angelo, L., Midtlyng, P. J., Schorderet, D. F., Schulte-Merker, S., Sohm, F. & Warner, S. (2020). Zebrafish: Housing and husbandry recommendations. *Laboratory animals*. 54(3): 213–224.

<https://doi.org/10.1177/0023677219869037>

Deak, T., Nguyen, K.T., Fleshner, M., Watkins, L.R. & Maier, S.F. (1999). Acute stress may facilitate recovery from a subcutaneous bacterial challenge. *Neuroimmunomodulation*. 6(5): 344–354. <https://doi.org/10.1159/000026394>

Ellis, T., Yildiz, H.Y., López-Olmeda, J., Spedicato, M.T., Tort, L., Øverli, Ø. & Martins, C.I. (2012). Cortisol and finfish welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*. 38(1):163–88. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9568-y>

Félix, A. S., Faustino, A. I., Cabral, E. M. & Oliveira, R. F. (2013). Noninvasive measurement of steroid hormones in zebrafish holding-water. *Zebrafish*. 10(1): 110–115. <https://doi.org/10.1089/zeb.2012.0792>

Koolhaas, J.M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S.F., Flügge, G., Korte, S.M., Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M. & Fuchs, E. (2011). Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 35(5): 1291–1301.

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.02.003>

Levine, S. (1985). A Definition of Stress?. In: Moberg, G.P. (Red) *Animal Stress*. (s. 51-69). Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7544-6_4

Obernier, J.A. & Baldwin, R.L. (2006). Establishing an Appropriate Period of Acclimatization Following Transportation of Laboratory Animals. *ILAR Journal*. 47(4): 364–369. <https://doi.org/10.1093/ilar.47.4.364>

Pavlidis, M., Digka, N., Theodoridi, A., Campo, A., Barsakis, K., Skouradakis, G., Samaras, A., & Tsalafouta, A. (2013). Husbandry of zebrafish, *Danio rerio*, and the cortisol stress response. *Zebrafish*. 10(4): 524–31. <https://doi.org/10.1089/zeb.2012.0819>

Acklimatisering vid ändring av vattenparametrar

Craig, P. M., Wood, C. M., & McClelland, G. B. (2007). Gill membrane remodeling with soft-water acclimation in zebrafish (*Danio rerio*). *Physiological Genomics*. 30(1): 53–60. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00195.2006>

Uppackning av zebrafiskar

Aleström, P., D'Angelo, L., Midtlyng, P. J., Schorderet, D. F., Schulte-Merker, S., Sohm, F. & Warner, S. (2020). Zebrafish: Housing and husbandry recommendations. *Laboratory animals*. 54(3): 213–224. <https://doi.org/10.1177/0023677219869037>

Cartner, S.C., Eisen, J.S., Farmer, S.C., Guillemin, K.J., Kent, M.L. & Sanders, G.W. (2020). The Zebrafish in Biomedical Research. *Academic Press*. ISBN: 978-0-12-812431-4. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-02488-9>

Acklimatisering efter transport

Acerete, L., Balasch, J.C., Espinosa, E., Josa, A., & Tort, L. (2004). Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*. 237: 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.018>

Cartner, S.C., Eisen, J.S., Farmer, S.C., Guillemin, K.J., Kent, M.L. & Sanders, G.W. (2020). The Zebrafish in Biomedical Research. *Academic Press*. ISBN: 978-0-12-812431-4. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-02488-9>

Dhanasiri, A.K., Fernandes, J.M. & Kiron, V. (2013). Liver transcriptome changes in zebrafish during acclimation to transport-associated stress. *PLoS One*. 8(6): e65028. <https://doi.org/10.1089/zeb.2012.0843>

Manuel, R., Boerrigter, J., Roques, J., van der Heul, J., Van den Bos, R., Flik, G. & van de vis, H. (2013). Stress in African catfish (*Clarias gariepinus*) following overland transportation. *Fish physiology and biochemistry*. 40: 33–44. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9821-7>

Paixão, P.E.G., Filho, R.M.N., Santos, C.C.M., Madi R.R., Abe, H.A., do Couto, M.V.S., Santos, H.L., Santana, F.S., Carvalho, A.S., Araujo, J.M., Carneiro, P.C.F. & Fujimoto, R.Y. (2024) Acclimation procedure: a neglected good management practice to mitigate post-transport stress in fish. *Aquaculture International*.
<https://doi.org/10.1007/s10499-024-01539-8>

Åtgärder för att minska behovet av acklimatisering

Dhanasiri, A. K., Fernandes, J. M. & Kiron, V. (2013). Acclimation of zebrafish to transport stress. *Zebrafish*. 10(1): 87–98. <https://doi.org/10.1089/zeb.2012.0843>

Paixão, P.E.G., Filho, R.M.N., Santos, C.C.M., Madi R.R., Abe, H.A., do Couto, M.V.S., Santos, H.L., Santana, F.S., Carvalho, A.S., Araujo, J.M., Carneiro, P.C.F. & Fujimoto, R.Y. (2024) Acclimation procedure: a neglected good management practice to mitigate post-transport stress in fish. *Aquaculture International*.
<https://doi.org/10.1007/s10499-024-01539-8>

Schreck, C. B., Jonsson, L., Feist, G. & Reno, P. (1995). Conditioning improves performance of juvenile Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, to transportation stress. *Aquaculture* 135:99–110. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01018-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01018-1)

Acklimatisering efter hantering

Acerete, L., Balasch, J.C., Espinosa, E., Josa, A., & Tort, L. (2004). Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*. 237: 167–178.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.018>

Barton, B.A. & Schreck, C.B. (1987). Influence of acclimation temperature on interrenal and carbohydrate stress responses in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*. 62 (3–4): 299–310.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90172-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90172-4).

Manuel, R., Boerrigter, J., Roques, J., van der Heul, J., Van den Bos, R., Flik, G. & van de vis, H. (2013). Stress in African catfish (*Clarias gariepinus*) following overland transportation. *Fish physiology and biochemistry*. 40: 33–44.
<https://doi.org/10.1007/s10695-013-9821-7>

Melvin, S.D., Petit, M.A., Duvignacq, M.C. & Sumpter, J.P. (2017). Towards improved behavioural testing in aquatic toxicology: Acclimation and observation times are important factors when designing behavioural tests with fish. *Chemosphere*. 180: 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.058>

Pavlidis, M., Theodoridi, A. & Tsalafouta, A. (2015). Neuroendocrine regulation of the stress response in adult zebrafish, *Danio rerio*. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 60: 121–131.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.02.014>



SVERIGES 3R-CENTER

Sveriges 3R-center

551 82 Jönköping

Telefon 0771-223 223

3Rcenter@jordbruksverket.se

www.jordbruksverket.se/3R