



# Hjärtfrekvens och kortisolkoncentration hos valpar under olika typer av valptest

*Heart rate and cortisol concentration in puppies during different types of puppy tests*

**Maria Ericsson**



---

Sveriges Lantbruksuniversitet  
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa  
Avdelningen för Djurskydd, Box 7038, Uppsala

Uppsala 2006

Studentarbete 58

*Swedish University of Agricultural Sciences  
Department of Animal Environment and Health  
Section of Animal Welfare, Box 7038, Uppsala*

*Student report 58*

ISSN 1652-280X



# Hjärtfrekvens och kortisolkoncentration hos valpar under olika typer av valptest

*Heart rate and cortisol concentration in puppies during different types of puppy tests*

**Maria Ericsson**

---

Sveriges Lantbruksuniversitet  
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa  
Avdelningen för Djurskydd, Box 7038, Uppsala

Uppsala 2006

Studentarbete 58

*Swedish University of Agricultural Sciences  
Department of Animal Environment and Health  
Section of Animal Welfare, Box 7038, Uppsala*

*Student report 58*

ISSN 1652-280X

# **Hjärtfrekvens och kortisolkoncentration hos valpar under olika typer av valptest**

*Heart rate and cortisol concentration in puppies during different types of puppy tests*

**Maria Ericsson**

**Examensarbete, 20 poäng, Husdjursagronomprogrammet**

Handledare: Eva Sandberg, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, SLU, Kenth Svartberg, Institutionen för Anatomi och Fysiologi, SLU och Gunilla Drugge-Boholm, Institutionen för Anatomi och Fysiologi, SLU

## **Abstract**

The aim of this study was to find possible relations between behaviour and physiology for puppies during different parts of a puppy test. This work deals mainly with the physiological part of the study. Thirtysix puppies, from five litters, were tested in a behavior test where heart rate was measured and saliva samples were collected before and after each part in the test. Saliva and urine samples were analyzed for cortisol concentration as an indicator of stress. The tests were performed during two consecutive days in the breeders' home when the puppies were seven weeks old.

In addition, heart rate and cortisol levels were also measured in the bitch since we were interested in finding out if there were any relations between physiological levels in bitches and puppies. No clear relations in physiological levels between the bitch and her litter were found. However, there were differences in cortisol concentrations in saliva in both bitches and puppies, and heart rate increased significantly in the puppies in several of the test situations indicating a physiological response to the tests. In conclusion, it is obvious that the puppies were affected by the tests both behaviorally and physiologically. However it would have been interesting to repeat the study with blood sampling or with a better saliva sampling technique.

## **Innehåll**

<b>Inledning</b> .....	<b>5</b>
<b>Bakgrund</b> .....	<b>5</b>
<b>Hundars mentalitet och mentaltest</b> .....	<b>5</b>
<b>Valptester</b> .....	<b>7</b>
<b>Fysiologiska reaktioner i påfrestande situationer</b> .....	<b>8</b>
Kortisol .....	10
Hjärtfrekvens .....	11
<b>Material och metoder</b> .....	<b>12</b>
<b>Hundar</b> .....	<b>12</b>
<b>Utförande</b> .....	<b>12</b>
Dag 1 .....	13
Dag 2 .....	14
<b>Analyser</b> .....	<b>15</b>
Kortisol .....	15
Kreatinin .....	16
Statistik.....	16
<b>Resultat</b> .....	<b>17</b>
<b>Kortisol</b> .....	<b>17</b>
Saliv .....	17
Urin.....	18
<b>Hjärtfrekvens</b> .....	<b>19</b>
<b>Beteende</b> .....	<b>24</b>
<b>Diskussion</b> .....	<b>25</b>
<b>Referenser</b> .....	<b>28</b>
<b>Tack till</b> .....	<b>30</b>

## **Inledning**

I Svenska Kennelklubbens hunddata fanns år 2005 över 800 000 hundar registrerade. Detta gör hunden till ett av Sveriges populäraste sällskapsdjur. Många hundar fungerar dock inte som de trevliga sällskapsdjur de var tänkta att vara på grund av olika problembeteenden såsom rädslor eller aggression. Att de här problemen existerar vittnar allt som oftast rubriker i dagspressen om. Miljön dagens sällskapshundar lever i är inte hundens naturliga miljö. Städerna med sin trafik, mycket människor, höga ljudnivåer med mera ställer stora krav på sällskapshunden (SBK, 2005). Oförmåga att hantera en situation kan försätta ett djur i ett stresstillstånd vilket påverkar djurets fysiologi och beteende (Jensen, 1996).

Problem med aggression är idag det vanligaste rapporterade beteendeproblemet hos hund. I USA blir årligen mellan en och tre miljoner människor hundbitna och majoriteten av dessa bitt resulterar i allvarliga skador. Barn drabbas oftare och skadas allvarligare, till och med livshotande, än vuxna. Aggression mellan hundar anses också vara ett stort problem (Case, 2005). Rädslor är en naturlig och normal del av hundens beteenderepertoar men kan bli ett problem när de orsakas av ofarliga stimuli eller när beteendet uppträder i sådan intensitet eller frekvens att det påverkar hundens säkerhet, livskvalité eller påverkar förhållandet till dem som hanterar den. I en amerikansk undersökning av drygt 2000 hundar rapporterades 38 % av hundarna vara rädda för höga ljud, 22 % av hundarna vara rädda för okända vuxna människor, 33 % av hundarna vara rädda för barn och 14 % vara rädda för andra hundar. Studier av blivande leddhundar visar att rädslor av olika slag var en av de vanligaste anledningarna till att hundarna valdes bort från den uppgift de avlats till (Case, 2005).

Ett sätt att försöka förutsäga vilka hundar som riskerar att drabbas av problembeteende är att testa dem som valpar. För detta syfte har flera olika former av valptest skapats (Slabbert & Odendaal, 1999). Säger då de valptest som används idag av hunduppfödare något om de egenskaper uppfödaren/valpköparen är ute efter? Få tester har studerats vetenskapligt. Framförallt har oss veterligen få valptest gjorts där beteende och fysiologi samtidigt har studerats.

Det här examensarbetet görs som en del i en större studie på hund. Syftet med den större studien är att få ökad kunskap om hundens beteendeutveckling från valp till vuxen. Kan observationer av valpars beteende ge information om hur de kommer att bli som vuxna och när kan stabilitet i hundens olika beteendereaktioner observeras? Syftet med denna delstudie är att försöka ta reda på om det finns en koppling mellan beteende och fysiologiska variationer hos valpar under några olika valptest. Studien är uppdelad i två examensarbeten, i det ena studeras huvudsakligen hundarnas beteende (Enfeldt, 2006), och i detta arbete huvudsakligen dessas fysiologi. Då det kan vara svårt att få uppfödare att ställa sina valpar till förfogande till en sådan här studie valde vi att göra all fysiologisk provtagning non-invasivt genom att registrera hundarnas hjärtfrekvens samt mäta kortisolkoncentrationerna i saliv och urin.

## **Bakgrund**

### **Hundars mentalitet och mentaltest**

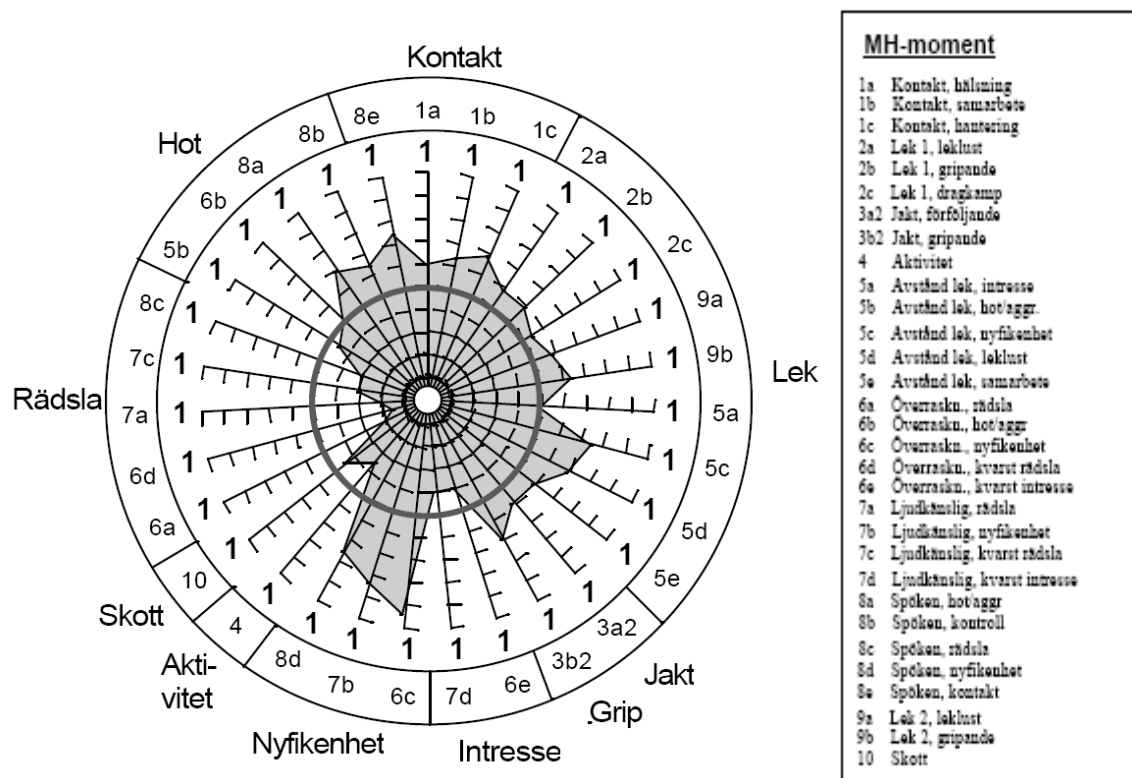
Idag finns olika typer av test i flera olika länder där man försöker ta reda på hundars mentalitet i syfte att välja ut lämpliga tjänstehundar. I Sverige har dessa mentaltest även

börjat användas i andra syften. Då problembeteende hos hundar blivit allt vanligare och ibland t o m rasrelaterade har så kallad känd mentalstatus blivit viktig att känna till bland annat när man ska välja ut vilka djur man ska avla på. Rädslereaktioner visar genomgående hög arvbarhet vilket gör att det finns möjlighet att påverka problem med rädslor genom avel (Sundgren, 1993). Mentaltest används även för att välja rätt köpare till rätt valp och för att välja ut blivande tjänstehundar mm.

Ett sätt att undvika att avla fram hundar som senare kommer att uppvisa problembeteenden är att inkludera mentaliteten hos föräldradjuren i avelsvärderingen. I Sverige försöker man göra detta bland annat genom att hundar av så kallad brukshundras måste ha genomgått mentalbeskrivning hund, MH, för att avkomman ska få registreras. Till brukshundar räknas följande raser: belgiska vallhundar, holländsk herdehund, svart terrier, australian shepherd, beauceron, bouvier des flandres, boxer, briard, collie, dobermann, hovawart, kelpie, australian cattle dog, riesenschnauzer, rottweiler och schäfer. MH har sitt ursprung i mentalbeskrivning unghund, MUH, som utformades av Statens hundskola 1989. Statens hundskola hade sedan länge gjort test för urval av tjänstehundar, det nya med MUH var att det även skulle kunna fungera som avelsvärdering. 1997 ändrades testet och bytte namn till MH (Tapper, 2004). Många uppfödare av raser som inte räknas till brukshundraser låter idag MH-testa föräldradjuren innan avel och använder således MH till viss del i sin avelsvärdering.

MH är enbart en beskrivning av hundens beteende, hunden får inget betyg, och blir därmed inte underkänd eller godkänd. Hunden beskrivs med en femgradig intensitetsskala där 1 är låg intensitet och 5 är hög intensitet. Vilken intensitet som är önskvärd varierar med momentet och vilken ras som beskrivs. I ”Anvisningar mentalbeskrivning hund” kan man läsa vilka moment som ingår och hur MH är upplagt (SBK, 2002).

Olika raser har avlats fram för olika ändamål och bör således ha olika mentalitet. Genom avel har vi genetiskt styrt hundens motivation att utföra instinktiva handlingar och därigenom har stora skillnader mellan raser uppstått. För att ett MH för en viss individ ska säga något om individen är det därför viktigt att man jämför det med MH resultat hos andra individer av samma ras. För att detta ska gå att göra sammanställs och redovisas alla individers MH resultat i en ras i s.k. spindeldiagram. Se figur 1.



**Figur 1.** Beskrivningsprotokoll Mentalbeskrivning Hund för Labrador Retriever modifierat efter Sundgren (<http://www.genetica.se/>, 2005). Varje streck på diagramaxlarna motsvarar 0,2 i avvikelse från rasmedelvärdet, vilket representeras av Spindeln. Den inre ringen motsvarar medelvärdet för alla hundar av brukshundras. Centrum i diagrammet har således värdet -1 och axlarnas yttre ändrar har värdet +1 från rasmedelvärdet.

En del rasgrupper har för att kunna fånga den för rasen typiska mentaliteten försökt ta fram egna verktyg utöver MH för att mäta detta. Ett sådant exempel är "Funktionsbeskrivningen" (FB) som används för bl. a Golden retriever och Labrador retriever i Sverige. FB är tänkt att vara en jaktlig avkommebeskrivning som är avsedd för hela kullar och det är grundläggande jaktegenskaper som beskrivs (<http://www.goldenklubben.com/>, 2005).

## Valptester

Idag förekommer ett flertal valptester med olika syften. Oftast är det tester av blivande tjänstehundar med syftet att skapa individanpassade träningsprogram (Tapper, 2004). Scott och Fuller (1965) utförde ett stort antal test på valpar med det huvudsakliga målet att beskriva beteende, utveckling och genetiska skillnader mellan olika hundraser. Deras arbete indikerade att de maternella effekterna var av stor betydelse. I ett senare test utformat av Scott och Bielfelt (1976) med syfte att förutsäga valpars framtida användbarhet som blindhundar, fann man att upprepade test ej var nödvändiga. Arvbarheten av egenskaperna som testades var emellertid låg och den maternella miljöpåverkan hög.

I ett australiensiskt test utformat för blindhundar fann man höga arvbarheter, i synnerhet för rädsor (Goddard & Beilarz, 1984). Utifrån detta föreslog man att rädsor, som är en av de vanligaste anledningarna till att hundar förkastas som blindhundar, kunde utvärderas så tidigt som tolfte veckan av hundens liv. Senare reviderades denna tanke något och man fastslog att resultatet blev säkrare om hunden testades senare i livet.



I ett annat test, där beteende och hjärtfrekvens användes för att skilja nervösa och stabila hundar från varandra, drogs slutsatsen att genom att använda både beteende och fysiologi kunde hundarna skiljas från varandra med 100 % säkerhet, jämfört med en säkerhet på 95 % om beteende och fysiologi användes var för sig (Newton et al., 1978).

Hundskolan i Sollefteå utvecklade genom Lars Fält ett inofficiellt valptest där hundarna beskrevs enligt en intensitetsskala, något som alla senare test bygger på (Tapper, 2004). Syftet med de valptest som används idag är bl. a. att välja ut valpar som är lämpliga att utbildas till blind- eller servicehundar eller till avel (Wilsson & Sundgren, 1998) samt till att välja rätt valp till rätt ägare och på så vis undvika att problembeteenden senare uppstår. Upp till 70 % av hundarna som föds upp av South African Police Service Dog Breeding Centre kan inte användas till det de är tänkta till (Slabbert & Odendaal, 1999). Att utbilda olika tjänstehundar kostar mycket i både tid och pengar, vilket gör det viktigt att kunna förutsäga den vuxna hundens beteende vid en tidig ålder.

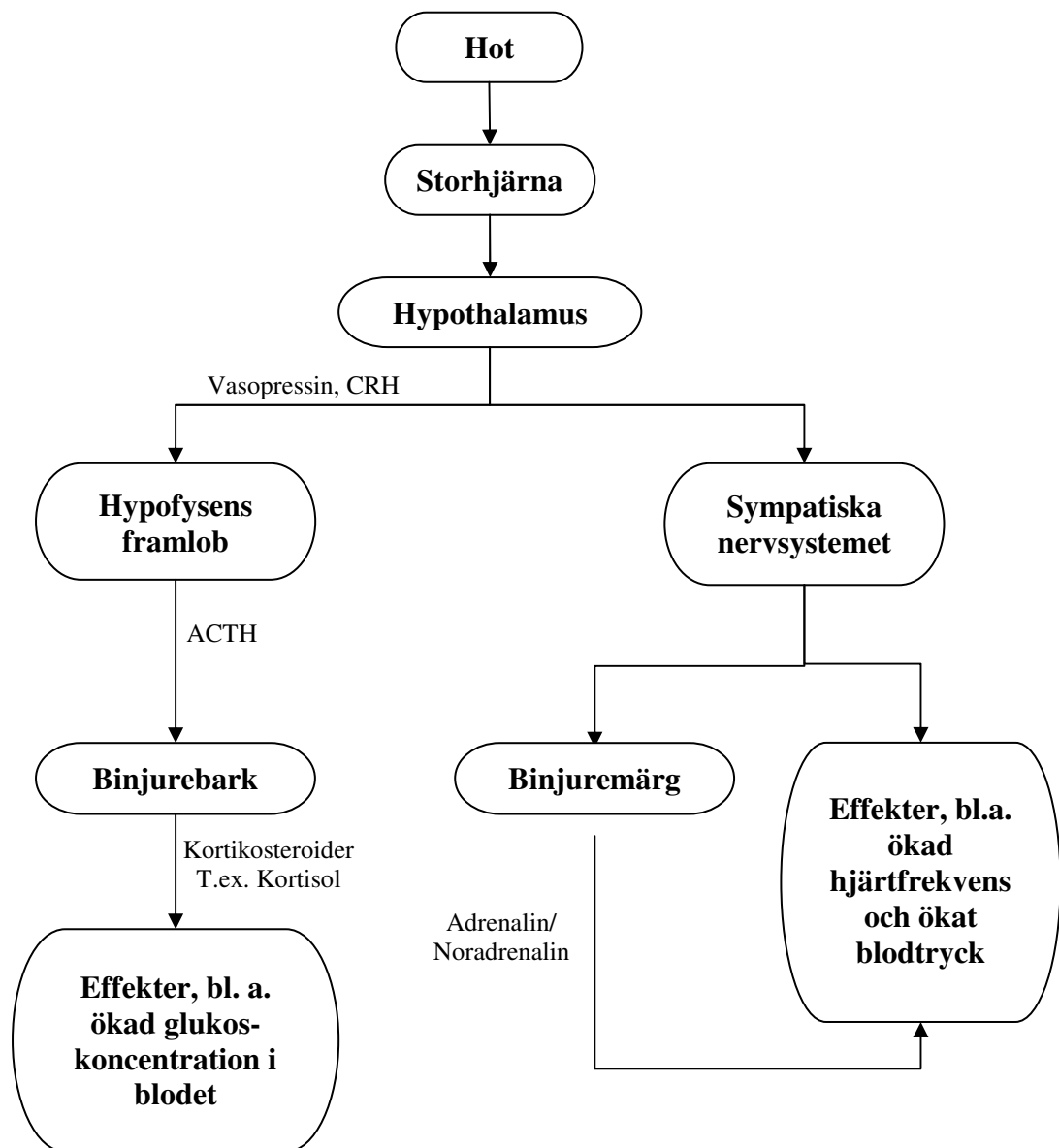
### ***Fysiologiska reaktioner i påfrestande situationer***

Genom att mäta hur valparnas fysiologi påverkas av olika valptest kan man få ett mått på hur stressad valpen blir av de olika momenten. Stress är ett begrepp som används flitigt, ofta utan en klar och tydlig definition. Vad som menas med stress är olika i olika sammanhang. En definition av begreppet stress är: en individs tillstånd då den trots kostsamma ansträngningar inte förmår hantera en belastning (Jensen, 1996).

De reaktioner som orsakas av stress kan ses som organismens mobilisering för att stå emot och hantera ett hot. När individen lyckas säger man att de kan hantera situationen, när de misslyckas att de befinner sig i ett stresstillstånd (Jensen, 1996). Syftet med en stressreaktion är att eliminera orsaken till tillståndet och på så vis återkomma till normalt fysiologiskt tillstånd (enligt Holger Ursin, hämtat från Algers & Jensen, 1992).

Tidigare forskning på bl. a. möss och råttor har visat att olika individer har olika sätt att hantera stress (coping). Man skiljer på två huvudtyper s.k. aktiva och passiva hanterare vilket syftar på hur individens beteende påverkas av en påfrestande situation. Hos aktiva individer aktiveras främst sympatiska nervsystemet och hos passiva individer hypothalamus-hypofys-binjurebarken. Detta medför skillnader i det endokrina svaret där aktiva individer uppvisar ett högt katekolaminsvar och passiva individer har hög frisättning av kortikosteroider. Skillnader i stresshantering liknande dessa ses också hos människan vilket då kallas typ A- och typ B-personligheter (Henry & Stephens, 1997). I ett tidigare examensarbete på hund fann man inga bevis för att hundar också har ovanstående hanteringsstrategier. En del av hundarna i studien använde en aktiv strategi i vissa situationer för att i andra situationer använda sig av en passiv strategi (Högdahl, 2000).

Genom att mäta koncentrationen av hormoner som utsöndras som svar på en specifik reaktion och jämföra dem med basala värden kan man få ett sorts mått på hur stressad individen blir av situationen. Exempel på hormon som är lätt att analysera och som ofta används för att mäta stressnivåer är kortisol som frisätts från binjurebarken (Vincent och Mitchell, 1992). Stress leder också till en aktivering av det sympatiska nervsystemet vilket bl. a. resulterar i ökat blodtryck och hjärtfrekvens. Fysiologiska parametrar påverkas också av situationer som inte anses negativa eller stressande för djuret t.ex. utfodring, sexuell aktivitet och fysisk aktivitet. Dessa fysiologiska förändringar är dock oftast mindre än de variationer som uppstår i olika stressituationer. Se figur 2.



**Figur 2.** Principskiss som visar exempel på fysiologiska reaktioner i en psykiskt/fysiskt påfrestande situation. CRH=Corticotropin Releasing Hormone, ACTH= Adrenokortikotropt hormon.

För att minska risken för att kortisolhalten påverkas av att djuret stressas av själva provtagningen kan man använda non-invasiva metoder såsom mätningar i saliv och urin. Dessa metoder är dessutom lättare att genomföra praktiskt på små valpar vilket gjorde att vi i denna studie valde att analysera kortisol i saliv och urin samt mäta hjärtfrekvens för att få ett "fysiologiskt" mått på hur valparna upplever situationen. Hur lång tid det tar innan kortisolhalten i plasma ändras p.g.a. stress orsakad av blodprovstagningen är inte helt klarlagt och är naturligtvis mycket individuellt. Enligt Broom och Johnsson (1993) tar det för de flesta arter åtminstone 2 minuter innan en förhöjd kortisolhalt kan ses i plasma, i en annan undersökning tog det generellt ca 3 minuter (Kobelt et al., 2003). Vid upprepade provtagningar finns naturligtvis effekterna kvar och det kan ske en ackumulering av kortisolhalten. Hur påverkade olika djur blir av själva provtagningen är dock individuellt

och beror bland annat på hur vana djuren är att hanteras. Generellt är de fysiologiska förändringarna som är relaterade till provtagningen inte speciellt stora om djuren är någorlunda vana att hanteras. Enligt Kobelt et al (2003) ses ingen effekt av provtagningen i saliven efter 4 minuter. En nackdel med saliv- och urinprovtagningar är att det inte är möjligt att mäta lika många hormoner i dessa media jämfört med blodplasma. Steroider såsom kortisol går dock att analysera i saliv och urin. Hjärtfrekvensen mättes i denna studie med hjälp av stetoskop då det var svårt att applicera någon mätutrustning på dessa små valpar då många av dem inte ens var vana att bära halsband.

## Kortisol

Kroppens samlade reaktion är olika beroende på vilken reaktion som utlöser den och hur individen reagerar på situationen. Det finns dock en rad gemensamma drag i kroppens reaktioner på stress t.ex. ökar ofta glukokortikoidfrisättningen. Vilken specifik glukokortikoid som produceras är olika för olika djurarter, för människa och hund är det huvudsakligen kortisol som produceras medan t.ex. gnagare och höns producerar kortikosteron. Ökad frisättning av glukokortikoider anses vara en viktig indikator på stress hos de flesta däggdjur inklusive hundar (Kirshbaum och Hellhammer, 1989).

Vid en stressituation stimuleras hypothalamus som ökar produktionen av corticotropin releasing hormone, CRH, vilket i sin tur stimulerar ökad insöndring av adrenokortikotrop hormon, ACTH, från hypofysens framlob, se figur 2. ACTH binder till specifika membranreceptorer på binjurebarken vilket leder till ökad mobilisering av lagrat kolesterol vilket ökar kolesteroltillförseln till ett för kortisolsyntesen hastighetsbegränsande enzym vilket i sin tur leder till ökad kortisolsyntes. Kortisolfrisättningen regleras genom negativ återkoppling dels till hypofysens ACTH insöndring men även till hypothalamus CRH insöndring.

Kortisol har flera funktioner i kroppen:

- Ökar glukoskoncentrationen i blodet, genom att stimulera glukoneogenesen samt minska cellernas behov av glukos.
- Verkar tillväxthämmande då det hämmar DNA-syntesen och ökar proteinnedbrytningen i många vävnader. Kortisol minskar även andelen av cellproteiner men ökar andelen leverproteiner, mobiliserar aminosyror från perifera vävnader och fettsyror. Kortisol har dock endast tillväxthämmande effekt vid nivåer över de normala dygnsvariationerna, t. ex. i stressituationer då det är viktigare att täcka cellernas basala energibehov än att använda energin till tillväxt.
- Verkar antiinflammatoriskt i höga doser genom att det hämmar bildningen av prostaglandiner och reducerar tillströmning av vita blodkroppar till inflammerade områden. Höga koncentrationer av kortisol reducerar antalet lymfocyter i blodet och leder till nedsatt produktion av antikroppar vilket dämpar immunförsvaret.

Frisättningen av kortisol är också relaterat till situationer som kan anses vara lustfyllda snarare än stressande. Exempel på sådana situationer är födointag och sexuell umgänge. Dessutom varierar kortisolnivåerna över dygnet. Vid normala förhållanden utsöndras kortisol främst under några timmar i samband med uppvaknandet. Hos dagaktiva djur innebär det att kortisolnivåerna är högst vid ljusets inbrott medan den för nattaktiva är högst när det blir mörkt. Kortisolfrisättningen i samband med stress är större än den normala dygnsvariationen (Sand et al., 2004). Enligt Palazzolo & Quadri (1987) finns ingen dygnsrytm i kortisolfrisättning hos valpar (8 veckor) och gamla hundar över 12 år.

Enligt flera andra undersökningar verkar hund skilja sig ifrån flertalet djur i det avseendet att de inte har någon dygnsrytm korrelerad till sin kortisolfrisättning (Knol et al., 1989; Thun et al., 1990). Däremot har könsskillnader i kortisolnivåerna hos köns mogna hundar påvisats, tikarnas nivåer vid stress är högre och återvänder långsammare till normala nivåer jämfört med hanarnas (Garner et al., 1990). Kortisolkoncentrationen i saliv har visat sig väl korrelerad med plasmakoncentrationen hos flera arter inklusive människa (Kirshbaum och Hellhammer, 1989). Hos hundar anses en ökad kortisolnivå vara en väl dokumenterad stressindikator oavsett om den mäts i plasma, urin eller saliv (Beerda et al., 1999).

Kortisol är en fettlöslig molekyl som lätt överförs från blodet genom cellerna till bl. a. saliv (Queyras & Carosi, 2004). Kortisol cirkulerar i blodet som fria molekyler och bundet till ett särskilt transportprotein, Corticotropin Binding Globulin, CBG. Bindningen till transportproteinet är relativt fast och kortisol har en plasmahalveringstid på ca 70 minuter. Fria kortisolmolekyler diffunderar genom cellmembranet och binds till receptorer i målcellernas cytoplasma. Kortisol tar sig ut i saliven genom passiv diffusion, vilket gör att kortisolnivåerna inte påverkas av salivflödets hastighet. Endast fritt kortisol kan ta sig ut i saliven då cellerna på ytan av spottkörtlarna hindrar proteiner och proteinbundna molekyler från att ta sig igenom (Kirshbaum & Hellhammer, 1994). Nivåerna av kortisol i saliven är relativt låga då endast 15 % av den obundna fraktionen av kortisol i plasma överförs till saliven (Queyras & Carosi, 2004).

I detta försök var inte blodprovstagning på hundarna aktuell. Detta eftersom vi ville ha flera prov (10/valp), vilket skulle vara svårt med tanke på valparnas blodvolym och kroppsvikt. I försöket användes privatuppfödda valpar. Detta kräver provtagningsmetoder som uppfödaren accepterar och är villig att utsätta sina valpar för. Därför provades endast non-invasiva metoder.

## Hjärtfrekvens

Det autonoma nervsystemet delas in i parasympatiska nervsystemet och sympatiska nervsystemet. Hjärtfrekvensen regleras huvudsakligen av balansen mellan parasympatiska nervsystemets bromsande effekt och sympatiska nervsystemets accelererande effekt. Vid en stressreaktion aktiveras den sympatiska delen av autonoma nervsystemet vilket bl. a. leder till ökad adrenalin- och noradrenalininsöndring från binjuremärgen. Adrenalin syntetiseras tillsammans med noradrenalin från aminosyran tyrosin. Produktionen av adrenalin är hos människor 4-5 ggr större än produktionen av noradrenalin. Proportionerna mellan dessa hormoner varierar för olika djurslag. Ombildningen av noradrenalin till adrenalin regleras bland annat av kortisol som kommer till binjuremärgen med blodet från binjurebarken. Utsöndringen av adrenalin och noradrenalin stimuleras av preganglionära sympatiska nervfibrer i binjuremärgen.

Adrenalin och noradrenalin har bl. a. följande effekter:

- Ökar glykogennedbrytningen vilket ökar glukoskoncentrationen i blodet.
- Ökar fettnedbrytningen vilket ökar fettsyrakoncentrationen i blodet.
- Ökar blodtryck och hjärtfrekvens samt ökar hjärtats minutvolym.
- Reglerar regionalt blodflöde vilket ökar blodflödet till skelettmusklerna men minskar blodflödet till inälvor och hud.

Hjärtfrekvensen påverkas mycket snabbare (inom 5-10s) än kortisolhalten vid en påfrestande situation. En direkt sympatisk stimulering via nervimpulser med frisättning av

noradrenalin från nervändsluten direkt till vävnaden förstärks av att adrenalin och noradrenalin frisätts också från binjuremärgen och via blodet når samma vävnad. Hjärtfrekvensens påverkan av t. ex. rädsla har tidigare bl. a. konstaterats i en studie av skotträdda hundar. De skotträdda hundarna hade jämfört med icke skotträdda hundar högre hjärtfrekvens under och efter det att skotten hördes (Hydbring-Sandberg et al., 2004).

Hjärtfrekvensen varierar mellan individer bl. a. beroende på kondition och ålder, unga individer har oftast högre hjärtfrekvens än äldre individer. Hjärtfrekvensen hos hundar ligger mellan 70-120 slag/minut (Sjastaad et al., 2003). Valpar har högre hjärtfrekvens än vuxna hundar. Enligt en tysk studie är pulsen ca 230 slag/min första veckan, 195 slag/min vid sjätte veckan och 167 slag/min under tolfte veckan av valpens liv (Trautvetter et al., 1990). På större vuxna hundar kan hjärtfrekvensen mätas genom att spänna fast en hjärtfrekvensmätare runt hundens bröstorg som sedan mäter hjärtfrekvensen kontinuerligt under tiden mätaren sitter på plats (Hydbring-Sandberg et al., 2004). Storleken på denna utrustning samt att de flesta valpar troligen ogillar att ha något på sig gör den olämplig att använda på valpar.

## **Material och metoder**

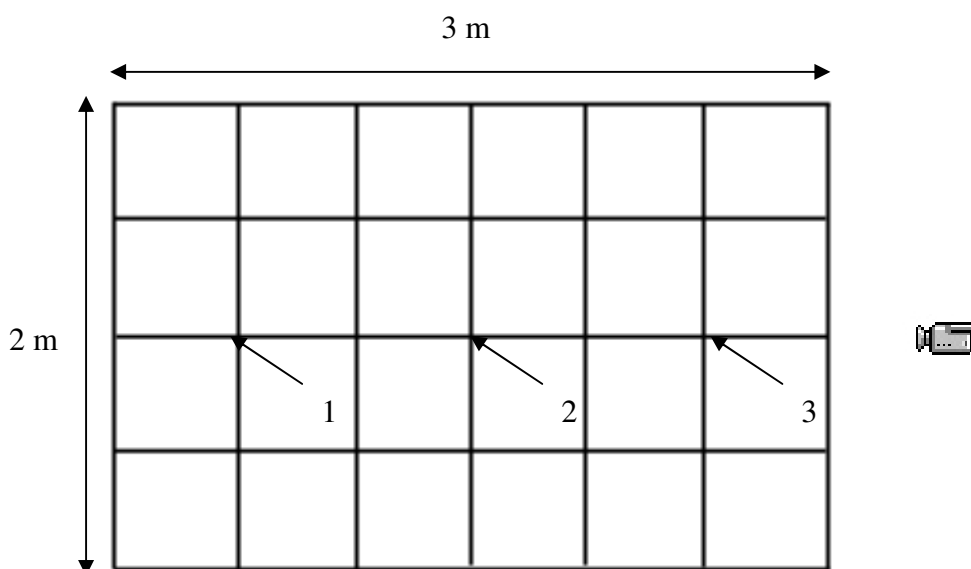
### ***Hundar***

Till försöket användes 5 valpkullar och deras mödrar. Valparna var av följande raser; 16 Labrador Retrievervalpar från två kullar med åtta valpar vardera, sex Golden Retrievervalpar från en kull, åtta Belgisk vallhund/Groenendaelvalpar från en kull och sex Bordercollievalpar från en och samma kull. Dessa raser valdes för att representera två olika rasgrupper av idag vanligt förekommande sällskapshundar, fågelhundar och vallhundar. Till fågelhundarna räknas de bägge Labrador retrieverkullarna samt Golden retrieverkullen och till vallhundarna räknas Groenendaelkullen och Bordercolliekullen. Valet av kullar baserades på vilka uppfödare som fanns att tillgå i närområdet och som var villiga att delta i studien. Då tidigare studier visat att resultatet av ett valptest blir säkrare ju äldre valpen är vid testets tidpunkt samtidigt som det är tänkt att testet ska kunna användas av uppfödaren för att välja rätt ägare till rätt valp, genomfördes testet i valparnas sjunde levnadsvecka. Studien var godkänd av Uppsalas försöksetiska nämnd liksom dispensansökan för användandet av privatägda hundar.

### ***Utförande***

Till försöket konstruerades ett valptest med utgångspunkt från några av de idag ute i praktiken förekommande valptesterna. Innan försöket testades flera av deltesterna på valpkullar som sedan inte kom att delta i studien och därefter valdes de deltesterna som såg ut att ge önskvärda reaktioner ut och sattes samman till ett test. Val av deltest samt testets uppläggning anpassades för att passa både en fysiologisk och etologisk studie. Följande 5 deltester användes i försöket: fasthållning i ryggläge (Volhard, 2005), isolering (Wilson & Sundgren, 1998), ljudkänslighet (skrammel) (SBK, 1997), främmande objekt (här radiostyrd bil) (Hennessy et al., 2001), matmotivation (Roman, 2000; Högdahl, 2000). Testerna utfördes under två på varandra följande dagar, med deltest 1: Fasthållning i ryggläge, deltest 2: Isolering och deltest 3: Skrammel, under första dagen och deltest 4: Radiostyrd bil och deltest 5: Matdeltest under andra dagen.

Valptesten utfördes hemma hos uppfödarna. För att skapa så lika testmiljö som möjligt användes en ca 2 x 3 m stor och 60 cm hög arena gjord av plywood och en korkmatta som täckte golvytan. Korkmattan var indelad i 0,5 x 0,5 m stora rutor som hjälp till beteendestudierna och där fanns markerat var valpen och testens olika saker skulle placeras, se figur 3.



**Figur 3.** Principskiss av arenan som användes under det här valptestet. 1= Position där T1 satt med valpen i knät under deltest 1 och position där valpen placerades under deltesten 3, 4 och 5. 2= Position där valpen placerades under deltest 2. 3= Position där föremålet (bilen) placerades under deltest 4.

## Dag 1

Första dagen började med hjärtfrekvensmätning (HF) och salivprov (S) på tiken, därefter lottades en startordning mellan valparna för dag 1. Valp nr 1 i startordningen hämtades från resten av kullen till arenan av antingen testledare 1 (T1), eller testledare 2 (T2). HF 1 och S 1 genomfördes. Valpen lämnades sedan i arenan under ca 30 sekunder för att bekanta sig med arenan och underlaget. Testet inleddes genom att T1, satte sig vid position 1, se figur 3, med valpen i knät. Sedan vändes valpen och hölls lätt men stadigt fast i ca 30 sekunder. Därefter togs HF 2 och S 2. Valpen återfördes till resten av kullen av någon av testledarna samtidigt som nästa valp på tur hämtades till arenan. När alla valpar genomfört deltestet hämtades åter valp nr 1 och HF 3 och S 3 togs. Valpen lämnades sedan åter ca 30 sekunder. Därefter ställde T2 valpen vid position 2, se figur 2. Både T1 och T2 lämnade sedan rummet i 2 min. HF 4 och S 4 togs och någon av testledarna lämnade tillbaka valpen och hämtade nästa. Efter att proceduren upprepats med alla valparna i kullen hämtades åter första valpen och HF 5 och S 5 togs, se tabell 1. Valpen lämnades åter i ca 30 sekunder. T1 ställde därefter valpen vid position 1. Efter klartecken drog sedan T2 en kedja i två etapper, först över ca halva och efter en paus på någon sekund över resten av ett ugnsgaller placerat ovanpå en bakplåt precis intill arenan utanför och utom synhåll för valpen. Valpen betraktades sedan passivt under 1 min. Proceduren upprepades med alla valparna i kullen. För alla kullar utom bordercolliekullen startade testet den första dagen mellan klockan 10 och 11 på förmiddagen, Hos bordercolliekullen startade av praktiska skäl testet vid 17-tiden. Totalt tog hela testet dag 1 ca 20 minuter per valp och den totala tiden från det att

första valpen började testas till dess att sista valpen gjort det sista momentet varierade mellan ca 2,5 timme och nästan 4 timmar.

## Dag 2

Andra dagen började också med att hjärtfrekvens och salivprov togs på tiken. En ny startordning mellan valparna för dag två lottades och första valpen för dagen hämtades till arenan. HF 7 och S 7 togs och valpen lämnades i arenan i ca 30 sekunder. T2 placerade den radiostyrda bilen vid position 3, se figur 3. T1 hämtade därefter och ställde valpen vid position 1 varpå T2 genast började köra bilen rakt mot valpen och stannade den i 5 s ca 30 cm från valpen, därefter backades bilen tillbaka mot position 3. Valpen betraktades sedan passivt under 1 min. HF 8 och S 8 togs. Därefter lämnades valpen och nästa valp i dagens startordning hämtades och proceduren upprepades. När alla valpar genomfört testet hämtades åter första valpen i andra dagens startordning. HF 9 och S 9 togs varpå valpen lämnades i ca 30 sekunder. T2 höll sedan valpen vid position 1. T1 satte sedan en matskål vid position 2 och ställde en brödbak över. Valpen betraktades sedan passivt under 1 minut. Efter kull 1 (groenendael) ändrades matdeltestet något då vi var osäkra på om alla groenendaelvalparna överhuvudtaget sett maten innan den gjordes oåtkomlig för dem under gallret. I kullarna 2-5 utökades därför tiden valpen betraktades från 1 minut till 2 minuter. Matdeltestet hos kull 1 skiljer sig därför något från de resterande kullarnas. HF 10 och S 10 togs efter avslutat matdeltest. Efter att alla valpar genomfört deltestet var hela valptestet slut. Startiderna för testet dag 2 var samma som för dag 1. Totalt tog hela testet dag 2 ca 15 minuter per valp och den totala tiden från det att första valpen började testas till dess att sista valpen gjort det sista momentet varierade mellan ca 1,5 timme och drygt 2 timmar.

Före och efter varje deltest togs hjärtfrekvens och salivprov. Urinprov samlades upp varje gång någon valp kissade spontant. För att skapa så lika provtagningssituation som möjligt för alla valpar utfördes provtagningarna alltid av samma personer på samma sätt. Salivprovtagningen skedde genom att valpen hölls fast av T2 och valpen fick tugga på en bomullstampong (Salivette, Sarstedt, Nümbrecht, Tyskland) som hölls fast med en peang under ca 30 sekunder. Bomullstampongerna förvarades sedan svalt i provrör under resten av försöksdagen och frystes sedan ned till -20°C. Hjärtfrekvensen mättes genom att T1 höll valpen i famnen och T2 mätte hjärtfrekvensen med stetoskop under 15 sekunder före och efter alla test. Se sammanfattning av provtagningens ordning i tabell 1.

**Tabell 1.** Sammanfattning av de fysiologiska provtagningarna vid valptestet.

Testdag	Tidpunkt	HF-registrering nr	Salivprov nr
Dag 1	Före fasthållning i ryggläge	1	1
Dag 1	Efter fasthållning i ryggläge	2	2
Dag 1	Före isolering	3	3
Dag 1	Efter isolering	4	4
Dag 1	Före skrammel	5	5
Dag 1	Efter skrammel	6	6
Dag 2	Före radiobil	7	7
Dag 2	Efter radiobil	8	8
Dag 2	Före matdeltest	9	9
Dag 2	Efter matdeltest	10	10

## **Analyser**

I tabell 2 framgår för vilka prov som analys var möjlig och värden för dessas kortisolkoncentration. Hos kull 1 (Groenendael) räckte mängden saliv i tikens 2 prover till en analys. Efter att valparnas prover slagits ihop fanns tillräcklig mängd för analys endast i det första provet. För kull 2 (Golden) behövde inte tikens prover slås ihop utan kunde analyseras var för sig. Den här kullen var också den som efter det att valparnas prover slagits samman hade flest analyserbara valpprover, här fanns tillräckligt med saliv av första provet, prov 5 (innan skrammel), prov 7 (första provet dag 2), prov 9 (innan matdeltest) och prov 10 (efter matdeltest). Hos kull 3 (Labrador) räckte inte tiksaliven till någon analys och efter det att valparnas prover slagits samman fanns tillräcklig mängd saliv för analys av prov 7 (första provet) dag två samt prov 10 (efter matdeltest). Saliven hos tik 4 (Border Collie) räckte till en analys och efter att valparnas prover slagits ihop fanns tillräcklig mängd för analys endast i första provet dag två. För kull nr 5 (Labrador) fanns inte tillräcklig mängd saliv för analys av tikens prover och efter det att valparnas prover slagits samman var sista provet dag två (efter matdeltest) det enda som hade tillräcklig mängd att analyseras.

## **Kortisol**

Några dagar innan analys tinades bomullstampongerna som använts för salivprovtagningarna och centrifugerades i 4200 x g under 20 min i + 20 °C, för att få ut så mycket av saliven som möjligt. Efter centrifugeringen uppskattades mängden saliv i de olika proverna. Tyvärr innehöll de flesta proverna för lite saliv för att kunna analyseras. Vi tvingades därför att slå ihop proverna. Vi valde att slå ihop proverna kullvis eftersom vi var intresserade av att studera skillnaden mellan olika kullar samt de olika testeffekterna. Alla prover från samma kull som var tagna efter samma moment slogs ihop för vidare analys. Av totalt 360 salivprov återstod endast 13 "polade" valpprover och 4 tikprover. Efter sammanslagningen förvarades proverna åter i frys i -20°C fram till analysdagen.

Kortisol analyserades med radioimmunoassay, RIA (Coat-A-Count ®, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). Principen för metoden är att kortisol i proverna konkurrerar med radioaktivt inmärkt kortisol (<sup>125</sup>I), om att binda till antikroppar, fästade på insidan till för ändamålet specialproducerade provrör. Med hjälp av en gammarnaäkare (Cobra Auto Gamma Counting System modell 5003, Packard Instrument Company,



Meriden, USA) räknas antalet sönderfall per minut från det kvarvarande radioaktiva kortisolet, ju högre kortisolkoncentration i provet desto mindre radioaktivt inmärkt kortisol kommer att kunna binda till antikropparna. Resultaten jämförs sedan med en standardkurva gjord med hjälp av prover innehållande kända koncentrationer kortisol.

Vid analysen överfördes 75 µl (förutom i ett fall där provet endast innehöll 60µl) till de speciella provrören med antikroppar fästade på insidan och inkuberades sedan i rumstemperatur i tre timmar och därefter hälldes den obundna delen bort. Med hjälp av gammalräknaren räknades det radioaktiva innehållet och ett dataprogram (Multicalc) bearbetade all data. Alla proverna analyserades i samma RIA. För saliven var minsta detekterbara värdet (MDV)=0,24 nmol/l och variationen inom RIA <10%. Efter analysen kontrollerades att kortisolkoncentrationen i provet som innehöll 60µl höll sig inom RIA:ns variation.

Urinproverna tinades och centrifugerades i 1500 x g under 20 minuter i + 20°C. Därefter extraherades 500 µl av varje urinprov med diklormetan. Efter detta överfördes 50 µl av urinets diklormetanfas (=vattenlösliga fasen), vilket innebär att endast det fria kortisolet i urinen kommer att analyseras, till provrör med antikroppar fästade på insidan och inkuberades sedan i rumstemperatur i tre timmar. Kortisolkoncentrationen beräknades med RIA på samma sätt som för saliven. Alla proverna analyserades i samma RIA. För urinen var minsta detekterbara värdet (MDV)=0,38 nmol/l och variationen inom RIA <10%. Kortisolvärdena redovisas utan statistisk bearbetning eftersom de var så få.

## **Kreatinin**

Eftersom urin kan vara mer eller mindre utspädd måste hänsyn till urinens koncentration tas. Genom att mäta urinens kreatininhalt får man ett mått på urinkoncentrationen då man förutsätter att mängden kreatin som utsöndras i urinen är så gott som densamma som den filtrerade mängden i njuren. Kreatinin är en nedbrytningsprodukt av muskelkreatin. Kvoten mellan kortisolhalten och kreatininhalten i varje prov kan sedan jämföras mellan individer. Kreatininhalten i proverna analyserades av laboratoriet för klinisk kemi på Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU. Metoden som användes heter Konelab™ Creatinine (Jaffé) och går ut på att kreatinin bildar ett rött komplex med en alkalisk pikratlösning. Koncentrationen bestäms genom att man med hjälp av ett analysinstrument Konelab 30 (Konelab Corporation, Espoo, Finland), registrerar hur snabbt det röda komplexet som kreatinin bildat avtar.

## **Statistik**

Hjärtfrekvensen presenterades som ett medelvärde ± standardfel och beräkningarna gjordes med hjälp av Statistical Analysis System (SAS 9.1, 2002-2003). För uträkandet av statistiska skillnader mellan registreringarna användes ANOVA (Mixed procedure) med modell innehållande fix effekt av prov och slumpmässig effekt av hund. Parvisa jämförelser gjordes med hjälp av skillnaden i least square means (the DIFF option). Signifikansnivån sattes till  $P \leq 0,05$ .

# Resultat

## Kortisol

### Saliv

Då det blev få salivprover var det svårt att dra några slutsatser angående dessas resultat. Det förelåg dock en viss spridning mellan proverna, t.ex. mellan de båda salivproverna från tik 2 och även mellan valproverna. För koncentrationerna i de olika proverna se tabell 2 nedan.

**Tabell 2.** Kortisolkoncentrationen i saliv (nmol/l) hos tik respektive valpar efter sammanslagning. För förklaring av provnumren, se Tabell 1.

Kull	Tik Dag 1	Tik Dag 2	Prov 1	Prov 2	Prov 3	Prov 4	Prov 5	Prov 6	Prov 7	Prov 8	Prov 9	Prov 10
1	0,60*		1,67									
2	7,56	0,89	0,66 1,31				0,98		0,73 0,84 0,99		0,67	0,69
3									3,02			1,52
4	1,94 *								3,95			
5												2,06

\* Dessa prover består av en sammanslagning av tikens prover från de båda dagarna.

## Urin

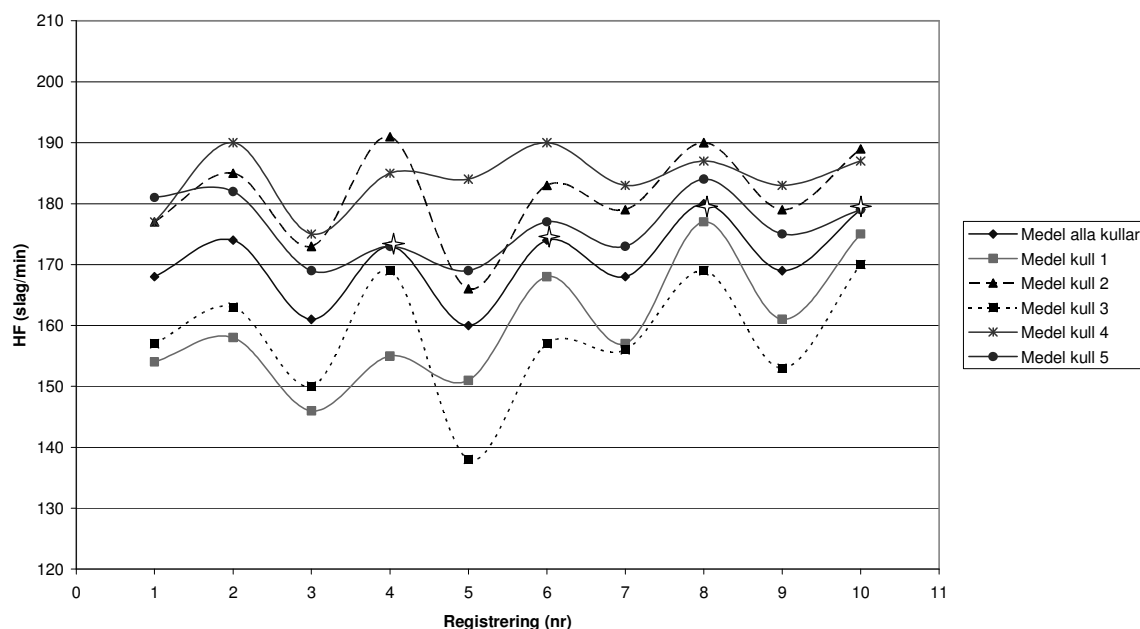
Nio olika valpar kissade spontant under det att testet pågick så att urinprov var möjliga att ta. Två valpar urinerade spontant två gånger. För en del kullar finns få och i vissa fall inga prover beroende på att ingen valp kissat under testet. Som synes i tabell 3 varierar även valparnas kortisol/kreatininkvot mellan de olika urinproven. Det är dock svårt att se ett mönster. Tikarnas prover varierar inte lika mycket.

**Tabell 3.** Kortisol/kreatininkvot i urinprov ifrån tikar och valpar samt tid och moment.

Kull	Id	Kortisol/ kreatinin	Tidpunkt
1 (Groenendal)	Tik	0,65	Under tiden testet pågick dag 1
1 (Groenendal)	Tik	0,54	Under tiden testet pågick dag 2
1 (Groenendal)	Valp 1	0,61	Efter isolering
1 (Groenendal)	Valp 5	0,92	Efter fasthållning
2 (Golden)	Valp 9	1,00	Under isolering
2 (Golden)	Valp 10	0,76	Före radiobil
2 (Golden)	Valp 13	0,68	Före fasthållning
2 (Golden)	Valp 13	0,50	Under isolering
3 (Labrador A)	Tik	0,48	Under tiden testet pågick dag 1
3 (Labrador A)	Tik	0,54	Under tiden testet pågick dag 2
3 (Labrador A)	Valp 18	0,70	Efter fasthållning
3 (Labrador A)	Valp 19	1,34	Under isolering
3 (Labrador A)	Valp 20	0,44	Efter fasthållning
3 (Labrador A)	Valp 20	0,56	Efter radiobil
4 (Border collie)	Tik	0,52	Under tiden testet pågick dag 1
4 (Border collie)	Tik	0,44	Under tiden testet pågick dag 2
4 (Border collie)	Valp 24	1,81	Innan matdeltest
5 (Labrador B)	Tik	0,45	Under tiden testet pågick dag 1
5 (Labrador B)	Tik	0,72	Under tiden testet pågick dag 2

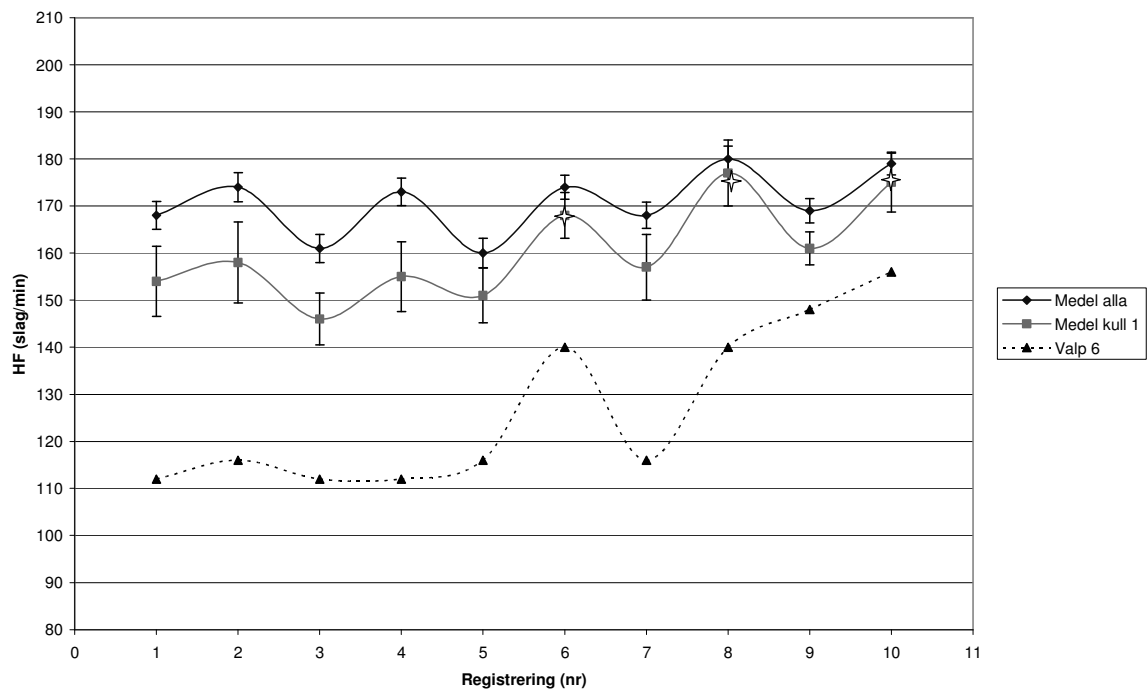
## Hjärtfrekvens

Studeras medelvärdeskurvan för samtliga kullar ökar hjärtfrekvensen signifikant i varje enskilt test (jämfört med före respektive efter varje test) utom i ”fasthållning i ryggläge” då ökningen inte är signifikant, se figur 4. Efter varje test sjunker hjärtfrekvensen signifikant i alla prover utom för registreringarna mellan skramlet och radiobilen. Medelvärdeskurvan får på detta sätt ett vågliknande utseende. Det förelåg inga skillnader mellan kontrollproverna de båda dagarna (registrering 1 och 7). Vid en jämförelse av medelvärdeskurvan för samtliga kullar och medelvärdeskurvorna för de enskilda kullarna ser man generellt samma vågliknande profil, dock med en viss variation. Kull 2, 4 och 5 (golden, bordercollie och labrador kull 2) tenderar att ligga högre än genomsnittet och kullarna 1 och 3 (groenendael och den första labradorkullen) tenderar att ligga lägre än genomsnittet. Vid en statistisk bearbetning fås signifikanta skillnader i prov 1 och flertalet andra prover mellan alla kullar utom mellan kull 1 och 3 samt kull 2 och 4.



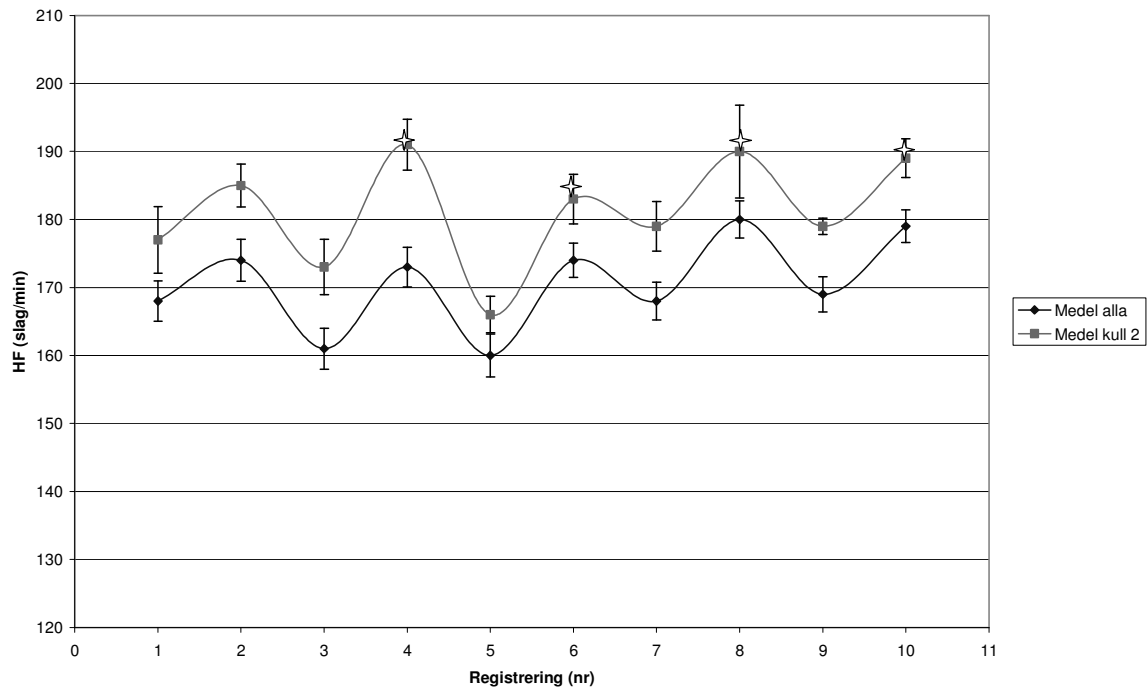
**Figur 4.** De olika kullarnas medelvärden i hjärtfrekvens vid de olika registreringarna samt medelvärde i hjärtfrekvens för alla kullar vid de olika provtagningarna. Registrering 1 = före fasthållning i ryggläge, registrering 2 = efter fasthållning, registrering 3 = före isolering, registrering 4 = efter isolering, registrering 5 = före skrammel, registrering 6 = efter skrammel, registrering 7 = före radiobil, registrering 8 = efter radiobil, registrering 9 = före matdeltest, och registrering 10 = efter matdeltest. Kull 1 = Groenendael, kull 2 = Golden retriever, kull 3 = Labrador retriever A, kull 4 = Border collie och kull 5 = Labrador retriever B. Stjärnorna markerar de hjärtfrekvensökningar i medelvärdeskurvan för alla kullar som är signifikanta jämfört med föregående registrering,  $P \leq 0,05$ . För SE i resp. kurva se figurerna 5-9. För signifikanta skillnader i de enskilda kullarna se figurerna 5-9.

För groenendaekullen sågs signifikanta ökningar av hjärtfrekvensen efter skramlet (test 3), radiobilen (test 4) och matdeltestet (test 5). Valp nr 6 i denna kull utmärkte sig genom att ligga på en helt annan nivå och helt sakna den vågliknande profilen i hjärtfrekvens i provtagning 1-5 jämfört med övriga valpar i kullen, se figur 5.



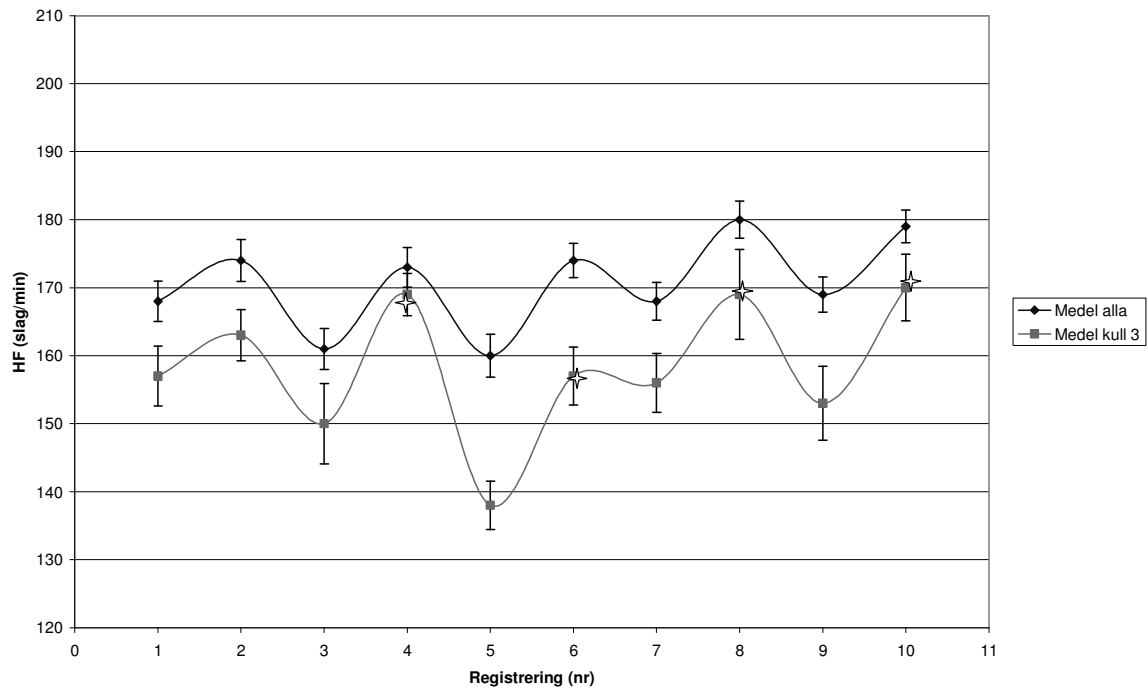
**Figur 5.** Medelvärde  $\pm$  SE av hjärtfrekvensen för alla valpar jämfört med hjärtfrekvensen för groenendaekullen (kull 1) och den enskilda hjärtfrekvenskurvan för valp nr 6 i denna kull, då denna valp avvek markant från övriga valpar i kullen. Prov 1 = före fasthållning i ryggläge, prov 2 = efter fasthållning, prov 3 = före isolering, prov 4 = efter isolering, prov 5 = före skrammel, prov 6 = efter skrammel, prov 7 = före radiobil, prov 8 = efter radiobil, prov 9 = före matdeltest och prov 10 = efter matdeltest. Stjärnorna markerar de hjärtfrekvensökningar i medelvärdeskurvan för alla kullar som är signifikanta jämfört med föregående registrering,  $P \leq 0,05$ .

För goldenkullen gav samma test som i medelvärdeskurvan för samtliga kullar signifikanta ökningar, isolering (test 2), skrammel (test 3), radiobil (test 4) och matdeltest (test 5), se figur 6. I denna kull var det ingen valp som skiljde sig extremt mycket från kullens medelvärdeskurva.



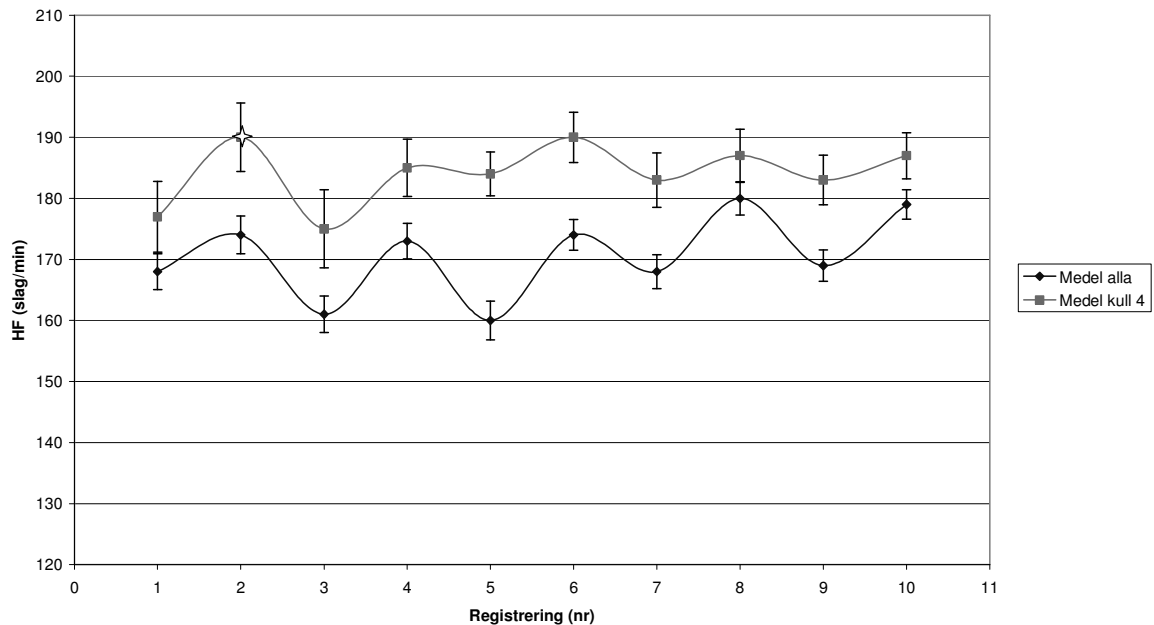
**Figur 6.** Medelvärde  $\pm$  SE av hjärtfrekvensen för alla valpar jämfört med hjärtfrekvensen för goldenkullen (kull 2). Registrering 1 = före fasthållning i rygläge, registrering 2 = efter fasthållning, registrering 3 = före isolering, registrering 4 = efter isolering, registrering 5 = före skrammel, registrering 6 = efter skrammel, registrering 7 = före radiobil, registrering 8 = efter radiobil, registrering 9 = före matdeltest och registrering 10 = efter matdeltest. Stjärnorna markerar de hjärtfrekvensökningar i medelvärdeskurvan för alla kullar som är signifikanta jämfört med föregående registrering,  $P \leq 0,05$ .

För den första labrador kullen (kull 3) var det även här samma test som gav signifikanta ökningar som i kurvan för samtliga kullar, nämligen isolering (test 2), skrammel (test 3), radiobil (test 4) och matdeltest (test 5), se figur 7. Inte heller i denna kull var det någon valp som skiljde sig extremt mycket från kullens medelvärdeskurva.



**Figur 7.** Medelvärde  $\pm$  SE av hjärtfrekvensen för alla valpar jämfört med hjärtfrekvensen för 1:a labradorkullen (kull 3). Registrering 1 = före fasthållning i ryggläge, registrering 2 = efter fasthållning, registrering 3 = före isolering, registrering 4 = efter isolering, registrering 5 = före skrammel, registrering 6 = efter skrammel, registrering 7 = före radiobil, registrering 8 = efter radiobil, registrering 9 = före matdeltest och registrering 10 = efter matdeltest. Stjärnorna markerar de hjärtfrekvensökningar i medelvärdeskurvan för alla kullar som är signifikanta jämfört med föregående registrering,  $P \leq 0,05$ .

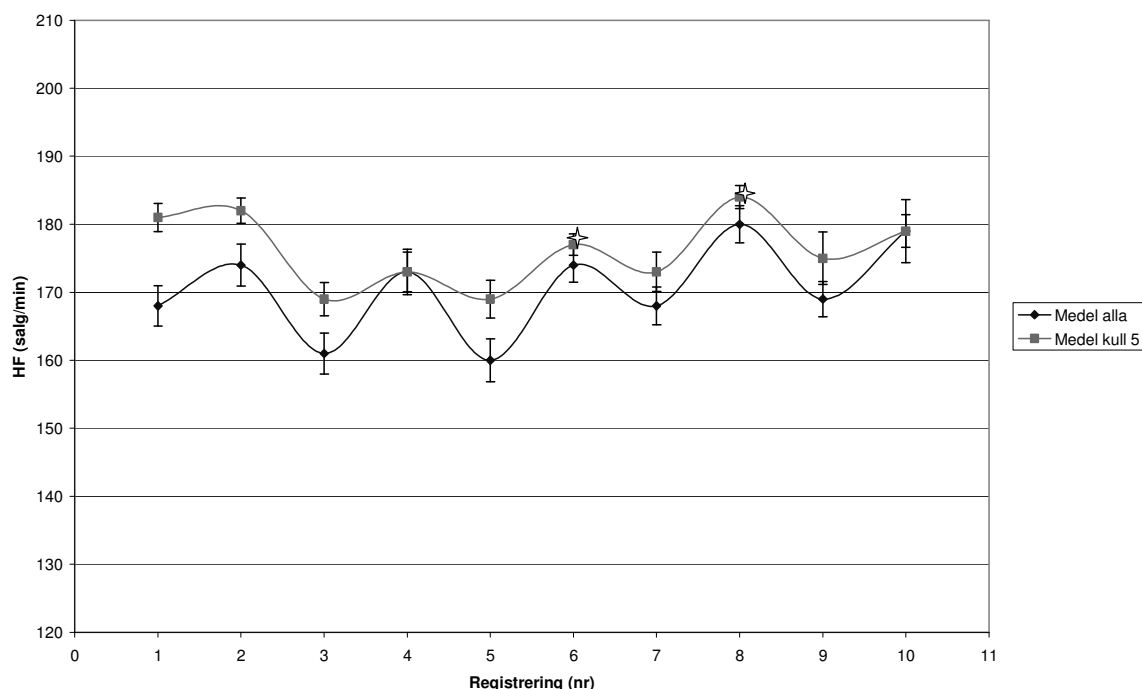
Hos bordercollicullen ökar hjärtfrekvensen endast efter ett test, fasthållning i ryggläge (test 1). Den här kullen skiljer sig därmed från övriga kullar då övriga förändringar i hjärtfrekvens ej är signifikanta, se figur 8. Inte heller i denna kull var det någon valp som skiljde sig extremt mycket från kullens medelvärdeskurva.



**Figur 8.** Medelvärde  $\pm$  SE av hjärtfrekvensen för alla valpar jämfört med hjärtfrekvensen för bordercollicullen (kull 4). Registrering 1=före fasthållning i ryggläge, registrering 2 = efter fasthållning, registrering 3 = före isolering, registrering 4 = efter isolering, registrering 5 = före skrammel, registrering 6 = efter skrammel, registrering 7 = före radiobil, registrering 8 = efter radiobil, registrering 9 = före matdeltest och registrering 10 = efter matdeltest. Stjärnorna markerar de hjärtfrekvensökningar i medelvärdeskurvan för alla kullar som är signifikanta jämfört med föregående registrering,  $P \leq 0,05$ .



Hos den andra labrador kullen (kull 5) sågs signifikanta ökningar av hjärtfrekvensen efter skrammel (test 3) och radiobil (test 4), se figur 9. Inte heller i denna kull var det någon valp som skiljde sig extremt mycket från kullens medelvärdeskurva.



**Figur 9.** Medelvärde  $\pm$  SE av hjärtfrekvensen för alla valpar jämfört med hjärtfrekvensen för 2:a labrador kullen (kull 5). Registrering 1 = före fasthållning i ryggläge, registrering 2 = efter fasthållning, registrering 3 = före isolering, registrering 4 = efter isolering, registrering 5 = före skrammel, registrering 6 = efter skrammel, registrering 7 = före radiobil, registrering 8 = efter radiobil, registrering 9 = före matdeltest och registrering 10 = efter matdeltest. Stjärnorna markerar de hjärtfrekvensökningar i medelvärdeskurvan för alla kullar som är signifikanta jämfört med föregående registrering,  $P \leq 0,05$ .

Det fanns inga signifikanta skillnader mellan tikarnas hjärtfrekvensregistreringar de två försöksdagarna, medelvärdet av tikarnas hjärtfrekvens för den första dagen var 94 slag/min med ett standardfel på  $\pm 3$  och för andra dagen var medelvärdet av tikarnas hjärtfrekvens 102 slag/min med ett standardfel på  $\pm 5$ . Det förelåg inga klara samband mellan tikarnas hjärtfrekvens och deras respektive kullars hjärtfrekvens.

## **Beteende**

I den andra delen av studien (Enfeldt, 2006) beskrivs och analyseras valparnas beteende mer ingående, men redan då studien genomfördes upplevdes generella skillnader i beteende mellan kullar och valpar såsom skillnader i rörelse, vokalisering mm. Groenendaelkullen upplevdes som mer passiv vad det gäller rörelse. I denna kull förekom en del vokalisering, t. ex. ylade flera av valparna. Goldenkullen utmärkte sig bl. a. genom att flera av valparna kissade och bajsade under testets gång, något som var ovanligt i övriga kullar. Bordercollievalparna upplevdes som mycket fysiskt aktiva vad gäller rörelse över golvet jämfört med övriga kullar. I den sista labradorkullen var det ingen valp som kissade under testets gång däremot kräktes en av valparna under salivprovtagningen.

## Diskussion

Metoden att mäta hjärtfrekvensen med hjälp av stetoskop under 15 sekunder visade sig efter den statistiska bearbetningen ha fungerat, med få saknade värden och små standardfel. De statistiska analyserna av hjärtfrekvensen visade också att deltesten i vår studie hade tydliga effekter på valparnas hjärtfrekvens, då signifikanta ökningar förekom i flera av testsituationerna. Att dessa signifikanta ökningar i hjärtfrekvens är en effekt av testen styrks av att hjärtfrekvensen mellan deltesten sjönk så att den vid registreringen före nästkommande deltest mestadels var tillbaka på samma nivå som innan testen startade. Om man anpassar en regressionslinje mellan registreringarna i medelvärdeskurvan i hjärtfrekvens för alla valpar ser man en tendens till ökning. Men inga signifikanta skillnader i hjärtfrekvens kunde påvisas mellan de första provtagningarna de båda dagarna, vilket tyder på att det inte fanns någon kvarstående effekt av testen dag 2. Möjligtvis var tendensen till ökning i hjärtfrekvens en effekt av radiobilstestet med viss kvardröjande effekt också under den följande matdeltesten.

Studien visar också att det fanns skillnader mellan kullarna på vilka test som gav signifikanta ökningar av hjärtfrekvensen. Bordercolliekullen var t ex ensam om att ha en signifikant ökning av hjärtfrekvensen efter fasthållning i ryggläge. Den här kullen var generellt mer aktiv än övriga kullar, då valparna sprang omkring över hela arenan (Enfeldt 2006). I testet fasthållning i ryggläge var det inte möjligt att springa omkring, vilket troligen upplevdes som påfrestande för dessa valpar. I alla övriga deltest var det möjligt för dessa valpar att röra sig fritt vilket inte resulterade i några signifikanta hjärtfrekvensökningar vid varje deltest, medan genomsnittet för denna kull låg högt också i vila. Jämförelser av de olika kullarna visar på statistiska skillnader i hjärtfrekvens vilket skulle vara intressant att följa upp. Är dessa skillnader slumpmässiga eller har olika kullar (och raser) olika basalvärden i hjärtfrekvens?

Isoleringstestet gav en signifikant ökning av valparnas hjärtfrekvens. De resterande deltesterna innehöll isolering från kullsystemen, men de följande deltesterna gav inte signifikanta ökningar av hjärtfrekvensen för alla kullar. Variationen mellan kullarna, på vilka deltest som gav signifikanta ökningar av hjärtfrekvensen, tyder på att de ökningar av hjärtfrekvenserna som syns efter de andra deltesterna inte enbart är en effekt av denna isolering.

En tanke med försöket var att se om två vanliga hundtyper, vallhundar och fågelhundar, skiljer sig åt fysiologiskt. Några sådana skillnader mellan typerna har inte kunnat visas i det här försöket, då de två kullar som ligger högre än de andra i hjärtfrekvens var goldenkullen och bordercolliekullen och de som ligger lägst var groenendaekullen och labradorkullen. Det är möjligt att det finns skillnader i hjärtfrekvensnivåer mellan raser, men för att konstatera detta skulle ytterligare studier med fler kullar behöva göras. Optimalt för den här sortens studie hade varit att jämföra flera kullar av en ras av varje hundtyp men då tillgången på kullar vid en viss tid i ett visst område är begränsad var inte detta möjligt i denna studie.

Då det sista testet, matdeltestet, inte utfördes på samma sätt för groenendaekullen som för övriga kullar så är det svårt att jämföra effekterna. Goldenkullen och den första labrador kullen hade också signifikant högre hjärtfrekvens efter testet, vilket dock kan bero på frustration av att inte komma åt maten. Groenendaekullarna var aldrig framme vid gallret och vi vet därför inte om de förstod att där fanns mat, goldenvalparna och den första labradorkullen var framme vid gallret och såg och kände lukten av mat.

Enskilda valpar avvek på olika sätt från kullmedelvärdet i hjärtfrekvens. En del avvek genom att de reagerade med en minskning av hjärtfrekvensen efter ett eller flera av testen. En minskning av hjärtfrekvens kan även den tyda på att individen upplever situationen som påfrestande då hjärtfrekvensen både kan öka och minska som en emotionell reaktion i en påfrestande situation. Minskad hjärtfrekvens kan drabba människor när de blir så rädda att de svimmar (Broom & Johnson, 1993). Vad minskningen i hjärtfrekvens kan bero på i de enskilda fallen är omöjligt att säga utan att studera den enskilda valpens beteende i just den situationen.

Ett exempel på en valp som avvek markant från kullmedelvärdet var valp nr 6 i groenendaekullen. Denna valp avvek genom att basalt ligga på en lägre nivå och inte visa någon reaktion i hjärtfrekvens under fasthållning och isolering. Beteendemässigt låg den här valpen lägre än medel för alla valpar på alla undersökta beteendefaktorer utom ljud under de här momenten (Enfeldt, opublicerat). Efter skramlet och radiobilen ökade hjärtfrekvensen markant, men låg fortfarande lägre än för övriga kullen. Mellan skramlet och radiobilen gick hjärtfrekvensen ner till samma låga nivå som tidigare. Under dessa två test var denna valp mer aktiv än medel för alla valpar vad gäller ljud och att klättra mot sargen. Den här valpen avvek också från övriga kullen genom att inte ha någon minskning i hjärtfrekvens mellan radiobilen och matdeltestet, utan låg kvar på en högre nivå. Veterinärbesiktningen av dessa valpar gav inga tecken på medicinska orsaker till den här valpens avvikande hjärtfrekvens.

Ett av syftena med det här försöket var att undersöka om kortisolmätningar i saliv samt hjärtfrekvensmätningar kan kopplas till olika beteenden. Om så vore fallet skulle man i framtiden med hjälp av salivprover och/eller hjärtfrekvensmätningar kunna förutsäga framtida individtyper och på så sätt eventuellt kunna undvika problembeteenden. Slutsatsen man kan dra av att salivprovtagningen inte lyckades i det här försöket är att salivprovtagningssmetoden behöver utvecklas vidare för att möjliggöra individuella prover från valpar. I en del studier på vuxna hundar har man använt citronsyra för få tillräckligt med saliv för senare analys (Kobelt et al., 2003). På råttor har det varit möjligt att ta salivprover med tillräckliga mängder för analys av IgA-nivåer i saliv. I de här studierna har man visat råttan en bit choklad och sen placerat en tunn platta av filterpapper under dess tunga i ungefär 30 sekunder (Queyras & Carosi, 2004). Eventuellt skulle metoden med filterpapper gå att använda på valpar också, men risken är att de tuggar sönder och sväljer pappret. De provtagningssmetoder som går ut på att stimulera djurets salivproduktion med hjälp av föda eller kemikalier är dock inte optimala, då synen av mat/intag av föda och eller obehaget av att få syra på tungan, i sig stimulerar kortisolfrisättningen vilket skulle påverka kortisolhalten vid nästkommande provtagning. Mätningar av kortisolhalten i plasma med hjälp av blodprov hade möjliggjort jämförelser mellan beteende och kortisolhalt för de olika testerna men då hade studien varit svår att genomföra på privatägda valpar.

Bland de av valparnas salivprov som gick att analysera förelåg en viss spridning av kortisolhalten, om denna spridning mellan valpproverna beror på testet, kullskillnader eller individuella skillnader är dock svårt att avgöra. Den här studien visar att det skulle kunna finnas en korrelation mellan kortisolhalt i saliv och urin då valpsalivprovet med den högsta kortisolhalten kommer från samma kull som urinprovet med högsta kortisol/kreatininkvoten. Tyvärr fick vi inget urinprov från den tik, goldentiken, som hade det högsta kortisolvärdet i saliven. Den här tiken hade mycket högre kortisolhalt i saliven

jämfört med övriga tikar första dagen för att andra dagen ligga inom samma intervall som övriga tikar. Då värdet är så extremt högt kan man misstänka att det blivit något fel med detta prov under analysen. Det är dock värt att notera om den här tiken att hon just denna dag inte ätit eller träffat sina valpar sen natten innan. Svält men även förväntningar på mat är känt att öka kortisolfrisättningen hos flertalet djurslag (Mason et al., 1968). Samtidigt låg hon tillsammans med bordercollietiken lägst i hjärtfrekvens denna dag. Kanske indikerar detta att goldentiken i den här situationen hade en passiv hanteringsstrategi. Det går inte att se någon liknande reaktion i de tre salivproverna som finns från den här kullens valpar denna dag. Tvärtemot sin mor låg den här kullen, tillsammans med kull 4, signifikant högre i hjärtfrekvens än övriga kullar, vilket inte kan sägas bero på de frångångna rutinerna, då de fortsatte att ligga högt även dag två då deras vanliga rutiner följdes.

Försök att finna en koppling mellan beteende och fysiologi hos valpar har tidigare gjorts. I en studie på hund där hundar på ett hem för övergivna djur utsattes för ett beteendetest samtidigt som kortisolhalten i plasma mättes upptäcktes att hundar med låg kortisolhalt under beteendetestet var de som utvecklat problembeteende enligt de nya ägarna (Hennessy et al., 2001). En förklaring till detta kan vara teorin om aktiva och passiva stresshanterare. Enligt denna är det de passiva som uppvisar en förhöjd kortisolhalt och således torde de med låg kortisolhalt hantera stress på ett aktivt sett, vilket nog många gånger upplevs som problematiskt för ägaren. I den här studien har endast statistiska skillnader i hjärtfrekvens mellan kullar kunnat påvisas vilket dock tyder på att det finns skillnader i den fysiologiska profilen. Det vore intressant att göra om studien med blodprovstagningar eller en förbättrad salivprovstagningsteknik, för att kunna säga något om individernas fysiologiska hanteringsstrategier. Det blir också intressant att mer i detalj jämföra effekterna på hjärtfrekvensen med beteendestudierna på varje kull.

## Referenser

- Algers, B & Jensen, P. 1992. Stress – beteende – hälsa. Svensk veterinärtidning vol. 44. s 13-17
- Beeerda, B., Schilder, M B.H., Bernadina, W., Van Hooff, JAN A.R.A.M., De Vries, H.W., Mol, J.A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral responses. *Physiology & Behavior*. 66. s 233-242
- Beeerda, B., Schilder, M B.H., Bernadina, W., Van Hooff, JAN A.R.A.M., De Vries, H.W., Mol, J.A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Physiology & Behavior*. 66. s 243-254.
- Broom, D.M. & Johnson, K.G., 1993. Stress and animal welfare. Chapman and Hall. London, UK.
- Case, L.P. 2005. The Dog: its behavior, nutrition and health. Blackwell Publishing Professional, Iowa State University Press, USA.
- Enfeldt, M., 2006. Kan man se generella beteendestrategier hos sjuveckors valpar? 2006:2 Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för anatomi och fysiologi
- Fält, L., Swensson, L., Wilsson, E., 1982. Mentalbeskrivning av valpar. Bättre tjänstehundar, Projektrapport 11, Statens Hundskola, Sveriges Lantbruksuniversitet och Stockholms Universitet, Sverige.
- Garner, F., Benoit, E., Virat, M.R. & Delatour, P.1990. Adrenal cortical response in clinically normal dogs before and after adaptation to a housing environment. *Laboratory animals*. 24. s40-43
- Goddard, M.E. and Beilharz, R.G., 1984. A factor analysis of fearfulness in potential guide dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 12, pp. 253–265
- Hennessy, M.B., Voith, V.L., Mazzei, S.J., Buttram, J., Miller D.D., Linden, F. 2001. Behavior and cortisol levels of dogs in a public animal shelter, and exploration of the ability of these measures to predict problem behavior after adoption. *Applied Animal Behaviour Science*. 73. s. 217- 233
- Henry, J. & Stephens, P. 1997. Stress, health, and the social environment. A sociobiologic approach to medicine. Springer-Verlag, New York.
- Hydbring – Sandberg, E., von Walter, LW., Höglund K., Svartberg, K., Swenson, L., Forkman B. 2004. Physiological reactions to fear provocation in dogs. *Journal of Endocrinology*. 180. s 439-448
- Högdahl, C.2000. Finns det ett samband mellan extrema beteendeyttringar och förändringar i hjärtfrekvens och hormonprofil hos hund? Rapport nr 38 Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för djurfysiologi
- Jensen, P. 1996. Stress i djurens värld. LT förlag. Stockholm , Sweden.
- Knol, B.W., Dielman, S.J., Bevers,M.M. & van den Brom, W.E.1989. Novelty stress in male dogs: The response of plasma LH, testosterone and cortisol. In influence of stress in the motivation for agonistic behaviour in the male dog: Role of the hypothalamus-pituitary-testes systems. Published doctoral thesis by Knol. University of Utrecht. Department of clinical Sciences of Companion animals. Utrecht, Netherlands
- Kobelt, A.J., Hemsworth, P.H., Barnett, J.L., Butler, K.L. 2003. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Research in Veterinary Science*. 75. s157-161
- Mason, J., Wool, M., Mougey, E., Wherry, F., Collins, D. & Taylor, E. 1968. Physiological vs. nutritional factors in the effects of “fasting” on hormonal balance. *Psychosomatic Medecine* 30, s 554-555.
- Newton, J.E.O., Dykman, R.A. and Chapin, J.L., 1978. The prediction of abnormal behavior from autonomic indices in dogs. *J. Nerv. Ment. Dis.* 166 9, pp. 635–641

- Palazzolo, D.L., Quadri, S.K., 1987. The effects of aging in the circadian rhythm of serum cortisol in the dog. *Exp. Gerontol*, 1987; 22 (6). s 379-87.
- Queyras, A & Carosi, M., 2004. Non-invasive techniques for analysing hormonal indicators of stress. *Ann Ist Super Sanità* 2004;40(2):211-221
- Sand, O., Sjaastad, Ø., Haug, E. 2004. *Människans fysiologi*. Liber. Stockholm, Sweden.
- Scott, J.P., Bielfelt, S.W., 1976. Analysis of the puppy-testing program. In: Pfaffenberger, C.J., et al., (Eds.), *Guide Dogs for the Blind: Their Selection, Development and Training*, Elsevier, Amsterdam, pp. 39–76.
- Scott, J.P., Fuller, J.L., 1965. *Genetics and the Social Behavior of the Dog*. Chicago Press, Chicago.
- Slabbert, J.M. & Odendaal, J.S.J. 1999. Early prediction of adult police dog efficiency- a longitudinal study. *Applied Animal Behavior Science* 64. s269-288
- Sundgren, P.E. 1993. Working dogs – Testing and breeding. A preliminary study on testing methods and genetic variability in working traits in dogs. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Animal Breeding and Genetics, Uppsala, Sweden.
- Svenska Brukshundklubben (SBK), 2002. *Anvisningar Mentalbeskrivning Hund*. Stockholm
- Tapper, I. 2004. *Hundens mentalitet*. Bokförlaget Prisma. Stockholm, Sweden.
- Thun, R., Eggenberger, E. & Zerbin, K. 1990. 24-Hour profiles of plasma cortisol and testosterone in the male dog: Absence of circadian rhythmicity, seasonal influence and hormonal interrelationships. *Reprod. Dom. Anim* 25. s 68-77
- Trautvetter, E., Pagel, E.B., Skrodzki, M., Gerlach, K. 1990. Changes in heart beat of puppies in the first twelve weeks of life. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1:103. s229-232
- Wilsson, E., Sundgren, P-E., 1998. Behaviour test for eight-week old puppies—heritabilities of tested behaviour traits and its correspondence to later behaviour. *Applied Animal Behavior Science* 58, 151-162.

### **Internetreferenser**

- <http://www.genetica.se/>, 2005-12-15
- <http://www.goldenklubben.com/>, 2005-12-08
- [http://www.sbk.nu/templates/Page\\_643.aspx](http://www.sbk.nu/templates/Page_643.aspx) , 2005-12-08
- <http://www.volhard.com/general/puppies.htm>, 2005-12-08

## Tack till

Ett stort tack till alla uppfödare och valpar som öppnade sina hem och tog emot oss, utan er hade inte den här studien varit möjlig!

Sen vill jag tacka Gunilla Drugge-Boholm för all hjälp och handledning med kortisolanalyserna, du lade ner mer tid och engagemang än vad jag någonsin kunnat begära.

Slutligen vill jag tacka deltagare och handledare som deltagit i det här projektet. Maria Enfeldt som genomfört den praktiska delen tillsammans med mig, Kenth Svartberg som hjälpt oss utforma den praktiska delen samt hjälpt till och tipsat om diverse litteratur och datatekniska knep och Eva Sandberg som lagt ner mycket tid på att handleda mig genom skrivandet och fysiologiska stress variabler...

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 5-20 poäng. 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](http://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](mailto:hmh@slu.se)**  
**Hemsida: [www.hmh.slu.se](http://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](mailto:hmh@slu.se)**  
**Homepage: [www.hmh.slu.se](http://www.hmh.slu.se)***

---

---