



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

En undersökning av sambandet mellan djurvälstånd och utsöndring av kryptosporidier hos unga kalvar i två besättningar

Lena-Mari Tamminen

Uppsala

2013

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2013:59*

En undersökning av sambandet mellan djurvälstånd och
utsöndring av kryptosporidier hos unga kalvar i två
besättningar

An investigation of the association between animal welfare
and shedding of *Cryptosporidium* in calves from two dairy
farms

Lena-Mari Tamminen

Handledare: Camilla Björkman, Institutionen för kliniska vetenskaper
Biträdande handledare: Linda Keeling, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Biträdande handledare: Ulf Emanuelsson, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator: Jonas Johansson Wensman, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2013
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0736, Nivå A2E, 30hp

Nyckelord: Djurvälstånd, kalv, utsöndring, kryptosporidier,
Key words: Animal welfare, calves, shedding, Cryptosporidium,

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2013:59

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INNEHÅLLSFÖRTECKNING	6
SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
LITTERATURÖVERSIKT	5
Djurvälfärd	5
Begreppet	5
Att mäta hög och låg välfärd	5
Immunförsvarets koppling till stress och djurvälfärd	6
Parametrar för välfärdsbedömning av kalvar	6
Smärtrelaterade parametrar	8
Renlighet	9
Sociala parametrar	9
Lek	10
Rädsla	10
Infektion med kryptosporidier	11
Hypotes för projektet	12
MATERIAL OCH METODER	13
Val av patogen	13
Utformning av bedömningsprotokoll	13
Utgångspunkt för individuell bedömning	13
Vidareutveckling av individuella parametrar	13
Rädsla	15
Vidareutveckling av bedömningsschema för beteendestudie	15
Utprovning och validering av bedömningsprotokollen	17
Besättningar i studien	17
Gård 1	17
Gård 2	17
Genomförande av studien	18
Diagnostik	18
Statistik	19
RESULTAT	20

Provtagning	20
Jämförelse av Gård 1 och Gård 2	20
Individuella parametrar och utsöndring	20
Rädsla	21
Förekomst av beteenden och utsöndring	22
Modellbygge med Partial Least Squares	23
DISKUSSION	25
Studiens uppbyggnad	25
Betydelse av välfärdsparametrar associerade med utsöndring	27
Samband mellan infektion och sänkt välfärd	29
KONKLUSION	29
FÖRFATTAREN TACK	30
REFERENSER	31

SAMMANFATTNING

Stress påverkar immunförsvaret och den fysiska hälsan samt individens välfärd och dess psykologiska hälsa men verkningsmekanismerna är fortfarande relativt outforskade. Det finns indikationer på att djur med lägre välfärd är mer stressade och därmed känsligare för infektion samt har svårare att göra sig av med infekterande agens än djur med högre välfärd. Målet med denna studie var att undersöka om det finns ett samband mellan välfärdsfaktorer och utsöndring av patogenen *Cryptosporidium* spp. hos unga kalvar. Utöver detta avsågs att skapa en modell där parametrar från välfärdsbedömning används för att förutse utsöndring vilket i framtiden kunna ge en mer riktad provtagning i besättningar där smitta misstänks.

Sextiofem kalvar, mellan en och åtta veckor gamla, från två svenska besättningar undersöktes och bedömdes i studien. Välfärdsbedömningar gjordes i två delar, dels en beteendestudie, där varje box studerades för sig, och dels en individuell bedömning av varje djur. I samband med den individuella bedömningen samlades träckprover in och analyserades. Proverna renades och analyserades med avseende på *Cryptosporidium* spp. Sambanden mellan välfärdsbedömningen och utsöndringen analyserades genom enkel korrelationstest (Kendall's tau). Dessutom analyserades data med Partial Least Squares (PLS) i ett försök att skapa en modell för att förutse utsöndring med hjälp av välfärdsfaktorer.

Det fanns ett statistiskt signifikant samband mellan flera välfärdsfaktorer och utsöndring av *Cryptosporidium* spp. Uttryck av beteenden som stångning och huvudskakning samt förekomst av skador och förhårdnader i huden var positivt kopplade till utsöndring. Uttryck av orala stereotypier var negativt korrelerat till utsöndring. Sambanden är dock svåra att tolka på grund av luckor i forskningen inom välfärdsp parametrar för kalv och betydelsen av vissa beteenden. Den begränsade mängden data och olika förhållanden på de två gårdarna vad gäller boxarea, antal kalvar i boxen samt förekomst av olika beteenden ökar osäkerheten.

Med hjälp av de högst korrelerade välfärdsp parametrarna skapades en modell i PLS för att förutse utsöndring i framtiden. Varje parameter tilldelades en vikt i ekvationen med vars hjälp 45 % av variansen i utsöndringen från de provtagna kalvarna kunde förklaras. Vikterna i denna modell speglade till stor del resultaten från den enklare analysen. Den tyngsta negativa vikten var mindre rädsla för nya personer vilket skiljde sig åt jämfört med analysen med Kendall's tau.

Dessa resultat visar att det finns tecken på flera samband mellan utsöndring av *Cryptosporidium* spp. och välfärd hos kalvar men vidare studier av fler kalvar i mer homogena besättningar samt utökad kunskap om välfärdsbedömning av kalv behövs för att undersöka detta vidare.

SUMMARY

Stress in individuals affects their immune system and physical health as well as their welfare. Although the mechanisms are not fully understood there are indications that animals with lower welfare are more liable to stress and therefore more susceptible to different infections and eliminate pathogens at a slower rate. This results in increased shedding of pathogens during a prolonged period of time. The aim of this study was to investigate if there are correlations between indicators of animal welfare and shedding of a pathogen and if indicators of animal welfare can be used to target sampling in field to individuals at greater risk of shedding pathogens. The pathogen chosen for the study was *Cryptosporidium* spp., a group of protozoan parasites causing diarrhea in young calves.

Sixty-five calves, from one to eight weeks of age, in two Swedish dairy farms were subject to a welfare assessment. The assessment comprised observations of behavior and clinical status. Fecal samples were taken for analysis of *Cryptosporidium* spp. The samples were cleaned before being analyzed for presence of oocysts by epifluorescence microscopy. Correlations between welfare indicators and shedding were analyzed using Kendall's tau. Partial Least Squares (PLS) was used to create a model to predict shedding using welfare indicators.

Statistically significant associations between several welfare indicators and shedding of *Cryptosporidium* spp. were found. Expressions of oral stereotypies were negatively correlated to shedding while butting, headshaking, skin lesions and hardened skin were positively associated with shedding. However the associations were difficult to interpret due to confounding factors as differences between the farms.

Using the most highly correlated variables from Kendall's tau test a model to predict shedding using these variables was created by PLS. Each variable was given a coefficient symbolizing their influence in the final model which explained 45 % of the variance in shedding. The coefficients mirrored the results from the correlation study to large part although fear of humans gained a higher negative weight than presence of stereotypies.

This study shows that there are correlations between welfare indicators and shedding of *Cryptosporidium* spp. although the results need confirmation in a larger data set. There is also a need for an increased knowledge of the connections between expression of different behaviours, stress and welfare in calves to fully understand and interpret the results.

INLEDNING

Friska och välmående djur har sedan lång tid tillbaka legat i djurägares och samhällets intresse men djurvälstånd är ett relativt nytt forskningsområde. Det har vuxit fram som ett svar på samhällets reaktioner kring en ökande industrialiseringen av animalieproduktionen samt en ökad användning av djur i vetenskapliga försök. Ett viktigt startskott för debatten anses vara Ruth Harrisons bok "Animal machines" som kom ut 1964 och mynnade ut i att Storbritanniens regering tillsatte en kommitté med uppgift att se över välfärden hos djur i intensiva uppfödningssystem (Appleby et al., 2011).

Denna kommitté, känd som Brambell Committé släppte en rapport 1965 där man för första gången myntade uttrycket "de fem friheterna". Dessa utvecklades därefter till de fem friheter vi talar om idag och som i stor utsträckning speglar hur man tänker och lagstiftar kring djurvälstånd (Veissier et al., 2008). De fem friheterna innebär att djur som hålls av människor ska vara både friska och välmående genom frihet från hunger och törst, frihet från obehag, frihet från smärta, skada och sjukdom, frihet att uttrycka normala beteenden samt frihet från rädsla och stress (Farm Animal Welfare Council, 1992)

Dessa friheter utgör idag basen när det gäller bedömning av djurvälstånd och utifrån dem har flera certifieringsscheman utformats. Ursprungligen baserades de i stor utsträckning på resursbaserade mått som exempelvis boxstorlek, temperatur och ventilationssystem men senare har en trend mot djurbaserade mått, där man tittar på individerna i miljön man vill bedöma, börjat sprida sig (Veissier et al., 2008). Hur välfärd ska mätas och vilka parametrar som är bäst att använda är dock fortfarande ett viktigt forskningsområde och flera olika teorier och förslag finns (Mellor & Bayvel, 2011, Broom, 1988).

På senare tid har ett ökat fokus börjat läggas på hur djuren upplever sin situation och hur positiva känslor kan öka välfärden medan negativa känslor försämrar den (Appleby et al., 2011, Mellor & Bayvel, 2011). Vissa anser att studier av beteende i sig räcker för att svara på om djuret i fråga är fysiskt friskt samt har det den vill ha genom preferensstudier i olika former (Dawkins, 2003) men det vanligaste är att man använder sig av en blandning av olika fysiologiska, beteenderelaterade, inhysningsrelaterade och även besättningsrelaterade mått för att mäta välfärd (Whay et al., 2003, Appleby et al., 2011, Welfare Quality®, 2009).

Ett omdiskuterat förslag är att använda immunförsvarets funktion som mått vid bedömning av välfärd (Broom, 1988). Grundtanken är att studier visat en koppling mellan stress, höga kortisolvärden samt en nedsättning av immunförsvaret (Moberg & Mench, 2000). Problem med detta har dock lyfts då man anser att kunskapen när det gäller sambanden kring kortisolutsöndring och stress fortfarande är bristfällig (Rushen, 1991, Moberg & Mench, 2000). Det finns även studier som tyder på att det inte endast är kortisolnivåer som påverkar immunsvaret vid stress och att denna mekanism är mer mångfacetterad (Minton et al., 1995). Även Broom (1988) ser problem med att använda kortisolnivåer då de varierar under dagen samt stiger t.ex. vid parning, uppvaktning, och införskaffning av föda.

I en reviewartikel av Rostagno (2009) sammanställs flera tecken på att stress även kan påverka livsmedelssäkerheten på flera sätt. Påverkan på tarmmukosa ökar

infektionskänsligheten och leder till kraftigare infektioner. Detta ger en ökad utsöndring av fler patogener och försvårar för individen att göra sig av med infektionen vilket leder till en förlängd utsöndringstid (Rostagno, 2009).

Studiens syfte

Denna studie utfördes för att ge en indikation på vilken roll djurvälstånd spelar i sambandet mellan utsöndring av patogener och stress genom att undersöka om det finns ett samband mellan utsöndring av *Cryptosporidium* spp och välfärdsp parametrar framtagna för bedömning av kalv. Utöver detta avsågs att skapa en modell där parametrar från välfärdspbedömning används för att förutse utsöndring göras. Detta skulle i framtiden kunna ge en mer riktad provtagning i besättningar där smitta misstänks och öka sannolikheten att hitta kalvarna som utsöndrar stora mängder *Cryptosporidium* spp.

LITTERATURÖVERSIKT

Djurvälfärd

Begreppet

När man talar om djurvälfärd hos en individ menas individens förmåga att hantera sin omgivning och hur mycket den behöver anpassa sig för att fungera i sin miljö (Broom, 1988). Termen innefattar både fysiskt och mentalt välmående men fokus har länge varit frihet från obehag och lidande i olika former (Brambell Committee, 1965). På senare tid har man dock börjat diskutera i vilken utsträckning känslor ingår i begreppet och det är väl vedertaget att även förekomst av positiva känslor är viktiga för välfärden (Boissy et al., 2007).

Att mäta hög och låg välfärd

Låg välfärd kan anses enklast att mäta då denna ger upphov till konkreta mått (Broom, 1988). Förekomst av vissa sjukdomar påverkar direkt djurets välfärd genom att orsaka smärta och obehag vilket gör sjukdomsförekomst, skador och dödlighet till användbara parametrar (Appleby et al., 2011, Whay et al., 2003). Även fysiologiska mått kan användas för att bedöma välfärd hos djur. Från enklare undersökningar som hjärtfrekvens, andningsfrekvens och kroppstemperatur till undersökningar av hormoner och andra metaboliter används för att bedöma om djuret är i balans (Broom, 1988, Appleby et al., 2011). Vid akuta situationer baseras reaktionen ofta på de biologiska funktionerna fly, gömma sig eller försvara sig och i dessa situationer kan fysiologiska parametrar som hjärtfrekvens och andningsfrekvens vara mycket användbara. Att mäta reaktioner som utvecklas under långvarig låg välfärd är svårare (Broom, 1988) men man kan exempelvis titta på tillväxt och hur reproduktionen fungerar (Appleby et al., 2011). Hur djuret reagerar kan även variera beroende på i vilken utsträckning det klarar av att hantera situationen och vilka anpassningar som är möjliga att göra för att behålla kontrollen över situationen (Moberg & Mench, 2000, Appleby et al., 2011). Något för hög temperatur i stallarna kan exempelvis hanteras genom att djuret svettas mer men så länge detta inte leder till vätskebrist och elektrolytrubbningar behöver det inte påverka djuret i alltför stor omfattning. Fysiologiska mått har fördelen att vara relativt väldefinierade, möjliga att mäta objektivt och ha ett intervall för normalvariation men nackdelen är att de kan vara svårtolkade då de regleras av flera oberoende faktorer (Appleby et al., 2011).

Beteenden som uttrycks kan vara indikatorer på låg välfärd. Hög förekomst av aggressioner mellan djur, som leder till stress och i värsta fall skador hos djur, har föreslagits vara en möjlig indikator (Laister et al., 2009a). Stereotypier är ett annat exempel på beteende som uppstår när djur försöker hantera stress i omgivningen. Frekvens och förekomst av sådana beteenden kan användas som indikator för välfärd men det är viktigt att komma ihåg att frånvaro av dessa beteenden inte nödvändigtvis indikerar god välfärd (Broom, 1988). Istället har man i senare studier sett att utförande av stereotypier är ett sätt att hantera stress och kan fungera skyddande för individen som utför det och djur som hanterar sin stress mer passivt kan alltså ha en sämre välfärd (Mason, 1991).

Den säkraste indikationen för att någonting bidrar till hög välfärd hos ett djur kan fås genom att använda sig av preferensstudier där djuret själv får välja vad den helst föredrar mellan flera

olika förutsättningar (Broom, 1988). Exempelvis kan man låta djur välja vilket underlag de föredrar genom att ge dem tillgång till två olika och notera var de väljer att spendera sin tid. För att ytterligare kunna bedöma vikten av olika faktorer kan man även försvåra för djuret att komma åt preferenser. Ju hårdare de är beredda att arbeta för att nå förändringen desto mer kan man anta att djurets välfärd och välbefinnande höjs av att få utföra beteendet eller få tillgång till faktorn (Appleby et al., 2011). Vid bedömning av studier av den här typen bör man dock ha i åtanke att djur inte alltid väljer det som är bäst för dem i längden samt att det kan röra sig om två dåliga alternativ där ett är något bättre än det andra (Broom, 1988). Även möjligheten att utföra för djuret naturliga beteenden som de har hög motivation att utföra kan kopplas till hög välfärd (Appleby et al., 2011). På senare tid har man börjat ta fram metoder för att på ett vetenskapligt sätt kunna bedöma djurs känslor, exempelvis om de är lugna, stressade eller rädda, för att få en mer fullständig bild av djuret (Wemelsfelder et al., 2001, Wemelsfelder, 2007). Måttens säkerhet har ifrågasatts men i olika studier har observationer av denna karaktär validerats och har börjat användas i olika scheman för välfärdsbedömning (Wemelsfelder & Lawrence, 2001, Wemelsfelder et al., 2009).

Immunförsvarets koppling till stress och djurvälfärd

Att immunförsvarets funktion och stress är tätt sammanlänkande har länge varit känt och åtskilliga försök för att kartlägga sambanden har gjorts. Stress har kopplats till hög kortisolnivå, neutrofil samt försämrad proliferation och funktion av lymfocyter (Moberg & Mench, 2000). I en studie där kortisolnivåer hos tjurar som hölls uppbundna i sex veckor jämfördes med frigående djur sågs en ökning av kortisolutsöndring som kopplades till stress. Efter ytterligare fyra veckor hade dock kortisolnivåerna i blodet gått tillbaka till normalvärde. Sannolikt på grund av en desensivering mot det kortisolstimulerande hormonet adrenocorticotrop hormon (ACTH) då en injektion av detta gav lägre kortisolökning hos de uppbundna djuren i jämförelse med kontrollgruppen (Ladewig & Smidt, 1989). Liknande resultat sågs vid en ACTH-stimulering av kalvar uppfödda uppbundna på spaltgolv jämfört med gruppållna kalvar på ströbädd. De uppbundna kalvarna hade signifikant högre plasmakortisolnivåer både före och efter ACTH-giva i samband med stressande försök (Dantzer et al., 1983). En studie av Minton *et al.* (1995) visar dock att sambandet är mer komplext. I denna studie isolerades och fångslades lamm under sex timmar i tre dagar och lymfocyternas funktion mättes. Resultaten jämfördes med en kontrollgrupp som lämnades ostörda samt en grupp lamm som fick en intravenös giva kortisol i motsvarande dos och tid som uppmätts hos de stressade lammerna. Resultatet visade att de lamm som utsatts för riktig stress hade markant sämre proliferation av lymfocyter jämfört med de två andra grupperna och man kan därför misstänka att flera faktorer än kortisol är inblandade i den stressinducerade immunosuppressionen.

Parametrar för välfärdsbedömning av kalvar

Utfodringsrelaterade parametrar

Att frihet från hunger och törst ökar djurs välfärd har sedan länge varit allmänt accepterat men hur detta ska bedömas är ännu inte helt självklart. Fri tillgång till föda kan i extrema fall leda till fetma och andra problem som kraftigt påverkar individens välfärd medan en begränsning där djuret inte får äta fritt leder till en påverkan på beteendet (Appleby et al., 2011). Vilka

beteenden som uppstår varierar beroende på hur djurets normala ätbeteende ser ut och det finns fortsatt stora frågetecken kring tolkningen (D'Eath et al., 2009).

Hungerrelaterade indikatorer

Inom mjölkproduktionen separeras kalven från kon tidigt och utfodras därefter med mjölk och har varierande tillgång till kraftfoder och grovfoder. En vanlig mjölgiva till kalvar är 10 % av kroppsvikten men om de ges fri tillgång dricker de dubbelt så mycket (Appleby et al., 2001). En studie där en grupp kalvar tilldelades en större mjölmängd och gavs möjlighet till fler besök i kalvamma jämfördes med kalvar som fick mindre mjölmängd fördelat på färre besök visade att kalvarna som fick mindre mjölk gjorde fler oavlönade besök i kalvammen och sög mer på amman. Kalvarna som fick mer mjölk var mindre aktiva och mindre konkurrensinriktade (puttade och knuffade mindre på andra kalvar) vilket ansågs bero på minskad hunger (De Paula Vieira et al., 2008).

Orala stereotyper är vanligt hos kalvar i olika produktionssystem och har kopplats till hunger och utfodring (Bokkers & Koene, 2001). Cross-sucking, vilket innebär att kalvarna suger på varandras öron och preputium, ses bland kalvar inhysta i grupp i samband med mjölkintag. Beteendet är kopplat till att kalvars sugbehov i samband med utfodring inte uppfylls men bakgrunden är inte fullständigt utredd och förekomst av beteendet tycks även påverkas av hunger (Veissier et al., 2002, Rushen & de Passillé, 1995) Tungrullning är en annan stereotypi som ansetts vara starkt kopplat till utfodring och social kontakt då det förekom i hög grad bland isolerade kalvar som endast utfodrades med mjölk (Veissier et al., 1998).

Tillgång till grovfoder är kopplat till hunger och brist på detta kan öka förekomsten av oral manipulation av föremål. I en studie av Veissier med flera (1998) jämfördes kalvar som hade tillgång till både mjölk och grovfoder med kalvar som endast hade tillgång till mjölk. I gruppen som hade tillgång till grovfoder var intaget störst innan utfodring av mjölk. I den andra gruppen ökade förekomsten av oral manipulation vid motsvarande tidpunkt. Oral manipulation skedde både innan och efter mjölgiva och man drog slutsatsen att beteendet handlar om ett betesbehov som vid brist på grovfoder riktas mot föremål istället (Veissier et al., 1998).

Hull

En individs hull speglar effektivt om utfodringen sedan en tid tillbaka har varit tillräcklig eller ej. Scheman för bedömning av hull finns validerade för köttjur och mjölkkor och används ofta vid utvärdering av besättningar (Leach et al., 2009b). Även för kalv finns bedömningsscheman utformade där man fokuserar på ländryggens form men inget av dessa har validerats. Inom EU-projektet Welfare Quality jämför man därför kalvar i en grupp med varandra (Welfare Quality®, 2009). Ur djurvälståndssynpunkt är det framför allt relevant att veta om djuret är underviktigt eller överviktigt då detta kan anses påverka dess välbefinnande i störst utsträckning (Leach et al., 2009b).

Våmfyllnad

Våmfyllnad är ett alternativt mått för att avgöra hur fodertillgången varit. En insjunken våm visar att kon inte ätit ordentligt inom en nära samtid och en utspänd våm tyder på störning i

vämnen, exempelvis orsakad av för stora mängder kraftfoder. Parametern har funnits med i undersökningar av välfärd hos kalv men sambandet mellan våmfyllnad och hunger är inte lika klarlagt som för vuxna djur (Whay et al., 2003).

Lekbeteende

Ökad förekomst av lekbeteende har i en studie kopplats till en högre mjölkgiva bland kalvar innan avvänjning och föreslagits vara en indikator för hur utfodringsrutinerna påverkar välfärden (Krachun et al., 2010).

Smärtrelaterade parametrar

Smärta hos djur är ett erkänt välfärdsproblem som kopplas ihop med att djuret upplever en vävnadsskada eller risk för att utsättas för vävnadsskada. För att undvika obehaget ändrar djuret sitt beteende och/eller fysiologi och dessa förändringar försöker man använda för att mäta och bedöma smärta hos djur i olika situationer. Forskningen inom området är under utveckling och det finns mycket kvar att arbeta med när det gäller att identifiera smärta hos djur och bedöma vikten av den (Appleby et al., 2011).

Hudskador

Skador i huden leder till smärta vilket i sin tur sänker djurets välfärd. När det gäller hudskador har man dock diskuterat att det är svårt att bedöma vikten och betydelsen av mindre skador (Rushen et al., 2007). Det finns ett flertal studier där olika metoder används för att bedöma skador på nöt, framför allt hos mjölkkor men även kalv, och inom EU-projektet Welfare Quality har man sammanställt dessa och skapat ett schema för bedömning av mjölkkor, köttdjur och kalvar (Schulze Westerath et al., 2009). Hos kalvar kan man förvänta sig hudförändringar orsakade av mekaniska skador, skador orsakade av andra kalvar (exempelvis vid cross-sucking av öron och preputie) samt eventuella förändringar orsakade av parasiter (Schulze Westerath et al., 2009). Ett annat sätt att bedöma hudskador är att titta efter blåmärken på slaktkroppar (Rushen et al., 2007).

Hälta

Hälta är ett av de största välfärdsproblemen hos mjölkkor och orsakar även problem för kalvar (Rushen et al., 2007). För mjölkkor finns validerade scheman för bedömning av rörelsemönster och med dessa verktyg kan även låggradiga hältor noteras och mätas. Detta har ännu inte utvecklats för kalvar varför man idag enbart använder förekomst av kraftig hälta, eventuellt i samband med ledsvullnad, som mått för denna parameter (Leach et al., 2009c).

Övriga sjukdomssymptom

Magsår är vanligt förekommande hos kalvar och orsakar med största sannolikhet smärta. Hur stor påverkan de har på kalvens välfärd är dock inte utforskat (Rushen et al., 2007). Lunginflammation och gastrointestinala sjukdomar är även de vanliga problem bland unga kalvar och viktiga orsaker till sänkt välfärd (Canali et al., 2009).

Renlighet

Renlighet är ansett som en välfärdsparemeter och för vuxna nöter finns detaljerade och validerade bedömningsscheman framtagna (Leach et al., 2009a). För kalvar finns få, lika detaljerade, bedömningsscheman och man talar framför allt om att bedöma renlighet för att detta hänger ihop med diarréförekomst. För att bedöma detta anses det mest relevant att titta på flanker och perinealregionen (Leach et al., 2009a). Renlighet kan dock ha psykologiska effekter. Genom en preferens och motivationsstudie har man visat att mjölkkor i hög grad undviker gödsel fyllda gångar och man kan spekulera i om detta kan gälla även kalvar samt i hur stor grad välfärden påverkas av att utsättas för detta (Phillips & Morris, 2002).

Sociala parametrar

Kalvar i vilt tillstånd tillbringar mycket tid isolerade från de vuxna djuren och i studier av frilevande raser har man sett grupper med tio individer som tillbringar mycket tid tillsammans medan de vuxna djuren är borta (Vitale et al., 1986, Bouissou et al., 2001). Det spekuleras i om det finns en stark social dragning till andra kalvar från sex till sju dagars ålder (Vitale et al., 1986) och vid tre veckors ålder tillbringas den största delen av tiden tillsammans med andra kalvar (Bouissou et al., 2001).

Antalet interaktioner mellan kalvar ökar långsamt med åldern och beteendena liknar de som uttrycks hos vuxna individer. Aggression anses vara ovanligt innan två månaders ålder, även om kalvarna utsätts för omgrupperingar och social stress (Veissier et al., 2001). Detta stöds av en studie där 18 kalvar följdes under digivning och avvänjning som endast registrerade ett fåtal hotfulla beteenden (Reinhardt et al., 1978). Bråk (två kalvar stängas genom att trycka huvudet mot varandra) och bestigning kopplades i denna studie till lekbeteenden eftersom dessa inte följdes av hotfulla beteenden såsom slagsmål och jakt. Ingen dominansordning där en kalv alltid besteg en annan individ i lägre rang kunde fastställas och beteendena kunde avslutas plötsligt och ersättas av annan aktivitet (Reinhardt et al., 1978).

Stångning definieras av att en kalv trycker sitt huvud mot en annan kalvs kropp, hals eller bakdel för att flytta det andra djuret utan någon tydlig orsak (Reinhardt et al., 1978, Bokkers et al., 2009a). Hos vuxna individer anses detta vara ett dominansbeteende som utövas av det dominanta djuret mot ett djur som står lägre i rang (Reinhardt et al., 1978, Bouissou et al., 2001). Samma beteende ses frekvent hos kalvar och Reinhardt et al. (1978) har kopplat det till aggression även hos kalv eftersom rollerna i kalvgruppen var fixerade, vilket tyder på att en tidig rangordning fanns på plats. Andra författare anser istället att beteendet är kopplat till lek (Bouissou et al., 2001).

Sociala beteenden bland nöter inkluderar putsning och social slickning av varandra. Vikten av detta beteende är inte klarlagt men man diskuterar att det utförs för att stärka sociala band och relationer samt minska stress och spänning (Bouissou et al., 2001). Man spekulerar kring om det endast är djur med lägre rang som slickar på djur med högre rang men resultat från olika studier är motstridiga. Dock finns det tecken på att djuren föredrar vissa individer framför andra, gärna djur i samma ålder, släktingar eller i liknande rangposition (Bouissou et al., 2001). Social slickning har föreslagits som ett mått på hög välfärd men eftersom det är ett

beteende som utvecklas från 9 veckors ålder rekommenderas att det mäts vid en bestämd ålder (Laister et al., 2009b).

Lek

Förekomst av lek anses som en av de mest lovande indikatorerna på god välfärd (Boissy et al., 2007). Till lekbeteenden kopplas förutom de ovan diskuterade beteendena låtsasbråk och bestigning av annan kalv även springande, skutt, bocksprång, huvudskakningar, buffning och skrapande i marken (Bouissou et al., 2001). Lekbeteende är naturligt men man har sett att dess förekomst är kopplat till den totala yta kalven har tillgång till (Jensen & Kyhn, 2000). Kalvar som inte har möjlighet att uttrycka lekbeteenden har en ökad motivation att göra det när tillfälle ges (Mintline et al., 2012). Förekomst av lekbeteende är även kopplat till aktivitet i gruppen som studeras, ju högre aktivitet desto högre förekomst av lek (Leruste et al., 2009). Hos kalv har man dock sett en ökning av lekbeteenden som svar på utträkning och underutfodring och måttets användbarhet har även ifrågasatts då flera studier uppmätt en låg förekomst av lek (Leruste et al., 2009).

Rädsla

Frånvaro av rädsla är en viktig parameter för att bedöma välfärd hos djur och olika metoder för att mäta detta hos kalvar har därför tagits fram och validerats (Bokkers et al., 2009a). För översikt av olika metoder, se tabell 1.

Tabell 1. Tester för att mäta rädsla hos kalvar. Sammanställda efter (Bokkers et al., 2009a)

Test	Genomförande
Reaktion för okänt föremål ("Novel Object Test")	Ett okänt föremål ställs in i boxen och de kalvar som vågar närma sig och vidröra det antecknas. Studien pågår under tre minuter.
Reaktion för okänd människa som kommer in i stall ("Unit Entry Test")	Stallet lämnas tomt och släckt under en timme innan en okänd person tyst kliver in innanför dörren. Kalvarna i boxarna närmast observeras och antalet stående kalvar antecknas. Därefter tänds ljuset och personen går längre in i stallen. Efter en minut antecknas antalet kalvar som står upp.
Vilja att närma sig och röra okänd passiv människa ("Human Approach Test")	En okänd person lutar sig in över boxväggen och påkallar kalvarnas uppmärksamhet genom att säga någonting i normalt tonläge. Därefter noteras tiden för varje kalv att komma fram och nudda observatören. Ögonkontakt undviks och observatören förblir passiv. Efter tre minuter avbryts testet.
Vilja att närma sig och röra aktiv okänd person ("Distance-Avoidance Test eller Calf Escape Test")	Observatören går in bland kalvarna och väntar en minut till de vant sig vid närvaron. En kalv som står cirka 1,5 meter bort väljs ut. Observatören börjar med att skapa ögonkontakt, därefter tar han/hon ett steg mot kalven med armen utsträckt och stannar sedan upp en sekund. Därefter tas ytterligare ett steg följt av en sekunds stillastående innan handen sträcks ut för att röra kalvens mule. Om kalven tar ett steg bakåt med ett framben avslutas testet. För varje lyckat moment får kalven 1 poäng (0-4 poäng). Samma test kan även genomföras med en för kalvarna känd person, exempelvis djurägaren.

Förhållande till människor

Förhållandet mellan kalvar och djurskötare har undersökts i flera studier. Lensink med flera (2000) fann att kalvar som blev kelade med och fick suga på djurskötarens fingrar hade mindre magsår vid slakt och var lugnare vid hantering av okända människor och vid transport. Man såg dock ingen skillnad på reaktion inför okända eller överraskande stimuli (Lensink et al., 2000). Kalvar som hanterats under sin uppväxt har även lättare att anpassa sig till mjölkningsrutiner efter kalvning och visar mindre rädsla i nya situationer (Boissy & Bouissou, 1988). I en senare studie kunde även en positiv effekt på köttkvaliteten uppmätas vilket ansågs bero på minskade stressnivåer under transport till slakteriet (Lensink et al., 2001).

Infektion med kryptosporidier

Cryptosporidium spp. är protozoer som infekterar människor och djur, bland annat nötkreatur, över hela världen. Djuren smittas genom oralt intag av infektiösa oocystor, vanligen vid kontakt med avföring från andra smittade djur (Fayer & Xiao, 2008). Oocystorna är mycket resistenta i miljön och kan vara infektiösa efter flera månader tack vare en hård skyddande vägg (Fayer & Xiao, 2008). De är dessutom tåliga mot rengöring och desinfektion och finns kvar på golv och väggar i stallar även efter rengöring (Atwill et al., 1998). Parasiten förökar sig i villinterocyter i jejunum och ileum och infektionen förstör enterocyterna och villistrukturen i tarmen. Basalmembranet skadas dock inte och en regeneration från kryptenterocyter kan så småningom ersätta de döda cellerna (McGavin & Zachary, 2012). Diarrén orsakas sannolikt av flera mekanismer, bland annat orsakar inflammationen en ökad intracellulär permeabilitet och eventuellt en förändring i enterocyternas sekretion och absorptionsförmåga. Malabsorption orsakad av dysfunktion i matsmältningsenzymer från de infekterade cellerna bidrar till diarrén (McGavin & Zachary, 2012, Fayer & Xiao, 2008).

Parasiten är vanligt förekommande i svenska mjölkkobesättningar där kalvar framför allt infekteras av de morfologiskt lika *C. parvum* och *C. bovis*. *C. parvum* är patogen och är en vanlig sjukdomsorsak hos svenska kalvar (Silverlås, 2010, Silverlås et al., 2009). En nyligen publicerad studie indikerar även att *C. bovis* som ansetts vara apatogen kan orsaka sjukdom hos svenska kalvar (Silverlås et al., 2012). Sjukdom yttrar sig som diarré, inappetenz och dehydrering och kan i allvarliga fall vara livshotande. Hur kraftiga symptom kalven får varierar kraftigt och hos en del individer förlöper infektionen utan kliniska symtom (de Graaf et al., 1999). Hur stor andel av kalvar som utsöndrar parasiten som drabbas av diarré är till författarens vetskap ännu ej känt.

Sambandet mellan utsöndring och olika riskfaktorer undersöktes 2009 i en studie av Silverlås et al. För unga kalvar var utsöndring av parasiten endast signifikant kopplat till en ökande ålder, sannolikt eftersom risken att komma i kontakt med smittan ökade med tiden, men ålder i sig kunde inte användas för att förklara utsöndring i en mer avancerad modell. Författarna drog därför slutsatsen att fler ännu ej identifierade faktorer påverkar utsöndringen (Silverlås et al., 2009).

Hypotes för projektet

Det ovan beskrivna sambandet mellan stress och immunförsvarets funktion visar att fysiologisk och psykologisk hälsa går hand i hand. Välfärd anses vara just en indikator för att djuret kan hantera sin omgivning och anpassa sig utan att detta går ut över dess välmående. Man skulle kunna anse det vara en motsats till stress. Grundhypotesen för denna studie är därför att lägre välfärd bör innebära en högre stressnivå och därmed ett nedsatt immunförsvaret som ger ökad risk för infektion samt svårare att göra sig av med infekterande patogen. Om så är fallet skulle sambandet kunna användas för att rikta provtagning i fält och därmed öka sannolikheten för att välja utsöndrande djur när man letar efter olika patogener. Ett eventuellt samband skulle eventuellt kunna appliceras på andra patogener i framtiden och exempelvis öka specificiteten vid salmonellakontroller.

MATERIAL OCH METODER

Val av patogen

Cryptosporidium spp valdes ut till denna studie eftersom den visats vara mycket vanlig i svenska besättningar (Silverlås et al., 2009) och därmed lämplig för en mindre omfattande studie med begränsat antal individer tillgängliga för provtagning. Parasiten är en vanlig orsak till kalvdiarré men utsöndring har ej kunnat kopplas till avföringskonsistens i tidigare studier varför även kalvar med diarré fick vara med i studien om de ej bedömdes vara allmänpåverkade (Silverlås et al., 2012).

Utformning av bedömningsprotokoll

Utgångspunkt för individuell bedömning

Bedömningsprotokollen (Bilaga 1) utformades med bas i tidigare forskning om djurbaserad välfärdsbedömning och de olika parametrarna mättes enligt Tabell 2. Som grundmall användes ett protokoll framtaget av EU-projektet Welfare Quality (Welfare Quality®, 2009) som inriktar sig på bedömning av djurvälstånd på gårdsnivå. I detta fanns bedömning av hull, smutsighetsgrad, blöthet, hårrem, bedömning av våmfyllnad samt alla parametrar under rubriken specifika skador. Då detta protokoll är utformat för att tidseffektivt kunna bedöma en hel gård under en dag fanns stort utrymme att utöka detta protokoll inför denna studie.

Vidareutveckling av individuella parametrar

För hullbedömning samt skador fanns att en mer omfattande skala tagits fram av Svensk Mjolk inom konceptet Hälsopaket Mjolk (Personligt meddelande, Louise Winblad von Walter) och delar av dessa infogades i protokollet för att utveckla hull- och skadebedömningen. Renlighetsbedömning av kalvar på gårdsnivå används vid välfärdsbedömning för att mäta diarréförekomst och man har därmed ansett att det är mest relevant att titta på flanker och perinealregionen (Welfare Quality®, 2009). I denna studie utvecklades renlighetsbedömningen enligt ett schema för mjölkkor och kalvar utformat vid University of Wisconsin-Madison School of Veterinary Medicine för att få en tydligare bild av var på kroppen smutsen satt (Cook, 2012). En liknande utveckling gjordes även för parametern våt kalv.

Våmfyllnad utvecklades från att endast innehålla parametrarna normal eller utspänd till att även ha med insjunken i enlighet med ett schema för välfärdsbedömning använt för att bedöma kalvhälsa i Storbritannien (Whay et al., 2003). För att ytterligare lägga till en nyans lades även lindrigt insjunken våm in som ett alternativ. För definitioner av de olika graderna se Tabell 2 samt Bild 1 och Bild 2.

Kalvarnas hårrem bedömdes från normal, raggig, glanslös eller med förhårnader enligt protokoll framtaget av Welfare Quality (2009) och Whay et al. (2003).



Bild 1. Till vänster normal våm och till höger lindrigt insjunken våm.



Bild 2. Raggig, glanslös kalv

Tabell 2. Definition av parametrar vid individuell bedömning.

Hull		Bedöms efter ländryggens form från 1-5 poäng enligt bedömningschema framtaget för Hälsopaket Mjök (Personligt meddelande, Louise Winblad von Walter).
Smutsighet	Nedre bakben	Bedöms enligt bilder från Cook (2012). 1: Ingen eller mycket lite gödsel ovanför kronranden. 2: Mindre skvätt ovanför kronranden. 3: Distinkta plaque med torkad gödsel. Päls ses mellan plaque. 4: Kontinuerligt gödselplaque som går högt upp på benet.
	Övre bakdel	Bedöms enligt bilder från Cook (2012). Bakdel, bakben ovanför hasen och flanker bedöms. 1: Ingen gödsel. 2: Mindre skvätt. 3: Distinkta plaque med torkad gödsel. Päls ses mellan plaque. 4: Hopflytande gödselplaque.
	Övrig kropp/huvud	Bedömning inspirerad av Cook (2012) då det ansågs relevant att även notera om kalven är smutsig utöver de vanligaste ställena. 1: ingen eller mycket lite gödsel. 2. Mindre skvätt. 3: Distinkta intorkade plaque. 4 Hopflytande gödselplaque.
Våt kalv		Pälsen är blöt/fuktig (Welfare Quality, 2009).
Våm		Insjunken: Kraftigt insjunken våm vilket ger en tydlig triangel i hungergropen. Lindrigt insjunken: Våmmen insjunken så att trinagelform i hungergropen kan anas. Normal: Hungergropen normalfylld vilket innebär en mindre insjunkning. Utspänd: Hungergropen buktar ut (Welfare Quality, 2009).
Hårrem		Glanslös: matt päls. Raggig: Lång, ojämn päls. Förhårdnader i hud hänvisar till skrovliga, ofta mjälliga förtjockningar i huden (Welfare Quality, 2009).
Skador/inflammation (huden):		Avser skador såsom skrapsår, sår, svullnader etc över hela kroppen (Welfare Quality, 2009).
Specifika skador:		Förekomsten av specifika skador på rörelseapparat samt eventuella tecken på infektion (Welfare Quality, 2009).
Avföring		Bedömning av avföringens konsistens.

Rädsla

Till denna studie valdes Human Approach Test och Distance Avoidance Test som beskrivits i litteraturstudien ovan, båda validerade av Bokkers et al. (2009a).

Vidareutveckling av bedömningsschema för beteendestudie

Beteenden som individer uttrycker anses vara en viktig del i bedömningen av välfärd (Appleby et al., 2011). Bokkers med flera (2009) har i en studie validerat förekomsten av ett urval beteenden vilka användes som grund till denna del av bedömningsprotokollet. Protokollet utvecklades därefter med beteenden från en studie av kalvars lekbeteende (Jensen & Kyhn, 2000) samt orala stereotypier (Lidfors, 1993). De beteenden som användes i denna studie och definitioner av dessa presenteras i Tabell 3.

Tabell 3. Definition av beteenden i beteendestudien

Sociala beteenden/Lekbeteenden	
Slickande på annan kalv	Tungan sträcks ut och den övre delen stryks mot kroppsdel på annan kalv medan den dras in medan huvudet höjs. Sekvensen kan repeteras. (Bokkers et al., 2009a)
Stångning	Stångning innebär att kalven sänker huvudet och trycker sin panna/hornbas mot en annan kalv i gruppen. Huvudet kan röras upp och ner eller roteras. (Bokkers et al., 2009a)
Buffning	Kalven använder huvud eller mule för att buffa på annan kalv. Mindre kraftfullt än stångning (Bokkers et al., 2009a).
Låtsatsbråk	Två kalvar står mitt emot varandra och pressar huvuden mot den andras huvud/nacke på ett lekfullt sätt (Jensen & Kyhn, 2000).
Bestigning av annan kalv	Kalven bestiger en annan kalvs kropp framifrån, bakifrån eller från sidan (Jensen & Kyhn, 2000).
Springande, tvär sväng	Springande definierades som en rörelse framåt i minst 3 sekunder i trav eller galopp (Krachun et al., 2010). Tvär sväng innebär att kalven sträcker ut och lyfter frambenen medan framdelen höjs uppåt och åt sidan (Jensen & Kyhn, 2000).
Bocksprång, sprang	Språng definierades som en rörelse av framdelen uppåt och framåt där frambenen lämnar golvet. Bocksprång definierades som en plötslig sänkning av framdelen och huvud följt av att bägge bakbenen sparkas bakåt (Bokkers et al., 2009a).
Huvudskakningar	Kalven sänker huvudet och skakar det från sida till sida (Jensen & Kyhn, 2000, Bokkers et al., 2009a).
Lek med inredning	Kalven stångas eller buffar lekfullt mot inredningen (Jensen & Kyhn, 2000).
Stereotypier	
Tungrollning och överdrivna rörelser med tungan	Tungan sträcks ut ur munnen och vickas från sida till sida, vrids fram och tillbaka. Den kan även rullas ihop för att sedan sträckas ut igen utanför och i den öppna munnen (Bokkers et al., 2009a).
”Cross-sucking”	Cross-sucking definieras genom att en kalv har en annan kalvs kroppsdel i munnen och utför sugande rörelse (Lidfors, 1993).
Falsk idissling	Skiljer sig från normal idissling genom att de tuggande rörelserna sker snabbare och är mer oregelbundna samt varar under en kortare tid (Bokkers et al., 2009a).
Manipulation av inredning	Manipulation av box eller inredning i form av slickande, sugande eller bitande (Bokkers et al., 2009a).
Komfortbeteende	
Putsbeteende	Putsbeteende innebär att tungan sträcks ut och den övre delen stryks mot någon del av kroppen medan den dras in medan huvudet höjs. Sekvensen kan repeteras (Bokkers et al., 2009a).
Kliande	Kliande görs genom att huvud och hals böjs i sidled och samma sidas bakklöv förs fram och gnuggas mot huvud, hals eller kropp (Bokkers et al., 2009a). Även Inredning kan användas för att klia sig mot (Jensen & Kyhn, 2000).

Utsträckning	Ryggen sträcks genom att kalven kröker ryggen uppåt och därefter nedåt, svansen sträcks genom att den hålls något lyft eller böjd mot sittbenen. Bakbenen sträcks ut genom att de placeras bakom kroppen och lyfts ibland bakåt. Nacken sträcks genom att den lyfts uppåt medan mulen trycks nedåt. Samtliga moment kan ske samtidigt (Bokkers et al., 2009a).
Nosslickning	Nosslickning innebär att tungan sträcks ut och spetsen dras över en eller bägge näshålor (Bokkers et al., 2009a).

Utprovning och validering av bedömningsprotokollen

Bedömningsprotokollen provades vid ett besök på Gård 2 när tio bedömningar av kalvar gjordes. Mått som upplevdes svårbedömda antecknades under bedömningen och definitionen vidareutvecklades efter besöket. Vid detta besök bedömdes tre slumpvis valda kalvar två gånger genom att två scheman med samma individnummer förbereddes för att träna observatören. Bedömningarna stämde väl överens.

I samband med följande provtagning bedömdes ytterligare två till tre kalvar per gård två gånger på samma sätt med god överensstämmelse. För beteendestudien kunde ingen liknande kontroll göras.

Besättningar i studien

I studien ingick två besättningar. Gård 1 är SLU:s försöksanläggning Lövsta och Gård 2 är en mjölkbesättning i Uppland. I bägge besättningarna är kalvningarna utspridda under året och kalvarna grupperas efter ålder.

Gård 1

Besättning med cirka 300 mjölkcor som hålls i lösdrift. Mjölknings sker med både robot och karusell beroende på grupp. Kalvningarna sker i avskild kalvningsbox. Efter födseln flyttas kalvarna till ensambox där de utfodras med napphink två gånger per dag och har tillgång till grovfoder i form av hö. De sex första målen består av råmjölk vars kvalitet kontrollerats med colostrometer. De följande dagarna ges en blandning bestående av hälften helmjök och hälften mjölkersättning. Kalvarna flyttas från ensambox vid cirka en veckas ålder och hålls därefter i gruppboxar med cirka 8-10 individer i samma åldersgrupp på ströbädd. Utfodring i gruppboxarna sker med kalvamma med mjök baserad på mjölkpulver. Första veckan får kalvarna 8 liter per dygn begränsat till 2,5 liter per tillfälle vilket ökas till 10 liter andra veckan. Kraftfoder finns tillgängligt från första veckan i gruppbox.

Gård 2

Gård 2 är en KRAV-certifierad besättning med cirka 120 mjölkcor som hålls i lösdrift med robot. Kalvning sker i separat kalvningsbox och kalven flyttas till ensambox efter 1 dygn. Kalvarna står i ensambox under en till två veckor och hålls därefter i grupper med 4-6 individer som följs åt till avvänjning. Huvuddelen av kalvarna finns i en äldre lagård för mjölkcor men tre gruppiglos står placerade bakom stallet. I hyddorna är det djupströbädd och utanför en betongyta som dagligen skrapas ren. I lagården finns fyra boxar med spån. Golvet

består av betong men halva boxen är belagd med gummimatta. Från en av boxarna kan kalvarna gå ut i en liten fålla. Ytterligare två grupper kalvar hålls i en avskild del med gamla liggbås för kor. Även där finns gummimatta och spån på båsallarna. Kalvarna utfodras gruppvis två gånger om dagen med 2,5 liter mjölk i napphink. De får från första veckan tillgång till kraftfoder och grovfoder.

Genomförande av studien

Studien inleddes på morgonen i samband med att personalen började arbeta i stallarna, det vill säga klockan 06.00 på Gård 1 och 06.30 på Gård 2.

Först genomfördes Human Approach Test vid varje box genom att författaren gick fram till boxen och ställde sig med ena armen lutad mot boxkanten med en arm innanför boxkanten. Ögonkontakt med kalvarna undveks. De kalvar som kom fram antecknades.

Därefter studerades alla boxar i tvåminutersintervaller i nio omgångar och förekomst av beteenden antecknades i protokollet (Bilaga I) . För definitioner av beteende se Tabell 3. Författaren stod utanför boxen och försökte i minsta möjliga mån störa kalvarna genom att stå på en halv meters avstånd från boxkanten. Beteendestudien pågick under totalt 18 minuter per box fördelat över en och en halv till två timmar. Variationen mellan antalet boxar var sex till tre stycken per besök. Vid besöket med endast tre boxar gjordes uppehåll mellan omgångarna för att kompensera för den kortare tiden så att beteendestudien tog en och en halv timme att genomföra.

Efter detta gjordes Distance Avoidance Test som beskrivits i Tabell 1. Författaren klev in i boxen och en stående kalv inom en till två meters avstånd valdes ut. Först skapades ögonkontakt och därefter togs ett steg mot kalven med armen utsträckt. Efter detta stannade författaren upp en sekund innan ytterligare ett steg följt av en sekunds stillastående innan handen sträcktes ut för att röra kalvens mule. När kalven tog ett steg bakåt med ett framben avslutas testet. För varje delmoment som kalven stod kvar gavs 1 poäng (0-4 poäng).

När dessa tester genomförts på samtliga kalvar i boxen studerades varje kalv för sig och en individuell bedömning enligt bilaga II gjordes.

Diagnostik

Träckprover togs rektalt från varje kalv efter den individuella bedömningen. Proverna förvarades i kylskåp i högst tre dygn innan de renades med salt/glukos-flotation och oocystorna identifierades med immunofluorescensmikroskopi enligt Maddox-Hyttel et al. (2006). Ett gram träck blandades med totalt 7 ml buffertlösning och filtrerades genom gasväv för att få bort de största partiklarna. Efter detta tillsattes salt/glukoslösning i botten av provröret varefter det centrifugerades i 750 varv/minut i tre minuter. Därefter flyttades det övre skiktet och övergångsskiktet där oocystorna samlas till ett nytt provrör som fylldes upp med sterilt vatten. Röret centrifugerades i 3000 varv per minut under tio minuter och därefter sögs all vätska ovanför två millilitersgränsen av. Sedimentet skakades upp och röret fylldes med destillerat vatten och centrifugerades. Denna procedur upprepades ytterligare två gånger.

10 mikroliter av provet blandades med 50 mikroliter destillerat vatten i en brunn på ett objektsglas och lämnades för att torka. Efter torkning fixerades provet i aceton och färgades med en fluorescerande anti-Cryptosporidium antikroppar (Crypto Cell reagent, Cellabs Pty Ltd, Unit 7/27) och antal oocystor i varje brunn räknades i fluorescensmikroskop. När antalet oocystor var mycket högt räknades tio synfält och medelvärdet från dessa multiplicerades med 121 (totala antalet synfält). Ett av proven fick även spädas (1:10) för att möjliggöra räkning. Nedre detektionsgräns för metoden är 400 oocystor per gram träck (OPG).

Statistik

Insamlad data lades in i en Excelfil (Microsoft Excel, © 1989–2007, Microsoft 190 Corporation), och bearbetades i R Statistical Language (R Core Development Team 2008).

Korrelationstest med Kendall's tau test

Kendall's tau test användes för att studera samband mellan utsöndring och de studerade välfärdsparametrarna. Även sambandet mellan utsöndring och besättning samt antal kalvar i box analyserades. Resultaten från testerna för rädsla (Distance Avoidance test och Human Avoidance test) analyserades först med alla poängvariationer och därefter skapades två grupper med hög och låg poäng och dessa jämfördes med utsöndring.

På grund av mycket låg förekomst av vissa beteenden analyserades endast om ett beteende förekom eller ej och inte beteendets omfattning. Efter att sambanden mellan utsöndring och förekomsten av varje beteende analyserats var för sig grupperades även beteende som lekbeteenden, sociala/dominansbeteenden, stereotyper, komfortbeteenden och analyserades i grupp.

Modellbygge med Partial Least Square

Data analyserades vidare med Partial Least Square (PLS) för att skapa en modell där parametrar från välfärdsbedömning används för att förutse utsöndring. Med hjälp av PLS kan man ta fram en modell för att förutse ett värde utifrån flera andra, oftast mer lätthanterade mått enklare att observera. Varje separat parameter får en vikt beroende på hur väl den förklarar y variabeln, i denna studie utsöndring, och parametrar som är mer pålitliga får en högre vikt än de som förklarar data sämre. Dessa vikter kan sedan användas i en ekvation där välfärdsparametrarna förs in för att beräkna utsöndring (Haenlein & Kaplan, 2004).

På grund av en stor variation i spridningen av utsöndring, en av kalvarna utsöndrade över 30 000 OPG jämfört med majoriteten som låg under 100 OPG, logaritmerades utsöndring i modellen. Alla välfärdsparametrar med p-värde under eller lika med 0,1 i Kendall's tau test inkluderades i modellen.

Antalet komponenter i modellen valdes ut genom att välja antalet med lägst Root Mean Squared Error of Prediction (RMSEP), vilket är ett medelvärde för felmarginalen i det slutgiltiga Y-värdet.

RESULTAT

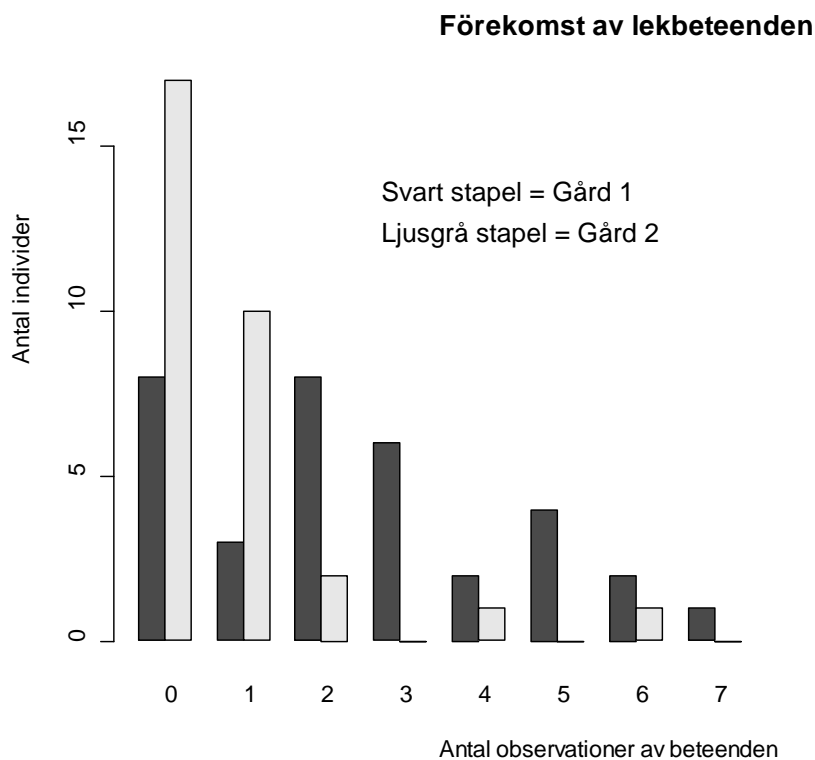
Provtagning

Samtliga kalvar som bedömdes och provtogs var vid gott allmäntillstånd. Två individer hade diarré men då detta ej påverkade deras allmäntillstånd inkluderades de i studien. Två kalvar med påverkat allmäntillstånd påträffades och utelämnade ur studien.

Jämförelse av Gård 1 och Gård 2

En jämförelse av kryptosporidie-utsöndringen hos kalvarna mellan de två besättningarna visade inga signifikanta skillnader. Detsamma gällde den gårdsspecifika parametern mjölgiva. Dock sågs en positiv korrelation mellan antal kalvar i boxen och utsöndring ($p=0,04$).

Förekomst av lekbeteenden förknippade med rörelse (Springande, Tvär sväng, Bocksprång, språng, Huvudskakningar och Lek med inredning) skiljde sig mellan besättningarna (Figur 1) och var starkt förknippat med Gård 1 ($p < 0,01$) och till ökat antal kalvar i boxen ($p=0,04$).



Figur 1. Förekomst av samlade lekbeteenden förknippade med rörelse i de två besättningarna

Individuella parametrar och utsöndring

Av de individuella parametrarna (Tabell 4) var tre signifikant korrelerade med utsöndring ($p < 0,05$). Total summa från smutsighetsbedömningen (samlad poäng från delbedömningarna) hade en negativ korrelationskoefficient (r) vilket innebär att smutsiga kalvar skulle minska

utsöndringen. Ingen av delparametrarna var dock statistiskt signifikant. Förhårdnader i huden samt skador på kroppen var associerade med en ökad utsöndring.

En tendens till att ökande ålder skulle vara en skyddsfaktor samt att glanslös päls skulle vara en riskfaktor sågs men dessa var ej signifikanta ($p=0,14$ respektive $0,13$).

Antalet observationer för specifika sjukdomstillstånd, som biten i öron/svans, onormal andning, epiphora och näsflöde var mycket låga vilket ger stor osäkerhet vid tolkningen av resultaten.

*Tabell 4. Utsöndring korrelerad med individuella parametrar från Bilaga 1 och Tabell 2 med Kendall's tau test. * indikerar statistiskt signifikans $p<0,05$. Samtliga 65 kalvar inkluderade i alla parametrar.*

Parameter	r	p
Ålder i dagar	-0,14	0,14
Hull	0,02	0,88
Smutsighet bakben	-0,17	0,10
Smutsighet bakdel	-0,13	0,22
Smutsighet övrigt	-0,08	0,45
Totalpoäng smutsighet*	-0,23	0,02
Våt kalv	-0,05	0,65
Våmfyllnad	0,07	0,55
Normal päls	0,09	0,42
Glanslös	0,17	0,13
Raggig	-0,10	0,36
Förhårdnader*	0,29	0,01
Skador*	0,25	0,02
Biten i öron/svans	0,14	0,20
Onormal andning	0,07	0,55
Hosta	0,12	0,27
Epiphora	-0,07	0,50
Näsflöde	0,07	0,54

Rädsla

I Human Approach test kunde kalvarna få från noll till tre poäng beroende på om och hur snabbt de kom fram till observatören. Inget signifikant samband mellan poäng och utsöndring sågs (Tabell 5).

Tabell 5. Jämförelse mellan utsöndring och resultat från Human Approach test. Se tabell 1 och 3.

Human Approach test	r	p
Ogrupperad data	0,00	0,97
Kalvar med 1-3 p jämfört med 0 p	-0,03	0,79

I Distance Avoidance test kunde kalvarna få noll till fyra poäng beroende på beteende. Samtliga kalvar tillät ögonkontakt och alla fick minst ett poäng. Direkt analys av poäng och utsöndring (Tabell 6) gav inget signifikant resultat och kalvarna grupperades istället efter poäng, en grupp med ett eller två poäng jämfördes med kalvar som fått tre eller fyra poäng. Jämförelse mellan dessa grupper var inte statistiskt signifikant men hade ett p-värde på 0,08 vilket skulle kunna tyda på att kalvar med hög poäng utsöndrar mindre.

Tabell 6. Jämförelse mellan utsöndring och resultat från Distance Avoidance test.

Avoidance Distance test	r	p
Ogrupperad data	-0,08	0,43
Kalvar med 3-4 p jämförda med kalvar med 0-2 p	-0,20	0,08

Förekomst av beteenden och utsöndring

Endast förekomsten av två beteenden var signifikant associerade med utsöndring när varje beteende analyserades för sig (Tabell 7). Stångning och Huvudskakning var starkt förknippade med hög utsöndring ($p < 0,01$ respektive 0,02).

Tabell 7. Jämförelse mellan utsöndring och observerad förekomst av olika beteenden. *n* står för antal av de 65 kalvarna som utförde beteendet en eller flera gånger. * indikerar statistiskt signifikans; $p < 0,05$.

		n	r	p
Sociala/lekbeteenden	Slickande på annan kalv	30	0,03	0,76
	Stångning*	23	0,35	<0,01
	Buffning	10	0,25	0,13
	Låtsasbråk	6	0,10	0,37
	Bestigning av annan kalv	2	0,10	0,36
	Springande tvärsving	35	0,16	0,15
	Bocksprång/språng	23	0,17	0,13
	Huvudskakning*	7	0,27	0,02
	Lek med inredning	39	0,03	0,81
Stereotypier	Tungrullning	6	-0,06	0,59
	Cross sucking	9	-0,16	0,15
	Falsk idissling	1	-0,15	0,19
	Manipulation av inredning	34	-0,07	0,51
Komfortbeteenden	Putsbeteende	35	-0,08	0,47
	Kliande	13	-0,08	0,45
	Utsträckning	28	-0,11	0,31
	Nosslickning	51	-0,13	0,23

På grund av den låga förekomsten av beteenden inom vissa kategorier, framför allt stereotypier, gjordes även en analys där beteenden grupperades efter typ och analyserades i grupp (Tabell 8). Förekomst av Sociala beteenden/Lekbeteenden kom var kopplat till hög

utsöndring ($p=0,04$). Stångning och Huvudskakning som ensama parameterar var dock starkare korrelerade (Tabell 7).

Förekomst av Stereotypiska beteenden hade en negativ korrelation jämfört med utsöndring när Tungrullning, Cross sucking och Falsk idissling jämfördes (p -värde 0,03). Om Manipulation av inredning fanns med försvann korrelationen. Det har diskuterats om just Manipulation av inredning egentligen är ett normalt betesbeteende som riktas mot inredning och därmed inte bör klassas i denna kategori varför denna parameter togs bort när de Stereotypa beteendena grupperades (Bokkers et al., 2009b). För Komfortbeteenden fanns ingen korrelation med utsöndring.

Tabell 8. Jämförelse mellan utsöndring och förekomst av olika kategorier av beteende. * indikerar statistiskt signifikans; $p < 0,05$.

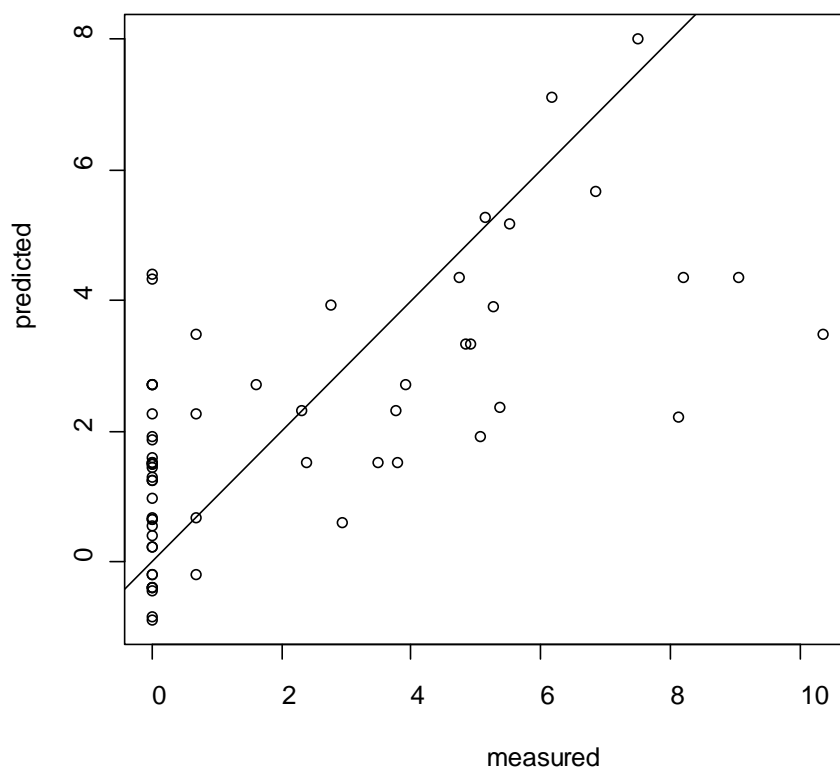
	Beteenden inräknade i gruppen	r	p
Sociala och lekbeteenden	Slickande på annan kalv, stångning, buffning, låtsasbråk, bestigning av annan kalv, springande/tvår sväng, bocksprång/språng, huvudskakning och manipulation av inredning*	0,23	0,04
Stereotypier	Stereotypier utan manipulation av inredning*	-0,24	0,03
	Stereotypier med manipulation av inredning	0,03	0,78
Komfortbeteenden	Alla	-0,06	0,61

Modellbygge med Partial Least Squares

Samtliga variabler med p -värde lägre eller lika med 0,1 i Kendall's tau test inkluderades i modellen. Totalt användes 8 variabler som beskrev 45 % av utsöndringen. Resultaten presenteras i Tabell 9. Koefficienterna representerar vikter för att använda variablerna för att beräkna utsöndring i framtida studier. Koefficienten visar om parametern är positivt eller negativt kopplad till utsöndring och värdet indikerar hur stor vikt parametern har i modellen. Värden nära noll indikerar mindre vikt än värden som är högre eller lägre. Figur 2 visar hur de studerade värdena förhåller sig till modellens beräknade ekvation. RMSEP, modellens felmarginal, är relativt hög (2,8). En tendens till linjärt samband kan dock anas i jämförelse med den heldragna linjen som representerar ekvationen för utsöndring uträknad med hjälp av de uträknade koefficienterna.

Tabell 9. Vikter för samtliga parametrar i slutgiltig modell som till 45 % beskriver variansen för utsöndring. Koefficienten kan vara positiv eller negativ och ju längre ifrån 0 desto större vikt har parametern.

	Koefficient
Smutsighet bakben	-0.03
Smutsighet övrigt	-0.38
Förhådnader	4.04
Skador	0.99
Stångning	2.10
Huvudskakning	1.27
Stereotypier	-1.00
Distancet Avoidance test	-1.56



Figur 2. Den framtagna ekvationen för utsöndring (heldragen linje) jämförd med verkliga värden ur studien (cirklarna). X-axeln representerar logaritmen för den verkliga utsöndringen medan y axeln representerar modellens beräknade utsöndring utifrån välfärdsparametrarna..

DISKUSSION

Samband mellan utsöndring av *Cryptosporidium* spp. och välfärdsindikatorerna Smutsighet, Skador, Förhårdnader samt förekomst av Stångning, Huvudskakning, Stereotypier och minskad rädsla för människor identifierades med Kendall's tau test. Dessa användes därefter för att skapa en modell för att förutse utsöndring med hjälp av PLS som förklarade 45 % av utsöndringen, dock med en påtaglig felmarginal. Resultaten från Kendall's tau visar att det finns samband mellan välfärd och utsöndring men för att utvärdera om dessa kan användas i praktiken måste hänsyn tas till studiens uppbyggnad, indikatorernas betydelse för välfärd och hur utsöndring påverkar välfärd.

Studiens uppbyggnad

Val av patogen

I denna studie studerades endast den totala utsöndringen av kryptosporidieocystor och tyvärr fanns ingen möjlighet att differentiera mellan *C. parvum* och *C. bovis*. Det finns frågetecken kring hur patogeniciteten skiljer sig mellan dessa och i vilken utsträckning de orsakar kliniska symptom. I denna studie provtogs dock endast kalvar med opåverkat allmäntillstånd varför denna skillnad bör vara av mindre betydelse. Om hypotesen att ökad stress och låg välfärd påverkar immunförsvarets funktion och ökar risken för infektion samt förlänger utsöndringen bör detsamma gälla för bägge typerna.

Olikheter mellan gårdarna och orsaker till samvariation

Två besättningar med olika utfodringssystem och olika rutiner användes i studien vilket orsakat mindre problem. Innan, under och efter utfodring är kalvar som mest aktiva och uppvisar flest beteenden (Bokkers & Koene, 2001) varför studien utfördes i samband med utfodring på Gård 2. På Gård 1 skedde utfodringen kontinuerligt under hela dagen genom kalvamma vilket försvårade val av tidpunkt. Kalvskötare på gården var av uppfattningen att kalvarna var som mest aktiva på morgonen, vilket även stöds av tidigare beteendestudier (Bokkers & Koene, 2001), men i vilken utsträckning denna skillnad påverkar vilken typ av beteenden kalvar uppvisar kan diskuteras. Det är möjligt att denna skillnad gav upphov till skillnader som speglar sig i exempelvis förekomst av lekbeteende som skiljde sig mellan gårdarna.

Utryck av beteenden kan även ha påverkats av skillnader i boxstorlek och antal kalvar per box. Det är sedan tidigare visat att lekbeteende är kopplat till antal individer i boxen och storleken på tillgänglig boxyta (Bokkers & Koene, 2001, Jensen & Kyhn, 2000). Gård 1 har större boxar med större grupper jämfört med Gård 2 och förekomst av lekbeteenden kopplade till rörelse var starkt kopplat till Gård 1, sannolikt på grund av detta. Utsöndring av *Cryptosporidium* spp. var i sin tur kopplat till antal kalvar i boxen. Detta kan ha orsakat att förekomst av alla sociala beteenden/lekbeteenden samlade i korrelationsanalysen kom ut som en statistiskt signifikant riskfaktor för hög utsöndring. Denna grupp influerades även kraftigt av variablerna Stångning och Huvudskakning som ensamma var starkare korrelerade till utsöndring. Dessa två beteenden klassificeras som sociala/lekbeteenden men denna kategorisering kan ifrågasättas och diskuteras nedan.

Tillgänglig boxyta och antal individer som samsas om denna påverkar även smittrycket som byggs upp i boxen. Flera kalvar på en tätare yta ökar smittrycket men förekomst av lek har endast kopplats till att en viss yta finns tillgänglig och påverkas mindre av hur många kalvar som samsas om den (Jensen & Kyhn, 2000). Detta samband skulle kunna förklara korrelationen med sociala beteenden/lekbeteenden och ökad utsöndring. Med tillgänglig data kan detta ej säkerställas men framtiden vore det mycket intressant att även ha med antal kvadratmeter per kalv för att undersöka detta vidare. Kalvarna på Gård 2 kan ytterligare ha skyddats mot infektion genom utfodring med helmjolk som kan innehålla antikroppar med lokal effekt i tarmen (Perryman et al., 1999, Jenkins, 2001). Eftersom ingen korrelation mellan utsöndring och gård sågs är detta dock tveksamt. Dessa samvariationer gör det svårt att dra några slutsatser om vilken roll sociala beteenden/lekbeteende har i förhållande till utsöndring.

Boxstorlek och antal kalvar i boxen kan även påverkat resultatet av Human Approach test (Bokkers et al., 2009a) och dessa skillnader noterades även av författaren i detta fall. Boxarna på Gård 1 var betydligt större än Gård 2 vilket kan ha lett till att kalvar som stod längre bort och var upptagna med annat helt enkelt inte upptäckte författaren. Det var även fler kalvar som trängdes nära författaren vilket kan ha resulterat i att alla inte kunde eller brydde sig om att komma fram. Dessa frågetecken gör att testen bedöms som mindre rättvisande och det kan vara av dessa skäl den inte visat någon säkerställd korrelation med utsöndringen. Distance Avoidance Test fungerade bättre att genomföra och det fanns en tendens att kalvar med hög poäng hade en lägre utsöndring jämfört med kalvar med låg poäng. Detta tyder på att det kan finnas ett samband mellan utsöndring och kalvarnas kontakt med människor som kan vara orsakat av en ökad rädsla och påföljande stress. Man kan dock inte utesluta att kalvar som är stressade av andra orsaker inte låter människor komma närmare på grund av att de redan är stressade.

En annan aspekt som kan påverka resultatet är tiden för bedömning av beteende hos kalvarna. I tidigare studier har man uppmätt skillnader i tid som kalvarna spenderar liggande sannolikt beroende på att man studerat kalvarna olika länge (Bokkers & Koene, 2001, Veissier et al., 1997). I denna studie bedömdes det mest relevant att studera kalvarna under en aktivitetstopp när de uppvisar så många beteenden som möjligt men det hade naturligtvis varit ännu bättre om man kunnat studera dem under en längre tid. För att kompensera för detta har inga studier av vilobeteende gjorts även om detta hade varit intressant ur ett välfärdsperspektiv. Det skulle dock ha varit intressant att studera kalvar under ett dygn och jämföra förekomst av beteenden, inklusive vilobeteenden, under hela dygnet med de observationer som sågs i studien. Detta skulle vara användbart i syfte att validera metoden och skulle eventuellt göra det möjligt att inkludera vilobeteenden i framtiden.

Ett annat alternativ för att öka förståelsen och finna starkare samband mellan beteenden och utsöndring är att förlänga studietiden av beteenden. Om välfärdsfaktorer ska användas praktiskt för att rikta provtagning är det dock inte rimligt att studera kalvarna under en längre tid och det vore sannolikt mer värdefullt att inkludera ytterligare gårdar i studien för att identifiera beteenden som fungerar som indikatorer oavsett system.

Val av statistiska analyser

Kendall's tau test bedömdes vara en lämplig metod då den inte tar så stor hänsyn till storleksskillnaden mellan y och x variabler utan fokuserar på om det finns ett positivt eller negativt samband (personligt meddelande, Mikael Andersson Franko).

Då alla uppmätta parametrar anses spegla välfärd misstänktes hög korrelation mellan flera observerade parametrar. Hög korrelation kan leda till att de tillsammans förklarar utsöndring bättre än när de ensamma jämförs med utsöndring (Haenlein & Kaplan, 2004). PLS är en metod som använts mycket när man haft liknande problem inom spektrometri och den har föreslagits som lämplig metod även inom andra discipliner, bland annat ekologi (Carrascal et al., 2009).

PLS lämpar sig väl för analys av variabler där hög korrelation misstänks och kan hantera parametrar med utstickande värden då den ej förutsätter normalfördelning av data (Haenlein & Kaplan, 2004). PLS lämpar sig dock bäst för att förutse utsöndring och mindre bra för tolkning av samband mellan olika variabler och man bör ha i åtanke att även faktorer som får mindre vikt i den slutgiltiga modellen inte nödvändigtvis är betydelslösa (Tobias, 1995). Detta begränsade alltså användningen av resultaten från PLS i denna studie där det även hade varit intressant att studera samband mellan variabler.

Betydelse av välfärdsp parametrar associerade med utsöndring

Att ökad smutsighet var kopplat till låg utsöndring kan starkt ifrågasättas då ökad smutsighet bör indikera ett högre smittryck från miljön. Detta kan ha orsakats av skillnader mellan boxarna som kalvarna hölls i. Under ett provtagningstillfälle var vädret mycket dåligt vilket ledde till att kalvarna i kalvhyddorna var mycket smutsigare än vanligt. Oocystor inaktiveras av UV-ljus (Fayer & Xiao, 2008) och det är möjligt att dessa kalvar som hölls ute därmed var utsatta för ett mindre smittryck än övriga kalvar. Värdet av denna parameter för att förutse utsöndring kan därmed ifrågasättas eftersom den är så känslig yttre faktorer. Om ökad utsöndring orsakas av lägre välfärd enligt hypotesen är detta sannolikt en längre process där kalvens välfärd är nedsatt under en längre tid. Boxens hygien och kalvens smutsighet vid provtagningstillfället är nödvändigtvis inte representativt för hela denna period utan kan vara en tillfällig förändring.

Att förhårdnader och skador i huden var kopplade till hög utsöndring är mycket intressant. Hud och sårskador orsakar direkt smärta och obehag och därmed sänkt välfärd. Man kan även fundera på om det finns en effekt utöver smärtan från själva lesionen. Uppstår en ökning av skador på grund av hårt underlag och en suboptimal miljö? Kanske kan det även vara så att dessa kalvar har svårt att hävda sig gentemot de andra i gruppen och blir mer utsatta för aggressivitet och får sämre tillgång till mjuka liggytor?

Stångning och huvudskakning var de beteenden som tydligast var kopplade till ökad utsöndring. Anledningen till att just dessa beteenden var så starkt associerade kan dels vara kopplat till en allmänt ökad aktivitet, vilket diskuterats ovan, men det mest troliga är att både stångning och huvudskakning var så starka att de påverkade hela gruppen beteenden när de inkluderades. Dessa beteenden har gemensamt att de involverar rörelse av huvudet och att de

inte helt självklart faller in under kategorin lekbeteenden. Framför allt stångning är ett omdebatterat beteende som anses kopplat till lek hos kalv och dominans hos äldre djur. Hos både vuxna djur och kalvar är aggressioner mycket ovanligt förutom i konkurrenssituationer och det skulle kunna vara så att kalvar som stångades mycket i studien gjorde detta i försök att komma åt föda eller i frustration orsakad av hunger. Detta har setts i en studie där hungriga kalvar oftare stångade andra kalvar (De Paula Vieira et al., 2008). Man kan även spekulera i om det rör sig om en tidig etablering av rangordning och att djur inblandade i detta är mer stressade. Kalvar under 6 månader anses dock inte ha någon rangordning (Reinhardt et al., 1978) vilket emotsäger detta. Ytterligare teorier om orsaken bakom huvudskakning, utöver att vara en del av ett komplex av lekbeteenden har ej kunnat hittas av författaren. Lekbeteenden anses vara en lovande indikator för positiv välfärd (Boissy et al., 2007) trots att de anses uttryckas för sällan för att vara pålitliga indikatorer i ett storskaligt övervakningsprotokoll (Leruste et al., 2009) och sambandet mellan huvudskakning och utsöndring talar då emot hypotesen. Man kan också tänka sig att huvudskakning och stångning egentligen inte tillhör lekkomplexet överhuvudtaget alternativt motiveras av flera stimuli. Kanske kan kalvar liksom människor utveckla huvudvärk och huvudrelaterade beteenden istället ett tecken på sjuklighet? Associationerna med hög utsöndring behöver även säkerställas i en större studie med fler provtagna kalvar.

Kopplingen mellan låg utsöndring och förekomst av stereotypier kan förklaras med att utförandet av stereotypier är ett sätt att hantera och minska de negativa effekterna av stress vilket överensstämmer med senare rön kring förekomst av stereotypier och deras syfte (Mason, 1991, Mason & Latham, 2004, Dantzer, 1991). En studie som jämförde kliniska parametrar och förekomst av cross-sucking med kvalitativa beteendebedömningar (bland annat rädd, lycklig, utåtriktad med flera) fann att cross-sucking var relaterat till höga nivåer av aktivitet och livlighet (Brcsic et al., 2010) och i en annan studie av välfärd på kalv har även stereotypier varit kopplade till lägre förekomst av magsår (Bokkers & Koene, 2001). Det är dock viktigt att poängtera att stereotypier utvecklas på grund av låg välfärd och är ett sätt att hantera denna (Mason & Latham, 2004).

Resultaten från modellen framtagen i PLS indikerar att smutsighet ej var av så stor vikt då dessa två variabler hade koefficienter med lägst inflytande på modellen. Stångning och huvudskakning och skador var fortsatt viktiga och korrelerade med ökad utsöndring men förhårdnader fick den allra högsta koefficienten. Intressant nog fick Avoidance distance test en tyngre koefficient jämfört med stereotypier. I Kendall's tau test var kopplingen mellan utsöndring och testen ej statistiskt signifikant men modellen indikerar att den har en viktig effekt på utsöndring. Man ska dock ha i åtanke att PLS inte är utformad för att de olika variablerna ska kunna jämföras gentemot varandra och man bör vara försiktig med dylika tolkningar.

Modellen förklarade 45 % av utsöndringen men med en relativt hög felmarginal vilket tolkas som att använda dessa variabler för att välja ut kalvar i fält är relativt ospecifikt. Felmarginalen var påtagligt högre innan logaritmen av utsöndringen användes för att jämna ut den spridda fördelningen av oocystor i träcken. Med fler studerade och provtagna kalvar

skulle eventuellt felmarginalen kunna minskas. Det kan även vara så att den begränsade mängden kalvar dolt andra variabler i Kendall's tau test som hade förbättrat modellen.

Samband mellan infektion och sänkt välfärd

När man tittar på sambandet mellan utsöndring av en patogen och välfärd kan man inte ignorera det faktum att ett djur som är infekterat kan påverkas av infektionen. För att utesluta detta i denna studie togs endast prover på kalvar som bedömdes ha opåverkat allmäntillstånd. Denna bedömning är dock subjektiv och det är möjligt att vissa av kalvarna till viss grad var påverkade av infektion och att i sin tur påverkade deras välfärd och beteende. I denna studie var dock målet att identifiera individer som med ökad sannolikhet utsöndrade parasiten förbättra specificiteten vid diagnostisk provtagning av en grupp kalvar. En eventuell infektions påverkan kommer även under fältförhållanden påverka individerna på liknande sätt som i studien och är därmed inget problem för att använda välfärdsbaserade indikatorer i detta syfte. I försök att tolka samband mellan välfärd, stress och immunförsvarsstatus ökar det dock osäkerheten och man bör utveckla studien med provtagning av exempelvis kortisol om man vill kunna dra säkrare slutsatser.

KONKLUSION

Dessa resultat visar att det finns ett positivt samband mellan utsöndring av *Cryptosporidium* spp. och välfärdsindikatorerna förhårnader i hud, skador samt förekomst huvudskakning och stångning. Förekomst av stereotypier var negativt korrelerat till utsöndring. När utvalda variabler användes för att förutse utsöndring fick modellen dock en stor felmarginal och för tillämpning i fält bör denna studie följas upp med ytterligare provtagning och analys av kalvar från flera besättningar. Det vore även intressant att jämföra välfärdsindikatorerna med andra sjukdomsframkallande patogener hos kalv.

FÖRFATTAREN TACK

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Camilla Björkman som varit engagerad, stöttande och hjälpsam samt alltid tagit sig tid att lyssna och diskutera när det dykt upp olika funderingar under arbetets gång. Ett stort tack går även till biträdande handledare Linda Keeling för givande diskussioner om bedömning av djurvälstånd under utvecklingen av bedömningsprotokollen samt kring tolkningen av resultaten. Jag vill även tacka biträdande handledare Ulf Emanuelsson som hjälpte till att initiera hela projektet och vars konstruktiva synpunkter och statistiska kunnande varit till stor hjälp för den skriftliga presentationen av studien. Tack även till Mikael Andersson Franko på institutionen för Ekonomi, för ovärderlig hjälp och rådgivning kring val av statistiska metoder. Ytterligare tack går till personal på gårdarna som deltagit i studien för engagemang och hjälp med praktiska problem i samband med datainsamlingen.

REFERENSER

- Appleby, M. C., Mench, J. A., Olsson, I. a. S. & Hughes, B. O. 2011. *Animal Welfare* CABI.
- Appleby, M. C., Weary, D. M. & Chua, B. 2001. Performance and feeding behaviour of calves on ad libitum milk from artificial teats. *Applied Animal Behaviour Science*, 74, 191-201.
- Atwill, E. R., Harp, J. A., Jones, T., Jardon, P. W., Checel, S. & Zylstra, M. 1998. Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhooed infection. *American journal of veterinary research*, 59, 1116-1121.
- Boissy, A. & Bouissou, M.-F. 1988. Effects of early handling on heifers' subsequent reactivity to humans and to unfamiliar situations. *Applied Animal Behaviour Science*, 20, 259-273.
- Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M. B., Moe, R. O., Spruijt, B., Keeling, L. J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I. & Aubert, A. 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology & Behavior*, 92, 375-397.
- Bokkers, E. a. M. & Koene, P. 2001. Activity, oral behaviour and slaughter data as welfare indicators in veal calves: a comparison of three housing systems. *Applied Animal Behaviour Science*, 75, 1-15.
- Bokkers, E. a. M., Leruste, H., Heutinck, L. F. M., Wolthuis-Fillerup, M., Van Der Werf, J. T. N., Lensink, B. J. & Van Reenen, C. G. 2009a. Inter-observer and test-retest reliability of on-farm behavioural observations in veal calves. *Animal Welfare*, 18, 381-390.
- Bokkers, E. a. M., Leruste, H., Heutinck, L. F. M., Wolthuis-Fillerup, M., Van Reenen, C. G., Lensink, B. J. & Van Reenen, C. G. 2009b. Reliability of on-farm behavioural observations of abnormal behaviour in veal calves. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality® reports Nr. 11
- Bouissou, M., Boissy, A., Le Neindre, P. & Veissier, I. 2001. The Social Behaviour of Cattle. In: KEELING, L. J. & GONYOU, H. W. (eds.) *Social Behaviour in Farm Animals*. Oxon: CABI Publishing.
- Brambell Committee 1965. Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals Kept under Intensive Livestock Husbandry Systems. *Command paper 2836*. London: Her Majesty's Stationary Office.
- Broom, D. M. 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 20, 5-19.
- Brcsic, M., Wemelsfelder, F., Tessitore, E., Gottardo, F., Cozzi, G. & Van Reenen, C. G. 2010. *Welfare assessment: correlations and integration between a Qualitative Behavioural Assessment and a clinical/ health protocol applied in veal calves farms*.
- Canali, E., Whay, H. R. & Leach, K. A. 2009. Cattle Health Status. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality® Reports Nr. 11.
- Carrascal, L. M., Galván, I. & Gordo, O. 2009. Partial least squares regression as an alternative to current regression methods used in ecology. *Oikos*, 118, 681-690.
- Cook, N. 2012. *Clinical Information and Forms - Hygiene* [Online]. University of Wisconsin-Madison School of Veterinary Medicine. Available: <http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/hygiene.htm> [Accessed 03-03 2013].
- D'eath, R. B., Tolkamp, B. J., Kyriazakis, I. & Lawrence, A. B. 2009. 'Freedom from hunger' and preventing obesity: the animal welfare implications of reducing food quantity or quality. *Animal Behaviour*, 77, 275-288.

- Dantzer, R. 1991. Stress, stereotypies and welfare. *Behavioural processes*, 25, 95-102.
- Dantzer, R., Mormède, P., Bluthé, R. M. & Soissons, J. 1983. The effect of different housing conditions on behavioural and adrenocortical reactions in veal calves. *Reproduction, nutrition, development*, 23, 501-508.
- Dawkins, M. S. 2003. Behaviour as a tool in the assessment of animal welfare. *Zoology*, 106, 383-387.
- De Graaf, D. C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L. M., Abbassi, H. & Peeters, J. E. 1999. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, 29, 1269-1287.
- De Paula Vieira, A., Guesdon, V., De Passillé, A. M., Von Keyserlingk, M. a. G. & Weary, D. M. 2008. Behavioural indicators of hunger in dairy calves. *Applied Animal Behaviour Science*, 109, 180-189.
- Farm Animal Welfare Council 1992. FAWC updates the five freedoms. *Veterinary Record*, 17.
- Fayer, R. & Xiao, L. (eds.) 2008. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*: CRC Press.
- Haenlein, M. & Kaplan, A. M. 2004. A Beginner's Guide to Partial Least Squares Analysis. *Understanding Statistics*, 3, 283-297.
- Jenkins, M. C. 2001. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 101, 291-310.
- Jensen, M. B. & Kyhn, R. 2000. Play behaviour in group-housed dairy calves, the effect of space allowance. *Applied Animal Behaviour Science*, 67, 35-46.
- Krachun, C., Rushen, J. & De Passillé, A. M. 2010. Play behaviour in dairy calves is reduced by weaning and by a low energy intake. *Applied Animal Behaviour Science*, 122, 71-76.
- Ladewig, J. & Smidt, D. 1989. Behavior, episodic secretion of cortisol, and adrenocortical reactivity in bulls subjected to tethering. *Hormones and Behavior*, 23, 344-360.
- Laister, S., Brörkens, N., Lolli, S., Zucca, D., Knierim, U., Minero, M., Canali, E. & Winckler, C. 2009a. Reliability of measures of agonistic behaviour in dairy and beef cattle. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality ® Reports Nr. 11.
- Laister, S., Regner, A.-M., Zenger, C., Winckler, C., Brörkens, N., Quast, R. & Knierim, U. 2009b. Validation of social licking as an indicator for positive emotions. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality ® Reports Nr. 11.
- Leach, K. A., Knierim, U. & Whay, H. R. 2009a. Cleanliness scoring for dairy and beef and veal calves. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality ® Reports Nr. 11.
- Leach, K. A., Knierim, U. & Whay, H. R. 2009b. Condition scoring for dairy and beef cattle and veal calves. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assesment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*.
- Leach, K. A., Winckler, C. & Whay, H. R. 2009c. Lameness in dairy and beef cattle and veal calves. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality ® Reports Nr. 11

- Lensink, B. J., Fernandez, X., Boivin, X., Pradel, P., Le Neindre, P. & Veissier, I. 2000. The impact of gentle contacts on ease of handling, welfare, and growth of calves and on quality of veal meat. *Journal of Animal Science*, 78, 1219-26.
- Lensink, B. J., Fernandez, X., Cozzi, G., Florand, L. & Veissier, I. 2001. The influence of farmers' behavior on calves' reactions to transport and quality of veal meat. *Journal of Animal Science*, 79, 642-52.
- Leruste, H., Lensink, B. J. & Van Reenen, C. G. 2009. Reliability of Measures of Socio-positive and play behaviour in calves. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality® Reports Nr. 11.
- Lidfors, L. M. 1993. Cross-sucking in group-housed dairy calves before and after weaning off milk. *Applied Animal Behaviour Science*, 38, 15-24.
- Maddox-Hyttel, C., Langkjær, R. B., Enemark, H. L. & Vigre, H. 2006. Cryptosporidium and Giardia in different age groups of Danish cattle and pigs—Occurrence and management associated risk factors. *Veterinary parasitology*, 141, 48-59.
- Mason, G. & Latham, N. 2004. Can't stop, won't stop: is stereotypy a reliable animal welfare indicator? *Animal Welfare*.
- Mason, G. J. 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour*, 41, 1015-1037.
- McGavin, M. D. & Zachary, J. F. 2012. *Pathologic Basis of Veterinary disease*.
- Mellor, D. J. & Bayvel, A. C. D. 2011. The scientific assessment of animal welfare. *First OIE global conference on evolving veterinary education for a safer world*. Paris, France: OIE (World Organisation for Animal Health).
- Mintline, E. M., Wood, S. L., De Passillé, A. M., Rushen, J. & Tucker, C. B. 2012. Assessing calf play behavior in an arena test. *Applied Animal Behaviour Science*, 141, 101-107.
- Minton, J. E., Apple, J. K., Parsons, K. M. & Blecha, F. 1995. Stress-associated concentrations of plasma cortisol cannot account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in lambs exposed to restraint and isolation stress. *Journal of Animal Science*, 73, 812-7.
- Moberg, G. P. & Mench, J. A. (eds.) 2000. *The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare*, Oxon: CABI Pub.
- Perryman, L. E., Kapil, S. J., Jones, M. L. & Hunt, E. L. 1999. Protection of calves against cryptosporidiosis with immune bovine colostrum induced by a Cryptosporidium parvum recombinant protein. *Vaccine*, 17, 2142-2149.
- Phillips, C. J. C. & Morris, I. D. 2002. The Ability of Cattle to Distinguish between, and their Preference for, Floors with Different Levels of Friction, and their Avoidance of Floors Contaminated with Excreta. *Animal Welfare*, 11, 21-29.
- Reinhardt, V., Mutiso, F. M. & Reinhardt, A. 1978. Social behaviour and social relationships between female and male prepubertal bovine calves (Bos indicus). *Applied Animal Ethology*, 4, 43-54.
- Rostagno, M. H. 2009. Can Stress in Farm Animals Increase Food Safety Risk? . *Foodborne Pathogens and Disease*, 6, 767-776.
- Rushen, J. 1991. Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 28, 381-386.
- Rushen, J. & De Passillé, A. M. 1995. The motivation of non-nutritive sucking in calves, Bos taurus. *Animal Behaviour*, 49, 1503-1510.
- Rushen, J., De Passillé, A. M., Von Keyserlingk, M. a. G. & Weary, D. M. 2007. *The welfare of cattle*, Springer.
- Schulze Westerath, H., Leach, K. A., Whay, H. R. & Knierim, U. 2009. Scoring of cattle: Integument alterations of dairy and beef cattle and veal calves. In: FORKMAN, B. &

- KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality® Reports Nr. 11.
- Silverlås, C. 2010. *Cryptosporidium infection in dairy cattle*. PhD, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Silverlås, C., Bosaeus-Reineck, H., Näslund, K. & Björkman, C. 2012. Is there a need for improved *Cryptosporidium* diagnostics in Swedish calves? *International journal for parasitology*.
- Silverlås, C., Emanuelson, U., De Verdier, K. & Björkman, C. 2009. Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 90, 242-253.
- Tobias, R. D. An introduction to partial least squares regression. Proc. Ann. SAS Users Group Int. Conf., 20th, Orlando, FL, 1995. 2-5.
- Veissier, I., Boissy, A., Depassillé, A. M., Rushen, J., Van Reenen, C. G., Roussel, S., Andanson, S. & Pradel, P. 2001. Calves' responses to repeated social regrouping and relocation. *Journal of Animal Science*, 79, 2580-93.
- Veissier, I., Butterworth, A., Bock, B. & Roe, E. 2008. European approaches to ensure good animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 113, 279-297.
- Veissier, I., Chazal, P., Pradel, P. & Le Neindre, P. 1997. Providing social contacts and objects for nibbling moderates reactivity and oral behaviors in veal calves. *Journal of Animal Science*, 75, 356-65.
- Veissier, I., De Passillé, A. M., Després, G., Rushen, J., Charpentier, I., Ramirez De La Fe, A. R. & Pradel, P. 2002. Does nutritive and non-nutritive sucking reduce other oral behaviors and stimulate rest in calves? *Journal of Animal Science*, 80, 2574-2587.
- Veissier, I., Ramirez De La Fe, A. R. & Pradel, P. 1998. Nonnutritive oral activities and stress responses of veal calves in relation to feeding and housing conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 57, 35-49.
- Welfare Quality® 2009. Welfare Quality® assessment protocol for cattle. In: CONSORTIUM, W. Q. (ed.). Lelystad Netherlands.
- Wemelsfelder, F. 2007. How animals communicate quality of life: the qualitative assessment of behaviour. *Animal Welfare*, 16, 25-31.
- Wemelsfelder, F., Hunter, T. E. A., Mendl, M. T. & Lawrence, A. B. 2001. Assessing the 'whole animal': a free choice profiling approach. *Animal Behaviour*, 62, 209-220.
- Wemelsfelder, F. & Lawrence, A. B. 2001. Qualitative assessment of animal behaviour as an on-farm welfare-monitoring tool. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*, 51, 21-25.
- Wemelsfelder, F., Millard, F., De Rosa, G. & Napolitano, F. 2009. Qualitative behaviour assessment. In: FORKMAN, B. & KEELING, L. (eds.) *Assessment of Animal Welfare Measures for Dairy Cattle, Beef Bulls and Veal Calves*. Welfare Quality® Reports Nr. 11.
- Whay, H. R., Main, D. C. J., Green, L. E. & Webster, A. J. F. 2003. An animal-based welfare assessment of group-housed calves on UK dairy farms. *Animal Welfare*, 12, 611-617.
- Vitale, A. F., Tenucci, M., Papini, M. & Lovari, S. 1986. Social behaviour of the calves of semi-wild Maremma cattle, *Bos primigenius taurus*. *Applied Animal Behaviour Science*, 16, 217-231.

BILAGA 1

Gård:		Individ									
Hull		<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>	5
Renlighet	Lower hindlegs	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>	
	Hindquarters- upper hindleg	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>	
	Övrig kropp/huvud	<input type="checkbox"/>	1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Våt kalv?		<input type="checkbox"/>	Nej	<input type="checkbox"/>	Under carpus/tarsus	<input type="checkbox"/>	Ovanför carpus/tarsus, under buken.	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Tecken på tidigare diarré
Golv		<input type="checkbox"/>	Ej hala	<input type="checkbox"/>	Lindrigt halkiga	<input type="checkbox"/>	Något halkiga	<input type="checkbox"/>	Hala	<input type="checkbox"/>	Farliga
Våmfyllnad		<input type="checkbox"/>	Insjunken	<input type="checkbox"/>	Lindrigt insjunken	<input type="checkbox"/>	Normal	<input type="checkbox"/>	Utspänd	<input type="checkbox"/>	På ryggen
Hårrem		<input type="checkbox"/>	Normal	<input type="checkbox"/>	Glanslös	<input type="checkbox"/>	Raggig	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Förhårdnader i hud
Skador/inflammation (huden):		<input type="checkbox"/>	Inga skador	<input type="checkbox"/>	< 3 cm i diameter	<input type="checkbox"/>	Diameter 3 cm– halv handflata	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	> halv handflata
Specifika skador:		<input type="checkbox"/>	Biten i öron/svans	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Svullen/svullna leder	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	Skador på klövar	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Fyllda bursor	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	Tecken på hälta	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
Avföring		<input type="checkbox"/>	Onormal andning	<input type="checkbox"/>	Om ja →	<input type="checkbox"/>	RR:	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	Hosta	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Näsflöde	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	Epiphora	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	Smetig	<input type="checkbox"/>	Fast	<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	Vattnig	<input type="checkbox"/>	Lös	<input type="checkbox"/>	Feber (tas vid misstanke)	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	

