# Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Belastung von Schweinen bei Therapie mit einem mehrmalig im Vergleich zu einem einmalig zu injizierenden Präparat

von Sophia Mück geb. Walter

aus Schwäbisch Gmünd

München 2017

# Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

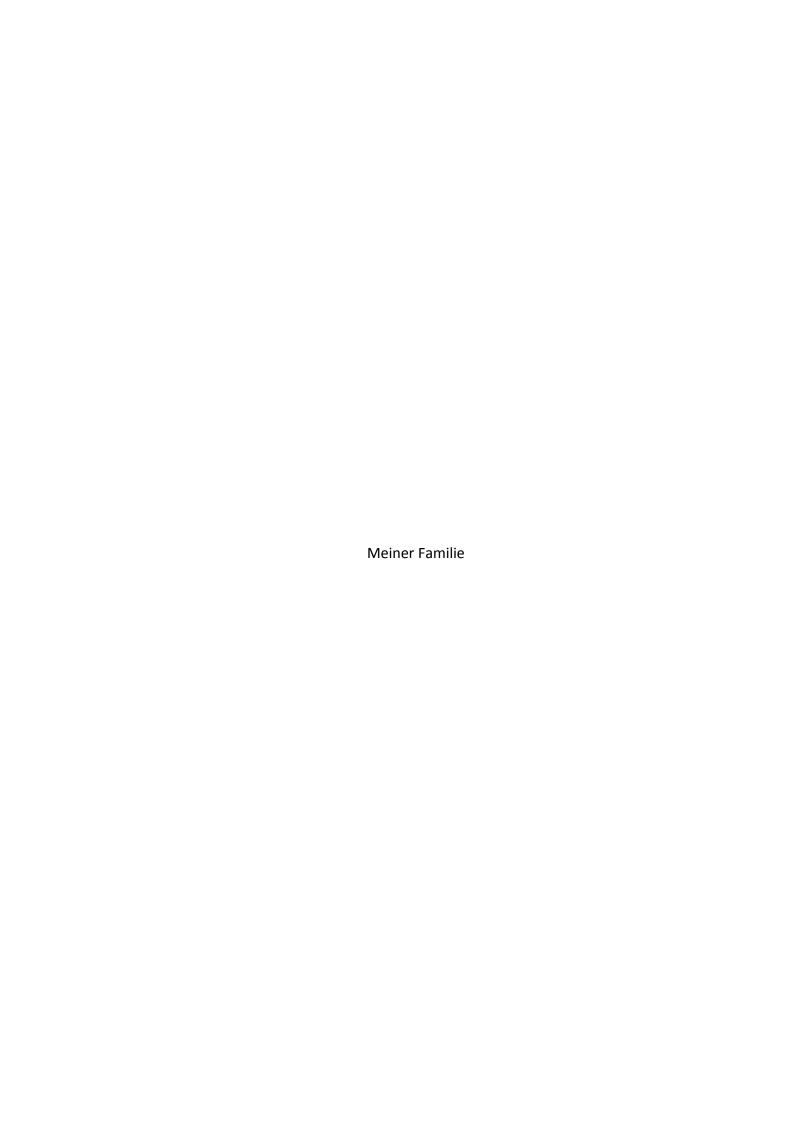
# Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, PhD

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

**Korreferent:** Priv.-Doz. Dr. Johann Maierl

Tag der Promotion: 29.07.2017



Inhaltsverzeichnis IX.

# **INHALTSVERZEICHNIS**

l.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Injektionen beim Schwein	3
1.1.	Technik der intramuskulären Injektion beim Schwein	3
1.2.	Schmerz und Stress bei der Injektion	4
1.3.	Lokale Verträglichkeit	5
2.	Schmerz und Stress	7
2.1.	Schmerzphysiologie	9
2.2.	Schmerz- und Stressparameter beim Schwein	11
2.3.	Cortisol	12
2.3.1.	Physiologie	13
2.3.2.	Speichelcortisol	15
2.3.3.	Circadiane Rhythmik	15
2.4.	Katecholamine	16
2.4.1.	Physiologie	16
2.4.2.	Bedeutung bei Stress und Schmerz	18
2.5.	Creatinkinase	19
2.6.	Chromogranin A	21
III.	MATERIAL UND METHODEN	23
1.	Arbeitshypothese	23
2.	Genehmigung des Tierversuchsvorhabens	23
3.	Studienbetrieb und Haltung der Studientiere	23
4.	Studientiere und Gruppeneinteilung	24
5.	Angewendete Injektionspräparate	25
6.	Teilversuch A	27
6.1.	Zeitlicher Ablauf	27
6.2.	Injektion und Blutprobenentnahme	28
6.3.	Probenbearbeitung	29

X. Inhaltsverzeichnis

7.	Teilversuch B	29
7.1.	Zeitlicher Ablauf	29
7.2.	Injektion und Blutprobenentnahme	30
7.3.	Probenbearbeitung	30
8.	Teilversuch C	31
8.1.	Zeitlicher Ablauf	31
8.2.	Injektion und Speichelentnahme	32
8.3.	Probenbearbeitung	33
9.	Klinische Untersuchung der Applikationsstelle	33
10.	Verhaltensbeobachtung	34
11.	Statistische Auswertung	35
IV.	ERGEBNISSE	39
1.	Teilversuch A	39
1.1.	Serumcortisol	39
1.2.	Injektionsscore	42
1.3.	Verhaltensbeobachtung	42
2.	Teilversuch B	45
2.1.	Adrenalin	45
2.2.	Noradrenalin	47
2.3.	Creatinkinase	49
2.4.	Injektionsscore	52
2.5.	Verhaltensbeobachtung	53
3.	Teilversuch C	58
3.1.	Speichelcortisol	58
3.2.	Chromogranin A	60
3.3.	Injektionsscore	62
3.4.	Verhaltensbeobachtung	63
V.	DISKUSSION	67
1.	Cortisol	67
1.1.	Serumcortisol (Teilversuch A)	68

Inhaltsverzeichnis IX.

1.2.	Speichelcortisol (Teilversuch C)	. 71
2.	Katecholamine	.73
2.1.	Adrenalin (Teilversuch B)	. 74
2.2.	Noradrenalin (Teilversuch B)	. 75
3.	Creatinkinase (Teilversuch B)	.77
4.	Chromogranin A (Teilversuch C)	.81
5.	Injektionsscore (TV A, B, C)	.82
6.	Verhaltensbeobachtung (TV A, B, C)	.84
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	.89
VII.	SUMMARY	.91
VIII.	TABELLENVERZEICHNIS	.93
IX.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	.97
х.	LITERATURVERZEICHNIS	.99
XI.	ANHANG	119
XII.	DANKSAGUNG	123

Abkürzungsverzeichnis XIII.

# **ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

A Adrenalin

Abb. Abbildung

ACTH Adrenocorticotropes Hormon

AUC Area-under-the-curve

C Cortisol

CBG Cortisol-bindendes Globulin

CgA Chromogranin A

CK Creatinkinase

CRH Corticotropin-Releasing-Hormon

EFSA European Food Safety Authority

Gld. Glandula

h Stunde(n)

HHN Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

HVL Hypophysenvorderlappen

IASP International Association for the Study of Pain

K Katecholamine

kg Kilogramm

l Liter

Lnn. Lymphonodi

m Meter

mg Milligramm

min Minuten(n)

ml Milliliter

MSH α-Melanozyten-stimulierendes Hormon

NA Noradrenalin

nmol Nanomol

NNM Nebennierenmark

NNR Nebennierenrinde

pg Pikogramm

pH potentia Hydrogenii

SD Standardabweichung

SEM Standardfehler (standard error of the mean)

TR-IFMA time-resolved immunofluorometric assay

TV Teilversuch

U/min Umdrehungen pro Minute

UV Umfangsvermehrung

VT Versuchstag

ZNS Zentrales Nervensystem

I. Einleitung

#### I. EINLEITUNG

Durch die fortschreitende Automatisierung in der Nutztierhaltung entfallen viele positiv assoziierte Interaktionen zwischen Mensch und Tier, beispielsweise die Fütterung. Umso notwendiger erscheint es, verbleibende Mensch-Tier-Interaktionen wie Umgruppierung, Sortierung oder auch medizinische Therapien möglichst stressfrei zu gestalten. Negativ assoziierte Mensch-Tier-Interaktionen können beim Tier sowohl zu akuten als auch zu chronischen Stresszustände führen und sich nach HEMSWORTH et al. (1981a) in der Folge sogar in geringeren Zunahmen und in schlechteren Reproduktionsraten äußern (HEMSWORTH et al., 1981b). Neben der Einzeltierbehandlung erfolgen auch die meisten prophylaktischen Maßnahmen wie Impfungen beim Schwein fast ausschließlich mittels Injektion. Gerade bei Saugferkeln ist ein parenterales Behandlungsregime mittels Injektion obligatorisch, da eine orale Medikation über das Futter nicht möglich ist (PLONAIT, 2004b). Jedoch verursachen Punktionsschmerz, Einfangen und Handling der Tiere bei der Injektionsbehandlung Stress beim Schwein (LANGHOFF, 2008).

Ziel dieser Arbeit war es, die Stress- und Schmerzbelastung der Tiere bei einer Injektionsbehandlung zu bewerten und zu überprüfen, ob die einmalige Injektion eines Langzeitpräparates zu einer geringeren Belastung der Tiere im Vergleich zur Injektion eines Präparates zur mehrmaligen Injektion führt. Hierzu wurden mehrfach Cortisol-, Katecholamin- und Creatinkinasekonzentrationen aus dem Blut von Saugferkeln und Cortisol- und Chromogranin A (CgA) Konzentrationen aus dem Speichel von Mastschweinen bestimmt.

## II. LITERATURÜBERSICHT

# 1. Injektionen beim Schwein

Für die Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen sind Injektionen zur gezielten Einzeltierbehandlung im Nutztierbereich unerlässlich. Injektionen können beim Schwein intradermal (BERNARDY et al., 2008), intrakutan, subkutan, intramuskulär, intravenös, intraabdominal, intratestikulär und intrakardial verabreicht werden (HEINRITZI, 2006b), wobei in der Schweinepraxis intramuskulär verabreichte Präparate dominieren (PLONAIT, 2004b).

#### 1.1. Technik der intramuskulären Injektion beim Schwein

Die intramuskuläre Injektion erfolgt bei Schweinen aller Altersgruppen in die seitliche Halsmuskulatur (GROSSE BEILAGE und KIETZMANN, 2013). Es wird auf Höhe des oberen Ohrgrundes am Übergang der behaarten zur unbehaarten Haut in waagrechter Richtung eingestochen (GROSSE BEILAGE und KIETZMANN, 2013). Wird zu weit kaudal injiziert ist eine Verletzung der Glandula (Gld.) parotis, der Lymphonodi (Lnn.) parotidei, der Lnn. retropharyngei laterales oder der Lnn. cervicales superficiales möglich (PAULICK et al., 1967), zu weit kranial kann das Periost des Occiput verletzt werden (PLONAIT, 2004b). Ferkel werden zur Injektion auf dem Arm fixiert (PLONAIT, 2004a). Bei Mastschweinen erfolgt die Injektion zumeist ohne Fixation, beispielsweise in die von der behandelnden Person abgewandte Seite, um ein Ausweichen der Tiere in die andere Richtung zu verhindern (PLONAIT, 2004b). Die Wahl der Kanülenlänge und des Kanülendurchmessers ist der Gewichtsklasse entsprechend anzupassen (GROSSE BEILAGE und KIETZMANN, 2013). Um nicht versehentlich in die Speckschicht statt in die Muskuklatur zu injizieren ist eine ausreichende Länge der Kanüle unabdingbar (GROSSE BEILAGE und KIETZMANN, 2013). Des Weiteren sollte das Lumen der Kanüle so gering wie möglich gewählt werden, um den Injektionsschmerz auf ein Mindestmaß zu begrenzen und das Risiko des Eintrags von Erregern durch den Stichkanal zu verringern (GROSSE BEILAGE und KIETZMANN, 2013).

#### 1.2. Schmerz und Stress bei der Injektion

HEMSWORTH et al. (1986) und MIURA et al. (1996) beschreiben, dass Menschen schon durch ihre aufrechte Körperhaltung Angst bei Schweinen hervorrufen können. Zusätzlich zur Annäherung müssen Saugferkel für Injektionen gefangen und auf dem Arm fixiert werden (PLONAIT, 2004a). Zusätzlich zu der Art der Verletzung und der Reizung des Gewebes oder eines Organs bei der Injektion, beeinflusst auch Stress und Angst der Tiere die Schmerzintensität (HENKE und ERHARDT, 2001a). Demzufolge kann durch die Reduzierung von Angst und Stress die Schmerzschwelle angehoben und die Schmerzintensität reduziert werden (HENKE et al., 2012).

Werden Schmerzrezeptoren, sogenannte Nozizeptoren, in der Haut gereizt, wird dieser Reiz über afferente Nervenfasern an das Zentrale Nervensystem (ZNS) weitergeleitet und dort als Schmerz verarbeitet (HENKE et al., 2012). Nozizeptoren sind freie Nervenendigungen, die zu 90% in der Haut aber auch in vielen anderen Geweben (Peritoneum, Pleura, Periost, Gelenkkapsel, Sehne, Blutgefäß, Muskel, manche inneren Organe) vorkommen (HENKE und ERHARDT, 2001b). Sie können auf mechanische, chemische und thermische Reize reagieren (HENKE und ERHARDT, 2001b). Somit ist die Haut ein sehr sensibles Organ, wohingegen die Muskulatur kein hohes Schmerzempfinden aufweist (HENKE et al., 2012). Der Durchmesser einer Kanüle korreliert positiv mit dem Schmerz und dem Vorkommen von Blutungen bei einer Injektion (ARENDT-NIELSEN et al., 2006). COOPER et al. (2000) konnten in ihrer Studie zeigen, dass eine Injektion mit einer Kanüle schmerzhafter bewertet wird als eine Applikation mit einem nadellosen Injektor. Bei Saugferkeln im Alter von drei Tagen konnte allerdings nach der nadellosen Injektion eine signifikant höhere Cortisolkonzentration im Serum als nach einer konventionellen Injektion mittels Kanüle gemessen werden (UHL, 2013). Dieses Ergebnis könnte auf die Eindringtiefe des Hochgeschwindigkeits-Flüssigkeitsstrahls der nadellosen Applikation zurückzuführen sein, da bei zunehmender Eindringtiefe die Anzahl verletzter Kapillaren und Nerven zunimmt (ARORA et al., 2007).

Steigt das zu applizierende Volumen nimmt auch die Schmerzintensität zu (GRAVEN-NIELSEN et al., 1997). Injektionen können zu Komplikationen wie

Abszess- und Zystenbildung, peripherer Nervenverletzung oder auch Nekrosen führen (HANSON, 1963). Diese Komplikationen sind meist auf Fehler bei der Injektion zurückzuführen (HANSON, 1963). Abszesse bedingt durch eine Injektion entstehen meist durch mangelnde Hygiene des Injektionsbestecks (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Periphere Nerven können durch eine fehlerhafte Wahl der Injektionsstelle verletzt werden (HANSON, 1963). Die Verletzung peripherer Nerven ebenso wie Nekrosen an der Injektionsstelle können durch reizende Präparate verursacht werden (HANSON, 1961). Deshalb ist es wichtig möglichst gut verträgliche Injektionslösungen zu verwenden, um das kleinstmögliche Risiko einer Komplikation einzugehen (HANSON, 1963).

## 1.3. Lokale Verträglichkeit

Die lokale Verträglichkeit einer Injektion ist abhängig von der Tonizität, dem pH-Wert, dem Volumen, der Konzentration und der Reizungsqualität der Wirk- und Hilfsstoffe (KERN, 1987). Auch die Injektionsgeschwindigkeit und die Wahl der Injektionsstelle können eine Rolle spielen (KERN, 1987).

Der intrazelluläre pH-Wert beträgt 7,1 und wird durch zelluläre Transportmechanismen reguliert (SCHRÖDER und RUMMEL, 2015). Eine hypertone Verschiebung im Extrazellularraum kann zum Schrumpfen von Zellen, eine hypotone Verschiebung zum Platzen von Zellen führen (SCHRÖDER und RUMMEL, 2015). Laut den Untersuchungen von SETNIKAR und PATERLINI (1960) werden leicht hypertone Lösungen besser vertragen als isotone Lösungen.

Bei der intramuskulären Injektion können SHINTANI et al. (1967) feststellen, dass bei Kaninchen zwischen pH-Wert 2,5 und 11 allenfalls milde Irritationen zu beobachten sind. Bei pH-Wert 2,1 und 12 wird eine moderate Reaktion beobachtet, die klinisch keine Beeinträchtigung der Tiere erkennen lässt (SHINTANI et al., 1967). Die Lokalreaktion wird hierbei mithilfe eines Scores, der das Auftreten von Hyperämie, Farbänderungen, Nekrosen und Abszessen des Muskels *post injectionem* in sechs verschiedene Kategorien (0-5) einteilt, beurteilt (SHINTANI et al., 1967).

In den Untersuchungen von STEINESS et al. (1978) kann gezeigt werden, dass eine Verdünnung der Präparate mit isotonischer Kochsalzlösung zu einer

besseren Gewebeverträglichkeit führt. Reine isotonische Kochsalzlösung führt zu keiner Schädigung der Muskulatur, mit aufsteigender Verdünnung der reizenden Präparate mit zunehmendem Anteil der Kochsalzlösung nimmt das Ausmaß der Muskelschädigung ab (STEINESS et al., 1978).

Injektionslösungen enthalten stets Lösungs- oder Suspendierhilfsmittel, deshalb müssen diese auch Berücksichtigung finden, wenn man die lokale Verträglichkeit einer Injektionslösung beurteilen möchte (KERN, 1987). So sind laut den Untersuchungen von SVENDSEN (1983a) Medikamente mit Lösungsmitteln auf Ölbasis besser verträglich als solche auf Wasserbasis. Möglicherweise ist dies auf eine verzögerte Abgabe der Wirkstoffe in die Interstitialflüssigkeit zurückzuführen, da die Wirkstoffe aufgrund der Lösung in einem öligen Medium nicht sofort verfügbar sind (SVENDSEN, 1983a).

In den Untersuchungen von HANSON (1961) zeigt sich, dass verschiedene antibakterielle Wirkstoffe zu unterschiedlich stark ausgeprägten Lokalreaktionen führen. Eine Vielzahl an Studien belegt, dass unterschiedliche Wirkstoffe unterschiedliche Reizwirkung haben (PAGET und SCOTT, 1957; SHINTANI et al., 1967; MIKAELIAN et al., 1996).

Die Injektionsgeschwindigkeit beeinflusst die lokale Verträglichkeit eines Arzneimittels nur in sehr geringem Maße (SVENDSEN, 1983b). Wird eine Injektion mit deutlich schnellerer Geschwindigkeit durchgeführt, erhört sich das Vorkommen leichter Blutungen an der Injektionsstelle (SVENDSEN, 1983b).

Nach STEINESS et al. (1974) korreliert das Ausmaß der Nekrose durch eine Injektion mit dem Volumen des applizierten Medikaments. Auch die Untersuchungen von ELICKER (2006) ergeben einen direkten Zusammenhang zwischen appliziertem Volumen und der lokalen Verträglichkeit der Injektion; d.h. mit steigendem Volumen steigt das Ausmaß der lokalen Reaktion. Es ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Dosierungen (1 ml, 2 ml, 4 ml) verschiedener Mykoplasmenimpfstoffe bezüglich der Parameter Gewebsalteration und Ausdehnung der lokalen Reaktion (ELICKER, 2006).

Auch die Anzahl der Injektionen spielt eine Rolle bei der lokalen Verträglichkeit eines Medikaments. So weisen die Ergebnisse von HANSON (1961) darauf hin,

dass sowohl die Stärke der lokalen Reaktion als auch die Anzahl der Nekrosen bei wiederholter Injektion zunimmt. Auch SHINTANI et al. (1967) deuten in ihrer Arbeit darauf hin, dass die Intensität der lokalen Irritation nach mehrfacher Injektion zunimmt.

Die Applikationstiefe einer Injektion kann die lokale Verträglichkeit eines Präparates ebenfalls beeinflussen. So dokumentieren WOOLUMS et al. (2011) in ihrer Arbeit, dass eine nadellose, transdermale Impfung von Rindern gegen Clostridien eine bessere lokale Verträglichkeit als eine subkutane Impfung aufweist. In einer humanmedizinische Studie von BELSHE et al. (2007) konnten nach einer intradermalen Vakzination gegen Influenza stärkere Lokalreaktionen beobachtet werden, als nach der intramuskulären Injektion desselben Impfstoffes.

#### 2. Schmerz und Stress

Die International Association for the Study of Pain (IASP) definiert Schmerz beim Menschen als eine sensorisch und emotional unangenehme Erfahrung die mit tatsächlichem oder potentiellem Gewebeschaden einhergeht (IASP, 1994). Schmerz ist immer eine subjektive Empfindung und die Unfähigkeit Schmerz verbal zu äußern lässt nicht darauf schließen, dass kein Schmerz empfunden werden kann (IASP, 1994). SANN (2015) differenziert zwischen den Termini "Schmerz" und "Nozizeption". Schmerz umfasst die objektive und subjektive Wahrnehmung schmerzauslösender Reize (HENKE und ERHARDT, 2001b). Nozizeption ist laut SANN (2015) die "Erkennung, Weiterleitung, und Verarbeitung noxischer Reize im peripheren und zentralen Nervensystem". PFANNKUCHE (2008) definiert Nozizeption als Schmerz ohne Berücksichtigung des emotionalen Aspekts des Schmerzes. MOLONY und KENT (1997) definieren Schmerz beim Tier als eine sensorisch und emotional aversive Erfahrung des Tieres, die durch das Bewusstsein über einen Schaden oder eine Bedrohung für die Unversehrtheit des Organismus zustande kommt. Da Schmerz eine subjektive Empfindung eines Individuums ist, müssen verschiedene physiologische Parameter und Verhaltensparameter herangezogen werden, um indirekt Rückschluss über das Vorhandensein und die Intensität des Schmerzes ziehen zu

können (MOLONY und KENT, 1997). Um Schmerz bewerten zu können sollte nach HENKE et al. (2012) auch der empfundene Stress und die Angst eines Tieres in Betracht gezogen werden, da ein Tier unter Angst oder Stress eine niedrigere Schmerzschwelle zeigt und den Schmerz somit als stärker empfindet.

DÖCKE (2000) vermeidet es den Begriff Stress allgemein gültig zu definieren. Er bezeichnet Stress als die Einwirkung psychischer und physischer Reize, sogenannte Stressoren und die darauffolgende individuelle, unspezifische Reaktion des Organismus (DÖCKE, 2000). Differenziert werden muss zwischen dem positiv zu bewertenden Eustress und im negativen Sinne zu bewertenden Distress (DÖCKE, 2000). Eustress ist notwendig für die Funktion des Organismus, da dieser nur funktionieren kann, wenn er Reize empfängt und beantwortet (DÖCKE, 2000). Distress entsteht, wenn starke Stressoren auf den Organismus wirken und die Abwehrmechanismen des Körpers diese nur unvollständig oder gar nicht kompensieren können (DÖCKE, 2000). Die Stressantwort des Körpers ist äußerst komplex und wird durch die Erkennung eines akuten Stressors durch die Sensorik des Organismus ausgelöst (HUBER, 2015). Sie kann nach Ausmaß und Art des Stressors variieren und bedient sich hierbei sowohl nervaler als auch endokriner Signale (HUBER, 2015). MOBERG (2000) unterscheidet vier verschiedene Abwehrmechanismen mit denen ein Organismus auf einen Stressor reagiert: Änderungen im Verhalten, die Antwort des vegetativen Nervensystems, die neuroendokrine Antwort und die Antwort des Immunsystems. Zunächst versucht das Tier dem Stressor auszuweichen, indem es ihn meidet (MOBERG, 2000). Führt die Verhaltensänderung nicht zum Erfolg, wird das vegetative Nervensystem aktiviert (MOBERG, 2000). Das vegetative Nervensystem beeinflusst den Organismus auf verschiedenste Weisen; es hat Wirkung auf das Herz-Kreislauf-System, den Magen-Darm-Trakt, die exokrinen Drüsen und das Nebennierenmark (NNM) (MOBERG, 2000). Diese Wirkung ist nur von kurzer Dauer, wohingegen die Sekretion von Hormonen des Hypothalamus-Hypophysen-neuroendokrinen Systems eine vielseitige und längerfristige Wirkung auf den Organismus hat (MOBERG, 2000). Diese Hormone können die Immunkompetenz, die Reproduktion, den Stoffwechsel und das Verhalten beeinflussen (MOBERG, 2000). Das Immunsystem wird bei Stress direkt vom ZNS

reguliert und ist eines der wichtigsten Verteidigungsbarrieren bei der Stressantwort (MOBERG, 2000). MELLOR et al. (2000) prägen die Begriffe "stress", "distress" und "pain-induced distress". "Stress" bezeichnet die physiologischen Anpassungen des Organismus, die er auf verschiedene Anforderungen vornehmen kann (MELLOR et al., 2000). "Distress" beschreibt die emotionale Komponente des Schmerzempfindens, unabhängig davon, ob der schmerzauslösende Reiz emotionaler oder physischer Natur ist (MELLOR et al., 2000). Den Begriff "pain-induced distress" verwenden MELLOR et al. (2000) um zu veranschaulichen, dass emotionale und physikalische Komponenten eng zusammenwirken und sich in der Reaktion des Organismus auf die einwirkenden Noxe widerspiegeln.

#### 2.1. Schmerzphysiologie

SANN (2015) differenziert zwischen den peripheren und den zentralen Mechanismen der Nozizeption. Periphere Mechanismen umfassen die Aktivierung der Nozizeptoren durch einen noxischen Reiz und die Weiterleitung des Signals an das Zentrale Nervensystem (SANN, 2015). Die Weiterleitung des Signals an das Gehirn, dessen Verarbeitung und die darauffolgende Aktivierung der sensorisch-diskriminativen Funktion (Erkennung und Lokalisation noxischer Reize), der affektiven Komponente (z.B. Aggression bei Schmerz), der motorischen Komponente (Reflexe) und der vegetativen Komponente (Sympathikusaktivierung) sind wiederum Teil der zentralen Mechanismen der Nozizeption (LANG, 2013; SANN, 2015).

Nozizeptoren sind freie Nervenendigungen deren Zellkörper in den Spinalganglien liegen (HENKE et al., 2012). Sie reagieren im Gegensatz zu vielen anderen Rezeptoren auf verschiedene Reize (mechanisch, thermisch, chemisch) (HENKE et al., 2012). Auch endogene Entzündungsmediatoren (z.B. Histamin, Serotonin) können einen chemischen Reiz auslösen und somit Nozizeptoren aktivieren (HENKE et al., 2012). Durch eine traumatische oder entzündliche Gewebeschädigung werden Prostaglandine, Leukotriene und Kinine (z.B. Bradykinin) gebildet, diese sensibilisieren Nozizeptoren und erniedrigen somit die Schmerzschwelle (HENKE et al., 2012). Außerdem führen sie zu einer Dilatation der Kapillaren und erhöhen die Gefäßpermeabilität (HENKE et al.,

2012). SANN (2015) differenziert zwischen zwei verschiedenen Arten von Nozizeptoren: myelinisierte, schnell leitende Mechanonozizeptoren, die auf hoch noxische, mechanische Reize reagieren und unmyelinisierte, polymodale Nozizeptoren, die auf mechanische, thermische und chemische Reize reagieren. Die Mechanonozizeptoren induzieren einen schnellen, scharfen Schmerz, wohingegen die polymodalen Nozizeptoren den langsamen, dumpfen Schmerz veranlassen (SANN, 2015). Werden nun Nozizeptoren durch eine Noxe erregt, leiten sie das Signal an nozizeptive spinale Neurone im Dorsalhorn des Rückenmarks weiter (JULIUS und BASBAUM, 2001; HENKE et al., 2012; SANN, 2015). Diese leiten das Signal über den Tractus spinothalamicus zum Thalamus, zur Formatio reticularis im Hirnstamm und zum Mittelhirn weiter (SANN, 2015), außerdem haben sie Verbindungen zu motorischen und sympathischen Efferenzen, die motorische oder sympathische Reflexe auslösen können (HENKE und ERHARDT, 2001b; HENKE et al., 2012). Durch die Weiterleitung an den Hirnstamm kann auch das Atem- und Kreislaufzentrum durch Schmerzen beeinflusst werden (HENKE et al., 2012). Vom Thalamus aus wird das Signal in den somatosensorischen Cortex projiziert, dadurch können Noxen erkannt und lokalisiert werden (SANN, 2015). Durch eine Verbindung zwischen Thalamus und Hypophyse entsteht eine Verknüpfung zum endokrinen System (HENKE und ERHARDT, 2001b). Bei Schmerzen werden somit das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und β-Endorphin aus dem Hypophysenvorderlappen (HVL) freigesetzt (HENKE und ERHARDT, 2001b). Das sogenannte antinozizeptive System kann über lokale Mechanismen, intersegmentale spinale Verschaltungen und deszendierende Bahnen die Nozizeption hemmen (SANN, 2015). Noradrenalin und Serotonin sind die dominierenden Transmitter der Hemmbahnen und auch Endorphine können die Schmerzwahrnehmung hemmen (HENKE et al., 2012). Die Aktivierung des deszendierenden Systems, das der körpereigenen Unterdrückung von Schmerzen dient, erfolgt durch Signale des aszendierenden Systems vom Rückenmark zur Medulla oblongata, zum Hirnstamm und zum Hypothalamus (RIEDEL und NEECK, 2001).

Obwohl die neurophysiologischen Mechanismen der Schmerz-verarbeitung bei allen Säugetieren identisch zu sein scheinen, gibt es dennoch individuelle

Unterschiede in der Schmerzempfindlichkeit und in der Wirksamkeit von Analgetika selbst innerhalb derselben Spezies (VIÑUELA-FERNÁNDEZ et al., 2007), dies lässt sich auf genetische Faktoren und Umweltfaktoren zurückführen (MOGIL, 1999; CHESLER et al., 2002).

#### 2.2. Schmerz- und Stressparameter beim Schwein

Da Tiere ihre Empfindungen nicht verbalisieren können, bedarf es einer genauen Beobachtung der Erscheinung und des Verhaltens des Tieres, um dessen Zustand beurteilen zu können (CARSTENS und MOBERG, 2000). Bei Tieren müssen die Anzeichen für Schmerz mit indirekten Schmerzparametern wie dem Verhalten, physiologischen Parametern und klinischen Anzeichen erhoben werden (MOLONY und KENT, 1997). Hierfür müssen Kenntnisse über die Normalwerte der physiologischen Parameter und das Normalverhalten der entsprechenden Spezies vorliegen (MORTON und GRIFFITHS, 1985). Zudem bestehen Unterschiede im Schmerzverhalten von Tieren, je nachdem ob es sich um eine Beute- oder Raubtierspezies handelt (SANN, 2015). Laut VIÑUELA-FERNÁNDEZ et al. (2007) liegt die Ursache aber nicht an einem Unterschied in der Schmerzverarbeitung, sondern am Fluchtverhalten von Beutetieren, zu denen auch Schweine zählen, das ein Schmerzverhalten verbergen kann. Zur Beurteilung von Schmerzen müssen darüber hinaus Rasse, Aufzuchtbedingungen, Entwicklungsstatus, Alter und Geschlecht in Betracht gezogen werden (PAUL-MURPHY et al., 2004). Um Schmerz zu erkennen und dessen Intensität möglichst genau beurteilen zu können, ist es von Vorteil mehrere Parameter der Schmerzbeurteilung zu kombinieren (PRUNIER et al., 2012). Tabelle 1 zeigt verschiedene physiologische Schmerz- sowie Verhaltensparameter beim Schwein, welche die European Food Safety Authority (EFSA, 2004) veröffentlicht.

Tabelle 1: Physiologische Schmerz- und Verhaltensparameter beim Schwein (modifiziert nach EFSA, 2004)

Physiologische Parameter	Verhaltensparameter
Hormonkonzentrationen	Vokalisationen
(Blut, Speichel, Urin)	- Anzahl und Dauer
- ACTH	- Intensität
- CRH	- Spektrum
- Cortisol	эрекстип
- Adrenalin	<u>Körperhaltung</u>
- Noradrenalin	- Schonhaltung
- Noraurenann	_
Adalahalisa (DL I)	- Starre, Steifheit
Metaboliten (Blut)	- Bewegung
- Glucose	- Flucht
- Laktat	
- freie Fettsäuren	<u>Spezifische schmerzbedingte</u>
	<u>Verhaltensweisen</u>
<u>Kreislauf</u>	- Zittern, Krämpfe
- Herz und Atemfrequenz	- Kratzen
- Körpertemperatur	- Wegziehreflex
- Blutdruck	
	<u>Allgemeinverhalten</u>
Immunsystem (Blut)	- Unruhe, Rastlosigkeit
- Abwehrzellen	- Prostration und Immobilität
- Immunglobuline	- Isolation
	- soziale Desynchronisation
C-fos Neurone im Rückenmark	- Aggression
o loo licatione in macketimark	- Anorexie

Viele dieser Parameter können allein durch Stress moduliert werden, was die Interpretation erschweren kann (HENKE et al., 2012). MELLOR et al. (2000) verwenden den Terminus "pain-induced distress" der veranschaulicht, dass auch die emotionale Komponente eine Rolle in der Schmerzantwort eines Tieres spielt. Somit kann der Stress, den ein Tier empfindet in die physiologische Antwort des Organismus auf Schmerz einwirken und sollte ebenfalls bei der Beurteilung des Schmerzempfindens Berücksichtigung finden (MELLOR et al., 2000).

#### 2.3. Cortisol

Glucocorticoide haben neben ihrer entzündungshemmenden und immunsupprimierenden Wirkung großen Einfluss auf den Intermediär-

stoffwechsel (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994). Cortisol ist das vorherrschende Glucocorticoid bei Schwein, Rind, Hund und Mensch, wohingegen bei Kaninchen, Maus und Ratte das Corticosteron die größere Rolle spielt (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994). Alle Glucocorticoide werden in der Nebennierenrinde (NNR) produziert und können dort nur in kleinen Mengen gespeichert werden, daher müssen sie bei erhöhtem Bedarf rasch synthetisiert und sezerniert werden (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994). Allerdings werden sie nicht kontinuierlich, sondern episodisch sezerniert (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994). Cortisol unterliegt einer circadianen Rhythmik, die bei 28 Wochen alten Schweinen durch einen hohen Peak am Morgen, einen kleineren Peak am Nachmittag und einem Tief am Abend gekennzeichnet ist (EVANS et al., 1988). In Stresssituationen wird über den Hypothalamus die Stressachse und das sympathische System des Organismus aktiviert, was in einer erhöhten Freisetzung von Glucocorticoiden und Katecholaminen resultiert (HUBER, 2015). Cortisolmessungen aus dem Plasma oder dem Speichel wurden erfolgreich zur Evaluation von Stress beim Schwein in einer Vielzahl von Studien verwendet (ROSOCHACKI et al., 2000; PRUNIER et al., 2005; LANGHOFF, 2008; MARCHANT-FORDE et al., 2009; MERLOT et al., 2011; WEIß, 2015). Andere geeignete Probenmaterialien für die Cortisolmessung beim Säugetier sind Urin (HAY und MORMEDE, 1998), Kot (ROYO et al., 2005), Haare (BACCI et al., 2014) und Milch (SGORLON et al., 2015). So können BACCI et al. (2014) mithilfe von unterschiedliche Borsten aus der Rumpfregion von Sauen Cortisolkonzentrationen zu verschiedenen Zeitpunkten des Zyklus bzw. der Trächtigkeit nachweisen. Des Weiteren zeigt sich, dass die Cortisolkonzentration in Bezug auf die verschiedenen Jahreszeiten variiert, die niedrigsten Konzentrationen können während der wärmeren Monaten gemessen werden (BACCI et al., 2014).

#### 2.3.1. Physiologie

Cholesterol ist die gemeinsame Vorstufe aller Glucocorticoide, durch enzymatische Reaktionen wird aus Cholesterol in der *Zona fasciculata* der NNR Cortisol synthetisiert (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994). Als lipophiles Molekül kann Cortisol nach seiner Synthese direkt durch die Zellmembran

diffundieren, im Blut hingegen ist Cortisol auf Plasmaproteine für den Transport angewiesen und hat eine Halbwertszeit von einer Stunde (GRECO und STABENFELDT, 2013). Im Blut sind 90% des Cortisols an das spezifische Transportprotein Transcortin (Cortisol-bindendes Globulin, CBG) oder an Albumin gebunden (PASCHKE, 2014), nur etwa 10% kommen ungebunden als biologisch aktive Form im Plasma vor (GRECO und STABENFELDT, 2013). Aktiv wird das gebundene Cortisol durch eine Konformationsänderung der Transportproteine z.B. in der Umgebung von Entzündungen (PASCHKE, 2014). Das ungebundenen Cortisol diffundiert durch die Membran der Zielzelle und bindet an spezifische Rezeptoren im Zytosol und im Zellkern (PASCHKE, 2014).

Reguliert wird die Ausschüttung von Cortisol durch die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHN) (HUBER, 2015). Das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH), das vor allem im Nucleus paraventricularis des Hypothalamus, aber auch im Hirnstamm, anderen ZNS-Regionen und peripher synthetisiert wird, wirkt hypophyseotrop auf die Proopiomelanocortin (POMC)-Zellen und hat eine entscheidende Rolle in der Abstimmung der Vorgänge im ZNS bei der Stressantwort eines Organismus (PASCHKE, 2014). In der Pars intermedia und im Hypophysenvorderlappen (HVL) wird das Protein POMC in ACTH,  $\beta$ -Endorphin und  $\alpha$ -Melanozyten-stimulierendes Hormon (MSH) gespalten (HUBER, 2015). ACTH spielt die ausschlaggebende Rolle in der Regulation der Cortisolausschüttung, da durch die Bindung von ACTH an einen membranspezifischen Rezeptor entscheidende Schritte in der Cortisolsynthese möglich werden (PASCHKE, 2014). Cortisol hemmt die Sekretion von CRH und ACTH über den Mechanismus der negativen Rückkopplung, einerseits geschieht dies durch eine schnelle Rückkopplung je nach Steilheit des Anstiegs des Cortisolspiegels, andererseits durch das integrale Feedback, das verzögert auf die Höhe des Cortisolanstiegs reagiert (PASCHKE, 2014). Der Mechanismus der negativen Rückkopplung kann sowohl von der circadianen Rhythmik als auch von der Reaktion des Organismus auf Stress überlagert werden (GRECO und STABENFELDT, 2013). Cortisol wird vor allem über die Leber abgebaut und anschließend über die Galle oder den Urin ausgeschieden (SILBERNAGL und DESPOPOULUS, 2012b).

#### 2.3.2. Speichelcortisol

Cortisol kann als lipidlösliches Steroidhormon aus dem Plasma durch einfache Diffusion über die Azinuszellen des sekretorischen Endstücks der Speicheldrüsen in den Speichel gelangen (VINING und MCGINLEY, 1987). Laut UMEDA et al. (1981) ist die Messung von Speichelcortisol eine geeignete Methode um Aussagen über die Höhe des freien Cortisolspiegels im Serum treffen zu können. Nur die ungebundene Fraktion des Plasmacortisols kann in den Speichel gelangen, zwischen Speichelcortisol und ungebundenem Plasmacortisol herrscht ein Gleichgewicht (UMEDA et al., 1981). Die Höhe des ungebundenen Cortisols im Plasma wird beeinflusst von der Bindungskapazität des Blutes, die wiederum individuell ist und von der Stresslage und dem Genotyp des Tieres abhängig ist (BARNETT et al., 1981; NYBERG et al., 1988). PARROTT et al. (1989) geben die durchschnittliche Höhe des Speichelcortisolspiegels mit 10% des Gesamtcortisols im Plasma an.

#### 2.3.3. Circadiane Rhythmik

Cortisol wird episodisch sezerniert, das heißt in gewissen Zeitabständen treten Konzentrationsgipfel im Blut auf, dazwischen fällt der Hormonspiegel auf das niedrigere Basalniveau ab (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994). Die biologisch aktive Hormonfraktion wird somit durch die Amplitude und die Frequenz dieser Gipfel determiniert, die wiederum von der Verfügbarkeit der Bindungsproteine und der Halbwertszeit des Cortisols im Serum abhängig sind (DÖCKE, 1994). Die episodische Sekretion wird allerdings von der circadianen Rhythmik der Cortisolausschüttung überlagert (THUN und SCHWARTZ-PORSCHE, 1994).

Zum Zeitpunkt der Geburt haben Ferkel einen erhöhten Cortisolspiegel, der mit zunehmendem Alter absinkt (KATTESH et al., 1990; LLAMAS MOYA et al., 2007). Ferner steigt mit zunehmendem Alter der Anteil des an CBG gebundenen Cortisols, der freie Anteil des Cortisols hingegen sinkt (KATTESH et al., 1996). GALLAGHER et al. (2002) können in ihrer Arbeit bei weiblichen Ferkeln ab einem Alter von sechs Tagen und bei männlichen Ferkeln ab einem Alter von zehn Tagen eine circadiane Rhythmik feststellen. Laut den Untersuchungen von EVANS et al. (1988) kann bei Schweinen im Alter von vier Wochen keine circadiane Rhythmik im Serumtagesprofil gemessen werden, eine deutliche Rhythmik mit

einer großen Spitze am Morgen, einer kleineren Spitze am Nachmittag und einem Tief am Abend zeigt sich erst im Alter von 28 Wochen. RUIS et al. (1997) hingegen können im Alter von 20 Wochen einen stabilen circadianen Rhythmus dokumentieren. Zusätzlich kann gezeigt werden, dass Alter, Geschlecht und der Zeitpunkt zu dem ein Stressor eingesetzt wird, Einfluss auf die circadiane Rhythmik haben (RUIS et al., 1997). Des Weiteren ist die circadiane Rhythmik abhängig von der Tageslänge, nimmt diese zu, wird die Spitze am Morgen höher, die Fütterung hingegen beeinflusst den Cortisolspiegel nicht (BARNETT et al., 1981). Auch die Haltungsform kann die Entwicklung der circadianen Rhythmik beeinflussen (DE JONG et al., 2000). Schweine, die in einer angereicherten Bucht aufgewachsen sind, zeigen im Alter von 15 Wochen eine ausgeprägtere circadiane Rhythmik als Schweine aus abwechslungsarmen Buchten (DE JONG et al., 2000). Chronischer Stress kann zu einem vorübergehenden Anstieg des Plasmacortisols führen, generell findet jedoch eine Abflachung des Rhythmus statt (JANSSENS et al., 1995). Auch im Speichelcortisol lässt sich eine circadiane Rhythmik messen, die einen ähnlichen Verlauf wie der circadiane Verlauf des Plasmacortisols aufweist (EKKEL et al., 1996).

#### 2.4. Katecholamine

Die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin werden von den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks (NNM), in spezifischen Neuronen des ZNS und in den postganglionären sympathischen Nervenendigungen synthetisiert, in Granula im NNM gespeichert und von dort bei Bedarf mittels Exozytose sezerniert (DÖCKE und KEMPER, 1994). Im Ruhezustand des Organismus ist die Katecholaminsekretion niedrig (DÖCKE und KEMPER, 1994), sie steigert sich aber in körperlichen oder psychisch-emotionalen Alarmsituationen um ein Vielfaches (SILBERNAGL und DESPOPOULUS, 2012a).

#### 2.4.1. Physiologie

Die Katecholamine entfalten ihre Wirkung über adrenerge Rezeptoren, die sich in vier Untergruppen ( $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptoren) unterteilen lassen (DÖCKE und KEMPER, 1994). Die Affinität von Adrenalin und Noradrenalin zu den verschiedenen Rezeptorsubtypen variiert, Noradrenalin wirkt v.a. über  $\alpha_1$ -

Rezeptoren, Adrenalin hingegen über  $\alpha_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptoren (DÖCKE und KEMPER, 1994). Die adrenergen Rezeptoren sind auf unterschiedlichen Effektoren lokalisiert (DIENER, 2015). α-Rezeptoren vermitteln die Kontraktion der glatten Muskulatur unter Ausschluss der Koronararterien und der Nicht-Sphinkter Region des Gastrointestinaltraktes, β-Rezeptoren vermitteln die Dilatation der glatten Muskulatur ( $\beta_2$ ) und eine positiv inotrope Wirkung am Herzen ( $\beta_1$ ) (DÖCKE und KEMPER, 1994). Die Katecholamine können die Blutzufuhr zu Haut, Darm und Nieren drosseln, um eine besserer Durchblutung anderer Organe wie Leber, Gehirn und Skelettmuskulatur, die für die Überwindung lebensbedrohlicher Zustände eine höhere Bedeutung haben, zu gewährleisten (DÖCKE und KEMPER, 1994). Des Weiteren wird die Peristaltik des Verdauungs- und Genitaltrakts reduziert, wohingegen die Darmsphinkteren kontrahiert werden, somit werden Verdauungsprozesse insgesamt gedrosselt (DÖCKE und KEMPER, 1994). Unter Katecholamineinwirkung wird Energieverbrauch erhöht und vermehrt Energie durch Lipolyse und Glykogenolyse mobilisiert, somit kann sich der Organismus an Belastungssituationen anpassen (DÖCKE und KEMPER, 1994). Der Hypothalamus ist das Steuerungszentrum des Sympathikus, die Medulla oblongata steuert die sympathische Basalaktivität (PEERSON und BONDKE PEERSON, 2014). Das NNM kann als sympathisches Ganglion bezeichnet werden, das durch die direkte Abgabe von Adrenalin und Noradrenalin ins Blut endokrin wirksam ist (PEERSON und BONDKE PEERSON, 2014). Die Innervation des NNM erfolgt direkt durch präganglionäre Sympathikusneurone (PEERSON und BONDKE PEERSON, 2014), die Ausschüttung von Noradrenalin und Adrenalin wird vor allem nerval stimuliert (DÖCKE und KEMPER, 1994). Stress löst über eine erhöhte Aktivität der für die Biosynthese der Katecholamine verantwortlichen Enzyme eine Erhöhung der Katecholaminkonzentration im Blut aus, dies wird über ACTH, nervale Impulse und Glucocorticoide reguliert (AXELROD und REISINE, 1984). Noradrenalin ist nicht nur hormonell wirksam, sondern ist auch ein Neurotransmitter im ZNS und an den postganglionären Neuronen des Sympathikus (DRAGUHN, 2014). Da auch sympathische Nerven Noradrenalin an das Blut abgeben, ist die Noradrenalinkonzentration im Blut immer höher als die Adrenalinkonzentration (DÖCKE und KEMPER, 1994). KVETNANSKY et al. (1979)

können in ihrer Arbeit zeigen, dass in Stresssituationen der Adrenalinanstieg im Plasma die Aktivität des NNM und der Noradrenalinanstieg eher die sympathische Aktivität widerspiegelt. Adrenalin und Noradrenalin haben nur kurze biologische Halbwertszeiten zwischen 20 Sekunden bis 10 Minuten und somit eine zeitlich begrenzte Wirkdauer (DÖCKE und KEMPER, 1994).

Noradrenalin kann aus dem Extrazellularraum erneut in die Nervenendigungen aufgenommen und somit inaktiviert werden, danach steht es erneut als Transmitter zur Verfügung (DIENER, 2015). Eine andere Möglichkeit ist die Auswaschung ins Blut und der enzymatische Abbau, der in Leber, Lungengewebe und Erythrozyten stattfindet (DIENER, 2015). Die Ausscheidung des Endproduktes des Katecholaminabbaus, der Vanillinmandelsäure, findet über den Urin statt (DIENER, 2015).

# 2.4.2. Bedeutung bei Stress und Schmerz

Eine Erhöhung des Adrenalinspiegels im Plasma tritt vor allem bei Zuständen psychischer Erregung in Folge von Angst ein, die Noradrenalinkonzentration erhöht sich bei aktiven Abwehr- und Wutreaktionen (DÖCKE und KEMPER, 1994). Die Ergebnisse von ROSOCHACKI et al. (2000) zeigen, dass die Intensität der Antwort auf einen Stressor genetischen bzw. rassespezifischen Schwankungen Piétrainschweine unterliegt; zeigen höhere Adrenalin-Noradrenalinkonzentrationen nach einer Fixation als Durocschweine. NEUBERT et al. (1996b) können innerhalb einer Minute nach Beginn der Fixation mittels Oberkieferschlinge eine Erhöhung der Adrenalin- und Noradrenalinkonzentration im Plasma feststellen und empfehlen daher diese Parameter zur Messung der Erregungsintensität und des Belastungszeitpunkts. Ähnliche Ergebnisse können ROOZEN et al. (1995) in einem Fixationsversuch mit Jungsauen dokumentieren, schon 30 Sekunden nach der Fixation kann eine Erhöhung beider Parameter gemessen werden. In einer Vielzahl von Kastrationsstudien werden die Parameter Noradrenalin und Adrenalin erfolgreich zur Beurteilung von Stress eingesetzt (SCHULZ et al., 2007; MÜHLBAUER et al., 2009; ZIMMERMANN et al., 2011), da sich bei der Kastration männlicher Saugferkel ein signifikanter Anstieg beider Parameter nach der Kastration messen lässt.

#### 2.5. Creatinkinase

Die Creatinkinase (CK) kommt in vier unterschiedlichen Isoenzymformen vor, die im Skelettmuskel, im Herzmuskel, im Gehirn und in den Mitochondrien zu finden sind (BAUER und NEUMANN, 2014). Da die nicht muskelspezifischen Isoenzyme nur eine sehr kurze Halbwertszeit besitzen und die CK des Gehirns nicht ins Blut übertreten kann, kann man anhand der Messung der Gesamtaktivität der CK im Serum oder Plasma Rückschlüsse auf Muskelschädigungen ziehen (BAUER und NEUMANN, 2014). Gehen Muskelzellen zugrunde wird intrazelluläre CK freigesetzt, dadurch steigt die Plasmakonzentration der CK rapide an (LANG, 2013). Die Referenzwerte der Creatinkinase unterscheiden sich je nach Alter (GROCHOLL und BICKHARDT, 1988), Stressempfindlichkeit (BICKHARDT und SCHWABENBAUER, 1981; HEINRITZI, 2006a), und Belastungsgrad (LENGERKEN und PFEIFFER, 1977; HEINRITZI, 2006a), so geben HEINRITZI und PLONAIT (2004) Werte zwischen 0-800 U/I für das Edelschwein und 100-2000 U/I für die Landrasse als Basalkonzentrationen an. MCGAVIN und MCGAVIN (2009) definieren eine geringgradige Erhöhung der CK mit einem zwei- bis dreifachen Anstieg, eine mittelgradige Erhöhung mit einem vier- bis zehnfachen Anstieg und eine hochgradige Erhöhung mit einem mehr als zehnfachen Anstieg des Basalwertes. Tritt psychischer Stress in Kombination mit physischer Belastung auf, findet nach 3-10 Stunden eine Erhöhung der Creatinkinaseaktivität statt (HEINRITZI und PLONAIT, 2004). Die Halbwertszeit der CK beim Schwein lässt sich auf keinen einheitlichen Wert definieren, da die Enzymelimination aus dem Plasma mit dem Alter abnimmt (GROCHOLL und BICKHARDT, 1988). So geben GROCHOLL und BICKHARDT (1988) die mittlere Halbwertszeit der CK für 24-40 kg schwere Schweine mit 2,5 Stunden und für 60-80 kg schwere Schweine mit 3,3 Stunden an. Bei einer Muskeldegeneration nach intramuskulärer Injektion ist die CK ein geeigneter Parameter, um das Ausmaß einer Muskelschädigung zu bewerten (CHAVEZ MORENO und BICKHARDT, 1997). CHAVEZ MORENO und BICKHARDT (1997) können nach einer intramuskulären Injektion mit Terramycin-LA anhand der Erhöhung der CK im Blut von Schweinen verschiedener Gewichtsklassen (50, 90, 100, 121, 160, 211, 246 kg) die Größe der Muskelläsion einschätzen. Auch die Untersuchungen von STEINESS et al. (1978) demonstrieren einen direkten Zusammenhang zwischen dem Anstieg der CK und der Intensität

und dem Umfang der Muskelschädigung nach der Injektion verschiedener Arzneimittel. In der Arbeit von ELICKER (2006) wird nach Applikation verschiedener Volumina und Impfstoffen eine volumenabhängige und nach Art des Adjuvanz abhängige Zunahme der CK demonstriert. Die Höhe und der Zeitpunkt des maximalen Enzymanstiegs nach Belastung ist abhängig von der genetischen Disposition von Schweinen für Stressanfälligkeit; die Eliminationsgeschwindigkeit aus dem Plasma und das Verteilungsvolumen werden hingegen vom Alter bestimmt (GROCHOLL und BICKHARDT, 1988). Der Zeitpunkt des maximalen CK Anstiegs im Plasma nach Belastung scheint altersabhängig zu variieren (GROCHOLL und BICKHARDT, 1988; CHAVEZ MORENO und BICKHARDT, 1997; ZÖLS, 2006; UHL, 2013). In den Untersuchungen von ZÖLS (2006) zeigen 4-6 Tage alte Saugferkel vier Stunden nach der Kastration maximale Creatinkinasewerte. Nach einer Injektion von Eisendextran-Injektionslösung, isotonischer Kochsalzlösung oder Vitamin-E-Selen-Lösung mittels konventioneller Injektion mit Kanüle oder nadelloser Injektion per Druckluft steigen im Versuch von UHL (2013) die Creatinkinasewerte von drei und vierzehn Tage alten Saugferkeln ebenfalls nach vier Stunden maximal an. GROCHOLL und BICKHARDT (1988) können bei Absetzferkeln (24-40 kg) 5-8 Stunden nach einer intramuskulären Injektion den maximalen Anstieg der CK messen. In den Untersuchungen von CHAVEZ MORENO und BICKHARDT (1997) ist der maximale Anstieg der Plasma-CK 24 Stunden nach der Injektion von Terramycin-LA bei verschiedenen Gewichtsklassen messbar, 60-80 kg schwere Mastschweinen weisen nach "Myostress", simuliert durch die Injektion von Neostigminbromid und Atropin, 16-24 Stunden später maximale Creatinkinasewerte auf (GROCHOLL und BICKHARDT, 1988). Die CK dient v.a. als Parameter der Muskelschädigung, bei genetisch stressempfindlichen Schweinen sind allerdings auch die Normalwerte im Blut in höherer Konzentration als bei genetisch stressresistenten Schweinen messbar (HALLBERG et al., 1979). Auch nach gleicher Belastung haben stressempfindliche Schweinerassen höhere Creatinkinasewerte als Schweine, die aufgrund ihrer Genetik weniger stressempfindlich sind (RUNDGREN et al., 1990). Einen hohen Einfluss auf die CK-Konzentration im Blut hat der empfundene Stress eines Tieres (LEFEBVRE et al., 1996). So kann bei Kaninchen, welchen alle 2 Stunden über eine 12 stündige

Periode Blut entnommen wird, ein bis zu zehnfacher Anstieg der CK im Plasma dokumentiert werden, wohingegen bei Kaninchen, die über 2 Wochen lang an das Handling und die Vorgehensweise gewöhnt wurden kein Anstieg der CK messbar ist (LEFEBVRE et al., 1992).

#### 2.6. Chromogranin A

Im Jahr 1967 benennen BLASCHKO et al. (1967) lösliche Proteine, die nach Stimulation des NNM aus den chromaffinen Granula gemeinsam mit den Katecholaminen sezerniert werden Chromogranine. Im selben Jahr prägen SCHNEIDER et al. (1967) den Namen Chromogranin A (CgA) für das nach Stimulation des NNM überwiegend sezernierte Chromogranin. CgA ist das quantitativ hauptsächlich vorkommende lösliche Protein in den Katecholamin speichernden Vesikeln des NNM (SMITH und WINKLER, 1967). Es wird gemeinsam mit den Katecholaminen in den chromaffinen Granula des NNM (SAGE et al., 1967) und den chromaffinen Zellen der sympathischen Nerven (DE POTTER et al., 1970) gespeichert. CgA kann weitverbreitet in den sekretorischen Vesikeln des endokrinen, neuroendokrinen und den neuronalen Zellen nachgewiesen werden (WINKLER und FISCHER-COLBRIE, 1992). Die Sekretion von CgA findet gemeinsam mit den Katecholaminen statt, wie BLASCHKO et al. (1967) nach der Stimulation des Nervus splanchnicus messen. SARUTA et al. (2005) weisen in ihren Untersuchungen die Produktion und Sekretion von CgA aus den serösen azinären und den duktalen Zellen der Glandula submandibularis des Menschen nach, auch in den Speicheldrüsen von Ratte und Pferd kann CgA nachgewiesen werden (SATO et al., 2002). Die CgA-Konzentration im Blut von Hunden nach einer akuten Stresssituation durch Induktion einer Hypoglykämie mittels Insulininjektion (AKIYOSHI et al., 2005) und im Speichel von Menschen nach einer psychischen Stresssituation (NAKANE et al., 1998) sind erhöht. Die Ergebnisse sowohl von KANNO et al. (1999) mit isolierten Submandibulardrüsen von Ratten als auch von GALLINA et al. (2011) nach einem körperlichen Belastungstest beim Menschen deuten darauf hin, dass die Konzentration von CgA im Speichel ein quantitativer und sensitiver Parameter für die Aktivität des sympathischen Nervensystems ist. Beim Schwein können ESCRIBANO et al. (2013) nach dreiminütiger Fixation mit der Oberkieferschlinge einen signifikanten

Anstieg von CgA im Speichel nach 15 Minuten messen und somit CgA als Parameter für akuten Stress beim Schwein etablieren. CgA erweist sich nach Isolationsstress und Regruppierung in den Untersuchungen von ESCRIBANO et al. (2015) als sensitiver Parameter für die Bewertung akuter Stresssituationen beim Schwein. 30 Minuten nach Beginn der Isolation steigt die mittlere CgA-Konzentration um 39% im Vergleich zum Basalwert an, 30 Minuten nach Beginn der Regruppierung steigt die CgA-Konzentration um 51% im Vergleich zum Basalwert an (ESCRIBANO et al., 2015).

Die CgA-Konzentration im Speichel zeigt keine circadiane Rhythmik und ist somit nicht von der Tageszeit abhängig, weder Alter noch Geschlecht haben Einfluss auf die CgA-Konzentration (ESCRIBANO et al., 2014). Auch die Speichelflussrate und das Totalprotein im Speichel haben keinen Einfluss auf die Messung der CgA-Konzentration (ESCRIBANO et al., 2015).

## III. MATERIAL UND METHODEN

Die Studie wurde im Lehr- und Versuchszentrum Futterkamp der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein durchgeführt. Die Proben-entnahme fand von Januar bis März 2016 statt.

# 1. Arbeitshypothese

Ziel dieser Arbeit war es, die Stress- und Schmerzbelastung der Tiere bei einer Injektionsbehandlung zu bewerten und eine einmalige Injektion mit einer dreimaligen Injektion eines Arzneimittels zu vergleichen. Es wurde die Annahme gemacht, dass für die Gruppe Duphamox bei Saugferkeln und Mastschweinen eine höhere Schmerz- und Stressbelastung vorlag, da bei einer dreimaligen Injektion und dem dazu notwendigen Handling mit einer höheren Schmerz- und Stressbelastung und einer größeren Muskelschädigung zu rechnen ist. Außerdem wurde eine stärkere Lokalreaktion der Injektionsstelle aufgrund der dreimaligen Applikation und eine Änderung des Verhaltens im Sinne einer stärkeren Stressund Schmerzbelastung (schnelleres Wegrennen, vermehrte Lautäußerung, vermehrtes Kopfschütteln und Kratzen, längere Dauer bis zur Rückkehr zum Normalverhalten) nach der dreimaligen Applikation erwartet.

# 2. Genehmigung des Tierversuchsvorhabens

Die Genehmigung des Tierversuchsvorhabens wurde gemäß § 8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes bei der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein beantragt und am 15. Dezember 2015 erteilt. Das Versuchsvorhaben wird unter dem Aktenzeichen V 244-230894/2015 (74-6/15) geführt.

### 3. Studienbetrieb und Haltung der Studientiere

Der Versuch fand im Lehr- und Versuchszentrum Futterkamp der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein in Blekendorf statt. Der Betrieb hält 400 Sauen, die Sauen gehören entweder der PIC oder der Porkuss Genetik an. 270 Sauen ferkeln im Einwochenrhythmus, die restlichen Sauen ferkeln im Dreiwochenrhythmus ab. In einem Abferkelabteil gibt es 14 Buchten, jede Bucht

verfügt über ein Ferkelnest. Dieses ist mit einer beheizbaren Bodenplatte ausgestattet und verfügt zum Teil zusätzlich über eine aufklappbare Abdeckung, bis zum fünften Lebenstag hängt eine Infrarotwärmelampe über dem Ferkelnest. Die Ferkel haben entweder Zugang zu einer separaten Ferkeltränke oder können aus dem tief angebrachten Trog der Sau mittrinken. Die Ferkel werden nach einer 28-tägigen Säugezeit abgesetzt. Am ersten Lebenstag werden die zootechnischen Maßnahmen wie das Schleifen der Zähne, das Einziehen der Ohrmarken, die Eiseninjektion und das Kupieren der Schwänze durchgeführt. Am vierten Lebenstag findet eine erneute Eiseninjektion statt. Der Betrieb verfügt des Weiteren über ein Deckzentrum, einen Wartestall, einen Aufzuchtstall und einen Maststall. Der Maststall verfügt über unterschiedlich strukturierte Abteile mit verschieden Gruppengrößen. Die Versuchstiere wurden in zwei unterschiedlich großen Abteilen gehalten. In Abteil 2 standen jeweils 9 Tiere in einer Bucht, in Abteil 11 waren 11 Tiere in einer Bucht untergebracht. Alle Tiere haben ein 1:1 Tier-Fressplatzverhältnis und jederzeit Zugang zu frischem Wasser. Außerdem haben sie Beschäftigungsmaterial in Form von Holz in einem Metallrohr, das die Tiere hochschieben und darauf kauen können.

# 4. Studientiere und Gruppeneinteilung

Für Teilversuch A und B wurden die Saugferkel zwischen Lebenstag 0 bis 2 eingeschlossen. Alle eingeschlossenen Tiere wiesen ein Mindestgewicht von 1,2 kg auf, waren männlich, klinisch gesund und stammten von klinisch gesunden Sauen. Kryptorchiden oder Ferkel mit einer Hernia inguinalis oder Hernia scrotalis wurden nicht eingeschlossen. Die Tiere wurden gewogen, mittels einer individuellen Nummer auf dem Rücken mit einem wasserfesten Stift markiert und mit oralem Eisen (Ursoferran\*, 150 mg/ml; Serumwerk Bernburg AG, Bernburg) gemäß der Produktinformation des Herstellers versorgt, außerdem wurden ihnen die Zähne geschliffen. Den Studientieren wurde weder der Schwanz kupiert, noch wurden ihnen Ohrmarken eingezogen. Die Versuchstiere wurden wurfweise nach Gewicht randomisiert und innerhalb des jeweiligen Teilversuchs (A-B) in zwei Gruppen, Draxxin (Drax) und Duphamox (Dupha) eingeteilt. Insgesamt wurden 88 Saugferkel eingeschlossen, davon wurden bei 48 Saugferkeln Cortisol (Teilversuch A) und bei 40 Saugferkeln die Parameter

Adrenalin (A), Noradrenalin (NA) und Creatinkinase (Teilversuch B) aus dem Blut bestimmt. Für Teilversuch C (Speichelcortisol und Chromogranin A) wurden 42 klinisch gesunde, weibliche Mastschweine ohne Wunden oder Läsionen eingeschlossen. Die Tiere wurden mit individuellen Symbolen unterschiedlichen Farben mit einem Markierspray gekennzeichnet und hatten zusätzlich individuelle Ohrmarken, die im Betrieb üblich sind. Die Tiere waren zwischen zwölf und sechzehn Wochen alt. Das entsprechende Gewicht der Tiere bei Einstallung wurde vom Betrieb erhoben und anhand der durchschnittlichen täglichen Zunahme wurden die aktuellen Gewichte errechnet (40,2 kg-56,1 kg). Die Tiere wurden buchtenweise nach Gewicht randomisiert und in zwei Gruppen mit jeweils 21 Tieren eingeteilt (C-Drax, C-Dupha).

Tabelle 2: Einteilung der Versuchsgruppen in Teilversuch A (Cortisol), B (A, NA, CK) und C (Cortisol, CgA):

Teilversuch	Gruppe	Kategorie	n
А	A-Drax		24
	A-Dupha	Saugforkol	24
D	B-Drax	Saugferkel	20
В	B-Dupha		20
С	C-Drax	Mastschweine	21
	C-Dupha	iviaststriweine	21

# 5. Angewendete Injektionspräparate

Die Gruppen A-Drax, B-Drax und C-Drax erhielten eine einmalige intramuskuläre Injektion des Langzeitpräparates Draxxin® (A/B-Drax: 25 mg/ml, C-Drax: 100 mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin) (Abbildung 1). Der Wirkstoff des Präparates ist das Makrolidantibiotikum Tulathromycin, als Lösungs- und Hilfsmittel sind Monothioglycerol, Propylenglycol, Citronensäure, Salzsäure, Natriumhydroxid und Wasser für Injektionszwecke enthalten (VETIDATA, 2016). Draxxin® wird einmalig intramuskulär injiziert und ist beim Schwein zugelassen zur Therapie und Metaphylaxe von Atemwegserkrankungen, ausgelöst durch Tulathromycin-empfindliche Actinobacillus pleuropneumoniae, Pasteurella multocida, Mycoplasma hyopneumoniae, Haemophilus parasuis und Bordetella bronchiseptica (VETIDATA, 2016). Tulathromycin wird nach intramuskulärer

Applikation mit einer Bioverfügbarkeit von bis zu 88% resorbiert und erreicht 0,5 Stunden nach der Injektion die maximale Konzentration im Plasma (VETIDATA, 2016). Im Plasma beträgt die Eliminationshalbwertszeit etwa 91 Stunden (VETIDATA, 2016). Beim Schwein treten sehr häufig (mehr als eins von zehn behandelten Tieren) als Nebenwirkung pathomorphologische Veränderungen der Injektionstelle einschließlich reversibler Veränderungen wie Ödem, Blutstauung, Fibrose und Blutung bis zu 30 Tage nach der Injektion auf (VETIDATA, 2016).

Die Gruppen A-Dupa, B-Dupha und C-Dupha erhielten eine dreimalige, im Abstand von 24 Stunden applizierte intramuskuläre Injektion des Präparates Duphamox® (150 mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin) (Abbildung 1). Als Wirkstoff enthält das Präparat Amoxicillin-Trihydrat, als Lösungs- und Hilfsmittel Butylhydroxytoluol, Butylhydroxyanisol, raffiniertes sind Kokosfett und Aluminiumhydroxiddistearat enthalten (VETIDATA, 2016). Duphamox® wird zur Therapie von Erkrankungen verursacht durch grampositive und/oder gramnegative Amoxicillin-empfindliche Erreger (Infektionen der Lunge und Atemwege, des Urogenitalbereichs, des Gastrointestinaltraktes, Infektionen des Gehörganges, Allgemeininfektionen und septikämische Erkrankungen, bakterielle Sekundärinfektionen nach Viruserkrankungen, Haut- und Wundinfektionen, Abszesse, Phlegmone, Panaritium, Gelenk- und Nabelinfektionen, MMA-Syndrom der Sauen und Rotlauf) (VETIDATA, 2016) im Abstand von 8-24 Stunden intramuskulär injiziert (CONSTABLE et al., 2016). Selten (mehr als eins aber weniger als zehn von 10.000 behandelten Tieren) treten lokale Irritationen als Nebenwirkung nach einer Injektion des Präparates auf (VETIDATA, 2016).

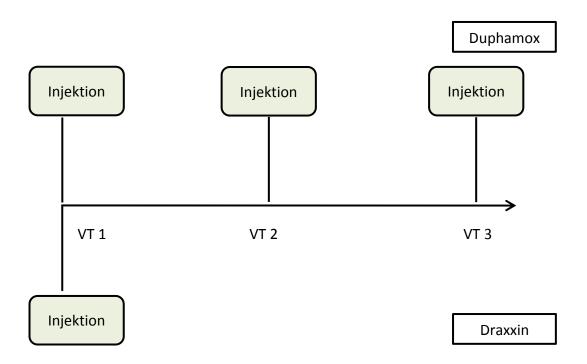


Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf der Injektionen an Versuchstag (VT) 1-3

### 6. Teilversuch A

Bei den Saugferkeln aus Teilversuch A wurde Cortisol aus dem Serum bestimmt, die Tiere waren zu Versuchsbeginn zwischen vier und sechs Tagen alt.

### 6.1. Zeitlicher Ablauf

Die bereits markierten Ferkel wurden am Versuchstag möglichst ruhig und stressfrei aus den Abferkelbuchten gefangen und herausgehoben. Daraufhin erfolgte die erste Blutprobenentnahme zur Bestimmung der basalen Cortisolkonzentration. Diese wurde zwischen 9:30 Uhr und 11:00 Uhr durchgeführt. Danach wurde das Tier ruhig in seine Bucht zurückgesetzt. Mindestens zwei Stunden später zwischen 11:30 Uhr und 13:00 Uhr wurde dasselbe Tier erneut aus der Bucht gefangen und erhielt seiner Gruppenzugehörigkeit entsprechend entweder eine Draxxin- oder eine Duphamoxinjektion. Nach einem erneuten Zurücksetzen wurde das Tier 0,5 Stunden nach der Injektion wiederum gefangen und einer Blutentnahme unterzogen (Abbildung 2).

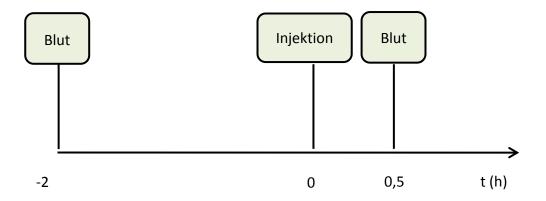


Abbildung 2: Zeitplan der Cortisoluntersuchung bei den Saugferkeln an VT 1

Die Reihenfolge der Tiere wurde zu jedem Zeitpunkt des Versuchs eingehalten. Der Ablauf an Tag 2 und 3 war identisch, allerdings wurde an diesen Tagen kein Basalwert erhoben und die Tiere der Draxxingruppe erhielten keine Injektion. Die Dosierung der Arzneimittel erfolgte anhand des täglichen Körpergewichts, welches mithilfe der durchschnittlichen täglichen Zunahme errechnet wurde.

#### 6.2. Injektion und Blutprobenentnahme

Die Injektion erfolgte stets durch dieselbe, studiendurchführende Person in die Halsmuskulatur auf der rechten Seite auf Höhe des oberen Ohrgrundes am Übergang der glatten Haut zur lockeren Region des Ohrgrundes in waagrechter Richtung. Die Tiere wurden zur Injektion durch eine Hilfsperson auf dem Arm fixiert. Die Injektion erfolgte mit sterilen Einmalkanülen der Größe 19 G (1,1x25 mm, Henry Schein®, Henry Schein VET GmbH, Hamburg) und sterilen Einmalspritzen (Omnifix®-F, B.Braun AG, Melsungen). Für jedes Tier wurde eine neue Kanüle und eine neue Einmalspritze verwendet, die Kanüle wurde etwa zur Hälfte versenkt. Unmittelbar nach der Injektion wurde das Tier in die Bucht zurückgesetzt und 120 Sekunden entsprechend des **Protokolls** der Verhaltensbeobachtung (10. Verhaltensbeobachtung) beobachtet. Das Injektionsvolumen bei der Draxxingruppe betrug zwischen 0,21-0,28 ml, bei der Duphamoxgruppe waren es zwischen 0,11-0,17ml. Für die Blutprobenentnahmen wurde das jeweilige Tier aus der Bucht gehoben und auf auf dem Schoß einer Hilfsperson fixiert. Die dem Rücken liegend Blutprobenentnahme erfolgte ebenfalls stets durch dieselbe studiendurchführende Person. Dafür wurden sterile Einmalkanülen der Größe 21 G (0,8X40 mm Henry Schein<sup>®</sup>, Henry Schein VET GmbH, Hamburg) und Serummonovetten (Primavette<sup>®</sup> V, Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth) verwendet. Die Blutprobenentnahme erfolgte aus der *Vena cava cranialis*. Anschließend wurde das Tier vorsichtig in die Bucht zurückgesetzt.

#### 6.3. Probenbearbeitung

Direkt nach der Blutprobenentnahme wurden die Serummonovetten in Eiswasser gelagert. Noch am selben Tag erfolgte die Zentrifugation für eine Dauer von 10 Minuten bei 3000 U/min. Danach wurden die Proben in zwei Eppendorf Tubes (Fa. Eppendorf AG, 1,5 ml Safe-Lock Tubes, Hamburg) mit je mindestens 0,5 ml Füllvolumen pipettiert, davon wurde ein Exemplar als Rückstellprobe asserviert. Die Proben wurden zur Cortisolbestimmung für höchstens vier Wochen bei -22 °C tiefgefroren. Die Analyse der Cortisolproben wurde im Labor der Klinik für Schweine in Oberschleißheim durchgeführt. Dafür wurde das Gerät Elecsys 2010 (Fa. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) verwendet, das die Messung mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassy (ELICA) mit einem Messreagenz (Cortisol Elecsys, Fa. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) durchführt.

### 7. Teilversuch B

In Teilversuch B wurden die Parameter Adrenalin, Noradrenalin und Creatinkinase bestimmt.

#### 7.1. Zeitlicher Ablauf

Der zeitliche Ablauf in Teilversuch B erfolgte ähnlich zu Teilversuch A. 2,5 Stunden nach der ersten Blutprobenentnahme erfolgte die Injektion entsprechend der Gruppeneinteilung, unmittelbar nach der Injektion wurde das Tier auf dem Schoß einer Hilfsperson in Rückenlage fixiert und es wurde die zweite Blutprobe entnommen. Vier Stunden nach der Injektion wurde eine dritte Blutprobenentnahme durchgeführt, um die Aktivität der Creatinkinase zu bestimmen (Abbildung 3). Der Versuchsablauf sowie die Durchführung des Injektions- und Verhaltensscores an Tag 2 und 3 waren identisch mit dem oben

beschriebenen Ablauf, außer dass keine Blutentnahme für den Basalwert notwendig war und die Tiere der Draxxingruppe keine Injektion erhielten.

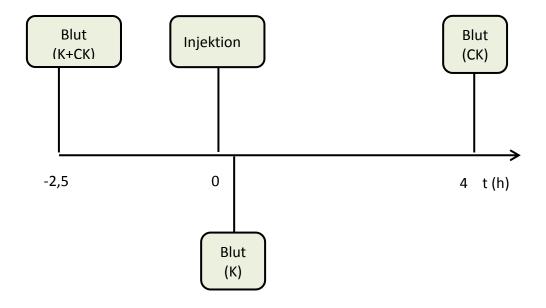


Abbildung 3: Zeitplan der Katecholamin (K)- und Creatinkinaseuntersuchung (CK) bei den Saugferkeln an VT 1

Für die Katecholaminuntersuchung wurden EDTA-Plasma-Monovetten (Primavetten® V EDTA, Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth) verwendet wurden. Die EDTA-Monovetten wurden auf 4 ºC vorgekühlt. Für die Ermittlung der CK-Aktivität wurden Serummonovetten (Primavette® V, Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth) verwendet.

#### 7.3. Probenbearbeitung

Die EDTA-Primavetten für die Katecholaminbestimmung wurden nach der Blutentnahme für maximal fünf Minuten in Eiswasser gelagert. Danach erfolgte die Zentrifugation bei 4 °C für 10 Minuten in einer Kühlzentrifuge (Hettich Mikro 22R, Fa. Hettich Zentrifugen, Tuttlingen). Das Plasma wurde in je zwei gekühlte, kryostabile Gefäße (Corning® 2 ml, Fa. Corning Incorporated, New York) pipettiert und unmittelbar in einem Behälter mit flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Der Transport zum Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN) in Dummerstorf zur Adrenalin- und Noradrenalinbestimmung durch den Forschungsbereich Verhaltensphysiologie unter Leitung von Herrn Dr. W. Otten erfolgte auf Trockeneis. Zur Analyse wurde eine Hochdruckflüssigkeits-chromatographie mit

elektrochemischer Detektion nach vorheriger Extraktion der Katecholamine aus dem Plasma durch Absorption an Aluminiumoxid durchgeführt (OTTEN et al., 2013). Die Serummonovetten zur Bestimmung der Aktivität der Creatinkinase wurden für eine Dauer von 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Danach wurden die Proben in zwei Eppendorf Tubes (Fa. Eppendorf AG, 1,5 ml Safe-Lock Tubes, Hamburg) mit je mindestens 0,5 ml Füllvolumen pipettiert, davon wurde ein Exemplar als Rückstellprobe asserviert. Unmittelbar danach wurden die Proben bei -22 °C für maximal vier Wochen tiefgefroren. Die Analyse der Proben erfolgte im Labor der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim mit dem Gerät cobas c 311 analyzer\* (Fa. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim).

### 8. Teilversuch C

In Teilversuch C wurden die Parameter Cortisol und Chromogranin A aus dem Speichel von Mastschweinen bestimmt.

#### 8.1. Zeitlicher Ablauf

Am Versuchstag wurde die erste Speichelprobengewinnung zur Bestimmung des basalen Cortisol- und Chromograninwerts zwischen 10:00 Uhr und 10:30 Uhr durchgeführt. Die Reihenfolge der Tiere wurde stets eingehalten. Die Injektion von Draxxin® oder Duphamox® je nach Gruppenzugehörigkeit wurde zwischen 11:30 Uhr und 12:30 Uhr durchgeführt, 0,5 Stunden nach der Injektion wurde eine zweite Speichelprobe des jeweiligen Tieres für die Bestimmung der Cortisolund Chromogranin A-Konzentration nach dem Eingriff gewonnen (Abbildung 4). Der gesamte Versuch fand zwischen 10:00 Uhr und 13:30 Uhr statt, um jegliche Beeinflussung der Werte durch die circadiane Cortisolrhythmik zu vermeiden. Der Versuchsablauf an Tag 2 und 3 war identisch, außer dass kein Basalwert erhoben wurde und die Tiere der Draxxingruppe keine Injektion erhielten.

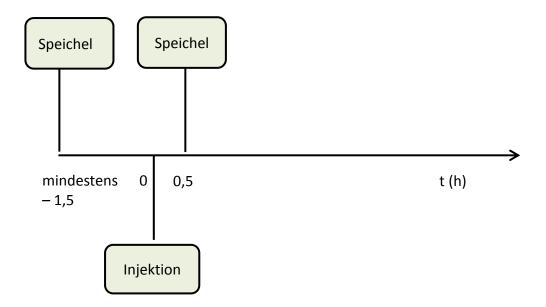


Abbildung 4: Zeitplan der Cortisol- und Chromogranin A Untersuchung bei den Mastschweinen an VT 1

### 8.2. Injektion und Speichelentnahme

Die Injektion erfolgte mit mengenverstellbaren Impfpistolen HWS ECO-MATIC® (Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen). Für die Mastschweine der Draxxingruppe wurde eine Impfpistole mit 2 ml Volumen und für die Mastschweine der Gruppe Duphamox eine Impfpistole mit 5 ml Volumen verwendet, da dies für die exakte Applikation der individuellen Dosierung notwendig war. Die Tiere der Draxxingruppe erhielten zwischen 1,0-1,4 ml Draxxin®, die Tiere Duphamoxgruppe erhielten zwischen 2,0-2,9 ml Duphamox®. Die Dosierung der Arzneimittel erfolgte anhand des aktuellen Körpergewichts, das mithilfe der durchschnittlichen täglichen Zunahme errechnet wurde. Die Tiere wurden für die Injektion nicht fixiert, die Injektion erfolgte stets durch dieselbe studiendurchführende Person in die Muskulatur der rechten Halsseite. Auch bei den Mastschweinen wurde ein klinischer Score der Injektionsstelle und eine Verhaltensbeobachtung wie bei den Tieren aus Teilversuch A und B (10. Verhaltensbeobachtung) vorgenommen Die Speichelentnahme erfolgte mit Speicheltupfern (Salivette®, SARSTEDT AG & Co, Nümbrecht-Elsenroth), die an einer langen Arterienklemme fixiert waren. Die Speicheltupfer wurden den Tieren angeboten und so lange in der Maulspalte belassen bis sie ausreichend durchfeuchtet waren.

### 8.3. Probenbearbeitung

Die Speichelproben wurden nach der Beprobung in Eiswasser gekühlt und noch am selben Tag für eine Dauer von 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Danach wurden je mindestens 0,5 ml der Probe in ein Eppendorf Tube (Fa. Eppendorf AG, 1,5 ml Safe-Lock Tubes, Hamburg) und in ein kryostabiles Gefäß (Corning® 2 ml, Fa. Corning Incorporated, New York) pipettiert. Die Eppendorf Tubes wurden bis zur Cortisolanalyse, die analog zur Cortisolanalyse in Teilversuch A (6.3 Probenbearbeitung) durchgeführt wurde bei -22 ºC für maximal vier Wochen gelagert. Die Chromogranin A Proben wurden in einem Behälter mit flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Die Analyse erfolgte im Labor der Tiermedizinischen Fakultät der Universität Murcia in Spanien nach Versand der Proben auf Trockeneis. Die Messung des Chromogranin A erfolgte mittels validiertem time-resolved immunofluorometric assay (TR-IFMA) nach 1:4 Verdünnung mit einem speziellem Medium (DELFIA Wash Concentrate®, Perkin Elmer Life and Analytical Science) mit dem Gerät VICTOR2 1420 Multi-Label Counter (Perkin Elmer Life and Analytical Science).

# 9. Klinische Untersuchung der Applikationsstelle

Bei allen Tieren wurde an jedem Versuchstag, vier Stunden nach der Injektion ein klinischer Score der Injektionsstelle erhoben. Dabei wurden die Rötung der Injektionsstelle, der Durchmesser der Rötung und die Größe von eventuell vorhandenen Umfangsvermehrungen visuell beurteilt.

Tabelle 3: Klinischer Score der Injektionsstelle

Parameter	Grad	Score
	keine	0
Rötung	ggr. (≤ 0-0,5)	1
	hgr. (> 0,5)	2
	keine	0
Umfangsvermehrung	ggr. (≤ 0-0,5)	1
	hgr. (> 0,5)	2

# 10. Verhaltensbeobachtung

Während und unmittelbar nach der Injektion wurde bei den Tieren aller Teilversuche die Lautäußerung beurteilt. Nach dem Zurücksetzen der Saugferkel aus Teilversuch A und B und unmittelbar nach der Injektion bei den Mastschweinen aus Teilversuch C wurde jedes Tier einzeln für eine Dauer von 120 Sekunden beobachtet und verschiedene definierte Verhaltensweisen nach Häufigkeit, Dauer oder Qualität beurteilt. Das Normalverhalten der Tiere war definiert als eine natürliche Verhaltensweise der Ferkel (Interaktion mit anderen Ferkeln oder der Sau, Beginn des Säugens, aus der Tränke trinken, Ablegen) und der Mastschweine (Interaktion mit anderen Tieren, Ablegen, Trinken, Fressen). Die erhobenen Verhaltensbeobachtungen wurden dann mittels eines Scores (Tabelle 4) gewichtet beurteilt und zu einem Gesamtscore der Gruppe am jeweiligen Versuchstag addiert.

Tabelle 4: Reaktion bei/nach Injektion

Parameter		Score	Binär
	nein	0	nein
Weglaufen	langsam	1	ia
	schnell	2	ja 
l a <del>t</del>	nein	0	nein
Laut intra injectionem	Grunzen	1	ia
	greller Schrei	2	ja
l a <del>t</del>	nein	0	nein
Laut post injectionem	Grunzen	1	ia
post injectionem	greller Schrei	2	ja
	nein	0	nein
Urin-/ Kotabsatz	Urinabsatz	1	ia
	Kotabsatz	1	ja
Konfechüttaln	nein	0	
Kopfschütteln 	ja (Häufigkeit)	1-4	
Kratzen	nein	0	
Kratzen	ja (Häufigkeit)	1-8	
	0-20	1	
	21-40	2	
Normalverhalten	41-60	3	
in s	61-80	4	
	81-100	5	
	101-120	6	

# 11. Statistische Auswertung

Die Auswertung der Serumcortisol-, Katecholamin-, Creatinkinase-, Speichelcortisol- und Chromogranin A-Messungen erfolgte mit den Programmen IBM SPSS Statistics 23.0 und Microsoft Office Excel 2010. Die Versuchseinheit stellte das individuelle Ferkel dar. Für alle Parameter wurde der Mittelwert, die Standardabweichung (SD) und der Standardfehler (SEM) bestimmt.

Die Nullhypothese für Teilversuch A besagt, dass sich die Cortisolkonzentration zwischen den zwei Versuchsgruppen nicht unterscheidet. Der angewendete Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors zeigte, dass die Serumcortisolwerte der Saugferkel aus Teilversuch A keiner Normalverteilung folgen. Signifikante Unterschiede im Vergleich der Gruppen wurden mit dem einseitigem Mann-Whitney-Test überprüft. Für den Vergleich verschiedener

Beprobungszeitpunkte innerhalb der Versuchsgruppen wurde der Wilcoxon-Test durchgeführt. Hierbei waren drei Vergleiche von Interesse: basal (2 Stunden vor der ersten Injektion) mit VT 1 (0,5 Stunden nach der ersten Injektion), VT 1 mit VT 2 (24,5 Stunden nach der ersten Injektion) und VT 1 mit VT 3 (48,5 Stunden nach der ersten Injektion). Um den Typ I -Fehler zu verringern wurde für den Vergleich innerhalb der Versuchgruppen eine Korrektur nach Bonferroni-Holm durchgeführt. Dabei wurden die Signifikanzniveaus auf 1,67%, 2,50% und 5,00% angehoben. Begonnen wurde jeweils mit dem p-Wert der höchsten Signifikanz unter dem Vergleich der Beprobungszeitpunkte (HOLM, 1979).

Die Nullhypothese für Teilversuch B besagt, dass sich die Adrenalin-, Noradrenalinund Creatinkinasekonzentration zwischen den zwei Versuchsgruppen nicht unterscheidet. Für alle Parameter aus Teilversuch B ergab sich nach Anwendung des Kolmogorov-Smirnov-Tests mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors keine Normalverteilung der Daten, es wurde analog zur statistischen Auswertung von Teilversuch A ein einseitiger Mann-Whitney-Test durchgeführt. Mittels Wilcoxon-Test wurden für die Parameter Adrenalin und Noradrenalin folgende Beprobungszeitpunkte miteinander verglichen: basal (2,5 Stunden vor der ersten Injektion) mit VT 1 (unmittelbar nach der ersten Injektion), VT 1 mit VT 2 (24 Stunden nach der ersten Injektion) und VT 1 mit VT 3 (48 Stunden nach der ersten Injektion). Es wurde eine Korrektur nach Bonferroni-Holm analog zur Vorgehensweise bei den Cortisolmesswerten aus Teilversuch A durchgeführt.

Für die Creatinkinasemesswerte wurden folgende Zeitpunkte mit dem Wilcoxon-Test innerhalb der Versuchsgruppen verglichen: basal (6,5 Stunden vor der ersten Injektion) mit VT 1 (4 Stunden nach der ersten Injektion), VT 1 mit VT 2 (28 Stunden nach der ersten Injektion) und VT 1 mit VT 3 (52 Stunden nach der ersten Injektion). Auch für diese drei Vergleiche innerhalb der Versuchsgruppen wurde eine Korrektur nach Bonferroni-Holm durchgeführt.

Die Nullhypothese für Teilversuch C besagt, dass sich die Cortisol-konzentration ebenso wie die Chromogranin A-Konzentration im Speichel zwischen den zwei Versuchsgruppen nicht unterscheidet. Die gemessene Cortisolkonzentration im Speichel lag sowohl in der Gruppe C-Drax als auch in der Gruppe C-Dupha bei einzelnen Tieren unter der Nachweisgrenze (1,5 nmol/l), deshalb wurde der Wert 1,5 nmol/l als Messwert eingesetzt. Sowohl die Messwerte des Speichelcortisols als auch die Chromogranin A-Messwerte waren laut Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors nicht normalverteilt, auch hier wurde ein einseitiger Mann-Whitney-Test durchgeführt. Der Wilcoxon-Test für die Parameter Speichelcortisol und Chromogranin A wurde für folgende Zeitpunkte angewendet: basal (1,5 Stunden vor der ersten Injektion) mit VT 1 (0,5 Stunden nach der ersten Injektion), VT 1 mit VT 2 (24,5 Stunden nach der ersten Injektion) und VT 1 mit VT 3 (48,5 Stunden nach der ersten Injektion). Hierfür wurde eine Korrektur nach Bonferroni-Holm analog zur Verfahrensweise bei den Cortisolmesswerten aus Teilversuch A durchgeführt.

Der AUC (area-under-the-curve), wie bei BLAND (2015) dargestellt, wurde für alle Parameter berechnet und mittels Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors auf Normalverteilung getestet. Waren die Messwerte normalverteilt wurde ein t-Test durchgeführt um die Gruppen zu vergleichen, bei nicht vorhandener Normalverteilung wurde der Vergleich mittels des nichtparametrischen Mann-Whitney-Tests durchgeführt.

Die Auswertung des Injektions- und des Verhaltensscores erfolgte mit den Programmen IBM SPSS Statistics 23.0 und Microsoft Office Excel 2010. Die Analyse der Häufigkeitsverteilungen der Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem, Urin-/Kotabsatz (Tabelle 4) zwischen den Gruppen an Versuchstag 1 wurde mittels Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Die Vergleiche innerhalb der Gruppen A-C Dupha über die Versuchstage 1-3 erfolgte mittels Mc-Nemar-Test. Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung des Parameters Normalverhalten, Kopfschütteln und Kratzen wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Der Vergleich innerhalb der Gruppe Duphamox erfolgte mittels des Wilcoxon-Tests. Hierfür wurde eine Korrektur nach Bonferroni-Holm durchgeführt, die Signifikanzniveaus wurden auf 1,67, 2,50%

und 5,00% angehoben. Für alle Verhaltensparameter wurden jeweils Einzelscores für Versuchstag 1 für beide Versuchsgruppen und für Versuchstag 2 und 3 für die Gruppe A, B- und C-Dupha berrechnet. Eine Zusammenfassung liefert der Gesamtscore, der die Summe der erreichten Einzelscore-Punkte darstellt. Die Einzelscores und der Gesamtscore wurden zwischen den Versuchsgruppen mittels des nichtparametrischen Mann-Whitney-Tests miteinander und innerhalb der Gruppe Duphamox mittels des Wilcoxon-Tests verglichen. Hierfür wurde ebenfalls nach Bonferroni-Holm korrigiert. In Teilversuch B wurde zusätzlich ein Verhaltensscore nach der Blutentnahme für die Basalwerte der Katecholamine und der Creatinkinase vor der Injektion erhoben. Die Vergleiche zwischen und innerhalb der Gruppen wurden wie schon oben erwähnt durchgeführt.

.

## **IV.E**RGEBNISSE

### 1. Teilversuch A

#### 1.1. Serumcortisol

Vor der ersten Injektion unterschieden sich die mittleren Serumcortisolkonzentrationen der beiden Versuchsgruppen nicht signifikant voneinander (p = 0.642).

Tabelle 5: Mittlere Cortisolkonzentration im Serum (nmol/l) 2 Stunden vor (basal), 0,5 Stunden nach der Injektion (VT-1), 24,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-2) und 48,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und der area-under-the-curve (AUC)

Crunno	2			t			ALIC
Gruppe	n		basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
		MW	42,4	89,7	46,5	50,4	2961,3
		SD	28,6	56,4	30,5	29,4	1326,5
A-Drax	24	Min	5,8	15,6	9,9	9,5	585,2
		Max	131,1	242,8	102,3	119,6	5425,9
		SEM	5,8	11,5	6,2	6,0	270,8
		MW	49,8	30,6	42,6	39,5	1963,5
		SD	36,8	18,1	27,5	31,4	960,0
A-Dupha	24	Min	2,3	5,9	10,9	4,0	757,7
		Max	130,4	84,4	102,2	141,0	4909,3
		SEM	7,5	3,7	5,6	6,4	196,0

0,5 Stunden (VT 1) nach der Injektion stieg die mittlere Cortisolkonzentration der Gruppe A-Drax signifikant (p < 0,001) um 111% (2,1 facher Basalwert) vom Basalniveau ausgehend an und erreichte den Maximalwert von 89,7 nmol/l. An Versuchstag 2 und 3 waren die mittleren Cortisolspiegel der Gruppe A-Drax signifikant niedriger als zum Zeitpunkt 0,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT 1) (Tabelle 5). Die mittlere Cortisolkonzentration der Gruppe A-Dupha fiel nach der ersten Injektion (VT 1) im Vergleich zum Basalwert nicht signifikant ab (p = 0,056) und stieg an Versuchstag 2 nicht signifikant (p = 0,074) an (Abbildung 5). Die mittlere Serumcortisolkonzentration 0,5 Stunden nach der Injektion (VT 1)

unterschied sich nicht signifikant (p = 0,169) von der mittleren Serumcortisolkonzentration an Versuchstag 3.

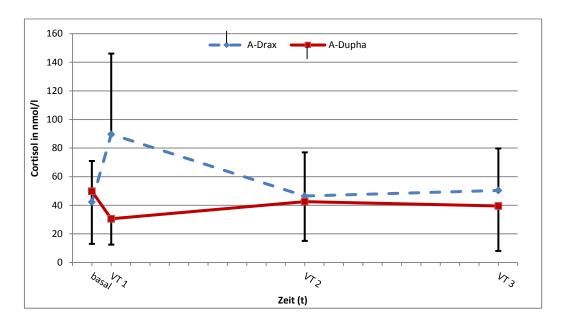


Abbildung 5: Verlauf der mittleren Serumcortisolkonzentration (nmol/l) mit Standardabweichung

Der Gruppenvergleich zwischen der Gruppe A-Drax und A-Dupha ergab zum Zeitpunkt 0,5 Stunden (VT 1) nach der Injektion einen signifikanten Unterschied (p < 0,001), dabei war die mittlere Cortisolkonzentration der Gruppe A-Drax um den Faktor 2,9 höher als die mittlere Cortisol-konzentration der Gruppe A-Dupha. Zum Zeitpunkt 24,5 (VT 2) und 48,5 (VT 3) Stunden nach der ersten Injektion waren die mittleren Cortisolwerte der Gruppe A-Drax nicht signifikant höher als die mittleren Cortisolwerte der Gruppe A-Dupha (Tabelle 6).

Tabelle 6: Vergleich der mittleren Serumcortisolkonzentrationen und des AUC der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
A-Drax zu A-Dupha	0,642	< 0,001	0,927	0,112	0,005

Signifikante Werte sind fett angegeben

Tabelle 7: Vergleiche der mittleren Serumcortisolkonzentrationen innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal zu VT-1	VT-1 zu VT-2	VT-1 zu VT-3
A-Drax	< 0,001	< 0,001	0,040
A-Dupha	0,056	0,074	0,169

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

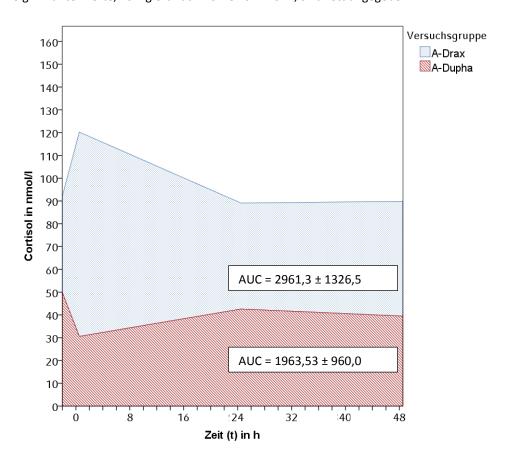


Abbildung 6: Verlauf der mittleren Serumcortisolkonzentration (AUC) mit Standardabweichung

Mithilfe der Konzentrations-Zeit-Kurve (area under the curve, AUC) kann die Dauer und die Intensität der Stress- und Schmerzbelastung der beiden Versuchsgruppen verglichen werden. Der AUC-Wert (Abbildung 6) der zwei Versuchsgruppen unterschied sich signifikant (p = 0,005) voneinander, dabei war der AUC-Wert der Gruppe A-Drax um den Faktor 1,5 höher als der AUC-Wert der Gruppe A-Dupha.

### 1.2. Injektionsscore

Von den insgesamt 48 Saugferkeln aus Teilversuch A wies in beiden Versuchsgruppen, bis auf ein Versuchstier der Gruppe A-Dupha, keines eine lokale Hautreaktion im Sinne einer Rötung oder einer Umfangsvermehrung auf. Dieses Ferkel wies an Versuchstag 3 eine geringgradige Umfangsvermehrung ohne Rötung der Injektionsstelle auf.

### 1.3. Verhaltensbeobachtung

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilungen der Verhaltensparameter (Weglaufen, Laut intra/post injectionem, Urin-/Kotabsatz) ergab über jeden erfassten Verhaltensparameter (Tabelle 8) keine signifikanten Unterschiede zwischen und innerhalb der Gruppen über den gesamten Versuch (Tabelle 9).

Tabelle 8: Anzahl (n) der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/ Kotabsatz über VT 1-3 zeigten

Parameter	Gruppe		n	1
	(n=24)	VT-1	VT-2	VT-3
Modaufon	A-Drax	8	-	-
Weglaufen	A-Dupha	7	4	6
Laut intra	A-Drax	21	-	-
injectionem	A-Dupha	17	21	22
Laut post	A-Drax	6	-	-
injectionem	A-Dupha	4	1	5
Urin-/	A-Drax	3	-	-
Kotabsatz	A-Dupha	4	5	2

VT 1: Gruppe A-Drax n=22, Gruppe A-Dupha n=21 bei Parameter Laut intra injectionem

Tabelle 9: Vergleiche der Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/Kotabsatz zeigten zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeit- punkt	Weg- laufen	Laut intra injectionem	Laut post injectionem	Urin-/ Kotabsatz
A-Drax zu A-Dupha	VT-1	0,586	0,410	0,724	1,000
	VT-1 zu VT- 2	0,250	1,000	0,375	1,000
A-Dupha	VT-1 zu VT- 3	1,000	0,625	1,000	0,625
	VT-2 zu VT- 3	0,727	1,000	0,219	0,453

Tabelle 10: Mittelwerte des Normalverhaltens mit Standardabweichung über VT 1-3 und Vergleiche dieser Mittelwerte zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Normalverhalten in s	p-Werte
A-Drax	VT-1 (a)	29,17 ± 27,13	a:b = 0,472
A-Dupha	VT-1 (b)	32,08 ± 26,33	b:c = 0,687
	VT-2 (c)	25,21 ± 16,84	c:d = 0,235
	VT-3 (d)	21,04 ± 13,75	d:b = <b>0,013</b>

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

Die Auswertung des Normalverhaltens (Tabelle 10) ergab zwischen den Gruppen an VT 1 keinen signifikanten Unterschied. Innerhalb der Gruppe A-Dupha ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen VT 1 und VT 3 (Tabelle 10), dabei kehrten die Tiere an Versuchstag 3 (21,04  $\pm$  13,75) signifikant schneller (p = 0,013) zu ihrem Normalverhalten zurück als an Versuchstag 1 (32,08  $\pm$  26,33).

Für alle Verhaltensparameter wurden jeweils Einzelscores für Versuchstag 1 für beide Versuchsgruppen und für Versuchstag 2 und 3 für die Gruppe A-Dupha berechnet (Tabelle 11). Die Auswertung des Einzelscores ergab einen signifikanten Unterschied (p = 0,026) des Parameters Kratzen zwischen den Versuchsgruppen A-Drax und A-Dupha an Versuchstag 1. Dabei war der Score der Gruppe A-Dupha (1,00) signifikant höher als der Score der Versuchsgruppe A-Drax (0,33) (Tabelle 12).

Tabelle 11: Mittelwerte des Verhaltensscore beider Versuchsgruppen an VT 1-3 mit Standardabweichung (SD)

Parameter	Gruppe	VT-1	VT-2	VT-3
Kopf-	A-Drax	1,20 ± 1,06	-	-
schütteln	A-Dupha	1,29 ± 1,20	1,25 ± 0,90	1,13 ± 1,12
Kratzen	A-Drax	0,33 ± 0,64	-	-
	A-Dupha	1,00 ± 1,14	0,75 ± 1,07	0,38 ± 0,71
Normalver-	A-Drax	1,75 ± 1,22	-	-
halten	A-Dupha	1,88 ± 1,23	1,58 ± 0,88	1,38 ± 0,65

Tabelle 12: Vergleiche der Einzelscores der Verhaltensparameter und des Gesamtscores zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Kopf- schütteln	Kratzen	Gesamt- score
A-Drax zu A-Dupha	VT-1	0,925	0,026	0,652
	VT-1 zu VT-2	0,973	0,474	0,333
A-Dupha	VT-1 zu VT-3	0,454	0,016	0,063
	VT-2 zu VT-3	0,729	0,169	0,505

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

Der Vergleich der Einzelscores der Parameter über die Versuchstage 1-3 ergab innerhalb der Gruppe A-Dupha außer für den Parameter Kratzen zwischen Versuchstag 1 und 3 keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 12). Der Einzelscore des Parameters Kratzen war an Versuchstag 1 signifikant höher (p = 0,016) als an Versuchstag 3.

Der Gesamtscore beider Gruppen stellt die Summe der Einzelscores aller erfassten Verhaltensparameter dar. Der Gesamtscore der Gruppe A-Drax betrug  $5,75\pm1,98$  an Versuchstag 1, der Gesamtscore der Gruppe A-Dupha ergab  $6,08\pm2,52$ . An Versuchstag 2 war der Gesamtscore der Gruppe A-Dupha  $5,63\pm2,02$  und an Versuchstag 3  $5,13\pm2,46$  (Abbildung 7). Die Gesamtscores zwischen den beiden Versuchsgruppen und innerhalb der Versuchsgruppe A-Dupha unterschieden sich nicht signifikant (Tabelle 12).

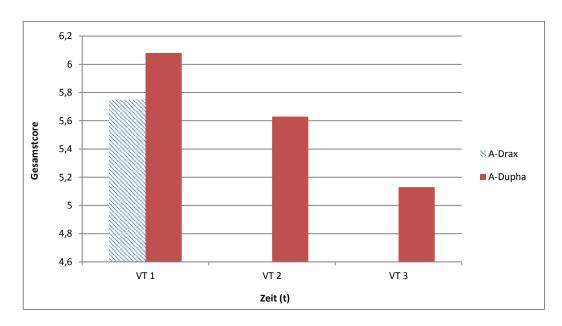


Abbildung 7: Gesamtscores der Versuchsgruppen über VT 1-3

# 2. Teilversuch B

### 2.1. Adrenalin

Die mittleren Adrenalinkonzentrationen der beiden Versuchsgruppen unterschieden sich vor der ersten Injektion nicht signifikant (p = 0,355) voneinander.

Tabelle 13: Mittlere Adrenalinkonzentration im Serum in pg/ml 2,5 Stunden vor (basal) und unmittelbar nach der ersten Injektion (VT-1), sowie unmittelbar nach der Injektion an VT 2 (VT-2) und VT 3 (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und area-under-the-curve (AUC)

Currons			t					
Gruppe n		basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC		
		MW	817,6	769,0	556,4	599,1	31753,5	
		SD	497,9	352,4	383,3	355,7	16734,2	
B-Drax	20	Min	223,7	315,6	61,4	136,1	8569,5	
		Max	2445,4	1724,6	1588,3	1424,8	79736,4	
		SEM	111,3	78,8	85,7	79,5	3741,9	
		MW	981,4	837,3	759,0	897,5	42783,0	
		SD	648,1	532,8	563,6	658,9	26136,9	
B-Dupha 2	20	Min	273,5	239,6	209,3	138,4	13245,5	
		Max	3093,4	1992,8	2263,3	2826,3	118504,5	
		SEM	144,9	119,1	126,0	147,3	5844,4	

Den maximalen Wert stellte in beiden Versuchsgruppen der Wert vor der ersten Injektion (Basalwert) dar (Abbildung 8). Die mittleren Adrenalinkonzentrationen der Gruppe B-Dupha lagen zu jedem Zeitpunkt des Versuchs über den Werten der Gruppe B-Drax (Abbildung 8). Die Adrenalinkonzentrationen der beiden Versuchsgruppen unterschieden sich weder nach der ersten Injektion an Versuchstag 1 noch an Versuchstag 2 und 3 (Tabelle 14) signifikant voneinander.

Tabelle 14: Vergleich der mittleren Adrenalinkonzentrationen der Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
B-Drax zu B-Dupha	0,355	0,947	0,242	0,127	0,369

Signifikante Werte sind fett angegeben

Tabelle 15: Vergleiche der mittleren Adrenalinwerte innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal zu VT-1	VT-1 zu VT-2	VT-1 zu VT-3
B-Drax	0,985	0,015	0,001
B-Dupha	0,177	0,522	0,648

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

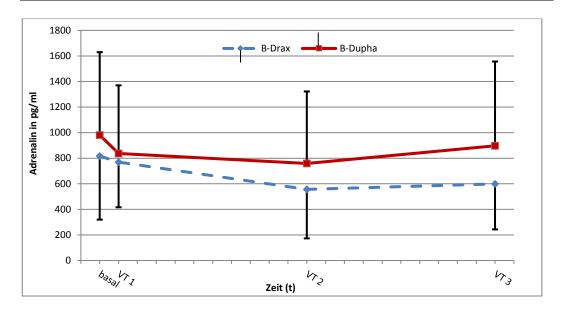


Abbildung 8: Verlauf der mittleren Adrenalinkonzentration im Serum (pg/ml) mit Standardabweichung

In der Versuchsgruppe B-Drax fiel die mittlere Adrenalinkonzentration vom unmittelbar nach der ersten Injektion ermittelten Wert (VT 1) zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der ersten Injektion (VT 2) (p = 0,015) und vom unmittelbar nach der ersten Injektion ermittelten Wert (VT 1) zum Zeitpunkt 48 Stunden nach der ersten Injektion (VT 3) signifikant ab (p = 0,001) (Tabelle 15). Die mittleren Adrenalinwerte der Beprobungszeitpunkte der Gruppe B-Dupha unterschieden sich zwischen vor (basal) und unmittelbar nach der Injektion (VT 1), Versuchstag 1 und 2 und Versuchstag 1 und 3 nicht signifikant (Tabelle 15). Zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der ersten Injektion (VT 2) lagen die niedrigsten mittleren Adrenalinkonzentrationen beider Versuchsgruppen vor (Abbildung 8). Der mittlere AUC der Gruppe B-Dupha war numerisch größer als der mittlere AUC der Gruppe B-Drax (Tabelle 13), unterschied sich aber nicht signifikant davon (p = 0,369).

### 2.2. Noradrenalin

Vor der ersten Injektion unterschieden sich die mittleren Noradrenalinkonzentrationen der beiden Versuchsgruppen nicht signifikant voneinander (p = 0,495).

Tabelle 16: Mittlere Noradrenalinkonzentration im Serum in pg/ml 2,5 Stunden vor (basal) und unmittelbar nach der ersten Injektion (VT-1), sowie unmittelbar nach der Injektion an VT 2 (VT-2) und VT 3 (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und area-under-the-curve (AUC)

Carrana	Crunno		t					
Gruppe	n		basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC	
		MW	1599,5	2242,8	1599,0	1829,2	92043,1	
		SD	790,6	1005,2	1081,4	827,3	41375,4	
B-Drax	20	Min	576,1	989,4	598,8	409,0	34453,0	
		Max	3889,8	4859,3	3918,2	3681,1	194552,8	
		SEM	176,8	224,8	241,8	185,0	9251,8	
		MW	1902,9	2281,6	2212,1	2897,4	120468,8	
		SD	1094,0	1346,1	1422,5	1886,5	65757,9	
B-Dupha	20	Min	560,7	762,1	550,3	782,1	35251,2	
		Max	4605,4	4817,6	6058,3	7593,5	291951,2	
		SEM	244,6	301,0	318,1	421,8	14703,9	

Die mittlere Noradrenalinkonzentration der Gruppe B-Drax stieg vom Basalniveau bis zur Messung nach der ersten Injektion signifikant (p = 0,001) um den Faktor 1,4 an, dies entspricht der maximalen Noradrenalinkonzentration dieser Versuchsgruppe. Die ermittelte mittlere Noradrenalinkonzentration an Versuchstag 2 war um den Faktor 0,71 nicht signifikant kleiner als nach der ersten Injektion an Versuchstag 1 (p = 0,30). Die Vergleiche zwischen den Beprobungszeitpunkten basal zu VT-1, VT-1 zu VT-2 und VT-1 zu VT-3 ergaben keine signifikanten Unterschiede der mittleren Noradrenalinkonzentration innerhalb der Gruppe B-Dupha (Tabelle 18). An Versuchstag 3 erreichte die Versuchsgruppe B-Dupha die maximale mittlere Noradrenalinkonzentration, dabei entsprach dies einer Steigerung um den Faktor 1,5 ausgehend vom Basalniveau.

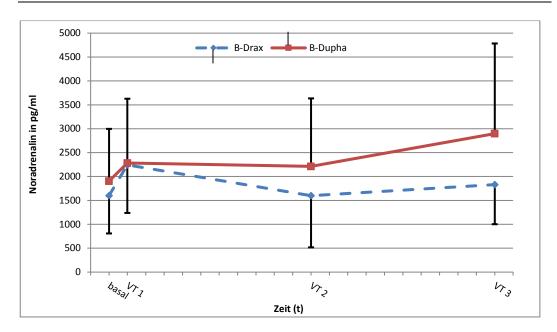


Abbildung 9: Verlauf der mittleren Noradrenalinkonzentration im Serum (pg/ml) mit Standardabweichung

Tabelle 17: Vergleich der mittleren Nordrenalinkonzentrationen der Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
B-Drax zu B-Dupha	0,495	0,698	0,063	0,063	0,110

Signifikante Werte sind fett angegeben

Die mittleren AUC der beiden Versuchsgruppen B-Dupha und B-Drax unterschieden sich nicht signifikant (p = 0,110) voneinander, allerdings war der AUC der Gruppe B-Dupha numerisch größer als der AUC der Gruppe B-Drax (Tabelle 16).

Tabelle 18: Vergleiche der mittleren Noradrenalinmesswerte innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal zu VT-1	VT-1 zu VT-2	VT-1 zu VT-3
B-Drax	0,001	0,030	0,189
B-Dupha	0,177	0,388	0,083

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

### 2.3. Creatinkinase

Die mittleren Creatinkinaseaktivitäten der beiden Versuchsgruppen unterschieden sich vor der ersten Injektion nicht signifikant voneinander (p = 0,516).

Tabelle 19: Mittlere Creatinkinaseaktivität im Serum in U/ml 6,5 Stunden vor (basal) und 4 Stunden nach der ersten Injektion (VT-1), sowie 28 Stunden nach der ersten Injektion (VT-2) und 52 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und area-under-the-curve (AUC)

6			t					
Gruppe	n		basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC	
		MW	169,1	649,4	503,1	208,9	25032,0	
		SD	74,1	290,5	1216,1	90,5	28449,0	
B-Drax	20	Min	92,0	283,0	126,0	84,0	8708,8	
		Max	351,0	1213,0	5650,0	515,0	143278,8	
		SEM	16,6	65,0	271,9	20,2	6361,4	
		MW	156,6	225,3	229,3	208,4	11948,2	
		SD	75,1	237,6	160,1	141,1	7990,6	
B-Dupha	20	Min	69,0	79,0	105,0	93,0	6652,5	
		Max	413,0	1148,0	794,0	734,0	40341,8	
		SEM	16,8	53,1	35,8	31,6	1786,7	

Vier Stunden nach der ersten Injektion (VT 1) unterschieden sich die mittleren Creatinkinaseaktivitäten der beiden Versuchsgruppen signifikant (p < 0,001) voneinander. Dabei war die mittlere Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Drax um den Faktor 2,88 höher als die mittlere Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Dupha. Zu den Zeitpunkten 28 (VT 2) und 52 Stunden nach der ersten Injektion (VT 3) unterschieden sich die ermittelten Creatinkinaseaktivitäten nicht signifikant voneinander (Tabelle 20).

Tabelle 20: Vergleich der mittleren Creatinkinaseaktivitäten der Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
B-Drax zu B-Dupha	0,516	< 0,001	0,163	0,324	< 0,001

Signifikante Werte sind fett angegeben

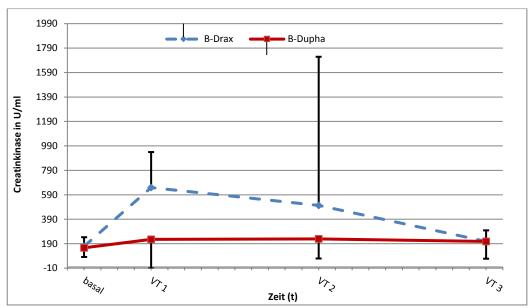


Abbildung 10: Verlauf der mittleren Creatinkinaseaktivität im Serum (U/I) mit Standardabweichung

Die mittlere Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Drax stieg unmittelbar nach der Injektion an Versuchstag 1 maximal und signifikant (p < 0,001) an und erreichte dabei eine Steigerung um den Faktor 3,8 ausgehend vom Basalniveau. Auch an Versuchstag 2 war die gemessenen mittlere Creatinkinaseaktivität numerisch höher als die mittlere basale Creatinkinaseaktivität, allerdings war sie signifikant niedriger als die mittlere Creatinkinaseaktivität zum Zeitpunkt 4 Stunden nach der ersten Injektion (VT 1) (p = 0,001). Die mittlere Creatinkinaseaktivität der Gruppe A-Drax 4 Stunden nach der ersten Injektion (VT 1) war signifikant (p < 0,001) höher als an Versuchstag 3. Die mittleren Creatinkinaseaktivitäten der Gruppe B-Dupha zwischen den Zeitpunkten basal-VT 1, VT 1-VT 2 und VT 1-VT 3 unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 21).

Tabelle 21 Vergleiche der mittleren Creatinkinaseaktivität innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal zu VT-1	VT-1 zu VT-2	VT-1 zu VT-3
B-Drax	< 0,001	0,001	< 0,001
B-Dupha	0,221	0,877	0,927

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

Der AUC der Gruppe B-Drax war um den Faktor 2,1 signifikant höher (p < 0,001) als der AUC der Gruppe B-Dupha.

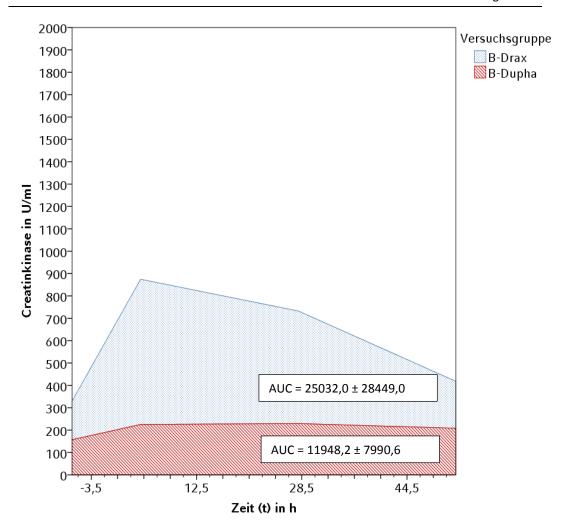


Abbildung 11: Verlauf der mittleren Creatinkinaseaktivität (AUC) mit Standardabweichung

### 2.4. Injektionsscore

Von den insgesamt 40 Saugferkeln zeigten an Versuchstag 1 zwei Saugferkel der Gruppe B-Drax und ein Saugferkel aus der Gruppe B-Dupha eine geringgradige Umfangsvermehrung (Durchmesser ≤ 0-0,5) auf. An Versuchstag 2 wies ein Tier der Gruppe B-Dupha eine geringgradige Umfangsvermehrung auf, an Versuchstag 3 zeigten zwei Tiere der Gruppe B-Dupha eine geringgradige Umfangsvermehrung der Injektionsstelle.

Tabelle 22: Anzahl (n) der Tiere mit geringgradiger Umfangsvermehrung (UV)

Gruppo	V	Γ-1	V7	T-2	VT	T-3
Gruppe	ja	nein	ja	nein	ja	nein
B-Drax	2	19	0	21	0	21
B-Dupha	1	20	1	20	2	19

## 2.5. Verhaltensbeobachtung

In Teilversuch B wurde an Versuchstag 1 zu zwei verschiedenen Zeitpunkten ein Verhaltensscore erhoben. Die erste Verhaltens-beobachtung (basal) wurde nach der ersten Blutentnahme noch vor der ersten Injektion erhoben. Die zweite Verhaltensbeobachtung (VT 1) wurde nach der ersten Injektion und der darauffolgenden Blutentnahme durchgeführt.

Tabelle 23: Anzahl (n) der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/ Kotabsatz über VT 1-3 zeigten

Doromotor	Gruppe	n					
Parameter 	(n=20)	basal	VT-1	VT-2	VT-3		
Weglaufen	B-Drax	18	13	-	-		
wegiauien	B-Dupha	15	15	16	13		
Laut intra	B-Drax	19	16	=	-		
injectionem	B-Dupha	17	16	15	17		
Laut post	B-Drax	12	13	=	=		
injectionem	B-Dupha	8	11	11	12		
Urin-/	B-Drax	1	4	-	-		
Kotabsatz	B-Dupha	1	0	1	1		

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilungen der Verhaltensparameter (Weglaufen, Laut intra/post injectionem, Urin-/Kotabsatz) (Tabelle 23) ergab außer für Parameter Weglaufen (p = 0,019) an VT 1 keine signifikanten Unterschiede zwischen und innerhalb der Gruppen. Dabei liefen die Tiere der Gruppe B-Drax signifikant häufiger schnell weg als die Tiere der Gruppe B-Dupha (Abbildung 12).

Tabelle 24: Vergleiche der Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/Kotabsatz zeigten zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeit- punkt	Weg- laufen	Laut intra injectionem	Laut post injectionem	Urin-/ Kotabsatz
B-Drax zu	basal	0,468	0,597	0,539	1,000
B-Dupha	VT-1	0,019	0,455	0,587	0,106
	basal zu VT- 1	1,000	1,000	0,549	1,000
D. Duraha	VT-1 zu VT- 2	1,000	1,000	1,000	1,000
B-Dupha	VT-1 zu VT- 3	0,727	1,000	1,000	1,000
	VT-2 zu VT- 3	0,549	0,688	1,000	1,000

Signifikante Werte sind fett angegeben

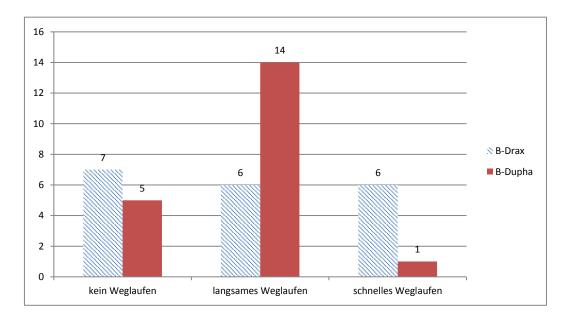


Abbildung 12: Häufigkeitsverteilung des Verhaltensparameters Weglaufen beider Versuchsgruppen an VT 1

Tabelle 25: Mittelwerte des Normalverhaltens mit Standardabweichung über VT 1-3 und Vergleiche dieser Mittelwerte zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Normalverhalten in	p-Werte
	basal (a)	22 85 + 26 64	a:b = 0,662
B-Drax	Dasai (a)	33,85 ± 26,64	a:c = 0,585
D Diax	VT-1 (b)	31,95 ± 10,20	b:d = <b>0,050</b>
	basal (c)	27,60 ± 15,77	c:d = 0,992
P. Dunha	VT-1 (d)	25,70 ± 13,58	d:e = 1,000
B-Dupha	VT-2 (e)	27,00 ± 15,28	e:f = 0,034
	VT-3 (f)	34,15 ± 16,95	f:d = <b>0,008</b>

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

Der Vergleich der Mittelwerte der Zeit bis zur Rückkehr zum Normalverhalten der Tiere (Tabelle 25) ergab zwischen den Gruppen B-Drax und B-Dupha einen signifikanten Unterschied (p = 0,050) zum Zeitpunkt VT 1 (unmittelbar nach der ersten Injektion). Dabei kehrten die Tiere der Gruppe B-Dupha (25,70  $\pm$  13,58) signifikant schneller zum Normalverhalten zurück als die Tiere der Gruppe B-Drax (31,95  $\pm$  10,20). Der Vergleich innerhalb der Gruppe B-Dupha zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Zeitpunkten VT 1 und VT 3 (p = 0,008). Hierbei kehrten die Tiere an VT 3 (34,15  $\pm$  16,95) signifikant langsamer zu ihrem Normalverhalten zurück als an VT 1 (25,70  $\pm$  13,58).

Tabelle 26: Mittelwerte des Verhaltensscores beider Versuchsgruppen an VT 1-3 mit Standardabweichung (SD)

Parameter	Gruppe	basal	VT-1	VT-2	VT-3
Kopf- schütteln	B-Drax	1,45 ± 1,57	1,30 ± 1,08	-	-
	B-Dupha	1,25 ± 1,16	1,25 ± 1,29	1,15 ± 1,09	1,05 ± 1,05
Kratzen	B-Drax	0,10 ± 0,31	0,15 ± 0,49	=	-
	B-Dupha	0,25 ± 0,64	0,05 ± 0,22	0,10 ± 0,31	0,20 ± 0,41
Normal- verhalten	B-Drax	2,00 ± 1,21	2,00 ± 0,65	-	-
	B-Dupha	1,75 ± 0,85	1,70 ± 0,73	1,80 ± 0,77	2,05 ± 0,95

Der Vergleich der Einzelscores der Verhaltensparameter (Tabelle 26) zwischen und innerhalb der Versuchsgruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 27). Der Gesamtscore der Gruppe B-Drax betrug 7,00  $\pm$  2,32 nach der ersten Blutentnahme und vor der ersten Injektion (basal), der Gesamtscore der Gruppe B-Dupha ergab für diesen Zeitpunkt 6,15  $\pm$  1,79. An Versuchstag 1 war der Gesamtscore der Gruppe B-Drax 6,80  $\pm$  2,17, der Gesamtscore der Gruppe B-Dupha betrug 6,05  $\pm$  1,99. An Versuchstag 2 betrug der Gesamtscore der Gruppe B-Dupha 5,90  $\pm$  2,57 und an Versuchstag 3 6,65  $\pm$  2,16 (Abbildung 13). Die Gesamtscores zwischen und innerhalb der beiden Versuchsgruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 27).

Tabelle 27: Vergleiche der Einzelscores der Verhaltensparameter und des Gesamtscores zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Kopf- schütteln	Kratzen	Gesamtscore
B-Drax zu B-Dupha	basal	0,937	0,539	0,329
	VT-1	0,727	0,744	0,380
	basal zu VT-1	0,920	0,500	0,891
B-Dupha	VT-1 zu VT-2	0,800	1,000	0,992
	VT-1 zu VT-3	0,517	0,375	0,518
	VT-2 zu VT-3	1,000	0,625	0,276

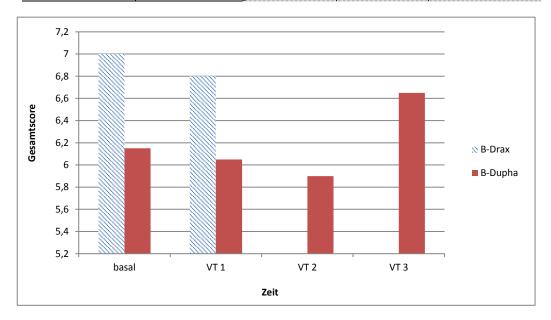


Abbildung 13: Gesamtscores der Versuchsgruppen über VT 1-3

### 3. Teilversuch C

#### 3.1. Speichelcortisol

Die mittleren Speichelcortisolkonzentrationen vor der ersten Injektion unterschieden sich nicht signifikant (p = 0,534) voneinander.

Tabelle 28: Mittlere Cortisolkonzentration im Speichel in nmol/l 1,5 Stunden und 0,5 Stunden nach der Injektion (VT-1), sowie 24,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-2) und 48,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und der area-under-the-curve (AUC)

Gruppe	n	t					ALIC
			basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
C-Drax	21	MW	3,3	5,7	4,4	7,5	271,3
		SD	2,1	3,3	6,5	10,7	239,5
		Min	1,5	2,5	1,5	1,5	93,9
		Max	9,0	14,4	30,1	48,3	987,0
		SEM	0,5	0,7	1,4	2,3	52,3
C-Dupha	21	MW	2,8	2,9	4,0	4,1	186,4
		SD	1,8	1,6	2,7	4,3	88,5
		Min	1,5	1,5	1,5	1,5	75,0
		Max	8,1	6,2	10,9	16,5	377,6
		SEM	0,4	0,4	0,6	0,9	19,3

Nach der ersten Injektion stiegen die mittleren Cortisolwerte der Gruppe C-Drax signifikant an (p = 0,003). Der Anstieg entsprach einer mittleren Steigerung um den Faktor 1,7, ausgehend vom gemessenen Basalwert. An Versuchstag 3 stieg die mittlere Speichelcortisolkonzentration dieser Gruppe wiederum tendenziell numerisch an, unterschied sich aber nicht signifikant von den ermittelten Werten an Versuchstag 1 (p = 0,417). In der Versuchsgruppe C-Dupha wurden beim Vergleich der Zeitpunkte basal-VT 1, VT 1-VT 2 und VT 1-VT 3 keine signifikanten Unterschiede ermittelt (Tabelle 30), wobei eine tendenzielle Erhöhung der Werte im Verlauf der Beprobung ersichtlich war (Abbildung 14).

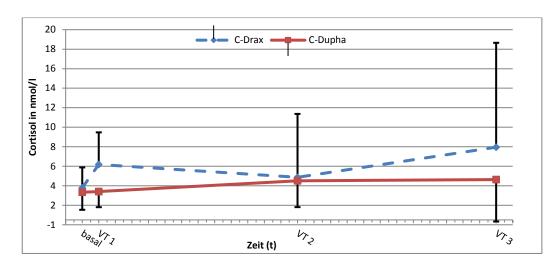


Abbildung 14: Verlauf der mittleren Cortisolkonzentration im Speichel (nmol/l) mit Standardabweichung

0,5 Stunden nach der ersten Injektion war die mittlere Cortisolkonzentration der Gruppe C-Drax signifikant (p < 0,001) höher als die mittlere Cortisolkonzentration der Gruppe C-Dupha. Zu den Zeitpunkten 24,5 (VT 2) und 48,5 (VT 3) Stunden nach der ersten Injektion unterschieden sich die mittleren Cortisolkonzentrationen der Versuchsgruppen nicht signifikant voneinander (Tabelle 29).

Tabelle 29: Vergleich der mittleren Speichelcortisolkonzentrationen der Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
C-Drax zu C-Dupha	0,534	< 0,001	0,193	0,267	0,369

Signifikante Werte sind fett angegeben

Tabelle 30: Vergleiche der mittleren Speichelcortisolwerte innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal zu VT-1	VT-1 zu VT-2	VT-1 zu VT-3
C-Drax	0,003	0,054	0,417
C-Dupha	0,899	0,265	0,678

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

Der AUC der beiden Versuchsgruppen unterschied sich nicht signifikant voneinander (p = 0,369), wobei der AUC der Gruppe C-Drax numerisch größer war als der AUC der Gruppe C-Dupha (Tabelle 28).

## 3.2. Chromogranin A

Aufgrund des teilweise zu geringen Speichelvolumens konnte nicht von jedem Versuchstier zu jedem Zeitpunkt des Versuches eine Probe für die Bestimmung der Chromogranin A-Konzentration gewonnen werden. Daraus ergaben sich Abweichungen in der Anzahl der Proben, welche in Tabelle 31 dargestellt sind.

Tabelle 31: Anzahl (n) der gewonnenen Proben zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

Gruppe	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
C-Drax	20	20	19	20	17
C-Dupha	19	20	18	21	18

Vor der ersten Injektion unterschieden sich die gemessenen mittleren Chromogranin A-Konzentrationen der beiden Versuchsgruppen nicht signifikant (p = 0,166) voneinander.

Tabelle 32: Mittlere CgA-Konzentration im Speichel in nmol/l 1,5 Stunden vor und 0,5 Stunden nach der Injektion (VT-1), sowie 24,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-2) und 48,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und der area-under-the-curve (AUC)

Gruppo			AUC				
Gruppe	n		basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
		MW	0,344	0,385	0,475	0,411	22,101
		SD	0,197	0,219	0,236	0,212	7,523
C-Drax	21	Min	0,060	0,050	0,109	0,047	11,267
		Max	0,738	0,730	0,928	0,812	35,909
		SEM	0,044	0,049	0,054	0,047	1,825
		MW	0,452	0,637	0,557	0,453	26,500
		SD	0,271	0,798	0,389	0,205	16,756
C-Dupha	21	Min	0,047	0,075	0,065	0,085	0,701
		Max	1,042	3,905	1,797	0,802	76,998
		SEM	0,062	0,178	0,092	0,045	3,949

In beiden Versuchsgruppen erbrachte der Vergleich der Beprobungszeitpunkte basal-VT 1, VT 1-VT 2 und VT 1-VT 3 keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 34). Die gemessenen mittleren CgA-Konzentrationen unterschieden sich ebenso wie der mittlere AUC der beiden Versuchsgruppen nicht signifikant voneinander (Tabelle 33). Die mittleren Chromogranin A-Werte der Gruppe C-Dupha und

somit auch der AUC dieser Gruppe lagen stets nicht signifikant über den erfassten Werten der Gruppe C-Drax (Tabelle 32).

Tabelle 33: Vergleich der mittleren CgA-Konzentrationen und des AUC der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten

	basal	VT-1	VT-2	VT-3	AUC
C-Drax zu C-Dupha	0,166	0,201	0,641	0,527	0,463

Signifikante Werte sind fett angegeben

Eine tendenzielle Erhöhung der Werte der Gruppe C-Dupha vom Basalwert auf die Werte, die 0,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT 1) gemessen wurden, und ein anschließender Abfall an Versuchstag 2 und an Versuchstag 3 ist in Abbildung 15 erkennbar. In der Versuchsgruppe C-Drax stiegen die gemessenen Werte numerisch bis Versuchstag 2 an, um dann an Versuchstag 3 wiederum tendenziell abzufallen (Abbildung 15).

Tabelle 34: Vergleiche der mittleren CgA-Messwerte innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungs-zeitpunkten

	basal zu VT-1	VT-1 zu VT-2	VT-1 zu VT-3
C-Drax	0,430	0,167	0,984
C-Dupha	0,468	0,932	0,312

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

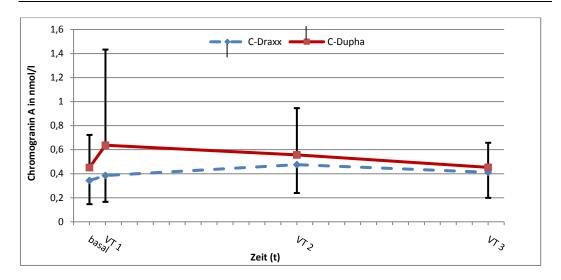


Abbildung 15: Verlauf der mittleren CgA-Konzentration im Speichel (nmol/l) mit Standardabweichung

#### 3.3. Injektionsscore

Von den insgesamt 42 Versuchstieren zeigten an Versuchstag 1 ein Versuchstier aus der Gruppe C-Drax (n = 21) und fünf Tiere der Gruppe C-Dupha (n = 21) eine geringgradige Rötung (Durchmesser  $\leq$  0-0,5) der Injektionsstelle. Ein Tier der Versuchsgruppe C-Drax und ein Versuchstier der Gruppe C-Dupha wiesen eine geringgradige Umfangsvermehrung (Durchmesser  $\leq$  0-0,5) auf. An Versuchstag 3 wies ein Tier der Gruppe C-Dupha eine geringgradige Rötung und eine geringgradige Umfangsvermehrung der Injektionsstelle auf. Es konnte kein signifikanter Unterschied der beiden Versuchsgruppen für die Anzahl der Tiere die eine lokale Hautreaktion zeigten festgestellt werden.

Tabelle 35: Anzahl (n) der Tiere mit geringgradiger Umfangsvermehrung/Rötung der Injektionsstelle

		-					
		VT-1		VT-2		VT-3	
Parameter		C- Drax	C- Dupha	C- Drax	C- Dupha	C- Drax	C- Dupha
gering-	ja	1	5	0	0	0	1
gradige Rötung	nein	20	16	21	21	21	20
gering- gradige Umfangsver- mehrung	ja	1	1	0	0	0	1
	nein	20	20	21	21	21	20

## 3.4. Verhaltensbeobachtung

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilungen der Verhaltensparameter (Weglaufen, Laut intra/post injectionem) (Tabelle 36) zwischen und innerhalb der beiden Versuchsgruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 37).

Tabelle 36: Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem und Laut post injectionem über VT 1-3 zeigten

Parameter	Gruppe	t			
	Gruppe (n=24)	VT-1	VT-2	VT-3	
Weglaufen	C-Drax	12	-	-	
	C-Dupha	11	14	13	
Laut intra	C-Drax	20	-	-	
injectionem	C-Dupha	20	19	21	
Laut post injectionem	C-Drax	0	-	-	
	C-Dupha	0	0	1	

Tabelle 37: Vergleiche der Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut intra injectionem und Laut post injectionem zeigten zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Weglaufen	Laut intra injectionem	Laut post injectionem
C-Drax zu C- Dupha	VT-1	0,845	1,000	*
C-Dupha	VT-1 zu VT-2	0,250	1,000	*
	VT-1 zu VT-3	0,687	1,000	1,000
	VT-2 zu VT-3	1,000	1,000	1,000

<sup>\* =</sup> Verteilung trat nur in einer Kategorie auf

Da alle Tiere beider Versuchsgruppen beim Parameter Laut post injectionem nur Ergebnisse in einer Kategorie zeigten, wurde auf einen Test verzichtet.

Tabelle 38: Mittelwerte des Normalverhaltens mit Standardabweichung über VT 1-3 und Vergleiche dieser Mittelwerte zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Normalverhalten in	p-Werte
C-Drax	VT-1 (a)	11,43 ± 17,10	a:b = 0,765
	VT-1 (b)	5,57 ± 5,28	b:c = 0,192
C-Dupha	C-Dupha VT-2 (c)		c:d = 0,202
	VT-3 (d)	4,86 ± 5,71	d:b = 0,364

Der Vergleich der Mittelwerte der Zeit bis zur Rückkehr zum Normalverhalten der Tiere ergab zwischen und innerhalb der Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 38).

Tabelle 39: Mittelwerte des Verhaltensscores beider Versuchsgruppen an VT 1-3 mit Standardabweichung (SD)

Parameter	Gruppe	VT-1	VT-2	VT-3
Kopfschütteln	C-Drax	0,95 ± 1,12	-	-
	C-Dupha	0,43 ± 0,51	0,14 ± 0,36	0,19 ± 0,40
Mark- and	C-Drax	0,91 ± 2,12	-	-
Kratzen	C-Dupha	0	0	0
Normal-	C-Drax	1,29 ± 0,64	-	-
verhalten	C-Dupha	1	1,05 ± 0,22	1,05 ± 0,22

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

Der Vergleich der Einzelscores und des Gesamtscores zwischen den Versuchsgruppen ergab für den Parameter Kratzen an Versuchstag 1 einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen (Tabelle 40). Dabei war der Score der Versuchsgruppe C-Drax  $(0,91\pm2,12)$  signifikant höher (p=0,021) als der Score der Gruppe C-Dupha (0). Der Vergleich der Einzelscores und des Gesamtscores innerhalb der Versuchsgruppe C-Dupha zwischen den Versuchstagen 1-3 ergab keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 40). Der Gesamtscore an Versuchstag 1 ergab für die Gruppe C-Drax  $5,76\pm3,55$  und für

die Gruppe C-Dupha 3,91  $\pm$  1,00 (Abbildung 16). An Versuchstag 2 ergab der Gesamtscore für die Gruppe C-Dupha eine Summe von 3,67  $\pm$  1,35 und an Versuchstag 3 4,10  $\pm$  1,04.

Tabelle 40: Vergleiche der Einzelscores der Verhaltensparameter und des Gesamtscores zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Gruppe	Zeitpunkt	Kopf- schütteln	Kratzen	Gesamt- score
C-Drax zu C-Dupha	VT-1	0,138	0,021	0,089
	VT-1 zu VT-2	0,109	1,000	0,322
C-Dupha	VT-1 zu VT-3	0,227	1,000	0,498
	VT-2 zu VT-3	1,000	1,000	1,000

Signifikante Werte, korrigiert nach Bonferroni-Holm, sind fett angegeben

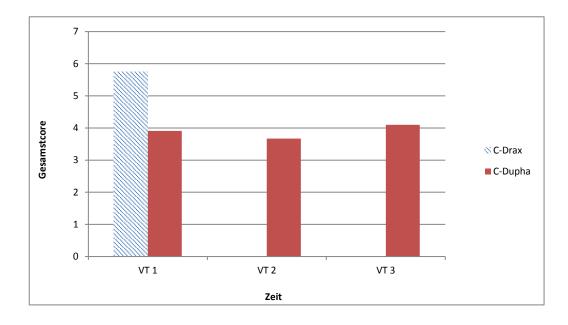


Abbildung 16: Gesamtscores der Versuchsgruppen über VT 1-3

#### V. DISKUSSION

Um Schmerzen und Stress bei Tieren beurteilen und bewerten zu können bedarf es der Messung physiologischer Parameter (MOLONY und KENT, 1997).

#### 1. Cortisol

Eine Möglichkeit ist die Bestimmung des Glucocorticoids Cortisol, das die Aktivität der HHN-Achse widerspiegelt (MELLOR et al., 2000). Zur Beurteilung der Stress- und Schmerzbelastung bei der Therapie mit einem einmalig im Vergleich mit einem dreimalig zu applizierenden Präparat bei Schweinen wurde der Parameter Serumcortisol gewählt, da sich dieser in einer Vielzahl von Studien zur Stressbelastung beim Schwein als geeignet erwiesen hat (ROSOCHACKI et al., 2000; CARROLL et al., 2006; MERLOT et al., 2011; STARK, 2014). Laut GALLAGHER et al. (2002) existiert bei männlichen Saugferkeln ab einem Alter von zehn und bei weiblichen Saugferkeln ab einem Alter von sechs Tagen eine circadiane Cortisolrhythmik. Um den Einfluss dieser auf den basalen Cortisolspiegel im Serum auszuschließen wurden für Teilversuch A männliche Saugferkel im Alter von vier bis sechs Tagen ausgewählt. In der Studie von EVANS et al. (1988) konnte erst im Alter von 28 Wochen eine deutliche Rhythmik des Serumcortisols mit einer großen Spitze am Morgen, einer kleineren Spitze am Nachmittag und einem Tief am Abend dokumentiert werden. GRECO und STABENFELDT (2013) geben für die Halbwertszeit des Cortisols im Blut eine Stunde an. Diese Angabe deckt sich mit den Ergebnissen von WEIß (2015), in deren Studie eine Stunde nach einer Fixierung mittels Oberkieferschlinge kein weiterer Anstieg der Serumcortisolkonzentration messbar war. Daher wurde ein individueller Basalwert jedes Saugferkels zwei Stunden vor der ersten Injektion ermittelt, um eine Beeinflussung des Cortisolwerts post injectionem durch die mit der Blutprobenentnahme verbundenen Belastung zu auszuschließen. In den Untersuchungen von PRUNIER et al. (2005) konnte 0,5 bis eine Stunde nach der Kastration die maximale Cortisolkonzentration im Serum von Saugferkeln ermittelt werden. Auch in den Untersuchungen von TENBERGEN et al. (2014) kam es zur zeitversetzten Erhöhung der Cortisolkonzentration mit dem

maximalen Wert 0,5 Stunden nach der Kastration bzw. dem Kupieren der Schwänze von Saugferkeln.

Dass auch der Parameter Speichelcortisol zur Beurteilung von Schmerz und der darauffolgenden Stressraktion bei Schweinen geeignet ist, wurde erfolgreich in mehreren Studien bestätigt (VINING et al., 1983; PARROTT et al., 1989; SCHÖNREITER und ZANELLA, 2000). Durch eine Blutentnahme erhöht sich die Cortisolkonzentration im Blut und im Speichel (MERLOT et al., 2011), daher erweist sich die Erfassung der Cortisolkonzentration im Speichel als stress- und schmerzfreie Möglichkeit Stress beim Schwein zu bewerten (PARROTT et al., 1989). Laut MERLOT et al. (2011) korreliert die Speichelcortisolkonzentration mit der Cortisolkonzentration im Plasma und eignet sich daher gut, um die Aktivierung der HNN-Achse zu erfassen. Aufgrund geschlechtsspezifischer Unterschiede in der basalen Speichelcortisol-konzentration wurden in der vorliegenden Arbeit ausschließlich weibliche Tiere beprobt (RUIS et al., 1997). Laut EKKEL et al. (1996) weist die Speichelcortisolkonzentration eine circadiane Rhythmik vergleichbar mit dem circadianen Verlauf des Plasmacortisols auf. Aufgrund dieser Angaben fanden in Teilversuch C der vorliegenden Arbeit alle Speichelprobenentnahmen zwischen 10:00 Uhr und 13:30 Uhr statt, um jegliche Beeinflussung durch die circadiane Rhythmik zu minimieren.

#### 1.1. Serumcortisol (Teilversuch A)

In der vorliegenden Studie konnte 0,5 Stunden nach der Injektion bei der Versuchsgruppe A-Drax ein signifikanter Anstieg des Cortisols um den Faktor 2,1 ausgehend vom Basalniveau ermittelt werden. Der mittlere Cortisolspiegel der Saugferkel der Gruppe A-Dupha stieg nach der ersten Injektion hingegen nicht signifikant an. Auch im weiteren Verlauf des Versuchs konnte trotz wiederholter Injektion an Versuchstag 2 und 3 kein signifikanter Anstieg des Cortisolspiegels dieser Gruppe beobachtet werden. Ebenfalls lagen die ermittelten Cortisolwerte der Gruppe A-Drax an Versuchstag 2 und 3 wieder auf basalem Niveau. Dieses Ergebnis deutet daraufhin, dass die Tiere der Gruppe A-Drax nach der ersten Injektion an Versuchstag 1 einer höheren Schmerz- und Stressbelastung ausgesetzt waren als die Tiere der Gruppe A-Dupha. An Versuchstag 2 und 3 konnte kein Unterschied im Serumcortisol zwischen den Versuchsgruppen

ermittelt werden. Die lokale Verträglichkeit eines Präparates beeinflusst möglicherweise den Schmerz, der durch eine Injektion ausgelöst wird. Diese ist unter anderem abhängig vom applizierten Volumen, der Konzentration, den Wirkstoffen und den Lösungsmitteln eines Präparates (KERN, 1987). So könnte die höhere mittlere Serumcortisolkonzentration der Gruppe A-Drax im Vergleich zur Gruppe A-Dupha an Versuchstag 1 dem höheren Injektionsvolumen dieses Präparates geschuldet sein, da laut ELICKER (2006) ein direkter Zusammenhang zwischen dem applizierten Volumen und der lokalen Verträglichkeit eines Präparates besteht. STEINESS et al. (1978) konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass die lokale Verträglichkeit mit zunehmender Verdünnung von Präparaten steigt. In der vorliegenden Untersuchung wurde das Präparat Duphamox® (150 mg/ml) in einer höheren Konzentration als Draxxin® (25 mg/ml) verwendet. Dennoch konnte durch die Messung der Serumcortisolkonzentration gezeigt werden, dass die Injektion von Draxxin<sup>®</sup> zu einer höheren Belastung als die Injektion von Möglicherweise die Duphamox\* führte. ist Ursache eine substanzspezifische Reizwirkung der Lösungsmittel und der Wirkstoffe des Präparates, da laut HANSON (1961) Präparate mit verschiedenen Wirkstoffen und Lösungsmitteln unterschiedliche lokale Reaktionen hervorrufen können. Neben der Injektion bedarf es der Betrachtung weiterer Faktoren, die Stress beim Saugferkel auslösen können und somit die Cortisolkonzentration im Serum beeinflussen. Die wichtigsten Aspekte sind hierbei das für die Injektion erforderliche Handling und die Fixation für die Blutprobenentnahme. So konnte WEIß (2015) in ihrer Studie nach der Fixation und Blutprobenentnahme bei acht Wochen Ferkeln alten einen signifikanten Anstieg Serumcortisolkonzentration dokumentieren. Wie schon eingangs erwähnt, wurde in der vorliegenden Untersuchung der individuelle Basalwert eines Ferkels zwei Stunden vor der Injektion ermittelt, um ein Absinken des Cortisolspiegels auf das Basalniveau bis zur Injektion zu gewährleisten und somit einen Einfluss auf die Stress- und Schmerzbelastung der Blutentnahme auf den ermittelten Cortisolwert nach der Injektion auszuschließen. Einfangen und Handling der Tiere für die Injektion waren bei beiden Versuchsgruppen identisch, sodass sich eine mögliche Einflussnahme auf die ermittelten Cortisolwerte gleichermaßen auf beide Versuchsgruppen auswirkte. Aufgrund der identischen Vorgehensweise

erlaubt dies einen Vergleich zwischen den Gruppen, allerdings wird somit nicht die ausschließliche Belastung durch die Injektion bewertet, sondern auch das notwendige Handling und die Fixation miteinbezogen. Jedoch konnte bei der Gruppe A-Dupha trotz Handling, Fixation und Injektion keine signifikante mittlere Erhöhung des Cortisolwerts im Serum ermittelt werden. Somit konnte in der Gruppe A-Dupha trotz dreimaliger Injektion scheinbar keine mit dem Parameter Serumcortisol messbare Schmerz- und Stressbelastung dokumentiert werden. Der Umstand, dass in der Gruppe A-Dupha zu keinem Zeitpunkt des Versuchs signifikanter nach der Injektion ein Anstieg der mittleren Serumcortisolkonzentration ermittelt werden konnte, deckt sich nicht mit den Ergebnissen von UHL (2013). UHL (2013) ermittelte in ihrer Studie nach der Injektion isotonischer Kochsalzlösung bei 14 Tage alten Saugferkeln eine Stunde nach der Injektion einen signifikanten Anstieg des Serumcortisols. Allerdings unterschied sich der Versuchsablauf in dieser Untersuchung in mehreren Punkten vom Ablauf in der vorliegenden Arbeit. So wurde die Blutentnahme zur Ermittlung des Basalwerts unmittelbar vor der Injektion entnommen, 0,5 Stunden nach der Injektion erfolgte eine erneute Blutentnahme. Eine Stunde nach der Injektion konnte ein signifikanter Anstieg des Serumcortisols ermittelt werden (UHL, 2013). Somit wurde in der Studie von UHL (2013) möglicherweise die Belastung durch die Blutentnahme mit der dazugehörigen Fixation miterfasst, wodurch sich die Diskrepanz zur vorliegenden Studie ergeben könnte. Um die Intensität und die Dauer der Schmerz- und Stressbelastung besser beurteilen zu können, wurde für beide Versuchsgruppen die area under the curve (AUC) berechnet. Dieser war für die Gruppe A-Drax um den Faktor 1,5 signifikant höher, als der AUC der Versuchsgruppe A-Dupha. Damit bestätigt der AUC die Ergebnisse des Serumcortisols im Gruppenvergleich und bestätigt die Annahme, dass das applizierte Volumen und die substanzspezifische Reizwirkung der Lösungsmittel und der Wirkstoffe größeren Einfluss auf die Schmerz- und Stressbelastung bei einer Injektion haben als die Häufigkeit der Injektion. Um die Belastung der Tiere einordnen zu können, sollten für die Interpretation der maximal erreichten Cortisolkonzentration dieser Studie Vergleichswerte herangezogen werden. So stieg nach der Umgruppierung von Schweinen in der Studie von DEGUCHI und AKUZAWA (1998) der mittlere Serumcortisolspiegel der

bereits in der Bucht gewesenen Tiere innerhalb einer Stunde um den Faktor 2,33 signifikant an. Der Serumcortisolspiegel der neu eingestallten Tiere stieg um den Faktor 2,46 signifikant an (DEGUCHI und AKUZAWA, 1998). In der Studie von STARK (2014) konnte für das Einziehen von Ohrmarken ein Anstieg um den Faktor 4,1, für das Kupieren der Schwänze ein Anstieg um den Faktor 2,7 und für die Kastration ein Anstieg um den Faktor 4,65 dargestellt werden. In der vorliegenden Studie stieg der mittlere Serumcortisolspiegel der Versuchsgruppe A-Drax 0,5 Stunden nach der Injektion signifikant um den Faktor 2,1 ausgehend vom Basalniveau an, wohingegen sich der mittlere Serumcortisolspiegel der Gruppe A-Dupha nicht signifikant vom Basalniveau unterschied. Somit ist sowohl die einmalige Injektion eines Langzeitpräparats, als auch die wiederholte Injektion eines Präparates als weniger belastend als das Einziehen von Ohrmarke, das Kupieren von Schwänzen, das Vermischen unbekannter Gruppen oder die Kastration von Ferkeln einzuschätzen.

#### 1.2. Speichelcortisol (Teilversuch C)

Die Gruppe C-Drax wies nach der ersten Injektion eine signifikant höhere mittlere Speichelcortisolkonzentration auf als die Gruppe C-Dupha. Die mittleren Speichelcortisolkonzentrationen vor der Injektion und an Versuchstag 2 und 3 unterschieden sich nicht signifikant zwischen den zwei Versuchsgruppen. Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen aus Teilversuch A mit Saugferkeln. Da die Speichelentnahme und die Injektion durch dieselbe studiendurchführende Person in derselben Art und Weise durchgeführt wurden, ist ein Einfluss durch die Vorgehensweise bei der Durchführung der Studie auf die ermittelten Speichelcortisolkonzentrationen auszuschließen. Um die Volumendifferenz der injizierten Präparate zwischen den beiden Versuchsgruppen möglichst gering zu halten, wurde den Mastschweinen der Gruppe C-Drax das Präparat in einer höheren Konzentration (Draxxin<sup>®</sup>, 100 mg/ml) appliziert. Aufgrund dessen wurde den Mastschweinen der Gruppe C-Drax ein Volumen zwischen 1,0 und 1,4 ml Draxxin® injiziert, wohingegen die Mastschweine der Gruppe C-Dupha zwischen 2,0 und 2,9 ml Duphamox® erhielten. In Teilversuch B wurde vermutet, dass die signifikant höhere Creatinkinaseaktivität der Saugferkel der Gruppe B-Drax nach der ersten Injektion im Vergleich mit der Gruppe B-Dupha auch auf das höhere

Volumen der Injektion zurückzuführen war. Daher wurde angenommen, dass es einer größeren Gewebeschädigung und somit zu einer höheren Schmerzbelastung der Gruppe B-Drax kam. Die geringeren applizierten Volumina bei Gruppe C-Drax in Teilversuch C widersprechen dem Einfluss des Volumens auf die Speichelcortisolkonzentration. Auch beschreibt KERN (1987), dass die substanzspezifische Reizwirkung eines Präparates unter anderem von der verwendeten Konzentration abhängig ist. Dies widerspricht jedoch den Ergebnissen der Speichelcortisolkonzentration in der vorliegenden Arbeit, da Draxxin<sup>®</sup> in einer niedrigeren Konzentration (100 mg/ml) als Duphamox<sup>®</sup> (150 mg/ml) verwendet wurde und dennoch an Versuchstag 1 eine signifikant höhere Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Drax im Vergleich zur Gruppe C-Dupha ermittelt werden konnte. Ein weiterer Faktor, der bei der Beurteilung der Schmerz- und Stressbelastung nach einer Injektion in Betrachtung gezogen werden muss, ist die lokale Reizwirkung der Wirk- und Hilfsstoffe der Präparate. Wie unter 3. Creatinkinase (Teilversuch B) ausgeführt enthält Draxxin® Wasser für Injektionszwecke als Lösungsmittel und Duphamox® Kokosfett. Laut SVENDSEN (1983b) führen Medikamente auf Wasserbasis zu größeren lokalen Muskelschäden als Medikamente auf Ölbasis, die dann zu einer größeren Schmerzbelastung der Tiere durch die Injektion führen. Auch die Wirkstoffe und Lösungsmittel haben Einfluss auf die lokale Verträglichkeit der Arzneimittel 1987). Über die gesamte Versuchsdauer war die Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Drax numerisch höher als die mittlere Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Dupha. Bis auf einen signifikanten Anstieg der Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Drax vom Basalniveau auf den ermittelten Wert 0,5 Stunden nach der Injektion, konnten keine weiteren signifikanten Anstiege beider Gruppen ermittelt werden. Zu diesem Zeitpunkt war die Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Drax signifikant höher als die Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Dupha. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen der Studie von MERLOT et al. (2011), in dieser riefen milde Stressoren wie eine spätere Fütterung oder eine Blutentnahme dem Schwanz keine Erhöhung der Speichelcortisolkonzentration hervor. Die Ergebnisse der Speichelcortisolerfassung in Teilversuch C lassen vermuten, dass die

Zusammensetzung des Präparats und die damit verbundene lokale Reizwirkung mehr Einfluss auf die Schmerz- und Stressbelastung durch die Injektion haben als die Häufigkeit der Injektion.

#### 2. Katecholamine

Die Parameter Adrenalin und Noradrenalin erwiesen sich in einer Vielzahl von Studien als geeignet, um Stress und Schmerz beim Schwein zu bewerten (ROOZEN et al., 1995; NEUBERT et al., 1996b; SCHULZ et al., 2007; ÜBEL, 2011). Laut KVETNANSKY et al. (1979) spiegelt die Erhöhung von Adrenalin im Plasma während des Stressgeschehens die Aktivität des NNM dar, wohingegen eine Erhöhung des Noradrenalins auf eine Erhöhung der sympathischen Aktivität zurückzuführen ist. Ein Anstieg des Parameters Adrenalin im Plasma tritt vor allem nach psychischer Erregung aufgrund von Angst ein, die Erhöhung des Noradrenalinspiegels ist auf aktive Abwehr- und Wutreaktionen zurückzuführen (DÖCKE und KEMPER, 1994). Da auch im Ruhezustand des Organismus eine kontinuierliche Katecholaminsekretion stattfindet (DÖCKE und KEMPER, 1994) und schon das Einfangen und die Fixation von Schweinen zu einer Erhöhung der Katecholaminkonzentration im Blut führen (NEUBERT et al., 1996a), war es notwendig eine Blutentnahme vor der Injektion zur Erfassung der Katecholaminkonzentration nach Einfangen, Fixation und Blutentnahme durchzuführen, um einen Bezugswert für die Konzentrationserhöhung nach der Injektion zu haben. Die Durchführung dieser Blutentnahme fand 2,5 Stunden vor der Injektion statt, um die ermittelten Werte nach der Injektion nicht durch die erste Blutentnahme zu beeinflussen. Da laut DÖCKE und KEMPER (1994) die Halbwertszeit der Katecholamine bei 20 Sekunden bis 10 Minuten liegt, wurden die Saugferkel in der vorliegenden Arbeit unmittelbar nach der Injektion einer Blutentnahme unterzogen. Aufgrund dieser kurzen Halbwertszeit konnte die Bestimmung der Katecholamine nicht aus den Blutproben aus Teilversuch A (Serumcortisol) erfolgen, weshalb für Teilversuch B keine Tiere aus Teilversuch A beprobt wurden, um diese nicht mit einer zusätzlichen Blutentnahme zu belasten.

## 2.1. Adrenalin (Teilversuch B)

Für die mittleren Adrenalinwerte von Saugferkeln unmittelbar nach der Blutentnahme, wie sie in der vorliegenden Untersuchung durchgeführt wurde, variieren die Angaben in der Literatur. So konnten HEINRITZI et al. (2006) für den bei 4 Saugferkel Parameter Adrenalin Tage alten eine mittlere Adrenalinkonzentration von 1141 pg/ml messen, in der Studie von MÜHLBAUER (2009) konnte bei 3 bis 6 Tage alten Saugferkeln eine mittlere Adrenalinkonzentration von 633 bis 1007 pg/ml ermittelt werden. Diese Ergebnisse decken sich mit der vorliegenden Untersuchung in der die mittleren Adrenalinkonzentrationen bei der ersten Blutentnahme 817 bis 981 pg/ml betrugen. Da der ermittelte Adrenalinwert nach der Injektion die Belastung durch die Venenpunktion, das Handling und die Fixation miteinschließt, muss dieser Wert auf den ermittelten Basalwert vor der Injektion bezogen werden, um anhand des Anstiegs eine Aussage über den Grad des empfundenen Schmerz und den Stress durch die Injektion machen zu können. Bei großer Stress- und Schmerzbelastung kann die Adrenalinkonzentration von Schweinen im Blut stark ansteigen. So stieg in der Studie von SCHULZ (2007) der mittlere Adrenalinwert von Saugferkeln nach der Kastration um das 1,8 fache ausgehend vom Basalwert von 1185,73 pg/ml auf 2189,21 pg/ml signifikant an. Im Verlauf des Versuches konnten innerhalb der Gruppe B-Dupha keine signifikanten Unterschiede zum Basalniveau ermitteln werden. In beiden Versuchsgruppen stellte der Basalwert den höchsten ermittelten Adrenalinwert der Gruppen Adrenalinkonzentration nach der Injektion der Gruppe B-Drax an Versuchstag 1 unterschied sich ebenfalls nicht signifikant vom Basalniveau, wohingegen die Adrenalinkonzentrationen dieser Versuchsgruppe an Versuchstag 2 und 3 signifikant kleiner waren als der ermittelte Wert nach der Injektion an Versuchstag 1. Dieses Ergebnis könnte für eine Gewöhnung der Tiere an die Blutentnahme und dem damit verbundenen Handling und der Fixation sprechen. So gehen KONARSKA et al. (1990) davon aus, dass bei Ratten, die wiederholt der gleichen milden bis moderaten Stressbelastung ausgesetzt werden eine gewisse Habituation eintritt, die der Einsparung von Energie dient. Allerdings tritt die Habituation nur ein, wenn der spezifische Stressor von milder bis moderater Intensität ist und keine ernsthafte Bedrohung für das Überleben des Tieres

darstellt (MCCARTY, 1994). In den Untersuchungen von DE BOER et al. (1990) konnte gezeigt werden, dass Ratten die wiederholt in einen Käfig mit einem 5 cm hohen Wasserspiegel (35 ºC) gesetzt wurden, beim ersten Mal höhere Katecholaminspiegel aufwiesen als an den darauffolgenden fünf Tagen an denen diese Prozedur wiederholt wurde. An allen Versuchstagen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den mittleren Adrenalinkonzentrationen der beiden Versuchsgruppen ermittelt werden. Auch der AUC unterschied sich nicht signifikant zwischen den beiden Versuchsgruppen. Die erfassten Adrenalinkonzentrationen und auch der AUC der Gruppe B-Dupha waren zu allen Zeitpunkten des Versuchs numerisch höher als die ermittelten Werte und der AUC der Gruppe B-Drax. Möglicherweise lässt sich dieser Umstand damit erklären, dass die ermittelten Adrenalinwerte der Versuchsgruppe B-Dupha bereits nach der ersten Blutentnahme vor der Injektion numerisch größer als die ermittelten Werte der Guppe B-Drax waren. Dieses Ergebnis spricht dafür, dass durch die Injektion in beiden Versuchsgruppen keine mit dem Parameter Adrenalin messbare Schmerz- und Stressbelastung ausgelöst wurde.

## 2.2. Noradrenalin (Teilversuch B)

Die ermittelte Basalkonzentration des Parameters Noradrenalin in der vorliegenden Arbeit lag zwischen 1599 und 1902 pg/ml. Diese Werte decken sich mit der mittleren Noradrenalinkonzentration nach der Blutentnahme mit dem dafür notwendigen Handling und der Fixation von MÜHLBAUER (2009), die zwischen 1431 pg/ml und 2043 pg/ml lag. Innerhalb der Gruppe B-Drax stieg die mittlere Noradrenalinkonzentration nach der Injektion signifikant um den Faktor 1,4 an, die ermittelte Konzentration nach der Injektion entsprach der Maximalkonzentration dieser Gruppe über den gesamten Versuchsverlauf. Dies könnte womöglich auf eine höhere Reizwirkung des Präparates Draxxin® im Vergleich mit dem Präparat Duphamox® zurückzuführen sein. Diese These wird durch die humanmedizinische Studie von FRIEDRICH et al. (1998) bestärkt. In dieser Studie konnte bei Patienten nach einer Laparotomie, die mit einem weitaus höheren Gewebetrauma höhere einhergeht, Noradrenalinkonzentrationen ermittelt werden, als nach der weniger invasiven Laparoskopie (FRIEDRICH et al., 1998). Außerdem konnte trotz des gleichen

Kanülendurchmesser und identischer Vorgehensweise kein signifikanter Anstieg der Noradrenalinkonzentration zwischen der Blutentnahme vor der Injektion und der Blutentnahme nach der Injektion in der Gruppe B-Dupha beobachtet werden. An Versuchstag 2 und 3 lag die mittlere Noradrenalinkonzentration der Gruppe B-Drax nicht signifikant über der ermittelten Noradrenalinkonzentration nach der Injektion an Versuchstag 1. Innerhalb der Gruppe B-Dupha konnte von der ermittelten Noradrenalinkonzentration vor der Injektion ein nicht signifikanter **Anstieg** um den Faktor 1,2 auf die mittlere Noradrenalinkonzentration nach der Injektion an Versuchstag 1 dokumentiert werden. An Versuchstag 3 wurde die maximale Noradrenalinkonzentration der Versuchsgruppe B-Dupha ermittelt. Die Untersuchungen von HANSON (1963) deuten darauf hin, dass die lokale Gewebereaktion in Stärke und der Anzahl der Nekrosen nach wiederholter Injektion bei Kaninchen zunimmt. Auch in der Untersuchung von SHINTANI et al. (1967) konnten nach wiederholter intramuskulärer Injektion bei Kaninchen stärkere lokale Gewebereaktionen dokumentiert Wie bereits werden. eingangs erwähnt, konnte in humanmedizinischen Studien ein Zusammenhang zwischen der Noradrenalinkonzentration und der Größe des Gewebetraumas nach Operationen festgestellt werden (FRIEDRICH et al., 1998), womöglich stieg die Noradrenalinkonzentration in der vorliegenden Arbeit aus diesem Grund nach der dritten Injektion an Versuchstag 3 in der Gruppe B-Dupha maximal an. Die mittleren Noradrenalinkonzentrationen und der AUC der Versuchsgruppen unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt des Versuches signifikant voneinander. Allerdings lagen die mittleren Noradrenalinkonzentrationen der Gruppe B-Dupha stets numerisch über den Werten der Gruppe B-Drax. Da aber auch der zu Beginn vor der Injektion ermittelte Wert der Gruppe B-Dupha numerisch über dem ermittelten Wert der Gruppe B-Drax lag, könnte dieser Umstand als Erklärung hierfür dienen. Daher scheint mit dem Parameter Noradrenalin kein Unterschied in der Stressreaktion bei einer einmaligen im Vergleich zu einer mehrmaligen Injektion ermittelt werden zu können. Dennoch lässt sich festhalten, dass sich durch eine einmalige Injektion des Präparates Draxxin eine messbare Stressreaktion unmittelbar nach der Injektion ermitteln lässt. Ebenso lässt sich durch eine dreimalige Injektion des Präparates Duphamox® an

Versuchstag 3, nach der dritten Injektion, eine deutliche Steigerung der Noradrenalinkonzentration dokumentieren. Allerdings gilt es zu beachten, dass die Noradrenalinkonzentration von Schweinen im Blut bei großer Belastung wie beispielsweise bei einer Kastration immens ansteigen kann. So konnte in der Studie von SCHULZ (2007) ein signifikanter Anstieg der mittleren Noradrenalinkonzentration um den Faktor 3,5 von 1636,70 pg/ml vor der Kastration auf 5729,84 pg/ml nach der Kastration dokumentiert werden.

# 3. Creatinkinase (Teilversuch B)

Die Messung der Creatinkinase im Blut von Schweinen wurde schon in vielen Studien erfolgreich zur Bewertung von Muskelschäden aber auch zur Beurteilung einer erhöhten Belastung und Stress eingesetzt (CHAVEZ MORENO und BICKHARDT, 1997; ZÖLS, 2006; UHL, 2013). Da der maximale Anstieg der Creatinkinase im Blut bei Saugferkeln etwa 4 Stunden nach der Belastung durch eine Kastration (ZÖLS, 2006) oder durch eine Injektion (UHL, 2013) auftritt, konnten für die Messung der Creatinkinaseaktivität die Blutproben für die Messung der Katecholamine nicht verwendet werden, sondern es wurden dafür eigens Blutproben genommen. Die Creatinkinasekonzentration im Blut unterliegt altersabhängigen Schwankungen (GROCHOLL und BICKHARDT, 1988) und ist zudem auch abhängig von der Stressempfindlichkeit (BICKHARDT und SCHWABENBAUER, 1981; HEINRITZI, 2006a) und dem Belastungsgrad (LENGERKEN und PFEIFFER, 1977; HEINRITZI, 2006a). Aufgrund dieser Umstände wurden in der vorliegenden Arbeit Tiere gleichen Alters gewählt. Da die Creatinkinase physiologisch im Blut vorhanden ist (LEFEBVRE et al., 1996), wurde ein Basalwert als Referenz für den Anstieg nach der Injektion ermittelt. Auch die Art der Blutgewinnung beeinflusst die Konzentration der Creatinkinase im Blut. So ist die gemessene Creatinkinasekonzentration im Blut höher wenn das Blut durch Venenpunktion gewonnen wird als bei der Gewinnung mittels zentralem Venenkatheter (DUBREUIL et al., 1990). Auch die Erfahrung blutentnehmenden beeinflusst Person die Creatinkinasekonzentration (DUBREUIL et al., 1990). So konnten DUBREUIL et al. (1990) nach der Blutentnahme durch eine erfahrene Person, die 10 bis 15 Sekunden dauerte signifikant niedrigere Creatinkinasekonzentrationen im Blut ermitteln, als nach

der Blutentnahme durch eine unerfahrene Person, die 5 bis 8 Minuten dauerte. Dies könnte auf die lange Zeit, welche die unerfahrene blutentnehmende Person benötigt zurückzuführen sein, da Stress eine Erhöhung der Creatinkinasekonzentration im Blut auslösen kann (DUBREUIL et al., 1993). Dieser Effekt ist in der vorliegenden Studie allerdings auszuschließen, da die Blutentnahme stets durch dieselbe studiendurchführende, erfahrene Person erfolgte.

In der vorliegenden Arbeit konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen 4 Stunden nach der ersten Injektion und ein signifikanter Unterschied beim Vergleich des AUC zwischen den Gruppen ermittelt werden. Dabei war die mittlere Creatinkinasekaktivität der Gruppe B-Drax nach der ersten Injektion um den Faktor 2,88 höher als die mittlere Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Dupha. Auch der AUC der Gruppe B-Drax war um den Faktor 2,1 signifikant höher als der AUC der Gruppe B-Dupha. Da die Blutentnahme und die Injektion durch dieselbe studiendurchführende Person vorgenommen wurden und das Handling und der Ablauf der Fixation und der Blutentnahme identisch waren, ist trotz möglicher Einflussnahme dieser Faktoren auf die Creatinkinaseaktivität ein Vergleich zwischen den Gruppen möglich. Die Mehrbelastung der Tiere der Gruppe B-Drax ist möglicherweise auf das höhere Volumen des applizierten Präparates zurückzuführen, da die Untersuchungen von ELICKER (2006) einen direkten Zusammenhang zwischen dem appliziertem Volumen und der lokalen Verträglichkeit ergaben. Mit steigendem Volumen stieg das Ausmaß der lokalen Reaktion und somit möglicherweise der Stress und Schmerz durch die Injektion an (ELICKER, 2006). Den Tieren der Gruppe B-Drax wurde ein Injektionsvolumen zwischen 0,21-0,28 ml nach Produktinformation des Herstellers appliziert. Die Tiere der Gruppe B-Dupha erhielten ein Injektionsvolumen zwischen 0,11-0,17 ml und somit ein deutlich kleineres Volumen als die Tiere der Gruppe B-Drax. Dies stimmt mit den Ergebnissen von GRAVEN-NIELSEN et al. (1997) überein, in deren humanmedizinischer Studie der empfundene Schmerz der Patienten bei einer Injektion von 0,1 ml hypertoner Kochsalzlösung signifikant geringer war, als bei einer Injektion von 0,5 ml hypertoner Kochsalzlösung. Die höhere mittlere

Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Drax an Versuchstag 1 könnte dem unterschiedlichen Injektionsvolumen beider Gruppen geschuldet sein. Des Weiteren verursachen Medikamente auf Wasserbasis weitaus größere lokale Muskelschäden als Medikamente auf Ölbasis (SVENDSEN, 1983a), die womöglich höheren Schmerzbelastung einhergehen. Das verwendete mit einer Lösungsmittel der Medikamente könnte Einfluss auf die höhere Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Drax an Versuchstag 1 ausüben, da Draxxin® Produktinformation des Herstellers (100 mg/ml) laut Wasser Injektionszwecke als Lösungsmittel und Duphamox<sup>®</sup> (150 mg/ml) Lösungsmittel Kokosfett enthält. Ein weiterer Faktor der bei der Beurteilung der lokalen Verträglichkeit und somit auch des Schmerzes bei einer Injektion miteinzubeziehen ist, ist die substanzspezifische Reizwirkung der Lösungsmittel und der Wirkstoffe, die unter anderem abhängig von der verwendeten Konzentration ist (KERN, 1987). In der vorliegenden Untersuchung wurden die Präparate Draxxin<sup>®</sup> in der Konzentration 25 mg/ml und Duphamox<sup>®</sup> in einer höheren Konzentration von 150 mg/ml verwendet. Trotz der geringeren Konzentration des Präparates Draxxin® konnte mit dem Parameter Creatinkinase an Versuchstag 1 eine signifikant höhere Creatinkinaseaktivität der Gruppe B-Drax und damit eine größere Gewebeschädigung durch die Injektion dokumentiert werden, dies weist auf eine höhere Reizwirkung der Lösungsmittel und des Wirkstoffs dieses Präparates hin. Dieses Ergebnis spiegelt sich zum Teil in der Arbeit von NOUWS (1984) wider, die in ihrer Arbeit Schweinen verschiedene Formulierungen des Wirkstoffes Oxytetrazyklin in zehnprozentiger und zwanzigprozentiger Konzentration injizierten. NOUWS (1984) konnte darstellten, dass bei der Injektion desselben Wirkstoffes in geringerer Konzentration geringere lokale Muskelschäden auftreten, allerdings der Umfang und das Vorhandensein lokaler Irritationen abhängig von der Zusammensetzung der Formulierung des Präparates ist. Auch HANSON (1961) postulierte in seiner Arbeit mit Kaninchen, dass Präparate mit verschiedenen Wirkstoffen und Lösungsmitteln unterschiedliche lokale Reaktionen hervorrufen können. ELICKER (2006) konnte in ihrer Studie in der histologischen Untersuchung eine hochgradige Muskeldegeneration mit Koagulationsnekrose nach der einmaligen Applikation von Draxxin® (100 mg/ml) feststellen. Innerhalb der Gruppe B-Drax

konnte ein signifikanter Anstieg 4 Stunden nach der Injektion im Vergleich zum Basalwert vor der Injektion dokumentiert werden. An Versuchstag 2 war die Aktivität der Creatinkinase signifikant niedriger als 4 Stunden nach der Injektion, allerdings numerisch um den Faktor 2,9 höher als der Basalwert dieser Gruppe. Innerhalb der Gruppe B-Dupha konnte kein signifikanter Anstieg vom Basalwert der Gruppe auf die mittlere Creatinkinaseaktivität nach der ersten Injektion an Versuchstag 1 ermittelt werden. Die mittleren Creatinkinaseaktivitäten der Gruppe B-Dupha nach der Injektion an Versuchstag 1-3 lagen numerisch über der ermittelten Basalkonzentration, die Vergleiche innerhalb der Gruppe ergaben dennoch keine signifikanten Unterschiede. Somit ist davon auszugehen, dass auch in dieser Gruppe eine gewisse lokale Gewebereaktion vorlag, die allerdings als geringer einzustufen ist als jene der Gruppe B-Drax.

# 4. Chromogranin A (Teilversuch C)

Die Messung von Chromogranin A (CgA), das gemeinsam mit den Katecholaminen sezerniert wird (BLASCHKO et al., 1967), dient der Erfassung der Aktivierung des sympathischen Nervensystems und konnte schon in mehreren Studien erfolgreich beim Schwein eingesetzt werden (ESCRIBANO et al., 2013; ESCRIBANO et al., 2015). Die Erhebung der CgA-Konzentrationen erfolgte ebenfalls aus den gewonnenen Speichelproben. ESCRIBANO et al. (2015) konnten nach Isolation und Regruppierung von Schweinen 0,5 Stunden nach der Regruppierung einen signifikanten Unterschied der CgA-Konzentration im Vergleich zum Basalwert, der vor der Isolation erhoben wurde, feststellen. Im Gegensatz dazu wurde in der Studie von OTT et al. (2014) nach der Neugruppierung von Schweinen kein signifikanter Unterschied der CgA-Konzentrationen erfasst, allerdings führte ein 24 Stunden dauernder Futterentzug zu einem signifikanten Anstieg innerhalb der Versuchsgruppe nach Wiedereinsetzung der Fütterung. Trotzdem konnte während des gesamten Versuches kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe dokumentiert werden, was OTT et al. (2014) auf die hohen individuellen Unterschiede der CgA-Messwerte zwischen den Einzeltieren und das Probenentnahmeschema des Versuchs zurückführten. Laut OTT et al. (2014) war nicht auszuschließen, dass ein eventuell vorhandener Anstieg der CgA Konzentration verpasst wurde. Auch in der Studie von ESCRIBANO et al. (2013) wurden große individuelle Unterschiede zwischen den CgA-Konzentrationen der Einzeltiere festgestellt.

In der vorliegenden Studie wurde aufgrund des Probenentnahmeschemas der Cortisolerhebung und der Studie von ESCRIBANO et al. (2015) die Speichelprobe zur Bestimmung der CgA-Konzentration 0,5 Stunden nach der Injektion entnommen. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den CgA-Konzentrationen aller Beprobungszeitpunkte und des AUC beider Gruppen festgestellt werden. Auch innerhalb der Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede der CgA-Konzentrationen nach der Injektion feststellbar. Dieser Umstand könnte dem Probenentnahmeschema des Versuchs geschuldet sein, da in der Literatur sowohl nach 0,5 Stunden (ESCRIBANO et al., 2015), aber auch

bereits nach 15 Minuten von einem signifikanten Anstieg der CgA-Konzentration nach der Fixation in der Oberkieferschlinge (ESCRIBANO et al., 2013) berichtet wird. Dabei stieg die CgA-Konzentration um 31 % ausgehend vom Basalniveau an (ESCRIBANO et al., 2013). In der vorliegenden Untersuchung stieg die CgA-Konzentration nach der Injektion ausgehend vom Basalwert in der Gruppe C-Drax um 12 % und in der Gruppe C-Dupha um 41 % nicht signifikant an. Möglicherweise stellt eine Injektion einen milden Stressor dar und führt deshalb zu keiner signifikanten Erhöhung der CgA-Konzentration, ähnliches wurde in der Studie von OTT et al. (2014) nach der Neugruppierung von Schweinen dokumentiert. Um eine genauere Aussage bezüglich der Stressbelastung nach einer Injektion machen zu können bedarf es weiterer Untersuchungen der Kinetik des Parameters CgA im Speichel.

Laut ARENDT-NIELSEN et al. (2006) korreliert auch der Durchmesser der verwendeten Kanüle mit dem empfundenen Schmerz bei einer Injektion. Aufgrund dessen wurde zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse in allen Versuchsgruppen ein einheitlicher Kanülendurchmesser gewählt.

# 5. Injektionsscore (TV A, B, C)

Die Untersuchung der Injektionsstelle erfolgte rein adspektorisch um die Erfassung der Konzentration der untersuchten Parameter nicht zu beeinflussen. In Teilversuch A zeigte nur ein Saugferkel aus der Gruppe A-Dupha von insgesamt 48 Versuchstieren eine lokale Hautreaktion an Versuchstag 3. Dieses Tier wies eine geringgradige Umfangsvermehrung ohne Rötung der Injektionsstelle auf. In Teilversuch B zeigten sechs Tiere der insgesamt 40 Versuchstiere eine geringgradige Umfangsvermehrung, davon waren vier Tiere aus der Gruppe B-Dupha und zwei Tiere aus der Gruppe B-Drax. Von insgesamt 42 Versuchstieren aus Teilversuch C zeigten über den dreitägigen Verlauf des Versuches sechs Tiere eine geringgradige Rötung, zwei Tiere eine geringgradige Umfangsvermehrung und ein Versuchstier eine geringgradige Rötung und eine geringgradige Umfangsvermehrung der Injektionsstelle auf. Die Auswertung Häufigkeitsverteilung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den jeweiligen Versuchsgruppen. Diese Ergebnisse sprechen für eine gute

Verträglichkeit beider Präparate sowohl bei Mastschweinen als auch bei Saugferkeln. Im Gegensatz hierzu konnte in der Untersuchung von ELICKER (2006) vier Stunden nach der einmaligen Injektion von Draxxin® (100 mg/ml) mit der Dosierung 0,025 ml/kg bei 3-28 Tage alten Saugferkeln eine Lokalreaktion im Sinne einer leichten Erwärmung (zwei von neun Tieren), einer Verfärbung der Haut (eins von neun Tieren) und einer Umfangsvermehrung (eins von neun Tieren) dokumentiert werden. Außerdem wurde bei einem Tier eine mittelgradige Änderung der Konsistenz festgestellt (ELICKER, 2006). In der vorliegenden Untersuchung wurden diese palpatorischen Parameter bis auf die Umfangsvermehrung aus dem oben genannten Grund der Beinflussung nicht erhoben. Des Weiteren stellte ELICKER (2006) in der histologischen Untersuchung eine hochgradige Muskeldegeneration mit Koagulationsnekrose fest. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie konnten in der Arbeit von BEFFORT (2015) häufiger lokale Hautreaktionen nach der Applikation eines intramuskulär zu injizierenden Mykoplasmenimpfstoffs dokumentiert werden. Es zeigten 22 30 Tieren eine Umfangsvermehrung, 22 von 30 Tieren eine Konsistenzänderung und 24 von 30 Tieren eine Rötung und/oder Erwärmung der Injektionsstelle (BEFFORT, 2015). Mögliche Ursachen für die häufiger auftretenden lokalen Hautreaktionen in der Studie von BEFFORT (2015) könnten das höhere Volumen von 2 ml im Vergleich zur vorliegenden Studie vor allem bei den Saugferkeln und die Zusammensetzung des Impfstoffes insbesondere dem verwendeten Adjuvanz sein. So konnte in der Studie von ELICKER und SIPOS (2009) nach der Injektion verschiedener Mykoplasmenimpfstoffe gezeigt werden, dass die lokale Gewebereaktion nach Art des Adjuvanz und dem injizierten Volumen variierte. Insgesamt zeigt sich, dass in der vorliegenden Studie nur in sehr geringem Maße lokale Hautreaktionen der Injektionsstelle auftraten, was für eine gute lokale Verträglichkeit beider Präparate spricht.

# 6. Verhaltensbeobachtung (TV A, B, C)

Neben der Beurteilung physiologischer Schmerzparameter ist die Beurteilung des Verhaltens ein wichtiger Parameter für den empfundenen Schmerz eines Tieres (MOLONY und KENT, 1997). Für die Beurteilung wurden verschiedene Verhaltensweisen ausgewählt, die geeignet sind um Schmerzen beim Tier beurteilen zu können. So wurde beispielsweise die Lautäußerung der Tiere während und nach der Injektion auf Vorhandensein und Intensität beurteilt, da dieser Parameter in einer Vielzahl von Studien zur Beurteilung für das Wohlbefinden und Stress bei Schweinen verwendet wurde (NOONAN et al., 1994; BENNETT et al., 1998; WASHBURN et al., 2007). Der Parameter "Kratzen der caudalen Körperregion gegen den Boden" wird in der Studie von HAY et al. (2003) und LLAMAS MOYA et al. (2008) zur Beurteilung des Schmerzverhaltens nach der Kastration von Saugferkeln angewendet und auch die EFSA beschreibt "Kratzen" im Allgemeinen als Schmerz- und Verhaltensparameter (EFSA, 2004). Der Parameter "Flucht (Weglaufen)" wird ebenfalls bei der EFSA als Schmerzund Verhaltensparameter (EFSA, 2004) beschrieben und auch HAY et al. (2003) und LLAMAS MOYA et al. (2008) beurteilen das Bewegungsmuster der Tiere nach der Kastration, um Rückschlüsse auf den empfundenen Schmerz eines Ferkels ziehen zu können. Ein weiterer Parameter, der in der vorliegenden Studie beurteilt wurde, war die Zeit, die ein Tier benötigte, um zu seinem Normalverhalten zurückzukehren. Das Normalverhalten war hierbei definiert als natürliche Verhaltensweise der Tiere wie aus dem Trog trinken, ans Gesäuge gehen, Ablegen, Interaktion mit anderen Schweinen oder der Sau. Diese Parameter dokumentieren auch HAY et al. (2003) und LLAMAS MOYA et al. (2008) in ihren Studien. Um vom Verhalten eines Tieres auf den empfundenen Schmerz schließen zu können, sollten Verhaltensweisen, die als schmerzspezifisch angesehen werden, bei schmerzfreien Tieren nicht auftreten beziehungsweise durch Schmerzmittel reduziert werden (PRUNIER et al., 2012). Ein wichtiger Aspekt wenn von der Verhaltensbeobachtung auf Schmerzen beim Tier geschlossen werden soll, ist die Subjektivität des Beobachters aufgrund unterschiedlicher Wahrnehmung und Interpretation (PRUNIER et al., 2012). In der vorliegenden Studie wurden die Verhaltensbeobachtungen von zwei

verschiedenen Personen durchgeführt. Da beide Personen Tiere beider Versuchsgruppen beobachteten, ist dennoch ein Vergleich zwischen den Versuchsgruppen möglich. In Teilversuch A und C wurden Verhaltensbeobachtungen vor der Injektion durchgeführt, daher ist lediglich ein Vergleich zwischen den Versuchsgruppen möglich. Jedoch ergab die vorliegende Untersuchung keine Unterschiede im Verhalten der Saugferkel beider Versuchsgruppen aus Teilversuch A in Bezug auf die Häufigkeit der einzelnen Verhaltensparameter (Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem, Urin-/Kotabsatz). Der Einzelscore des Parameters Kratzen der Versuchsgruppe A-Dupha an Versuchstag 1 war signifikant höher als der Einzelscore der Gruppe A-Drax, aber auch signifikant höher als der Einzelscore dieser Gruppe an Versuchstag 3. Dies spricht dafür, dass keine Kumulierung des Schmerzes und Stress durch eine wiederholte Injektion auftritt. In den Untersuchungen von HAY et al. (2003) kratzten sich Saugferkel, die einer Kastration unterzogen wurden häufiger als die unkastrierten Tiere der Kontrollgruppe. Dies würde für eine lokale Irritation der Tiere der Gruppe A-Dupha durch die Injektion an Versuchstag 1 sprechen. Zwar wies der Parameter Kratzen an Versuchstag 1 einen signifikanten Unterschied bei der Auswertung des Verhaltensscores zwischen den zwei Versuchsgruppen auf, der Gesamtscore ergab allerdings keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Dies weist darauf hin, dass beide Versuchsgruppen eine gleichwertige Belastung durch die Injektion und dem damit verbundenen Handling empfanden und aufgrund dessen ähnliche Verhaltensmuster aufwiesen. Da im vorliegenden Versuch keine Kontrollgruppe oder eine Verhaltensbeobachtung vor dem Versuch stattfand, ist diese These nur schwer zu überprüfen. Die Auswertung des Verhaltens der Gruppe A-Dupha ergab, dass sich das Verhalten der Tiere außer für den beschriebenen Parameter Kratzen sowie die Zeit bis zur Rückkehr zum Normalverhalten zwischen Versuchstag 1-3 nicht signifikant änderte. Dies lässt die Annahme zu, dass die Injektion im Verlauf des Versuches keine größere lokale Irritation auslöste als an Versuchstag 1 und es nicht wie bei HANSON (1961) beschrieben zu größerer Gewebeschädigung durch wiederholte Injektionen kommt. Die durchschnittliche Zeit, welche die Tiere der Gruppe A-Dupha an Versuchstag 1 nach der ersten Injektion benötigten um zum Normalverhalten zurückzukehren, war signifikant

länger als an Versuchstag 3. Dies könnte für eine Gewöhnung der Tiere an eine wiederkehrende milde bis moderate Stressbelastung sprechen. In der Untersuchung von KONARSKA et al. (1990) konnte anhand der Messung von Adrenalin und Noradrenalin eine Gewöhnung von Ratten an eine Fixierung als milde bis moderate Belastung demonstriert werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Ermittlung des Parameters Adrenalin in Teilversuch B.

Im Gegensatz zu der Verhaltensbeobachtung in Teilversuch A, wurde in Teilversuch B eine Verhaltensbeobachtung bereits nach der ersten Blutentnahme noch vor der ersten Injektion vorgenommen, um zu evaluieren, ob die Verhaltensparameter beobachteten allgemeine Stressund Schmerzverhaltensweisen beim Saugferkel sind oder als spezifisch für das Verhalten nach einer Injektion mit der dazugehörigen Fixation angesehen werden können. Es ergaben sich zwischen der Häufigkeitsverteilung, dem Einzelscore und dem Gesamtscore der erhobenen Parameter keine Unterschiede zwischen der Verhaltensbeobachtung vor der Injektion nach der ersten Blutprobenentnahme und nach der Injektion nach der zweiten Blutprobenentnahme. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Belastung durch die Blutprobenentnahme die Belastung durch die Injektion überlagern könnte. Für den Parameter Weglaufen konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen nach der ersten Injektion dokumentiert werden. Die Tiere der Gruppe B-Drax liefen signifikant häufiger schnell weg als die Tiere der Gruppe B-Dupha. Dies könnte auf größere Schmerzen der Tiere durch die Injektion des Präparates Draxxin® hinweisen, da akute Schmerzen zur Flucht von Tieren führen können (BERNATZKY, 1997). Des Weiteren kehrten die Tiere der Gruppe B-Dupha nach der ersten Injektion an Versuchstag 1 signifikant schneller zum Normalverhalten zurück als die Tiere der Gruppe B-Drax. In der Studie von HAY et al. (2003) konnte bei kastrierten Tieren signifikant häufiger asynchrones Verhalten (andere Verhaltensweise als 75 % der Wurfgeschwister) dokumentiert werden als bei der unkastrierten Kontrollgruppe. Somit lösen die mit einer Kastration verbundenen Schmerzen eine Verhaltensänderung im Vergleich zur unkastrierten Kontrollgruppe aus. Dass die Tiere der Gruppe B-Drax eine signifikant längere Zeit benötigten, um zum Normalverhalten zurückzukehren

spricht für eine größere lokale Irritation der Tiere nach der Injektion. Die weitere Auswertung der Häufigkeitsverteilungen, der Einzelscores und der Gesamtscores dokumentierten Verhaltensparameter ergab keine signifikanten der Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen. Im Vergleich innerhalb der Gruppe B-Dupha ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Zeitpunkten VT-1 und VT-3 im Hinblick auf die Zeit, welche die Tiere benötigten um zum Normalverhalten zurückzukehren. Im Gegensatz Verhaltensbeobachtung aus Teilversuch A benötigen die Tiere an Versuchstag 3 signifikant länger um zum Normalverhalten zurückzukehren als an Versuchstag 1. Möglicherweise weist die längere benötigte Zeit bis zum Wiedereinsetzen des Normalverhaltens an Versuchstag 3 dieser Gruppe auf Frustration oder Wut hin, da die Tiere den Stressoren "Handling, Injektion und Blutentnahme" nicht ausweichen können. Dies würde sich mit dem Ergebnis der Ermittlung des Parameters Noradrenalin decken, da der maximale Noradrenalinspiegel dieser 3 ermittelt wurde Gruppe an Versuchstag und sich die Noradrenalinkonzentration im Blut bei aktiven Abwehr- und Wutreaktionen erhöhen (DÖCKE und KEMPER, 1994). Die Ergebnisse kann Verhaltensbeobachtung weisen auf eine höhere Belastung der Saugferkel der Gruppen A-/B-Drax hin. Widersprüchlich sind hingegen die Ergebnisse der Auswertung der Zeit bis zur Rückkehr zum Normalverhalten der Gruppen A-/B-Dupha. Letztendlich unterscheiden sich die Verhaltensmuster zwischen den Versuchsgruppen kaum und weisen darauf hin, dass die Belastung beider Versuchsgruppen durch die Injektion und dem damit verbundenen Handling gleichwertig war.

In Teilversuch C konnte bei der Anzahl des Auftretens verschiedener Verhaltensweisen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen festgestellt werden. Die Auswertung des Verhaltensscores ergab für den Parameter Kratzen an Versuchstag 1 einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Lediglich der Kratzscore der Versuchsgruppe C-Drax war signifikant höher als der Score der Gruppe C-Dupha. Die restlichen Einzelscores und der Gesamtscore unterschieden sich nicht signifikant, weder zwischen noch innerhalb der beiden Versuchsgruppen. Allein

anhand der Erhöhung eines Parameters der Verhaltensbeobachtung lässt sich kaum auf eine höhere Schmerz- und Stressbelastung der Gruppe schließen. Allerdings wurde die höhere Stress- und Schmerzbelastung durch die einmalige Applikation von Draxxin® durch den Parameter Speichelcortisol gezeigt und das häufigere Auftreten des Kratzens könnte auf eine stärkere lokale Reizung des Präparats zurückzuführen sein, da ELICKER (2006) nach der Injektion von Draxxin® vermehrt eine lokale Reaktion im Sinne einer Verfärbung, leichten Erwärmung und Umfangsvermehrung feststellen konnte.

## **VI.ZUSAMMENFASSUNG**

Ziel dieser Arbeit war es, die Stress- und Schmerzbelastung bei einer einmaligen im Vergleich mit einer mehrmaligen Injektionsbehandlung zu bewerten. Dieses Ergebnis soll als Grundlage für die Beantwortung der Frage dienen, ob die Therapie beim Schwein mittels Langzeitpräparat zu einer geringeren Belastung als die Therapie mit einem mehrmalig zu injizierenden Arzneimittel führt. Hierfür wurden in drei Teilversuchen (TV) Saugferkel (TV A und B) bzw. Mastschweine (TV C) randomisiert in zwei Versuchsgruppen (Drax, Dupha) eingeteilt. Die Tiere der Gruppe Drax erhielten an Versuchstag (VT) 1 eine einmalige Injektion des Präparates Draxxin® (25 mg/ml bei Saugferkeln; 100 mg/ml bei Mastschweinen, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin), den Tieren der Gruppe Dupha wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen (VT 1-3) das Präparat Duphamox® (150 mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin) injiziert. Als Parameter zur Beurteilung der Stress- und Schmerzbelastung und der Verträglichkeit dienten Cortisol (C), Adrenalin (A), Noradrenalin (NA) und Creatinkinase (CK) aus dem Blut der Saugferkel und Cortisol und Chromogranin A (CgA) aus dem Speichel der Mastschweine. Dazu wurden an jedem VT Verhaltensbeobachtungen durchgeführt und die Injektionsstellen aller Tiere beurteilt.

In TV A wurde von 24 klinisch gesunden Saugferkeln pro Versuchsgruppe aus Blutproben jeweils 0,5 h nach der Injektion an VT 1-3 die Cortisolkonzentration bestimmt. Die Cortisolkonzentration im Serum stieg nach der ersten Injektion von Draxxin\* (A-Drax) signifikant an und lag zu diesem Zeitpunkt signifikant über der Konzentration der Gruppe A-Dupha nach der Injektion. In dieser Gruppe unterschied sich der Cortisolspiegel zu keinem Zeitpunkt des Versuches signifikant vom Basalniveau. Die Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) der Gruppe A-Drax lag signifikant über dem AUC von Gruppe A-Dupha. In TV B wurde bei 20 Saugferkeln pro Versuchsgruppe an den Versuchstagen 1-3 unmittelbar nach der Injektion die Konzentrationen von A und NA und 4 h nach der Injektion die CK-Aktivität aus dem Serum ermittelt. Die Adrenalinkonzentration stieg weder nach der einmaligen Injektion von Draxxin\* noch nach der dreimaligen Injektion von Duphamox\* signifikant an. Es konnte ein signifikanter Anstieg der NA-

Konzentration unmittelbar nach der ersten Injektion an VT 1 der Gruppe B-Drax verzeichnet werden. Das Ergebnis der Ermittlung der C- und NA-Werte zeigt, dass die einmalige Injektion von Draxxin® eine höhere Stressbelastung der Tiere bedeutet als die dreimalige Injektion von Duphamox®. Die CK-Aktivität der Gruppe B-Drax war zum Zeitpunkt 4 Stunden nach der ersten Injektion an VT 1 ebenso wie der AUC der CK signifikant höher als die CK-Aktivität und der AUC der Gruppe B-Dupha. Folglich wiesen die Tiere, die einmalig mit Draxxin® behandelt wurden eine größere lokale Gewebereizung auf als die Tiere der Gruppe B-Dupha. In TV C wurde bei 21 Mastschweinen pro Versuchsgruppe an den Versuchstagen 1-3 jeweils 0,5 Stunden nach der Injektion die Cortisol- und CgA-Konzentration aus dem Speichel ermittelt. Bei diesen Tieren konnte an VT 1 ebenfalls ein signifikanter Anstieg der Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Drax ermittelt werden, der zu diesem Zeitpunkt signifikant über der Speichelcortisolkonzentration der Gruppe C-Dupha lag. Die CgA-Konzentration beider Gruppen stieg zu keinem Zeitpunkt des Versuches signifikant an. In TV A, B und C zeigten an den drei Versuchstagen 16 der insgesamt 130 behandelten Tiere eine Lokalreaktion der Injektionsstelle, es konnte in keinem TV ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen ermittelt werden (Gruppe Drax: 4 Reaktionen, Gruppe Dupha: 12 Reaktionen). Die Verhaltensbeobachtung ergab für Einzelparameter inkonsistente Ergebnisse, der Gesamtscore unterschied sich jeweils nicht zwischen den Versuchsgruppen.

Die Verhaltensbeobachtung und auch die Untersuchung der Injektionsstelle weisen auf eine geringe Schmerz- und Stressbelastung und eine gute lokale Verträglichkeit der Präparate hin. Die Ergebnisse der Parameter Serumcortisol, Speichelcortisol, Noradrenalin und Creatinkinase deuten allerdings daraufhin, dass die einmalige Injektion des Präparates Draxxin® eine größere Gewebeschädigung verursacht, die in einer tendenziell höheren Stress- und Schmerzbelastung der Tiere resultiert als die dreimalige Injektion des Präparates Duphamox®.

VII. Summary 91

## VII. SUMMARY

The aim of the present study was to evaluate pain and stress following a therapy with a single injection in contrast to one with multiple injections. The question was raised whether a therapy of a pig by means of a long-term preparation is related to less distress than a therapy with a preparation which needs to be injected multiple times. Therefore, suckling piglets (TV A and B) and fattening pigs (TV C) were randomized and assigned into two groups for three different experiments (TV). The animals of the group Drax received a single injection of Draxxin® (25 mg/ml for suckling piglets; 100 mg/ml for fattening pigs, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin) on study day (VT) 1, the animals of the group Dupha received a daily injection of Duphamox® (150 mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin) over three consecutive days (VT 1-3). To evaluate stress and pain and the tolerability, the parameters cortisol (C), epinephrine (A), norepinephrine (NA) and creatine kinase (CK) were determined from the blood of suckling piglets. Furthermore, the parameters cortisol and chromogranin A (CgA) were determined from the saliva of fattening pigs. On every study day behavioural observations were carried out and the injection site of every animal was assessed.

In TV A cortisol levels were measured from blood samples of 24 clinically healthy suckling piglets per study group on every day of the study 0.5 hours (h) after the injection. After the first injection of Draxxin\* (A-Drax), the cortisol concentration in the serum was elevated significantly. Additionally, it was significantly higher than the cortisol concentration of the group A-Dupha after the injection at this point in time. The mean cortisol concentration of the group A-Dupha did not differ significantly from baseline values at any point of the study. The concentration-time-curve (AUC) of the group A-Drax was significantly higher than that of group A-Dupha. In TV B the concentrations of A and NA were determined from blood samples taken from 20 suckling piglets per study group on every day of the study directly after the injection; additionally CK was measured in blood samples which were taken 4 h after the injection. The concentration of A did not differ significantly from baseline levels neither after the single injection of

92 VII. Summary

Draxxin® nor after a triple injection of Duphamox®. A significant increase of the concentration of NA was observed in group A-Drax immediately after the injection on VT 1. Concerning the cortisol and norepinephrine levels measured in this study, it could be demonstrated that the animals medicated with a single injection of Draxxin® experienced more stress than the animals treated with a triple injection of Duphamox<sup>®</sup>. The activity of the CK 4 h after the injection on VT 1 and the AUC of the CK of the group B-Drax was significantly higher than the CK activity and the AUC of the group B-Dupha. Hence the single injection of Draxxin® caused greater local tissue irritation than a triple injection of Duphamox<sup>®</sup>. In TV C the cortisol and CgA concentrations were measured from saliva samples of 21 fattening pigs per study group on every day of the study 0.5 h after the injection. On VT 1, the saliva cortisol concentration of the group C-Drax increased significantly. At this point in time, it was significantly higher than the cortisol concentration of the group C-Dupha. The CgA-concentration of both groups did not differ from baseline values at any point in time of the study. Over the three study days, 16 of a total of 130 medicated animals of TV A, B and C showed a local reaction of the injection side. No significant differences could be detected between the groups of the respective TV (group Drax: 4 reactions, group Dupha: 12 reactions). The behavioural observations revealed inconsistent results of several parameters, the score in total did not differ between the study groups.

The behavioural observations and the examination of the injection site indicate only small distress and a good local tolerance of both preparations. Nevertheless, the measurement of plasma cortisol, saliva cortisol, norepinephrine and creatine kinase showed that a singular injection of Draxxin® caused more tissue damage resulting in a tendencially higher degree of pain and stress than a triple injection of Duphamox®.

VIII. Tabellenverzeichnis 93

# VIII. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Physiologische Schmerz- und Verhaltensparameter beim Schwein
(modifiziert nach EFSA, 2004)
Tabelle 2: Einteilung der Versuchsgruppen in Teilversuch A (Cortisol), B (A, NA, CK)
und C (Cortisol, CgA):25
Tabelle 3: Klinischer Score der Injektionsstelle33
Tabelle 4: Reaktion bei/nach Injektion35
Tabelle 5: Mittlere Cortisolkonzentration im Serum (nmol/l) 2 Stunden vor (basal),
0,5 Stunden nach der Injektion (VT-1), 24,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-
2) und 48,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit Standardabweichung
(SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und der area-under-the-curve
(AUC)
Tabelle 6: Vergleich der mittleren Serumcortisolkonzentrationen und des AUC der
Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten 40
Tabelle 7: Vergleiche der mittleren Serumcortisolkonzentrationen innerhalb der
Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten 41
Tabelle 8: Anzahl (n) der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut
intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/ Kotabsatz über VT 1-3 zeigten
Tabelle 9: Vergleiche der Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter
Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/Kotabsatz
zeigten zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)43
Tabelle 10: Mittelwerte des Normalverhaltens mit Standardabweichung über VT
1-3 und Vergleiche dieser Mittelwerte zwischen und innerhalb der Gruppen (p-
Werte)
Tabelle 11: Mittelwerte des Verhaltensscore beider Versuchsgruppen an VT 1-3
mit Standardabweichung (SD)44
Tabelle 12: Vergleiche der Einzelscores der Verhaltensparameter und des
Gesamtscores zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)

Tabelle 13: Mittlere Adrenalinkonzentration im Serum in pg/ml 2,5 Stunden vor (basal) und unmittelbar nach der ersten Injektion (VT-1), sowie unmittelbar nach der Injektion an VT 2 (VT-2) und VT 3 (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und area-under-the-curve (AUC).... 46 14: Vergleich mittleren Adrenalinkonzentrationen Tabelle der Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten......46 Vergleiche der mittleren Adrenalinwerte innerhalb Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten...... 46 Tabelle 16: Mittlere Noradrenalinkonzentration im Serum in pg/ml 2,5 Stunden vor (basal) und unmittelbar nach der ersten Injektion (VT-1), sowie unmittelbar nach der Injektion an VT 2 (VT-2) und VT 3 (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und area-under-the-curve (AUC).... 48 Vergleich der mittleren Nordrenalinkonzentrationen den Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu verschiedenen Tabelle 18: Vergleiche der mittleren Noradrenalinmesswerte innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten...... 49 Tabelle 19: Mittlere Creatinkinaseaktivität im Serum in U/ml 6,5 Stunden vor (basal) und 4 Stunden nach der ersten Injektion (VT-1), sowie 28 Stunden nach der ersten Injektion (VT-2) und 52 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und areaunder-the-curve (AUC)......50 Tabelle 20: Vergleich der mittleren Creatinkinaseaktivitäten der Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten ......50 Tabelle 21 Vergleiche der mittleren Creatinkinaseaktivität innerhalb der Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten...... 51

VIII. Tabellenverzeichnis 95

Tabelle 22: Anzahl (n) der Tiere mit geringgradiger Umfangsvermehrung (UV) 52
Tabelle 23: Anzahl (n) der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut
intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/ Kotabsatz über VT 1-3 zeigten
53
Tabelle 24: Vergleiche der Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter
Weglaufen, Laut intra injectionem, Laut post injectionem und Urin-/Kotabsatz
zeigten zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte) 54
Tabelle 25: Mittelwerte des Normalverhaltens mit Standardabweichung über VT
1-3 und Vergleiche dieser Mittelwerte zwischen und innerhalb der Gruppen (p-
Werte)
Tabelle 26: Mittelwerte des Verhaltensscores beider Versuchsgruppen an VT 1-3
mit Standardabweichung (SD)
Tabelle 27: Vergleiche der Einzelscores der Verhaltensparameter und des
Gesamtscores zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte) 57
Tabelle 28: Mittlere Cortisolkonzentration im Speichel in nmol/l 1,5 Stunden und
0,5 Stunden nach der Injektion (VT-1), sowie 24,5 Stunden nach der ersten
Injektion (VT-2) und 48,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit
Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und der
area-under-the-curve (AUC)58
Tabelle 29: Vergleich der mittleren Speichelcortisolkonzentrationen der
Versuchsgruppen (p-Werte) und des AUC zu den verschiedenen
Beprobungszeitpunkten 59
Tabelle 30: Vergleiche der mittleren Speichelcortisolwerte innerhalb der
Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten 59
Tabelle 31: Anzahl (n) der gewonnen Proben zu den verschiedenen
Beprobungszeitpunkten 60
Tabelle 32: Mittlere CgA-Konzentration im Speichel in nmol/l 1,5 Stunden vor und
0,5 Stunden nach der Injektion (VT-1), sowie 24,5 Stunden nach der ersten
Injektion (VT-2) und 48,5 Stunden nach der ersten Injektion (VT-3) mit
Standardabweichung (SD), Minimum, Maximum, Standardfehler (SEM) und der
area-under-the-curve (AUC)

Tabelle 33: Vergleich der mittleren CgA-Konzentrationen und des AUC der
Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungszeitpunkten 61
Tabelle 34: Vergleiche der mittleren CgA-Messwerte innerhalb der
Versuchsgruppen (p-Werte) zu den verschiedenen Beprobungs-zeitpunkten 61
Tabelle 35: Anzahl (n) der Tiere mit geringgradiger Umfangsvermehrung/Rötung
der Injektionsstelle62
Tabelle 36: Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter Weglaufen, Laut
intra injectionem und Laut post injectionem über VT 1-3 zeigten 63
Tabelle 37: Vergleiche der Anzahl der Tiere welche die Verhaltensparameter
Weglaufen, Laut intra injectionem und Laut post injectionem zeigten zwischen
und innerhalb der Gruppen (p-Werte)63
Tabelle 38: Mittelwerte des Normalverhaltens mit Standardabweichung über VT
1-3 und Vergleiche dieser Mittelwerte zwischen und innerhalb der Gruppen (p-
Werte)64
Tabelle 39: Mittelwerte des Verhaltensscores beider Versuchsgruppen an VT 1-3
mit Standardabweichung (SD)64
Tabelle 40: Vergleiche der Einzelscores der Verhaltensparameter und des
Gesamtscores zwischen und innerhalb der Gruppen (p-Werte)65
Tabelle 41: Verhalten der Gruppen A-Drax an VT 1 und A-Dupha an VT 1-3 post
injectionem
Tabelle 42: Verhalten der Gruppen B-Drax an VT 1 und B-Dupha an VT 1-3 post
injectionem
Tabelle 43: Verhalten der Gruppen C-Drax an VT 1 und C-Dupha an VT 1-3 post
injectionem

## IX. ABBILDUNGS VERZEICHNIS

Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf der Injektionen an Versuchstag (VT) 1-3 27
Abbildung 2: Zeitplan der Cortisoluntersuchung bei den Saugferkeln an VT 1 28
Abbildung 3: Zeitplan der Katecholamin (K)- und Creatinkinaseuntersuchung (CK)
bei den Saugferkeln an VT 1
Abbildung 4: Zeitplan der Cortisol- und Chromogranin A Untersuchung bei den
Mastschweinen an VT 1
Abbildung 5: Verlauf der mittleren Serumcortisolkonzentration (nmol/l) mit
Standardabweichung
Abbildung 6: Verlauf der mittleren Serumcortisolkonzentration (AUC) mit
Standardabweichung
Abbildung 7: Gesamtscores der Versuchsgruppen über VT 1-345
Abbildung 8: Verlauf der mittleren Adrenalinkonzentration im Serum (pg/ml) mit
Standardabweichung
Abbildung 9: Verlauf der mittleren Noradrenalinkonzentration im Serum (pg/ml)
mit Standardabweichung
Abbildung 10: Verlauf der mittleren Creatinkinaseaktivität im Serum (U/I) mit
Standardabweichung 51
Abbildung 11: Verlauf der mittleren Creatinkinaseaktivität (AUC) mit
Standardabweichung
Abbildung 12: Häufigkeitsverteilung des Verhaltensparameters Weglaufen beider
Versuchsgruppen an VT 154
Abbildung 13: Gesamtscores der Versuchsgruppen über VT 1-3 57
Abbildung 14: Verlauf der mittleren Cortisolkonzentration im Speichel (nmol/l)
mit Standardabweichung59
Abbildung 15: Verlauf der mittleren CgA-Konzentration im Speichel (nmol/l) mit
Standardabweichung 62
Abbildung 16: Gesamtscores der Versuchsgruppen über VT 1-3 65

## X. LITERATURVERZEICHNIS

Akiyoshi H, Aoki M, Shimada T, Noda K, Kumagai D, Saleh N, Sugii S, Ohashi F. Measurement of plasma chromogranin A concentrations for assessment of stress responses in dogs with insulin-induced hypoglycemia. Am J Vet Res 2005; 66: 1830-1835.

Arendt-Nielsen L, Egekvist H, Bjerring P. Pain following controlled cutaneous insertion of needles with different diameters. Somatosens Mot Res 2006; 23: 37-43.

Arora A, Hakim I, Baxter J, Rathnasingham R, Srinivasan R, Fletcher DA, Mitragotri S. Needle-free delivery of macromolecules across the skin by nanoliter-volume pulsed microjets. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104: 4255-4260.

Axelrod J, Reisine TD. Stress hormones-their interaction and regulation. Science 1984; 224: 452-459.

Bacci ML, Nannoni E, Govoni N, Scorrano F, Zannoni A, Forni M, Martelli G, Sardi L. Hair cortisol determination in sows in two consecutive reproductive cycles. Reprod Biol 2014; 14: 218-223.

Barnett JL, Winfield CG, Cronin GM, Makin AW. Effects of photoperiod and feeding on plasma corticosteroid concentrations and maximum corticosteroid-binding capacity in pigs. Aust J Biol Sci 1981; 34: 577-586.

Bauer N, Neumann S. Skelettmuskulatur, Knochen, Kalzium-, Phosphor-, Magnesiumstoffwechsel. In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, edn. 7, 2014. ed. Moritz A. Schattauer Verlag, Stuttgart. 319-335.

Beffort L. Evaluation der Verträglichkeit und Wirksamkeit der nadellos, intradermal applizierten Vakzine Porcilis® M Hyo ID ONCE gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* unter Feldbedingungen. Diss. med. vet. 2015. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Belshe RB, Newman FK, Wilkins K, Graham IL, Babusis E, Ewell M, Frey SE. Comparative immunogenicity of trivalent influenza vaccine administered by intradermal or intramuscular route in healthy adults. Vaccine 2007; 25: 6755-6763.

Bennett J, Nichols F, Rosenblum M, Condry J. Subcutaneous administration of midazolam: A comparison of the bioject jet injector with the conventional syringe and needle. J Oral Maxillofac Surg 1998; 56: 1249-1254.

Bernardy J, Nechvatalova K, Krejci J, Kudlacková H, Brazdova I, Kucerova Z, Faldyna M. Comparison of different doses of antigen for intradermal administration in pigs: The *Actinobacillus pleuropneumoniae* model. Vaccine 2008; 26: 6368-6372.

Bernatzky G. Schmerz bei Tieren. In: Das Buch vom Tierschutz, edn. 1, 1997. eds. Sambraus HH, Steiger A. Enke Verlag, Stuttgart. 40-56.

Bickhardt K, Schwabenbauer C. The diagnostic-significance of isoenzymes of creatine-kinase (CK) in pigs. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1981; 88: 368-371.

Bland M. Comparing the means of small samples. In: An introduction to medical statistics, edn. 4, 2015 Oxford Univ. Press, Oxford. 131-158.

Blaschko H, Comline RS, Schneider FH, Silver M, Smith AD. Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. Nature 1967; 215: 58-59.

Carroll JA, Berg EL, Strauch TA, Roberts MP, Kattesh HG. Hormonal profiles, behavioral responses, and short-term growth performance after castration of pigs at three, six, nine, or twelve days of age. J Anim Sci 2006; 84: 1271-1278.

Carstens E, Moberg GP. Recognizing pain and distress in laboratory animals. ILAR J 2000; 41: 62-71.

Chavez Moreno J, Bickhardt K. Demonstration of tissue lesions after intramuscular injection by determination of creatine kinase in blood. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1997; 104: 512-515.

Chesler EJ, Wilson SG, Lariviere WR, Rodriguez-Zas SL, Mogil JS. Identification and ranking of genetic and laboratory environment factors influencing a behavioral trait, thermal nociception, via computational analysis of a large data archive. Neurosci Biobehav Rev 2002; 26: 907-923.

Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. Appendix 4 Drug doses and intervalls for pigs In: Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats, edn. 11, 2016. eds. Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. Saunders Ltd., London. 2232-2233.

Cooper JA, Bromley LM, Baranowski AP, Barker SGE. Evaluation of a needle-free injection system for local anaesthesia prior to venous cannulation. Anaesthesia 2000; 55: 247-250.

De Boer SF, Koopmans SJ, Slangen JL, Van Der Gugten J. Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated stress in rats: Effect of interstressor interval length. Physiol Behav 1990; 47: 1117-1124.

De Jong IC, Prelle IT, Van de Burgwal JA, Lambooij E, Korte SM, Blokhuis HJ, Koolhaas JM. Effects of environmental enrichment on behavioral responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. Physiol Behav 2000; 68: 571-578.

De Potter WP, Smith AD, De Schaepdryver AF. Subcellular fractionation of splenic nerve: ATP, chromogranin A and dopamine beta-hydroxylase in noradrenergic vesicles. Tissue Cell 1970; 2: 529-546.

Deguchi E, Akuzawa M. Effects of fighting after grouping on plasma cortisol concentration and lymphocyte blastogenesis of peripheral blood mononuclear cells induced by mitogens in piglets. J Vet Med Sci 1998; 60: 149-153.

Diener M. Vegetatives Nervensystem. In: Physiologie der Haustiere, edn. 5, 2015. eds. Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G. Enke Verlag, Stuttgart. 112-121.

Döcke F. Grundlagen der Regulation im Endokrinium. In: Veterinärmedizinische Endokrinologie, edn. 3, 1994. ed. Döcke F. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 92-105.

Döcke F, Kemper A. Nebennierenmark. In: Veterinärmedizinische Endokrinologie, edn. 3, 1994. ed. Döcke F. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 357-398.

Döcke F. Lexikon der Veterinärmedizin, edn. 4, 2000. eds. Wiesner E, Ribbeck R. Enke Verlag, Stuttgart. 1404-1405.

Draguhn A. Membranpotenzial und Signalübertragung in Zellverbänden. In: Physiologie, edn. 7, 2014. eds. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagel S. Thieme Verlag, Stuttgart. 86-131.

Dubreuil P, Couture Y, Tremblay A, Martineau GP. Effects of experimenters and different blood sampling procedures on blood metabolite values in growing pigs. Can J V Res 1990; 54: 379-382.

Dubreuil P, Farmer C, Couture Y, Petitclerc D. Hematological and biochemical changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs. Can J Anim Sci 1993; 73: 241-252.

EFSA 2004. Welfare aspects of the castration of piglets. Scientific report of the scientific panel for animal health and welfare on a request from the commission related to welfare aspects of the castration of piglets. http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/91.pdf. Accessed 04.09.2016.

Ekkel ED, Dieleman SJ, Schouten WGP, Portela A, Cornélissen G, Tielen MJM, Halberg F. The circadian rhythm of cortisol in the saliva of young pigs. Physiol Behav 1996; 60: 985-989.

Elicker S. Untersuchungen zur Festlegung tierschutzkonformer Injektionsvolumina bei Schweinen. Diss. med. vet. 2006. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Elicker S, Sipos W. The tissue compatibility of different *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines is mainly dependent upon their adjuvants. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2009; 122: 348-353.

Escribano D, Soler L, Gutierrez AM, Martinez-Subiela S, Ceron JJ. Measurement of chromogranin A in porcine saliva: Validation of a time-resolved immunofluorometric assay and evaluation of its application as a marker of acute stress. Animal 2013; 7: 640-647.

Escribano D, Gutierrez AM, Fuentes-Rubio M, Ceron JJ. Saliva chromogranin A in growing pigs: A study of circadian patterns during daytime and stability under different storage conditions. Vet J 2014; 199: 355-359.

Escribano D, Gutierrez AM, Tecles F, Ceron JJ. Changes in saliva biomarkers of stress and immunity in domestic pigs exposed to a psychosocial stressor. Res Vet Sci 2015; 102: 38-44.

Evans FD, Christopherson RJ, Aherne FX. Development of the circadian-rhythm of cortisol in the gilt from weaning until puberty. Can J Anim Sci 1988; 68: 1105-1111.

Friedrich M, Rixecker D, Friedrich G. Evaluation of stress-related hormones after surgery. Clin Exp Obstet Gynecol 1998; 26: 71-75.

Gallagher NL, Giles LR, Wynn PC. The development of a circadian pattern of salivary cortisol secretion in the neonatal piglet. Biol Neonate 2002; 81: 113-118.

Gallina S, Di Mauro M, D'Amico MA, D'Angelo E, Sablone A, Di Fonso A, Bascelli A, Izzicupo P, Di Baldassarre A. Salivary chromogranin A, but not  $\alpha$  -amylase, correlates with cardiovascular parameters during high-intensity exercise. Clin Endocrinol (Oxf) 2011; 75: 747-752.

Graven-Nielsen T, Arendt-Nielsen L, Svensson P, Jensen TS. Experimental muscle pain: A quantitative study of local and referred pain in humans following injection of hypertonic saline. Myopain 1997; 5: 49-69.

Greco D, Stabenfeldt GH. Endocrinology. In: Textbook of Veterinary Physiology, edn. 5, 2013. ed. Cunningham JG. W.B. Saunders Company, Pennsylvania. 359-406.

Grocholl G, Bickhardt K. The kinetics of creatine kinase and aspartate aminotransferase (ASAT) in the blood plasma of swine of different ages. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1988; 101: 347-352.

Grosse Beilage E, Wendt M, Epe C, Kamphues J, Kietzmann M, Rohde J, Weissenböck H. Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Hauterkrankungen in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, edn. 1, 2013. eds. Grosse Beilage E, Wendt M. Eugen Ulmer KG, Stuttgart. 428-468.

Grosse Beilage T, Kietzmann M. Anwendung von Arzneimitteln in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, edn. 1, 2013. ed. Grosse Beilage E, Wendt, M. Eugen Ulmer KG, Stuttgart. 168-194.

Hallberg JW, Topel DG, Christian LL. Creatine phosphokinase isoenzymes in stress-susceptible and stress-resistant pigs. J Anim Sci 1979; 49: 1464-1469.

Hanson DJ. Local toxic effects of broad-spectrum antibiotics following injection. Antibiot Chemother (Northfield) 1961; 11: 390-404.

Hanson DJ. Intramuscular injection injuries and complications. Am J Nurs 1963; 63: 99-101.

Hay M, Mormede P. Urinary excretion of catecholamines, cortisol and their metabolites in meishan and large white sows: Validation as a non-invasive and integrative assessment of adrenocortical and sympathoadrenal axis activity. Vet Res 1998; 29: 119-128.

Hay M, Vulin A, Génin S, Sales P, Prunier A. Assessment of pain induced by castration in piglets: Behavioral and physiological responses over the subsequent 5 days. Appl Anim Behav Sci 2003; 82: 201-218.

Heinritzi K, Plonait H. Blutkrankheiten. In: Lehrbuch der Schweinekrankheiten, edn. 4, 2004. eds. Waldmann K-H, Wendt M. Parey Verlag, Stuttgart. 169-176.

Heinritzi K, Ritzmann M, Otten W. Alternatives of castration of suckling piglets, determination of catecholamines and woundhealing after castration of suckling piglets at different points of time. Deutsche Tierarztliche Wochenschrift 2006; 113: 94-97.

Heinritzi K. Laboruntersuchung. In: Schweinekrankheiten, edn. 1, 2006a. eds. Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U. Eugen Ulmer KG, Suttgart. 35-40.

Heinritzi K. Applikationstechniken. In: Schweinekrankheiten, edn. 1, 2006b. eds. Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U. Eugen Ulmer KG, Stuttgart. 44-47.

Hemsworth PH, Barnett JL, Hansen C. The influence of handling by humans on the behavior, growth, and corticosteroids in the juvenile female pig. Horm Behav 1981a; 15: 396-403.

Hemsworth PH, Brand A, Willems P. The behavioral response of sows to the presence of human beings and its relation to productivity. Livest Prod Sci 1981b; 8: 67-74.

Hemsworth PH, Gonyou HW, Dziuk PJ. Human communication with pigs: The behavioural response of pigs to specific human signals. Appl Anim Behav Sci 1986; 15: 45-54.

Henke J, Erhardt W. Das Problem Schmerz. In: Schmerzmanagement bei Kleinund Heimtieren, edn. 1, 2001a. eds. Henke J, Erhardt W. Enke Verlag, Stuttgart. 1-6.

Henke J, Erhardt W. Wie entsteht Schmerz? In: Schmerzmanagement bei Kleinund Heimtieren, edn. 1, 2001b. eds. Henke J, Erhardt W. Enke Verlag, Stuttgart. 11-21.

Henke J, Tacke S, Erhardt W. Analgesie. In: Anästhesie & Analgesie beim Kleinund Heimtier, edn. 2, 2012. eds. Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S. Schattauer Verlag, Stuttgart. 383-431.

Holm S. A simple sequentially rejective multiple test procedure. Scand J Statist 1979; 6: 65-70.

Huber K. Spezielle Endokrinologie. In: Physiologie der Haustiere, edn. 5, 2015. eds. Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G. Enke Verlag, Stuttgart. 538-551.

IASP. Part III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage. In: Classification of Chronic Pain, edn. 2, 1994 IASP Press, International Association for the study of pain, 209-214.

Janssens CJJG, Helmond FA, Weigant VM. The effect of chronic stress on plasma cortisol concentrations in cyclic female pigs depends on the time of day. Domest Anim Endocrinol 1995; 12: 167-177.

Julius D, Basbaum Al. Molecular mechanisms of nociception. Nature 2001; 413: 203-210.

Kanno T, Asada N, Yanase H, Iwanaga T, Ozaki T, Nishikawa Y, Iguchi K, Mochizuki T, Hoshino M, Yanaihara N. Salivary secretion of highly concentrated chromogranin A in response to noradrenaline and acetylcholine in isolated and perfused rat submandibular glands. Exp Physiol 1999; 84: 1073-1083.

Kattesh HG, Charles SF, Baumbach GA, Gillespie BE. Plasma-cortisol distribution in the pig from birth to 6 weeks of age. Biol Neonate 1990; 58: 220-226.

Kattesh HG, Brown ME, Masincupp FB, Schneider JF. Protein-bound and unbound forms of plasma cortisol in piglets after castration at seven or 14 days of age. Res Vet Sci 1996; 61: 22-25.

Kern O. Lokalverträglichkeit von Arznei- und Arzneihilfsstoffen be intramuskulärer Injektion. Tierarztl Umsch 1987; 42: 768-775, 912-916, 971-972.

Konarska M, Stewart RE, McCarty R. Habituation of plasma catecholamine responses to chronic intermittent restraint stress. Psychobiology 1990; 18: 30-34.

Kvetnansky R, Weise V, Thoa NB, Kopin IJ. Effects of chronic guanethidine treatment and adrenal medullectomy on plasma levels of catecholamines and corticosterone in forcibly immobilized rats. J Pharmacol Exp Ther 1979; 209: 287-291.

Lang F. Nervensystem, Muskel, Sinne. In: Taschenatlas Pathophysiologie, edn. 4, 2013. eds. Silbernagel S, Lang F. Thieme Verlag, Stuttgart. 324-387.

Langhoff R. Untersuchungen über den Einsatz von Schmerzmitteln zur Reduktion kastrationsbedingter Schmerzen beim Saugferkel. Diss. med. vet. 2008. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Lefebvre HP, Jaeg JP, Rico AG, Toutain PL, Braun JP. Variations of plasma creatine kinase in rabbits following repetitive blood sampling effects of pretreatment with acepromazine, carazolol and dantrolene. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992; 30: 425-428.

Lefebvre HP, Laroute V, Braun JP, Lassourd V, Toutain PL. Non-invasive and quantitative evaluation of post-injection muscle damage by pharmacokinetic analysis of creatine kinase release. Vet Res 1996; 27: 343-361.

Lengerken GV, Pfeiffer H. Effects of transport and slaughter on variability of biochemical indexes in blood-plasma of hybrid pigs. Monatsh Veterinarmed 1977; 32: 620-624.

Llamas Moya S, Boyle LA, Lynch PB, Arkins S. Age-related changes in proinflammatory cytokines, acute phase proteins and cortisol concentrations in neonatal piglets. Neonatology 2007; 91: 44-48.

Llamas Moya S, Boyle LA, Lynch PB, Arkins S. Effect of surgical castration on the behavioural and acute phase responses of 5-day-old piglets. Appl Anim Behav Sci 2008; 111: 133-145.

Marchant-Forde JN, Lay DC, Jr., McMunn KA, Cheng HW, Pajor EA, Marchant-Forde RM. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: the effects of alternative techniques delivered in combination. J Anim Sci 2009; 87: 1479-1492.

McGavin DM, McGavin BAV. Skelettmuskulatur-Diagnose von Muskelerkrankungen. In: Pathologie der Haustiere, edn. 1, 2009. eds. McGavin MD, Zachary J. Urban & Fischer Verlag, München. 880-885.

Mellor DJ, Cook CJ, Stafford KJ. Quantifying some responses to pain as a stressor. In: The Biology of Animal Stress, edn. 1, 2000. eds. Moberg GP, Mench JA. CAB International, Wallingford, Oxon. 171-198.

Merlot E, Mounier AM, Prunier A. Endocrine response of gilts to various common stressors: A comparison of indicators and methods of analysis. Physiol Behav 2011; 102: 259-265.

Mikaelian I, Poul JM, Cabanie P. Healing of muscle trauma after intramuscular injection of antibiotics in sheep: correlations between clinical, macroscopic and microscopic scores. Vet Res 1996; 27: 97-106.

Miura A, Tanida H, Tanaka T, Yoshimoto T. The influence of human posture and movement on the approach and escape behaviour of weanling pigs. Appl Anim Behav Sci 1996; 49: 247-256.

Moberg GP. Biological response to stress: Implications for animal welfare. In: The biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare, edn. 1, 2000. eds. Moberg GP, Mench JA. CAB International, Wallingford, Oxon. 1-22.

Mogil JS. The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 7744-7751.

Molony V, Kent JE. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. J Anim Sci 1997; 75: 266-272.

Morton DB, Griffiths PHM. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental-animals and an hypothesis for assessment. Vet Rec 1985; 116: 431-436.

Mühlbauer I. Untersuchungen zur Belastung bei der Kastration von Saugferkeln unter CO<sub>2</sub>-Narkose. Diss. med. vet. 2009. Ludwig-Maximilian-Universität. München.

Mühlbauer IC, Otten W, Lüpping W, Palzer A, Zöls S, Elicker S, Ritzmann M, Heinritzi K. Untersuchung zur CO2- Narkose als eine Alternative zur betäubungslosen Kastration von Saugferkeln. Prakt Tierarzt 2009; 90: 460-464.

Nakane H, Asami O, Yamada Y, Harada T, Matsui N, Kanno T, Yanaihara N. Salivary chromogranin A as an index of psychosomatic stress response. Biomed Res (Aligarh) 1998; 19: 401-406.

Neubert E, Gürtler H, Vallentin G. Effect of acute stress on plasma levels of catecholamines and cortisol in addition to metabolites in stress-susceptible growing swine. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1996a; 109: 381-384.

Neubert E, Gürtler H, Vallentin G. Effect of restraining growth pigs with snare restraints on plasma levels of catecholamines, cortisol, insulin and metabolic parameters. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1996b; 109: 409-413.

Noonan GJ, Rand JS, Priest J, Ainscow J, Blackshaw JK. Behavioural observations of piglets undergoing tail docking, teeth clipping and ear notching. Appl Anim Behav Sci 1994; 39: 203-213.

Nouws JFM. Irritation, bioavailability, and residue aspects often oxytetracycline formulations administered intramuscularly to pigs. Vet Q 1984; 6: 80-84.

Nyberg L, Lundström K, Edfors-Lilja I, Rundgren M. Effects of transport stress on concentrations of cortisol, corticosteroid-binding globulin and glucocorticoid receptors in pigs with different halothane genotypes. J Anim Sci 1988; 66: 1201-1211.

Ott S, Soler L, Moons CPH, Kashiha MA, Bahr C, Vandermeulen J, Janssens S, Gutierrez AM, Escribano D, Ceron JJ, Berckmans D, Tuyttens FAM, Niewold TA. Different stressors elicit different responses in the salivary biomarkers cortisol, haptoglobin, and chromogranin A in pigs. Res Vet Sci 2014; 97: 124-128.

Otten W, Kanitz E, Tuchscherer M, Gräbner M, Nürnberg G, Bellmann O, Hennig U, Rehfeldt C, Metges CC. Effects of low and high protein: Carbohydrate ratios in the diet of pregnant gilts on maternal cortisol concentrations and the adrenocortical and sympathoadrenal reactivity in their offspring. J Anim Sci 2013; 91: 2680-2692.

Paget GE, Scott HM. A comparison of the local effects of various intramuscular injections in the rat. Br J Pharmacol Chemother 1957; 12: 427-433.

Parrott RF, Misson BH, Baldwin BA. Salivary cortisol in pigs following adrenocorticotropic hormone stimulation-comparison with plasma-levels. Br Vet J 1989; 145: 362-366.

Paschke R. Endokrines System. In: Physiologie, edn. 7, 2014. eds. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. Thieme Verlag, Stuttgart. 586-634.

Paul-Murphy J, Ludders JW, Robertson SA, Gaynor JS, Hellyer PW, Wong PL. The need for a cross-species approach to the study of pain in animals. J Am Vet Med Assoc 2004; 224: 692-697.

Paulick C, Neurand K, Wilkens H. Beitrag zur topographischen Anatomie der Injektionsstellen beim Schwein. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1967; 74: 519-524.

Peerson PB, Bondke Peerson A. Neurovegetative Regulation. In: Physiologie, edn. 7, 2014. eds. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagel S. Thieme Verlag, Stuttgart. 865-882.

Pfannkuche H. Nozizeption und Schmerz: neurophysiologische Grundlagen. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 2008; 36: 5-11.

Plonait H. Umgang mit Schweinen, Zwangsmaßnahmen und Operationsvorbereitung. In: Lehrbuch der Schweinekrankheiten, edn. 4, 2004a. eds. Waldmann KH, Wendt M. Parey Verlag, Stuttgart. 39-49.

Plonait H. Therapeutische Technik. In: Lehrbuch der Schweinekrankheiten, edn. 4, 2004b. eds. Waldmann KH, Wendt M. Parey Verlag, Stuttgart. 49-60.

Prunier A, Mounier AM, Hay M. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. J Anim Sci 2005; 83: 216-222.

Prunier A, Mounier L, Le Neindre P, Leterrier C, Mormede P, Paulmier V, Prunet P, Terlouw C, Guatteo R. Identifying and monitoring pain in farm animals: a review. Animal 2012; 7: 998-1010.

Riedel W, Neeck G. Nociception, pain, and antinociception: current concepts. Z Rheumatol 2001; 60: 404-415.

Roozen AW, Tsuma VT, Magnusson U. Effects of short-term restraint stress on plasma concentrations of catecholamines, beta-endorphin, and cortisol in gilts. Am J Vet Res 1995; 56: 1225-1227.

Rosochacki SJ, Piekarzewska AB, Poloszynowicz J, Sakowski T. The influence of restraint immobilization stress on the concentration of bioamines and cortisol in plasma of pietrain and duroc pige. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med 2000; 47: 231-242.

Royo F, Lyberg K, Abelson KS, Carlsson HE, Hau J. Effect of repeated confined single housing of young pigs on faecal excretion of cortisol and IgA. Scand J Lab Anim Sci 2005; 32: 33-37.

Ruis MAW, Te Brake JHA, Engel B, Ekkel ED, Buist WG, Blokhuis HJ, Koolhaas JM. The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: Effects of age, gender, and stress. Physiol Behav 1997; 62: 623-630.

Rundgren M, Lundström K, Edfors-Lilja I, Juneja RK. A within-litter comparison of the three halothane genotypes. 1. Piglet performance and effects of transportation and amperozide treatment at 12 weeks of age. Livest Prod Sci 1990; 26: 137-153.

Sage HJ, Smith WJ, Kirshner N. Mechanism of secretion from the adrenal medulla. I. A microquantitative immunologic assay for bovine adrenal catecholamine storage vesicle protein and its application to studies of the secretory process. Mol Pharmacol 1967; 3: 81-89.

Sann H. Nozizeption und Schmerz. In: Physiologie der Haustiere, edn. 5, 2015. eds. Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G. Enke Verlag, Stuttgart. 78-85.

Saruta J, Tsukinoki K, Sasaguri K, Ishii H, Yasuda M, Osamura YR, Watanabe Y, Sato S. Expression and localization of chromogranin A gene and protein in human submandibular gland. Cells Tissues Organs 2005; 180: 237-244.

Sato F, Kanno T, Nagasawa S, Yanaihara N, Ishida N, Hasegawa T, Iwanaga T. Immunohistochemical localization of chromogranin A in the acinar cells of equine salivary glands contrasts with rodent glands. Cells Tissues Organs 2002; 172: 29-36.

Schneider FH, Smith AD, Winkler H. Secretion from the adrenal medulla: biochemical evidence for exocytosis. Br J Pharmacol Chemother 1967; 31: 94-104.

Schönreiter S, Zanella AJ. Assessment of cortisol in swine by saliva: new methodological approaches. Arch Tierz 2000; 43: 165-170.

Schröder B, Rummel C. Zellphysiologie. In: Physiologie der Haustiere, edn. 5, 2015. eds. Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G. Enke Verlag, Stuttgart. 29-46.

Schulz C, Ritzmann M, Palzer A, Otten W, Heinritzi K. Verlauf der Noradrenalinund Adrenalinkonzentrationen vor und nach der Kastration von Saugferkeln mit und ohne Isofluran-Narkose. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2007; 114: 454-459.

Schulz C. Auswirkung einer Isofluran-Inhalationsnarkose auf den Kastrationsstress und die postoperativen Kastrationsschmerzen von Ferkeln Diss. med. vet. 2007. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Setnikar I, Paterlini MR. Osmotic pressure and tolerance of injectable solutions. J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc 1960; 49: 5-7.

Sgorlon S, Fanzago M, Guiatti D, Gabai G, Stradaioli G, Stefanon B. Factors affecting milk cortisol in mid lactating dairy cows. BMC Vet Res 2015; 11: 1-8.

Shintani S, Yamazaki M, Nakamura M, Nakayama I. A new method to determine irritation of drugs after intramuscular injection in rabbits. Toxicol Appl Pharmacol 1967; 11: 293-301.

Silbernagl S, Despopoulus A. Vegetatives Nervensystem. In: Taschenatlas Physiologie, edn. 8, 2012a. eds. Silbernagel S, Despopoulus A. Thieme Verlag, Stuttgart. 82-91.

Silbernagl S, Despopoulus A. Hormone, Reproduktion. In: Taschenatlas Physiologie, edn. 8, 2012b. ed. Silbernagl S. Thieme Verlag, Stuttgart. 280-327.

Smith AD, Winkler H. Purification and properties of an acidic protein from chromaffin granules of bovine adrenal medulla. Biochem J 1967; 103: 483-492.

Stark J. Auswirkungen von Ohrmarken einziehen im Vergleich zu Kastration und Schwanzkupieren und Etablierung einer Verhaltensmethodik zur Beurteilung kastrationsbedingter Schmerzen beim Saugferkel. Diss. med. vet. 2014. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Steiness E, Svendsen O, Rasmussen F. Plasma digoxin after parenteral administration. Local reaction after intramuscular injection. Clin Pharmacol Ther 1974; 16: 430-434.

Steiness E, Rasmussen F, Svendsen O, Nielsen P. A comparative study of serum creatine phosphokinase (CPK) activity in rabbits, pigs and humans after intramuscular injection of local damaging drugs. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh) 1978; 42: 357-364.

Svendsen O. Local muscle damage and oily vehicles: A study on local reactions in rabbits after intramuscular injection of neuroleptic drugs in aqueous or oily vehicles. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh) 1983a; 52: 298-304.

Svendsen O. Intramuscular injections and local muscle damage: An experimental study of the effect of injection speed. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh) 1983b; 52: 305-309.

Tenbergen R, Friendship R, Cassar G, Amezcua MR, Haley D. Investigation of the use of meloxicam for reducing pain associated with castration and tail docking and improving performance in piglets. J Swine Health Prod 2014; 22: 64-70.

Thun R, Schwartz-Porsche D. Nebennierenrinde. In: Veterinärmedizinische Endokrinologie, edn. 3, 1994. ed. Döcke F. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 309-356.

Übel N. Untersuchungen zur Schmerzreduktion bei zootechnischen Eingriffen an Saugferkeln. Diss. med. vet. 2011. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Uhl R. Untersuchung eines nadellosen Injektionsverfahrens für Schweine. Diss. med. vet. 2013. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. Clin Chim Acta 1981; 110: 245-253.

Vetidata 2016. Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht. www.vetidata.de. Accessed 08.02.2017.

Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. Ann Clin Biochem 1983; 20: 329-335.

Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva: Possibilities and pitfalls. J Steroid Biochem 1987; 27: 81-94.

Viñuela-Fernández I, Jones E, Welsh EM, Fleetwood-Walker SM. Pain mechanisms and their implication for the management of pain in farm and companion animals. Vet J 2007; 174: 227-239.

Washburn KE, Bissett W, Fajt V, Clubb F, Fosgate GT, Libal M, Smyre KE, Cass KL. The safety of tulathromycin administration in goats. J Vet Pharmacol Ther 2007; 30: 267-270.

Weiß C. Stress- und Schmerzbelastung des Schweines bei Entnahme eines Tracheobronchialabstriches im Vergleich zum Nasentupfer und der Fixierung in der Oberkieferschlinge. Diss. med. vet. 2015. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B: The first 25 years and future perspectives. Neuroscience 1992; 49: 497-528.

Woolums AR, Ensley DT, Tanner PA, Fankhauser R, Shen J, Songer JG, Leard AT, Milward FW, Pence ME, Hurley DJ. Humoral immunity and injection-site reactions in cattle vaccinated with a multivalent clostridial vaccine administered via subcutaneous injection or via transdermal needle-free injection. Am J Vet Res 2011; 72: 1124-1129.

Zimmermann S, Zöls S, Otten W, Palzer A, Ritzmann M, Heinritzi K. Evaluation of carbon dioxide anaesthesia for the castration of male suckling piglets by stress hormone concentrations, behaviour and clinical factors. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2011; 124: 368-375.

Zöls S. Möglichkeiten der Schmerzreduzierung bei der Kastration männlicher Saugferkel. Diss. med. vet. 2006. Ludwig-Maximilians-Universität. München.

XI. Anhang

## XI.ANHANG

Tabelle 41: Verhalten der Gruppen A-Drax an VT 1 und A-Dupha an VT 1-3 post injectionem

		VT-1		VT-2	VT-3
		A- Drax (n=24)	A- Dupha (n=24)	A- Dupha (n=24)	A- Dupha (n=24)
	nein	16	17	20	18
Weglaufen	langsam	6	7	4	6
	schnell	2	0	0	0
	nein	1	4	3	2
Laut intra injectionem	Grunzen	3	3	3	4
injectionem	greller Schrei	18	14	18	18
	nein	18	20	23	19
Laut post injectionem	Grunzen	5	4	1	4
injectionem	greller Schrei	1	0	0	1
	nein	7	7	5	9
	1	8	8	10	6
Kopfschütteln	2	7	6	7	7
	3	1	1	2	1
	4	1	2	0	1
	nein	18	11	14	17
	1	4	5	5	6
Kratzen	2	2	6	2	0
	3	0	1	3	1
	4	0	1	0	0
	nein	21	20	19	22
Urin-/ Kotabsatz	Urinabsatz	3	3	3	2
	Kotabsatz	0	1	2	0
Normalverhalten	Durchschnitt in	29,2	32,1	25,2	21,0

VT 1: Gruppe A-Drax n=22, Gruppe A-Dupha n=21 bei Parameter Laut intra injectionem

120 XI. Anhang

Tabelle 42: Verhalten der Gruppen B-Drax an VT 1 und B-Dupha an VT 1-3 post injectionem

		VT-1		VT-2	VT-3
		B-	B-	B-	B-
		Drax	Dupha	Dupha	Dupha
		(n=20)	(n=20)	(n=20)	(n=20)
	nein	7	5	4	7
Weglaufen	langsam	6	14	14	12
	schnell	7	1	2	1
Loutinten	nein	4	4	5	3
Laut intra injectionem	Grunzen	9	7	8	3
	greller Schrei	7	9	7	14
Laut saat	nein	7	9	9	8
Laut post injectionem	Grunzen	6	3	5	3
	greller Schrei	7	8	6	9
	nein	4	7	7	7
	1	10	6	5	8
Kopfschütteln	2	3	4	7	2
	3	2	1	0	3
	4	1	2	1	0
	nein	18	19	18	16
	1	1	1	2	4
Kratzen	2	1	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
Urin-/ Kotabsatz	nein	16	20	19	19
	Urinabsatz	4	0	0	1
	Kotabsatz	0	0	1	0
Normalverhalten	Durchschnitt in	32,0	25,7	27,0	34,2

XI. Anhang

Tabelle 43: Verhalten der Gruppen C-Drax an VT 1 und C-Dupha an VT 1-3 post injectionem

-		VT-1		VT-2	VT-3
		C-	C-	C-	C-
		Drax	Dupha	Dupha	Dupha
		(n=21)	(n=21)	(n=21)	(n=21)
	nein	9	10	7	8
Weglaufen	langsam	7	8	9	7
	schnell	5	3	5	6
Laut Catas	nein	1	1	2	0
Laut (intra injectionem)	Grunzen	2	2	5	2
	greller Schrei	18	18	14	19
	nein	21	21	21	20
Laut (post injectionem)	Grunzen	0	0	0	1
	greller Schrei	0	0	0	0
	nein	8	12	18	17
	1	10	9	3	4
Kopfschütteln	2	0	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	1	0	0	0
Kratzen	nein	15	21	21	21
	1	3	0	0	0
	2	1	0	0	0
	6	1	0	0	0
	8	1	0	0	0
Normalverhalten	Durchschnitt in s	11,4	5,6	3,9	4,9

XII. Danksagung 123

## XII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die außerordentlich gute Betreuung und Unterstützung und die wunderbare Arbeitsatmosphäre an der Klinik für Schweine bedanken.

Ganz herzlich möchte ich außerdem mich bei meinen Betreuerinnen Frau Dr. Susanne Zöls und Frau Dr. Christine Weiß für die unermüdlichen Korrekturen, die tatkräftige Unterstützung und die ständige Motivation bedanken.

Bei der Firma Zoetis bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung des Projekts, insbesondere bei Frau Dr. Elisabeth Banholzer für ihre wertvollen Anregungen bei der Planung der Arbeit.

Vielen Dank an Herrn Dr. Eckhard Boll und Herrn Dr. Onno Burfeind für die Möglichkeit meinen Versuch im LVZ Futterkamp durchzuführen. Ich danke auch den Mitarbeitern im Stall, vor allem Herrn Harm Kruse, Herrn Robert Kranz und Herrn Florian Newe, für die tatkräftige Unterstützung und die freundliche Arbeitsatmosphäre.

Für die zügige und zuverlässige Auswertung meiner Proben und den fachlichen Rat bedanke ich mich herzlich bei Frau Bärbel Garner, dem Team des Labors der Klinik für Wiederkäuer, Herrn Dr. Otten und seinem Laborteam des FBN Dummerstorf und Herrn Prof. Dr. José Cerón Madrigal und seinem Laborteam der Universität Murcia.

Vielen Dank auch an Frau Dr. Carola Sauter-Louis und an Herrn Dr. Sven Reese für ihre Unterstützung bei allen statistischen Fragen.

Meinen Helferinnen bei der Durchführung des Versuches Christine, Lisa M., Steffi, Lisa B., Jasmin, Sophie und Sarah danke ich ganz herzlich für ihre Hilfe. Nur durch euch war der Versuch überhaupt möglich und ich hatte eine sehr schöne Zeit mit euch. Meinen wunderbaren Kollegen danke ich für die tolle Zeit an der Klinik für Schweine, ihre Unterstützung und Freundschaft.

124 XII. Danksagung

Meinen Eltern, meinen Geschwistern und meinen Schwiegereltern danke ich von ganzem Herzen für ihre uneingeschränkte Unterstützung, Geduld und Motivation während des Studiums und der Promotion. Danke, dass ihr immer an mich glaubt.

Vielen Dank an meinen Mann Friedrich für seine Geduld und Rücksichtnahme, seine Unterstützung und Aufmunterungen. Danke, dass du immer für mich da bist!