

Schmerzverhalten von Saugferkeln bei der chirurgischen
Kastration unter Lokalanästhesie

von Regina Jasmin Miller

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

Schmerzverhalten von Saugferkeln bei der chirurgischen
Kastration unter Lokalanästhesie

von Regina Jasmin Miller

aus Bobingen

München 2023

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Priv.-Doz. Dr. Shana Bergmann

Mitbetreuung durch:

Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael Erhard

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Shana Bergmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Tag der Promotion: 22. Juli 2023

Meiner Familie und meiner Grundschullehrerin, die meine ersten Schreibversuche
über Drachen, Hexen und sprechende Vogelscheuchen geduldig korrigiert hat

**Die vorliegende Arbeit wurde gemäß § 6 Abs. 2 der Promotionsordnung
für die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München in kumulativer Form verfasst.**

**Folgende wissenschaftliche Arbeit ist in dieser Dissertationsschrift
enthalten:**

Behavior of Piglets in an Observation Arena before and after Surgical Castration with Local Anesthesia

**Regina Miller^{1,*}, Andrea Grott¹, Dorian Patzkéwitsch¹, Dorothea Döring¹,
Nora Abendschön², Pauline Deffner², Judith Reiser³, Mathias Ritzmann², Anna
M. Saller³, Paul Schmidt⁴, Steffanie Senf², Julia Werner³, Christine
Baumgartner³, Susanne Zöls², Michael Erhard¹ and Shana Bergmann^{1,*}**

¹ Department of Veterinary Science, Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, LMU Munich, 80539 Munich, Germany

² Clinic for Swine, Ludwig Maximilian University of Munich, 85764 Oberschleißheim, Germany

³ Center for Preclinical Research, Technical University of Munich, 81675 Munich, Germany

⁴ Statistical Consulting for Science and Research, Große Seestr. 8, 13086 Berlin, Germany

* Correspondence: r.miller@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (R.M.); s.bergmann@lmu.de (S.B.)

Animals **2023**, *13*, 529.

<https://doi.org/10.3390/ani13030529>

Received: 10 January 2023 Revised: 25 January 2023 Accepted: 30 January 2023

Published: 2 February 2023

Licensed under: Creative Commons CC BY 4.0 license

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG.....	1
II. LITERATURÜBERSICHT.....	2
1. Kastration männlicher Schweine.....	2
1.1. Indikation	2
1.2. Rechtsgrundlage in Deutschland.....	3
1.3. Alternativen zur betäubungslosen Kastration	4
1.3.1. Ebermast.....	5
1.3.2. Immunokastration.....	5
1.3.3. Spermasexing	6
1.4. Chirurgische Kastration mit Betäubung.....	7
1.4.1. Inhalationsnarkose.....	7
1.4.2. Injektionsnarkose	8
1.4.3. Lokalanästhesie	8
2. Schmerz und Schmerzerkennung beim Ferkel	9
2.1. Physiologische Grundlagen.....	9
2.2. Methoden zur Schmerzerkennung beim Saugferkel	10
2.2.1. Physiologische Schmerzparameter.....	11
2.2.2. Infrarot Thermografie.....	11
2.2.3. Schmerzverhalten	12
2.2.3.1. Abwehrbewegungen.....	12
2.2.3.2. Vokalisation	13
2.2.3.3. Unspezifische Verhaltensveränderungen bei Schmerz	13
2.2.3.4. Spezifische Verhaltensveränderungen bei Schmerz	14
2.2.3.5. Grimace Scale	15
2.2.3.6. Sensitivitätstests	16
2.3. Unterdrückung der Schmerzweiterleitung mittels Lokalanästhesie.....	17
2.3.1. Chemische Struktur der Lokalanästhetika.....	17
2.3.2. Wirkungsweise der Lokalanästhetika.....	17
2.3.3. Wirkstoffe.....	18
2.3.3.1. Procain.....	18
2.3.3.2. Lidocain.....	18
2.3.3.3. Mepivacain	18

2.3.3.4.	Bupivacain.....	19
III.	MATERIAL UND METHODEN	20
1.	Ziel der Untersuchung	20
2.	Verhaltensbeobachtung von Saugferkeln	20
2.1.	Genehmigungen für das Versuchsverfahren	20
2.2.	Versuchsbetriebe	20
2.3.	Versuchstiere.....	21
2.4.	Versuchsablauf.....	23
2.4.1.1.	Auswahl und Vorbereitung der Versuchstiere	25
2.4.1.2.	Verhaltensbeobachtungen in der Observationsarena	26
2.4.1.3.	Injektion des Lokalanästhetikums.....	27
2.4.1.4.	Kastration	28
2.4.1.5.	Versuchsgruppen Laborstudie.....	29
2.4.1.6.	Versuchsgruppen Feldstudie	33
2.4.1.7.	Ethogramm für die Auswertung des Verhaltens in der Observationsarena 34	
2.4.1.8.	Statistik.....	35
IV.	ERGEBNISSE.....	36
1.	Publizierte Ergebnisse.....	36
1.1.	Supplementary Material	50
2.	Erweiterte Ergebnisse	51
2.1.	Ergebnisse Laborstudie	51
2.2.	Ergebnisse Feldstudie.....	53
V.	DISKUSSION	55
1.	Beurteilung von Schmerzen beim Saugferkel.....	55
2.	Schmerzspezifität der verwendeten Parameter.....	55
3.	Methodenkritik.....	57
4.	Belastung der Saugferkel durch die Kastration.....	57
VI.	ZUSAMMENFASSUNG.....	60
VII.	SUMMARY.....	62

VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	64
IX.	DANKSAGUNG	81

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
BLE	Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaften
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
Cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
D	Tag
EEG	Elektroencephalo- gramm
et al.	et alii
etc.	et cetera
FerkBetSachkV	Ferkelbetäubungs- sachkunde- verordnung
G	Gramm
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
H	Stunde
IASP	International Association of Pain
ICC	Intraklassen- korrelations- koeffizient
i.m.	Intramuskulär
i.t.	Intratestikulär
Kg	Kilogramm
kHz	Kiloherz
LMU	Ludwig- Maximilians- Universität
Mg	Milligramm
min	Minute

Mio.	Million(en)
ml	Milliliter
M	Meter
m ²	Quadratmeter
Mm	Millimeter
N	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
s.c.	Subkutan
Sec	Sekunde
TierSchG	Tierschutzgesetz
v.a.	vor allem
VAS	Visual analogue scale
W	Watt
z.B.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Ferkel werden in den ersten Lebenstagen gleich mehreren potenziell schmerzhaften Eingriffen ausgesetzt. Neben dem Einziehen der Ohrmarken und dem Kupieren der Ringelschwänze, wird die überwiegende Anzahl der männlichen Ferkel auch einer chirurgischen Kastration unterzogen. Europaweit werden jährlich über 100 Mio. männliche Ferkel zur Vermeidung des als unangenehm wahrgenommenen Ebergeruchs kastriert (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2004). Lange Zeit wurde dieser Eingriff ohne Betäubung durchgeführt, da die Ansicht vorherrschte, dass sehr junge Tiere weniger schmerzempfindlich wären. Auch wenn die Schmerzzeichen bei jungen Tieren teilweise nur subtil gezeigt werden, ist die Schmerzhaftigkeit der Ferkelkastration mittlerweile zweifelsfrei belegt (HAY et al., 2003; LEIDIG et al., 2009). Die betäubungslose Kastration ist in Deutschland seit 01.01.2021 verboten. Alternativen, die ohne eine chirurgische Kastration auskommen, wie die Ebermast oder die Immunokastration konnten sich auf dem deutschen Markt bisher nicht durchsetzen. Stattdessen werden bei der chirurgischen Kastration Inhalations- und Injektionsnarkosen verwendet (BLE, 2020). Zur Lokalanästhesie, die in einigen Ländern bereits langjährig bei der Ferkelkastration eingesetzt wird, existieren divergierende Studienergebnisse zur Effektivität der Schmerzausschaltung. Die Schmerzbelastung objektiv zu quantifizieren, um auch die Effektivität von Betäubungsmethoden zu evaluieren, stellt jedoch immer noch eine Herausforderung dar. Für Ferkel existiert derzeit noch kein Goldstandard um Schmerzen objektiv einzuschätzen (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020). Ein multimodaler Ansatz ist daher sinnvoll, um Unschärfen zu vermeiden (BAYSINGER et al., 2021). Methoden, die zur Schmerzevaluation eingesetzt werden, sind beispielsweise die Messung physiologischer Parameter (z. B. Cortisol, Blutdruck, Herz-/Atemfrequenz), die Analyse der Vokalisationen, das Scoring von Abwehrbewegungen und die Verhaltensbeobachtung anhand eines Ethogramms (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020).

In der vorliegenden Arbeit wurde das Schmerzverhalten von Ferkeln unter Lokalanästhesie vor und nach Injektion und Kastration mit dem Verhalten von betäubungslos kastrierten und scheinkastrierten Ferkeln verglichen. Dabei wurden auch unterschiedliche Lokalanästhetika und Injektionsmethoden beurteilt.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Kastration männlicher Schweine

Der Eingriff wird beim unter einer Woche alten Saugferkel durchgeführt, da in diesem Alter die Wundheilung sehr rasch fortschreitet und das Risiko für Wundinfektionen am geringsten ist. Auch erleichtert die geringe Größe der Ferkel die sichere Fixation. Zudem ist die Kastration im Tierschutzgesetz nur im Alter von bis zu sieben Tagen erlaubt (TIERSCHG, 2020). Vor der Kastration muss darauf geachtet werden, dass kein Kryptorchismus oder keine Hernien in das Skrotum vorliegen, da diese Komplikationen eine andere operative Aufarbeitung benötigen. Die Fixation kann in speziellen Einrichtungen (Kastrationsbock) stattfinden, das Ferkel kann aber auch zwischen die Beine des Kastrierenden geklemmt werden oder an den Hinterbeinen gehalten werden. Ziel der Fixation ist es, die Flucht und Abwehrbewegungen zu minimieren und ein möglichst rasches Arbeiten zu ermöglichen. Mittels ein bis zwei Hautschnitten am Skrotum werden die Hoden aus dem umliegenden Gewebe extrahiert und mit einem Skalpell oder Emaskulator abgesetzt. Um das Risiko einer Wundinfektion zu senken, kann das Skrotum vor dem Eingriff gereinigt und desinfiziert werden und nach der Kastration ein Antiseptikum aufgetragen werden (PLONAIT und BICKHARDT, 2004).

1.1. Indikation

Die wichtigste Indikation für die Kastration männlicher Eber in Deutschland ist der sogenannte Ebergeruch; d.h. der von Teilen der Bevölkerung als unangenehm empfundene Geruch, den das Fleisch geschlechtsreifer Eber bei der Erhitzung entfalten kann (MALMFORS und LUNDSTRÖM, 1983). Der Anteil der unkastrierten Eber, die bei Schlachtung geruchlich und geschmacklich abweichendes Fleisch aufweisen schwankt stark, da der Ebergeruch multifaktoriellen Einflüssen unterliegt. In der Literatur finden sich hierzu Angaben von 5-10% betroffenen Tieren (ALUWÉ et al., 2015; BACKUS et al., 2016). Die unangenehme Sensorik wird vor allem durch die zwei Hauptkomponenten Androstenon und Skatol verursacht (PATTERSON, 1968; VOLD, 1969; WALSTRA und MAARSE, 1970). Androstenon ist ein spezifisches

Geschlechtshormon, das bei Ebern mit Eintritt der Geschlechtsreife von den Leydig Zellen im Hoden gebildet wird (BUSCH und HOLZMANN, 2001). Skatol ist ein Abbauprodukt der Aminosäure Tryptophan und wird von Schweinen im Dickdarm gebildet (KAMPHUES et al., 2014). Das Androstenon bewirkt außerdem einen reduzierten Abbau von Skatol, weswegen die Skatolkonzentrationen im Fettgewebe von Ebern höher sind als bei Kastraten und Sauen.

Beide Stoffe werden aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften im Fettgewebe eingelagert und verursachen bei Erhitzung des Fleisches einen urin- bzw. fäkalartigen Geruch (BABOL et al., 1995).

Nicht alle Verbraucherinnen und Verbraucher sind in der Lage, den Ebergeruch wahrzunehmen. Die Empfindlichkeit auf die beiden Geruchsstoffe unterscheidet sich regional sowie alters- und geschlechtsabhängig bei Menschen sehr stark. Nur circa 20-30% der Personen nehmen den Ebergeruch als unangenehm wahr (PREINERSTORFER et al., 2010). Auch weitere Indole können an der Entstehung des Ebergeruchs beteiligt sein, diese spielen aber scheinbar keine größere Rolle (ZAMARATSKAIA und SQUIRES, 2009).

Über eine gezielte Fütterung ist eine Verminderung v. a. bezüglich des Skatolgehalts erreichbar. Wichtige Faktoren hierbei sind die präcaecale Verdaulichkeit des Futterproteins und der Rohfasergehalt des Futters (WESOLY und WEILER, 2012). Futterzusätze wie Chicorée oder rohe Kartoffelstärke können durch ihren Einfluss auf die mikrobiotische Zusammensetzung im Darm die Bildung von Skatol reduzieren (BEE et al., 2020).

Auch gibt es die Möglichkeit, über gezielte genetische Auswahl das Vorkommen von Ebergeruch zu beeinflussen (ZAMARATSKAIA und SQUIRES, 2009; KOJIMA und DEGAWA, 2013).

1.2. Rechtsgrundlage in Deutschland

Gemäß § 5 Absatz 1 Tierschutzgesetz (TIERSCHG, 2020) darf an einem Wirbeltier ohne Betäubung ein mit Schmerzen verbundener Eingriff nicht vorgenommen werden. Unter einer Betäubung wird laut §4 Tierschutzgesetz, die wirksame Schmerzausschaltung verstanden. Die Betäubung warmblütiger Wirbeltiere sowie von Amphibien und Reptilien ist von einem Tierarzt vorzunehmen. Dies gilt nicht,

soweit die Betäubung ausschließlich durch äußerliche Anwendung eines Tierarzneimittels erfolgt, das nach arzneimittelrechtlichen Vorschriften zugelassen ist, um eine örtliche Schmerzausschaltung zu erreichen, und nach dem Stand von Wissenschaft und Technik zum Zweck der Durchführung des jeweiligen Eingriffs geeignet ist. Dies gilt ferner nicht für einen Eingriff im Sinne des § 6 Absatz 1 Satz 2 Nummer 2a TierSchG, soweit die Betäubung ohne Beeinträchtigung des Zustandes der Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit, ausgenommen die Schmerzempfindung, durch ein Tierarzneimittel erfolgt, das nach arzneimittelrechtlichen Vorschriften für die Schmerzausschaltung bei diesem Eingriff zugelassen ist. Für die Betäubung mit Betäubungspatronen kann die zuständige Behörde Ausnahmen von Satz 2 zulassen, sofern ein berechtigter Grund nachgewiesen wird. Ist nach den Absätzen 2, 3 und 4 Nr. 1 eine Betäubung nicht erforderlich, sind alle Möglichkeiten auszuschöpfen, um Schmerzen oder Leiden der Tiere zu vermindern.

In § 5 TierSchG ist festgelegt, dass schmerzhafte Eingriffe bei warmblütigen Wirbeltieren nicht ohne Betäubung erfolgen dürfen. Diese Betäubung ist dabei von einer Tierärztin beziehungsweise von einem Tierarzt durchzuführen. Eine Ausnahme hiervon kann unter Umständen die Betäubung bei der Kastration von unter acht Tage alten Saugferkeln sein. Die Ausnahme vom Amputationsverbot für die Ferkelkastration ist in § 6 Absatz 1 Satz 2 Nummer 2a TierSchG festgehalten.

Gemäß § 6 TierSchG muss die Kastration von Saugferkeln, die vom normalen anatomischen Zustand abweichen, von einer Tierärztin oder einem Tierarzt durchgeführt werden. Die Betäubung normalanatomischer und unter sieben Tage alter Ferkel darf auch durch Personen mit entsprechender Sachkunde durchgeführt werden.

1.3. Alternativen zur betäubungslosen Kastration

Mit der Änderung des Deutschen Tierschutzgesetzes wurde die betäubungslose Kastration von Saugferkeln ab dem 01.01.2021 endgültig verboten (BMEL, 2021). Seitdem müssen alternative Methoden zur Vermeidung des unbeliebten Ebergeruchs angewendet werden. Die vorhandenen Möglichkeiten lassen sich in zwei Gruppen aufteilen: Einerseits Methoden, die ohne eine chirurgische Kastration auskommen, und andererseits die chirurgische Entfernung der Hoden unter Gabe von

Schmerzmitteln beziehungsweise Narkosemedikamenten (VEIT et al., 2017).

1.3.1. Ebermast

Die Jungebermast hat den Vorteil, dass keinerlei chirurgische oder medizinische Eingriffe vorgenommen werden müssen. Auch aus wirtschaftlicher Sicht ergibt sich dadurch ein Pluspunkt, denn Eber nehmen schneller zu als Kastraten und bilden dabei bis zu fünf Prozent mehr Muskelfleisch. Außerdem hat das Fleisch nur einen geringen Fettanteil. Nachteilig an der Fleischqualität ist neben dem Ebergeruch, den fünf bis zehn Prozent der Tiere entwickeln, auch der höhere Anteil an ungesättigten Fettsäuren, der zu einer weicheren Fettkonsistenz und einer schlechteren Verarbeitbarkeit und Haltbarkeit des Fleisches führt (PAULY et al., 2009). Des Weiteren stellt die Jungebermast höhere Anforderungen an Management und Haltung, da z. B. eine getrennt geschlechtliche Aufstallung der Schweine erforderlich ist, und die Eber ab der Geschlechtsreife ein höheres Aggressionspotential besitzen (RYDHMER et al., 2006). Werden unkastrierte Eber zusammengehalten, treten Verletzungen wie durch Aufreiten entstandene Penisverletzungen häufiger auf (WEILER et al., 2016; REITER et al., 2017; ZOELS et al., 2020). Europäische Länder, in denen die Ebermast bereits langfristig erfolgreich umgesetzt wird, sind beispielsweise Großbritannien, Portugal und Spanien. Hier werden die Tiere meist früher und mit geringeren Schlachtgewichten geschlachtet um dem Einsetzen der Geschlechtsreife und dem damit verbundenen Ebergeruch zuvorzukommen (BONNEAU und WEILER, 2019). Bei Schlachtgewichten von 115 kg waren die Androstenonlevel höher als bei mit geringeren Gewichten geschlachteten Ebern (CHEN et al., 2007).

1.3.2. Immunokastration

Durch die Immunisierung mit einem Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH)-analogon werden Antikörper gegen das natürlich gebildete GnRH erzeugt und mit der Verminderung des GnRH-Spiegels auch weniger Androstenon produziert (BONNEAU und ENRIGHT, 1995; OONK et al., 1998). Um eine ausreichende Immunisierung bis zur Schlachtung aufrechtzuerhalten, sind zwei Injektionen im Alter von acht Wochen und vier bis sechs Wochen vor der Schlachtung nötig (OONK et al., 1998). Der Hormonspiegel männlicher Mastschweine beeinflusst die

Mastleistung und das Verhalten der Schweine deutlich (CLAUS und WEILER, 1994). Im Vergleich zu chirurgisch kastrierten Ebern bietet die Mast von immunokastrierten männlichen Schweinen wirtschaftliche Vorteile, wie eine erhöhte Futtermittelverwertung (KRESS et al., 2019). Der intramuskuläre Fettanteil steigt jedoch im Vergleich zum intakten Eber bei Immunokastraten (BONNEAU und WEILER, 2019). Das Verhalten der immunokastrierten Schweine ähnelt dem chirurgisch kastrierter Schweine, und es kommt zu weniger Verletzungen infolge von Aufreiten oder agonistischem Verhalten (CRONIN et al., 2003; BORELL et al., 2020). Zusammengefasst bietet die Mast von immunokastrierten männlichen Schweinen Vorteile hinsichtlich des reduzierten Aggressionspotentials im Vergleich zu Ebern mit gleichzeitig besserer Fleischqualität als intakte Eber und besserer Mastleistung als chirurgisch kastrierte Schweine (BATOREK et al., 2012). Der Erfolg der Methode sollte am Schlachthof noch einmal kontrolliert werden, da es in einzelnen Fällen vorkommen kann, dass Tiere trotz Impfung einen Ebergeruch entwickeln (BONNEAU und WEILER, 2019).

Sowohl aus wirtschaftlicher als auch aus ethischer Sicht wäre die Immunokastration der chirurgischen Kastration vorzuziehen (ČANDEK-POTOKAR et al., 2017; KRESS et al., 2019). In Ländern wie Brasilien, Australien oder Neuseeland ist die Methode bereits seit Jahrzehnten etabliert (SQUIRES et al., 2020). Obwohl die Methode keinerlei nachteilige Auswirkungen auf die Fleischqualität oder Lebensmittelsicherheit hat, bestehen in der Industrie große Bedenken bezüglich der Verbraucherakzeptanz. Die Methode wird durch Konsumentinnen und Konsumenten laut Umfragen zwar durchaus positiv gesehen, trotzdem wird die Immunokastration in Deutschland bisher nur selten angewandt (VANHONACKER und VERBEKE, 2011).

1.3.3. Spermasexing

Für Rinder existiert mit der Durchflusszytometrie bereits ein marktreifes Verfahren zur Selektion von XX-Spermien (KURTZ und PETERSEN, 2019). Aufgrund der bei der künstlichen Befruchtung von Schweinen nötigen hohen Quantitäten an Spermien ist das Spermasexing bei Schweinen langwieriger und damit kostenintensiver als bei Rindern (WABERSKI et al., 2019). Verschiedene Forschungsansätze setzen vermehrt auf Genom Editierung um männliche

Nachkommen nicht mehr auszusortieren sondern genetisch die Fortpflanzungsfähigkeit zu verhindern (KURTZ und PETERSEN, 2019).

1.4. Chirurgische Kastration mit Betäubung

1.4.1. Inhalationsnarkose

Die Kastration unter Gasbetäubung ist aktuell für den Wirkstoff Isofluran (Isofluran Baxter vet 1000 mg/g) in Deutschland zugelassen (BMEL, 2021) und darf nach entsprechender Schulung von landwirtschaftlichem Fachpersonal durchgeführt werden (FERKBETSACHKV, 2020).

Isofluran ist eine halogenisierte Etherverbindung, die bei einer Gaskonzentration von 2-5 % nach 70-90 sec zur Bewusstlosigkeit führt (RICHTER et al., 2016).

Isofluran besitzt eine narkotisierende und auch muskelrelaxierende Wirkung, jedoch verfügt es nicht über eine ausreichende analgetische Wirkung (LÖSCHER et al., 2014; RICHTER et al., 2016). Aus diesem Grund ist für die Kastration die Kombination mit einem Analgetikum notwendig (LÖSCHER et al., 2014). Das verwendete Analgetikum muss rechtzeitig vor Einleitung der Gasnarkose verabreicht werden, damit zum Zeitpunkt der Kastration die Analgesie Wirkung zeigt (RICHTER et al., 2016).

Besonders wichtig ist die Passform der Isofluranmasken, um den Austritt von Narkosegas und dessen Schadwirkungen auf die Anwenderin oder den Anwender und die Umwelt möglichst gering zu halten (BLE, 2020).

Das Gas kann beim Einatmen durch anwendende Personen zu akuten Symptomen wie Kopfschmerzen oder Müdigkeit führen (ENZ et al., 2013a). Bei chronischer Exposition kann Isofluran zu Leberschädigungen führen. Für schwangere Personen stellt schon der Aufenthalt im selben Raum eine Gefährdung dar. Ein besonderes Risiko besteht hier auch bei der Betreuung der Ferkel in der Aufwachphase, da von diesen Isofluran abgeatmet wird (BLE, 2020). Auch auf die Atmosphäre übt Isofluran eine klimaerwärmende Wirkung aus (SULBAEK ANDERSEN et al., 2010).

In der Praxis zeigt sich, dass eine ausreichende Narkosetiefe nicht immer erreicht wird (SCHWENNEN, 2015).

1.4.2. Injektionsnarkose

Der Wirkstoff Ketamin, der eine dissoziative Anästhesie bewirkt, und das Sedativum Azepromazin sind bei kombinierter Anwendung durch eine Tierärztin oder einen Tierarzt in Deutschland zur Ferkelkastration zugelassen (LÖSCHER et al., 2014). Ketamin besitzt bei ausreichend hoher Konzentration eine analgetische Wirkung (RICHTER et al., 2016). Um auch eine postoperative Analgesie zu erreichen, sollte zusätzlich, wie bei der Inhalationsnarkose, ein Schmerzmittel verabreicht werden (BMEL, 2021). Die tierärztliche Durchführung des Eingriffs ist für den Betrieb mit erhöhten Kosten verbunden (VERHAAGH, 2019). Da die Nachschlafphase bei dieser Methode bis zu vier Stunden beträgt, ist eine intensive Überwachung in der Aufwachphase notwendig, um Verluste durch Erdrücken oder Unterkühlen zu vermeiden. Unter Umständen verpassen die Ferkel hier mehrere Säugezeiten (LAHRMANN, 2006; SCHMIDT et al., 2012; BONNEAU und WEILER, 2019). Teilweise zeigen Ferkel bei der Injektionsanästhesie mit Azaperon/Ketamin eine ungenügende chirurgische Toleranz (ENZ et al., 2013b; CAP, 2017). Allerdings zeigten NUSSBAUMER et al. (2012) eine bessere Schmerzausschaltung und zuverlässigeres Erreichen des chirurgischen Toleranzstadiums bei der zusätzlichen Kombination dieser Wirkstoffe mit Butorphanol (NUSSBAUMER, 2012).

1.4.3. Lokalanästhesie

In einigen europäischen Ländern ist die Ferkelkastration unter örtlicher Betäubung bereits zugelassen, so zum Beispiel in Dänemark (SKADE et al., 2021). In den lokalen Gesetzgebungen finden sich Unterschiede hinsichtlich des verwendeten Lokalanästhetikums und der verwendeten Injektionsmethode. Auch darf die Lokalanästhesie in einigen Ländern nach entsprechender Schulung durch die Landwirtinnen und Landwirte eingesetzt werden, wohingegen die Verwendung der Lokalanästhesie in anderen Ländern nur Tierärzten und Tierärztinnen gestattet ist (DE BRIYNE et al., 2016).

Verschiedene Studien erzielten teils widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Schmerzreduktion bei der Kastration unter Lokalanästhesie. Die meisten dieser Studien untersuchten die Wirkstoffe Procain und Lidocain, vereinzelt wurden jedoch auch weitere Wirkstoffe, wie Bupivacain oder Tetracain (GOTTARDO et

al., 2016) verwendet.

Die Stressreaktion, gemessen an der Cortisol-Konzentration wurde bei ZANKL et al. (2007) durch die Anwendung von Procain und Lidocain im Vergleich zur betäubungslosen Kastration nicht signifikant reduziert (ZANKL, 2007). In anderen Studien konnte durch den Einsatz von Lidocain der Anstieg des Cortisolspiegels reduziert werden (KLUIVERS-POODT et al., 2013).

In mehreren Untersuchungen wurde die analgetische Wirkung der Lokalanästhesie mit Procain als nicht ausreichend angesehen (ZÖLS et al., 2006; SCHIELE, 2010). Auch mit zusätzlicher topischer Anästhesie konnten die Vokalisationen bei Kastration unter Procain-Injektion nicht vollständig unterdrückt werden (SCHWENNEN et al., 2020).

Die Abwehrbewegungen bei der Kastration und Schmerzschreie konnten im Vergleich zur betäubungslosen Kastration bei verschiedenen Untersuchungen mit Procain und Lidocain vermindert werden (LEIDIG et al., 2009; KLUIVERS-POODT et al., 2013; SKADE et al., 2021; COUTANT et al., 2022). Allerdings stellt auch die Injektion des Lokalanästhetikums eine Belastung der Ferkel dar, da die Fixation der Ferkel und die Manipulation der Hoden zu Stress und Schmerzen führen können (COUTANT et al., 2022).

2. Schmerz und Schmerzerkennung beim Ferkel

2.1. Physiologische Grundlagen

Als Schmerz wird im Allgemeinen ein unangenehmes Sinnes- oder Gefühlserlebnis, das mit aktuellen oder potenziellen Gewebeschädigungen verknüpft ist oder mit diesen zusammenhängt, definiert (IASP, 1979). Beim Tier lässt sich Schmerz auch beschreiben als „aversive, sensorische Erfahrung, die durch aktuelle oder potentielle Verletzungen ausgelöst wird und die protektive, motorische oder vegetative Reaktionen auslöst, zur erlernten Vermeidung solcher Reize führt und damit das Verhalten modifiziert“ (VON ENGELHARDT und BREVES, 2004).

Schmerz lässt sich auf verschiedene Weise unterteilen, zum einen in somatischen bzw. Oberflächenschmerz und in viszeralen bzw. Eingeweideschmerz, zum

anderen aufgrund der Schmerzqualität in akuten oder chronischen Schmerz.

Nozizeptoren sind freie Nervenendigungen im Gewebe, sie reagieren sowohl auf exogene (z. B. thermische, Druck) als auch endogene (z. B. Histamin, Entzündungsmediatoren) Reize. Bei Trauma oder aktivem Entzündungsgeschehen werden Nozizeptoren durch Gefäßdilatation und Gewebspermeabilitätssteigerung sensibilisiert (HERDEGEN et al., 2008).

Schmerzrelevante Nervenfasern lassen sich in drei Typen unterteilen (LARSEN, 1999; VON ENGELHARDT und BREVES, 2004).

Diese drei Typen transportieren unterschiedliche Informationen:

- a) Typ A-delta: scharfer, schneller Erstschmerz ausgelöst durch thermische oder mechanische Reize
- b) Typ C: dumpfer, langanhaltender chronischer Schmerz
- c) Typ A-beta: taktile Reize, z. B. Kitzeln, Stechen

Schmerzreize thermischer, chemischer oder mechanischer Art werden von den Nozizeptoren aufgenommen und werden über die A-delta oder C-Fasern über das Dorsalganglion an das Rückenmark weitergeleitet. Dort reagieren die Neuronen im Dorsalhorn zum einen mit einer Reflexantwort (z. B. Zurückziehen der Gliedmaße) und leiten zum anderen die Informationen über den Schmerzreiz über aufsteigende Nervenfasern an das Gehirn weiter. Dort werden die Informationen in der Medulla, dem Mittelhirn und dem Thalamus verarbeitet und weiter zur Großhirnrinde geleitet. Hier findet die bewusste Schmerzverarbeitung statt (PFANNKUCHE, 2008).

2.2. Methoden zur Schmerzerkennung beim Saugferkel

Das Schmerzverhalten von Beutetieren ist oft nicht sehr deutlich erkennbar. Dies dient zum Schutz vor Fressfeinden, die bei auffälligem Schmerzverhalten schneller auf die vulnerablen Tiere aufmerksam werden würden (TURNER et al., 2019). Entgegen der früher verbreiteten Annahme bedeutet dies aber nicht, dass Jungtiere ein weniger ausgeprägtes Schmerzempfinden besitzen. Diese Hypothese hat sich

mittlerweile als falsch herausgestellt (LEE, 2002). Auch wenn nur subtile Schmerzzeichen erkennbar sind, ist die Fähigkeit von Neugeborenen zur Schmerzwahrnehmung bereits vollständig ausgeprägt (ANAND, 2001). Eine objektive Schmerzbeurteilung wird jedoch vor allem bei geringen Tierversuchszahlen erschwert, wenn Schmerzzeichen nur kurzfristig und undeutlich ausgeprägt gezeigt werden (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020).

2.2.1. Physiologische Schmerzparameter

Der Organismus reagiert auf Schmerzreize mit der Aktivierung des sympathischen Nervensystems sowie der Hypothalamus-Hirnanhangs-Nebennieren-Achse (HPA-Axis), außerdem werden körpereigene Opiate freigesetzt. Nach Registrierung des Schmerzreizes im Hypothalamus wird die Hirnanhangsdrüse angeregt, vermehrt ACTH zu bilden, und bewirkt damit in der Nebenniere einen Anstieg der Adrenalin und Cortisol Freisetzung. Im Blut steigen der Cortisolspiegel und die Glucose- sowie Laktatwerte. Das sympathische Nervensystem steigert die Herzfrequenz und den Blutdruck und sorgt für eine Reduzierung der Hauttemperatur. Diese physiologischen Reaktionen können als Schmerzparameter herangezogen werden, sie sind jedoch nicht komplett spezifisch für Schmerz, da auch Stress (z. B. Fixierung) und/oder Gewebetrauma (z. B. chirurgischer Eingriff, Blutverlust) dieselben Veränderungen hervorrufen können (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020).

Nachteilig bei der Erhebung der physiologischen Parameter ist zum einen, dass meist spezialisierte Geräte dafür erforderlich sind (z. B. Blutdruckmanschette), was einen Einsatz außerhalb einer Laborstudie erschwert. Auch ist häufig ein Handling der Tiere nötig, um z. B. Blut- oder Speichelproben zu entnehmen. Durch den dabei entstehenden Stress können die Ergebnisse verfälscht werden (PRUNIER et al., 2013).

2.2.2. Infrarot Thermografie

Die Aktivierung des sympathischen Nervensystems bei Schmerz bewirkt im Körper eine Vasokonstriktion und damit eine Absenkung der Hauttemperatur. Dieser Temperaturabfall lässt sich auf nicht-invasive Weise an unterschiedlichen Stellen

messen (BAYSINGER et al., 2021). Bei Kälbern konnte ein deutlicher Anstieg der Temperatur der Augen nach Kastration gemessen werden. Durch den Einsatz von Schmerzmitteln konnte diese Reaktion abgemildert werden (STEWART et al., 2010). Bei Ferkeln wurden an Schnauze und Kopf Temperaturunterschiede zwischen kastrierten und scheinkastrierten Tieren festgestellt (BATES et al., 2014). Auch am Auge von Schweinen konnte ein Temperaturanstieg nach Schmerzreiz beobachtet werden (SUTHERLAND et al., 2017). In der Studie von BONASTRE et al. (2016) konnte durch Lokalanästhesie der Temperaturabfall der Haut nach der Kastration nicht vermindert werden.

Da die Hauttemperatur auch von anderen physiologischen Parametern, wie Entzündungsreaktionen oder Stress infolge von Handling beeinflusst wird, kann es hier zu Unschärfen kommen (LONARDI et al., 2015). Außerdem können Schmerz- oder Narkosemedikamente die Hauttemperatur beeinflussen. So sinkt die Körpertemperatur nach Allgemeinanästhesie mit Isofluran (SESSLER et al., 1991) und auch der Einsatz von NSAIDs kann durch seinen entzündungshemmenden Effekt die Hauttemperatur beeinflussen (COMAN et al., 2022).

2.2.3. Schmerzverhalten

2.2.3.1. Abwehrbewegungen

Ferkel zeigen defensive Abwehrbewegungen bei dem Versuch sich schmerzhaften Stimuli wie beispielsweise der Kastration oder dem Schwanzkupieren zu entziehen (PRUNIER et al., 2013). Meistens wird, um die Schmerzhaftigkeit eines Eingriffs einzuschätzen, ein Bewertungsscore gebildet, um die Anzahl und Stärke von Abwehrbewegungen wie beispielsweise Fluchtversuche oder Strampeln der Gliedmaßen zu erfassen (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020). Dafür kann beispielsweise eine numerische Skala verwendet werden (SHEIL et al., 2020) oder auch ein Visual analogue scale (VAS) (HANSSON et al., 2011).

Im Vergleich zu nur gehändelten oder betäubten Ferkeln steigt die Intensität von Abwehrbewegungen bei schmerzhaften Eingriffen wie Kastration, Einziehen der Ohrmarke, Schleifen der Eckzähne und intramuskulärer Eisengabe (MARCHANT-FORDE et al., 2009).

2.2.3.2. Vokalisation

Ferkel zeigen bereits beim Handling laute Vokalisationen. Jedoch können bei schmerzhaften Eingriffen, wie dem Einziehen der Ohrmarke (NOONAN et al., 1994) oder der Kastration (PUPPE et al., 2005) hochfrequente Schreie davon unterschieden werden. Dabei besteht ein deutlicher Unterschied zu nur gehandelten Ferkeln (WEARY et al., 1998) oder Ferkeln, die mit Lokalanästhesie betäubt wurden (KLUIVERS-POODT et al., 2013). Schmerzhaft eingriffe bewirken einen Anstieg hochfrequenter Schreie und der Frequenzbereich bei Kastration liegt bei >1 kHz (PUPPE et al., 2005). Die Anzahl dieser hochfrequenten Vokalisationen ist bei der Durchtrennung des Samenstrangs dabei am höchsten, was darauf schließen lässt, dass dies der schmerzhafteste Teil der Kastration ist, noch schmerzhafter als die Inzision des Skrotums (TAYLOR und WEARY, 2000). Voraussetzung zur Messung von Vokalisationen ist ein Ausblenden der Nebengeräusche, was in Tierhaltungen teilweise nur schwer umzusetzen ist, da Vokalisierungen der anderen Tiere oder technische Geräusche wie die Fütterungsanlage zu Interferenzen führen können (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020).

2.2.3.3. Unspezifische Verhaltensveränderungen bei Schmerz

Durch direkte Beobachtung oder Videobeobachtung können die Körperhaltung sowie die unspezifischen Verhaltensänderungen von Ferkeln nach Kastration beobachtet werden. Dabei kommt es jedoch häufig zu widersprüchlichen Ergebnissen zwischen verschiedenen Studien (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020). Der Fokus liegt auf den Parametern Liegen, Stehen, Sitzen, Aktivität, soziale Isolation und Säugen.

Während manche Forschungsgruppen vermehrtes Liegen der kastrierten Ferkel im Vergleich zur unkastrierten Kontrollgruppe beobachten konnten (MCGLONE und HELLMAN, 1988; MCGLONE et al., 1993), wurde in den anderen Studien das Gegenteil beobachtet (TAYLOR et al., 2001). Bei HAY et al. (2003) und LLAMA MOYA et al. (2008) wiederum wurde kein signifikanter Effekt auf das Liegeverhalten beobachtet.

Ähnlich divergierende Aussagen finden sich auch bei der Untersuchung des Sitzverhaltens. Während von TAYLOR et al. (2001) ein häufigeres Sitzen kastrierter Tiere beobachtet wurde, saßen bei den Untersuchungen von LLAMAS

MOYA et al., (2008) unkastrierte Ferkel häufiger.

Auch das Saugverhalten unterschied sich in verschiedenen Studien deutlich. Während einige Autorinnen und Autoren eine längere Verweildauer am Gesäuge für kastrierte Ferkel beobachteten (LLAMAS MOYA et al., 2008), war in anderen Studien die Säugezeit bei kastrierten Tieren reduziert (MCGLONE und HELLMAN, 1988; MCGLONE et al., 1993).

Oft sind Verhaltensunterschiede zwischen Versuchstieren eines Wurfes nur marginal. Als Ursache hierfür wird vermutet, dass Sauggeschwister sich im Verhalten aneinander anpassen (REIMERT et al., 2013).

In bisherigen Studien wurden sehr heterogene Verhaltensuntersuchungsmethoden angewendet, um Schmerzverhalten nach der Kastration zu untersuchen. Verhaltensparameter sollten so gewählt sein, dass sie von verschiedenen Beobachtern gleich gezählt werden können (BAYSINGER et al., 2021).

Als alleiniger Parameter zur Beurteilung von Schmerzen ist die Beobachtung von unspezifischen Verhaltensweisen nicht geeignet, da die Unterschiede zum Verhalten unkastrierter Ferkel oft nur marginal und sehr kurz sichtbar sind und so teilweise zu widersprüchlichen Studienergebnissen führen (HAY et al., 2003; KLUIVERS-POODT et al., 2013; ISON et al., 2016; SHEIL und POLKINGHORNE, 2020).

2.2.3.4. Spezifische Verhaltensveränderungen bei Schmerz

HAY et al. (2003) unterscheiden in der Untersuchung der Verhaltensweisen nach Kastration zwischen unspezifischen und Schmerz-assoziierten Verhaltensparametern. Das Ethogramm umfasste dabei die Verhaltensweisen Prostration (Sitzen oder Stehen mit gesenktem Kopf), Robbenstellung (Liegen mit untergeschlagenen Gliedmaßen), Steifheit (Liegen mit abgestreckten Gliedmaßen), Zittern, Muskelzucken und Scheuern des Rumpfes am Boden oder an den Wänden sowie Schwanzschlagen als schmerzspezifisch. Dabei waren die Verhaltensweisen Kratzen und Schwanzschlagen bis zu mehrere Tage nach Kastration sichtbar (HAY et al., 2003). Je nach Schmerzursache konnte teils spezifisches Schmerzverhalten ausgemacht werden, so z. B. Zähneknirschen nach dem Kupieren der Eckzähne und Schwanzschlagen und Rumpfkratzen nach Kupieren des Schwanzes oder

Kopfschütteln nach Einkerbung der Ohren (NOONAN et al., 1994).

In verschiedenen Veröffentlichungen wird die Stellung oder Bewegung des Schwanzes als Schmerzparameter verwendet. Hier werden teilweise Veränderungen der Schwanzposition (DI GIMINIANI et al., 2016) und teilweise Bewegungen des Schwanzes wie Schwanzschlagen (VISCARDI et al., 2017) beschrieben. Veränderungen der Schwanzposition lassen sich im Zusammenhang mit verschiedenen Emotionen beim Schwein beschreiben (MARCET RIUS et al., 2018). Im Kontext der Lokalanästhesie wird teilweise vermehrtes Schwanzschlagen beobachtet, hier wird ein möglicherweise gestörtes Befinden aufgrund von Taubheit als Ursache diskutiert (HANSSON et al., 2011).

Die Sägebockstellung wird bei zahlreichen Tierarten als schmerzspezifisch vor allem bei Eingeweideschmerz angesehen. Studien verwenden diesen Schmerzparameter beispielsweise beim Rind (GLEERUP et al., 2015) oder Pferd (VAN LOON und VAN DIERENDONCK, 2015). Bei Schweinen wurde diese Stellung im Kontext von Lahmheit (GRÉGOIRE et al., 2013), Kupieren des Schwanzes (SUTHERLAND et al., 2011) oder Kastration (LONARDI et al., 2015) beschrieben.

2.2.3.5. Grimace Scale

Ursprünglich wurden Bewertungsskalen für die Schmerzmimik in der Humanmedizin entwickelt um die Schmerzen bei nicht verbalen Patientengruppen, wie Säuglingen (EKMAN et al., 1979) zu beurteilen. Das Konzept wurde dann zunächst bei Labortieren, wie Maus (LANGFORD et al., 2010), Ratte (SOTOCINAL et al., 2011) und Kaninchen (KEATING et al., 2012) angewendet, um Schmerzen zu quantifizieren und die Wirksamkeit von Schmerztherapien zu überprüfen. Mittlerweile wurden Grimace Scales auch für verschiedene Haus- und Nutztierarten entwickelt, z. B. für Pferde (DALLA COSTA et al., 2014), Rinder (GLEERUP et al., 2015) und Schafe (MCLENNAN et al., 2016). Die für das Grimace Scale Scoring verwendeten Parameter, ähneln sich stark bei verschiedenen Tierspezies. So findet sich beispielsweise der Parameter „Zusammenkneifen der Augen“ sowohl bei Maus und Ratte als auch bei Pferden und Ferkeln (LANGFORD et al., 2010; SOTOCINAL et al., 2011; DALLA COSTA et al., 2014; DI GIMINIANI et al., 2016; VISCARDI et al., 2017). Jedoch gibt es auch

tierartspezifische Unterschiede zwischen sehr phänotypisch ähnlichen Arten wie Mäusen und Ratten (MCLENNAN et al., 2019). Einige Studien konnten bei Ferkeln mithilfe eines Grimace Scales signifikante Gruppenunterschiede zwischen schmerzhaften und nicht schmerzhaften Ferkeln demonstrieren (DI GIMINIANI et al., 2016; VISCARDI et al., 2017) jedoch konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Untersuchungsgruppe und Kontrollgruppe nur bei gleichzeitigem bzw. ausschließlichem Schwanzkupieren erreicht werden und nicht bei der Kastration allein. So blieben signifikante Ergebnisse für den Vergleich von Handlingstieren und kastrierten Tieren auch bei der Verwendung von computerunterstützter 3D-Modellierung aus (LOU, 2020). Auch war teilweise keine Unterscheidung zwischen der nur gehandelten Kontrollgruppe und der Kastrationsgruppe erkennbar (VISCARDI und TURNER, 2018a). Bei älteren Schweinen konnten bei der Kastration von Kryptorchiden jedoch ein deutlicher Anstieg des Grimace Scale Scores beobachtet werden (VULLO et al., 2020). Auch bei Sauen konnten signifikante Ergebnisse zum Schmerzgesicht bei der Abferkelung beobachtet werden (NAVARRO et al., 2020). Häufig erweist sich die Aufnahme qualitativ hochwertiger Bilder als schwierig, da die Versuchstiere gleichzeitig nicht durch Handling beeinflusst werden sollen (MCLENNAN et al., 2019). Außerdem unterscheidet sich die Beurteilung verschiedener Gesichtsparemeter je nach beobachtender Person teilweise sehr stark (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020). Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass sich Schmerzgesichter mit dem Alter verändern, und es existieren deshalb unterschiedliche Skalen für das Schmerzgesicht von Neugeborenen und älteren Kindern (KOHUT et al., 2012). Auch bei Schafen existiert mittlerweile ein separater Grimace Scale für Lämmer (GUESGEN et al., 2016). Bisher existiert kein Ferkel-Grimace-Scale für eine direkte Schmerzbeurteilung. Alle bisherigen Studien untersuchen retrospektiv Fotos oder Videosequenzen (BAYSINGER et al., 2021).

2.2.3.6. Sensitivitätstests

Die nach einer Verletzung durch Entzündungsreaktionen im umliegenden Gewebe entstandene Hyperalgesie kann mittels quantitativer Messung beurteilt werden. Die Schwelle, ab der eine Reaktion des Tieres erfolgt, kann mittels mechanischer (JANCZAK et al., 2012) oder thermischer (HERSKIN et al., 2009) Reizung ermittelt werden. Auf diese Weise kann auch die Effektivität einer lokalen Betäubung (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020) oder eines Schmerzmittels

(FOSSE et al., 2011) beurteilt werden. Um einen standardisierten Druck auf den Wundbereich auszuüben, können Von Frey Filament Geräte eingesetzt werden (HERSKIN und RASMUSSEN, 2010). Bei Schweinen existieren verschiedene Studien zur Kastration unter lokaler Betäubung, beispielsweise unter Tri-Solfen oder Lidocain (SHEIL et al., 2020) und (LOMAX et al., 2017). In beiden Studien erzielte die topische Analgesie mit Tri-Solfen® eine signifikante Reduktion der mechanischen Schmerzsensitivität.

2.3. Unterdrückung der Schmerzweiterleitung mittels Lokalanästhesie

2.3.1. Chemische Struktur der Lokalanästhetika

In der Veterinärmedizin eingesetzte lokalanästhetische Stoffe bestehen aus einer hydrophilen Aminogruppe, die über eine Ester- oder Amidverbindung mit einer lipophilen aromatischen Gruppe verbunden ist. Lokalanästhetika des Estertyps werden lokal im Gewebe verstoffwechselt, wohingegen Amidtypen in der Leber metabolisiert werden und deshalb üblicherweise eine längere Wirkungsdauer besitzen (RICHTER et al., 2016).

2.3.2. Wirkungsweise der Lokalanästhetika

Lokalanästhetika bewirken eine lokale und reversible Hemmung der Depolarisierung von Natriumkanälen und verhindern somit die Weiterleitung von Aktionspotentialen über die Nervenfasern. Nur der unionisierte, basische Anteil des Lokalanästhetikums kann über die Lipomembran in den Natrium-Ionenkanal diffundieren und dort seine Wirkung entfalten. Deshalb sinkt die Wirkung von Lokalanästhetika bei Übersäuerung des Gewebes (zum Beispiel in Folge einer Entzündung) stark. In höheren Dosen werden neben Natrium- auch Kaliumionenkanäle blockiert (LÖSCHER et al., 2014). Da die Wirkung auf dünne unmyelinisierte Nervenfasern stärker ausgeprägt ist als an myelinisierten Fasern, wird zuerst die Schmerzempfindung blockiert und erst danach Temperaturempfinden, Berührungen und zuletzt Druck (GRAEFE, 2016). Bei hochdosierter Verabreichung der Lokalanästhetika kann es auch zu einer Hemmung der motorischen Nervenfasern kommen (LEFFLER und SCHULZ-STÜBNER, 2019). Als Nebenwirkung können nicht nur lokal, sondern auch systemisch

Natriumkanäle bzw. Kaliumkanäle blockiert werden, und es kann zu kardiologischen oder neurologischen Störungen kommen (AHRENS und LEFFLER, 2014; GRAEFE, 2016).

2.3.3. Wirkstoffe

2.3.3.1. Procain

Procain ist ein Lokalanästhetikum des Estertyps. Beim Abbau durch Cholesterasen im Gewebe entsteht unter anderem Paraaminobenzoensäure, die stark allergen wirkt. Deshalb besteht bei Procain eine höhere Gefahr allergischer Reaktionen als bei den in der Leber verstoffwechselten Amid-Lokalanästhetika. Dafür besitzt Procain aber nur eine geringe toxische beziehungsweise gewebschädigende Wirkung. Wirkeintritt beginnt nach 5-10 Minuten, die Wirkung hält dann 30 Minuten bzw. mit Sperrkörper bis zu 60 Minuten an. Lösungen mit einem höheren Anteil als vier Prozent Procain wirken gewebereizend (RICHTER et al., 2016)

2.3.3.2. Lidocain

Lidocain besitzt ungefähr die zweifache analgetische und gewebetoxische Wirkung im Vergleich zu Procain. Es gehört zu den Lokalanästhetika des Amidtyps. Die Wirkung setzt sehr schnell, schon nach circa zwei Minuten ein und hält dann für 60 bis 90 Minuten an. Die Wirkdauer lässt sich durch den Einsatz eines Sperrkörpers auf bis zu 240 Minuten steigern (RICHTER et al., 2016).

2.3.3.3. Mepivacain

Die Wirksamkeit und Toxizität ähneln dem Lidocain, jedoch tritt die Wirkung langsamer ein und hält dann bis zu drei Stunden an. Da es im Gegensatz zu vielen anderen Lokalanästhetika einen leicht vasokonstriktorisches Effekt hat, muss hier kein zusätzlicher Sperrkörper verwendet werden (GARCIA, 2015). Mepivacain ist eines der wenigen hyperbaren Lokalanästhetika, deshalb kommt es auch zur hyperbaren Verteilung im Liquor (NIESEL und VAN AKEN, 2003). Topisch ist dieses Lokalanästhetikum nur schlecht resorbierbar und daher für die Oberflächenanästhesie nicht gut geeignet (RICHTER et al., 2016).

2.3.3.4. Bupivacain

Bupivacain ist das wirkungsstärkste Lokalanästhetikum des Amidtyps, hat allerdings auch die höchste toxische Wirkung. Bei versehentlicher intravenöser Injektion kann es zu schwerwiegenden Nebenwirkungen, beispielsweise Herzrhythmusstörungen oder zentralnervösen Störungen, kommen. Außerdem ist Bupivacain chondrotoxisch, stark lipophil und liegt im Blut vor allem gebunden an Plasmaproteine vor. Die Wirkung hält bis zu sechs Stunden an (LARSEN, 1999).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Ziel der Untersuchung

Ziel der vorliegenden Studie war die Beurteilung der wirksamen Schmerzausschaltung durch die Verhaltensanalyse von Ferkeln vor und nach Kastration unter Lokalanästhesie.

Die Untersuchung war in eine Laborstudie unter möglichst standardisierten Bedingungen, und eine Feldstudie, die auf eine praxisnähere Durchführung abzielte, unterteilt. Die drei Teile der Laborstudie (part 1-3) bauten aufeinander auf und die verwendeten Lokalanästhetika und Injektionsmethoden wurden fortlaufend optimiert.

2. Verhaltensbeobachtung von Saugferkeln

2.1. Genehmigungen für das Versuchsverfahren

Für die Voruntersuchungen und die betäubungslose Kastrationsgruppe in der Feldstudie wurde bei der Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät der LMU München je ein Ethikantrag gestellt. Beide Anträge wurden genehmigt und erhielten die LMU -AktENZEICHEN 146-22-10-2018 und 233-20-09-2020. Das Hauptexperiment wurde gemäß EU-Richtlinie 2010/63/EU und gemäß des Deutschen Tierschutzgesetzes durchgeführt und von der Ethikkommission für Tierversuche der Regierung von Oberbayern, München bewilligt (Referenznummer der Laborstudie: ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11 und der Feldstudie: ROB-55.2-2532.Vet_02-20-138).

2.2. Versuchsbetriebe

Die Laborstudie fand in einem Betrieb statt, der in einem geschlossenen System Ferkel erzeugt, aufzieht und bis zur Schlachtreife mästet. Dort werden circa 90 Sauen gehalten, die in einem dreiwöchigen Rhythmus abferkeln. Zwei Abferkelabteile mit je acht Buchten wurden für die Untersuchung verwendet. Um eine Zwischenlagerung der Versuchsausrüstung, wie der Observationsarena zu

ermöglichen, waren maximal sieben der acht Buchten belegt. Die 3,8 m² großen Abferkelbuchten (Länge: 1,65 m Breite: 2,3 m) waren mit Teilspalten-Zementböden ausgestattet, die im Liegebereich der Sau mit Gummimatten bedeckt waren. Das Ferkelnest besaß einen ebenen Betonboden mit integrierter Wärmeplatte, der mit Sägespänen und Stroh bedeckt war. Über dem Ferkelnest befand sich eine bewegliche Abdeckung und eine Infrarot-Wärmelampe. Um Schmerzen durch andere zootechnische Eingriffe zu vermeiden, wurden bei den Tieren erst nach Ende der Untersuchung und vor dem Absetzen von der Muttersau Ohrmarken eingezogen. Die Schwänze wurden nicht kupiert. Am ersten Lebenstag erhielten die Ferkel eine intramuskuläre Eiseninjektion (1 ml Ursoferran 200 mg/ml Injektionslösung für Schweine, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland).

Der zweite Betrieb, der sich ebenfalls in Bayern befand, hält circa 190 Sauen. Diese ferkeln ebenfalls in einem 3-Wochen-Rhythmus ab, und die Ferkel werden im Betrieb aufgezogen und gemästet. Die für die Versuche verwendeten Abferkelbuchten befanden sich in Abteilen mit insgesamt zehn Buchten, von denen für die Versuche maximal acht belegt wurden. Die Buchten waren mit einem Spaltenboden aus grünem Hartplastik ausgestattet. Der Liegebereich der Sau im Kastenstand bestand aus Gusseisen, der im Bereich der Hintergliedmaße mit einer Gummimatte abgedeckt war. Die Größe der Buchten betrug 4,5 m². Das Ferkelnest bestand aus einer ebenen Wärmeplatte und einer Sichtschutzabdeckung, durch die eine zusätzliche Wärmelampe eingehängt werden konnte. Den Ferkeln wurde in den ersten Lebenstagen eine individuelle Ohrmarke eingezogen, um eine Identifizierung zu ermöglichen. Die Schwänze der Ferkel wurden nicht kupiert. Alle Ferkel wurden mit einer intramuskulären Eiseninjektion (1 ml Ursoferran 200mg/ml Injektionslösung für Schweine, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) versorgt.

2.3. Versuchstiere

Insgesamt wurden Daten von 178 Masthybrid-Ferkel (Kreuzung aus Piétrain x Deutsche Landrasse und Deutsches Edelschwein) in der Labortstudie (Betrieb 1) erhoben. In der Feldstudie wurden 110 Ferkel unterschiedlicher Genetik aus Betrieb 2 verwendet. Die Ferkel der Laborstudie waren zwischen drei und sieben Tage alt (Mittelwert \pm Standardabweichung: part 1: 5,1 \pm 1,1 Tage; part 2: 6,6 \pm 0,7 Tage,

part 3: $6,7 \pm 1,5$ Tage) und hatten ein Mindestgewicht von 1,4 kg. Das durchschnittliche Gewicht (Mittelwert \pm Standardabweichung) betrug in part 1: $2,2 \pm 0,5$ kg, in part 2: $2,2 \pm 0,6$ kg und in part 3: $2,3 \pm 0,6$ kg). In der Feldstudie wurden Ferkel nicht mehr aufgrund des Gewichts ausgeschlossen. In beiden Versuchsteilen wurden nur gesunde Tiere mit vollständig abgestiegenen Hoden verwendet. Tiere, bei denen eine Hernie festgestellt werden konnte, sogenannte Bruchferkel, wurden von der Kastration ausgeschlossen.

2.4. Versuchsablauf

2.4.1. Versuchsablauf

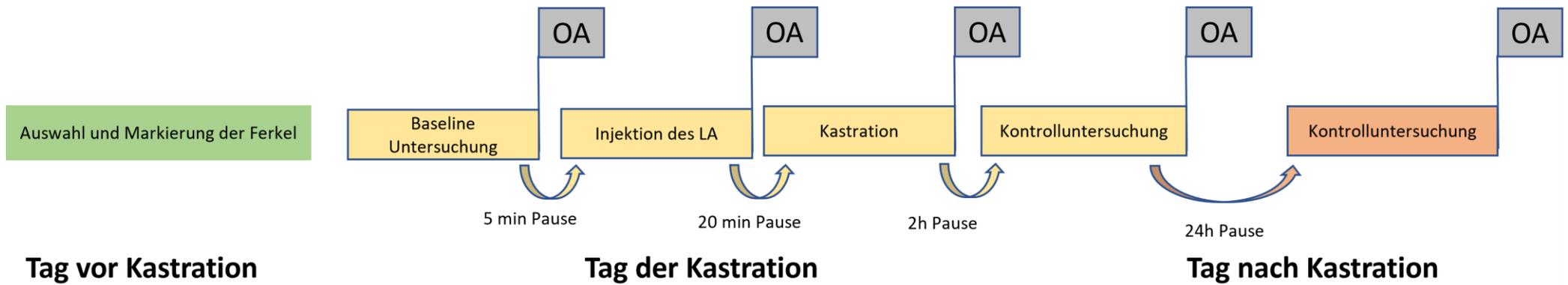


Abbildung 1 Zeitstrahl des Versuchsablaufs der Laborstudie mit allen in der Observationsarena (OA) beobachteten Zeitpunkten

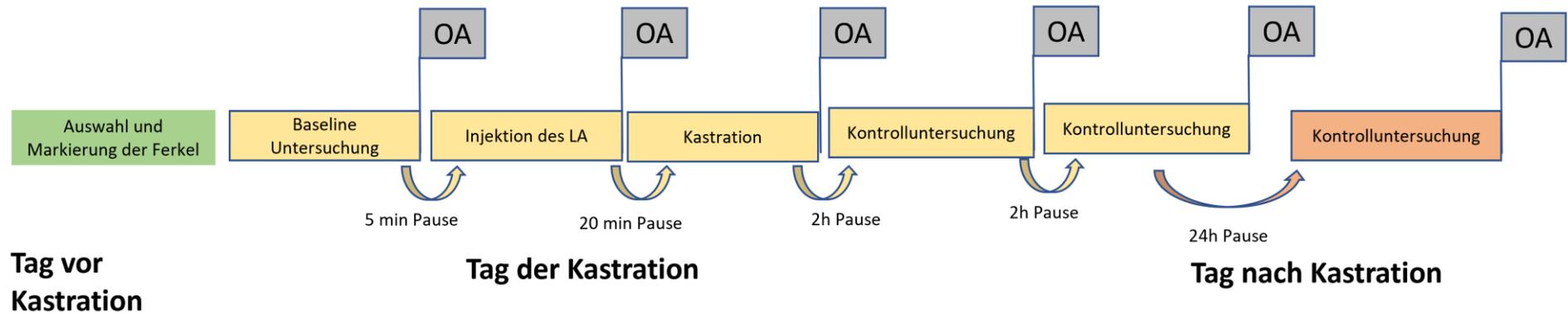


Abbildung 2: Zeitstrahl des Versuchsablaufs in der Feldstudie mit allen in der Observationsarena (OA) beobachteten Zeitpunkten

2.4.1.1. Auswahl und Vorbereitung der Versuchstiere

Am Tag vor der Kastration wurden die männlichen Ferkel gewogen, markiert und die Hoden kontrolliert. Tiere mit unvollständig abgestiegenen Hoden sowie Bruchferkel wurden von der Studie ausgeschlossen. Es wurden nur Ferkel mit einem ungestörten Allgemeinbefinden und einem Gewicht von mindestens 1,4 kg in die Laborstudie aufgenommen. Die individuelle Markierung erfolgte mit schwarzem Markierspray (MS Markierspray, schwarz, MS Schippers, Kerken, Germany) und einem Pinsel (siehe Markierungsschema Abb.3) und ermöglichte es die Ferkel zu identifizieren.

In der Feldstudie gab es keine Gewichtsvorgaben mehr, dennoch wurde das Allgemeinbefinden und der vollständige Hodenabstieg vor der Kastration überprüft. Auch hier wurden alle Versuchstiere mit Pinsel und schwarzem Markierspray (MS Markierspray, schwarz, MS Schippers, Kerken, Germany) markiert.

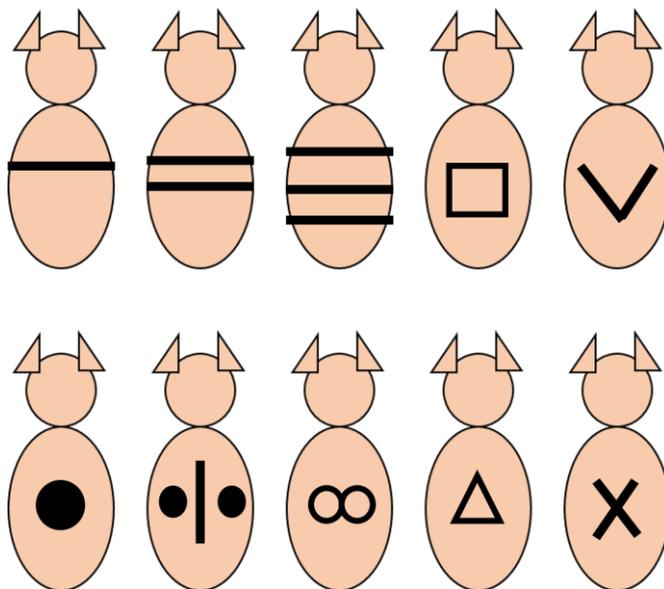


Abbildung 3: Markierungsschema für männliche Ferkel eines Wurfes von 1-10

2.4.1.2. Verhaltensbeobachtungen in der Observationsarena

Um eine Erhebung von Verhaltensdaten ohne Einfluss durch den Beobachtenden zu ermöglichen, wurden die Ferkel zu fünf verschiedenen Zeitpunkten (siehe Zeitstrahl Abb. 1) für maximal zwei Minuten in eine nach DI GIMINIANI et al., (2016) modifizierte Observationsarena (siehe Abb. 4) gesetzt. Diese Arena bestand aus einer runden, schwarzen Kunststoffwanne mit einem Durchmesser von 60 cm am Boden und von 70 cm am oberen Rand. Die Höhe betrug 40 cm. Durch vier gleichmäßig verteilte Aussparungen an der Seitenwand, mit einem Durchmesser von je vier Zentimetern, wurden die Linsen von vier Digitalkameras (GoPro Hero7 Black Action Cam 4K, GoPro Inc., San Mateo, CA) geschoben. Der Boden der Arena wurde mit einer kreisrund zugeschnittenen Hanfmatte (Abferkelmatte aus Hanf 5 mm, GFS Top Animal Shop, Ascheberg, Deutschland) bedeckt, um ein sicheres Stehen für die Ferkel zu gewährleisten und Exkreme aufzusaugen. Die Hanfmatte wurde bei Bedarf, z. B. bei Verschmutzung, ersetzt. Um das Ferkel zu wärmen und gute Lichtverhältnisse zu gewährleisten, wurde in 70 cm Höhe eine Wärmelampe (Wärmelampe 250W, ARTAS, Armstadt, Deutschland) über der Observationsarena platziert. Die Arena und der Metallrahmen wurden an einer 1 m x 1 m Holzplattform befestigt, so dass das gesamte Konstrukt leicht angehoben und transportiert werden konnte. Während der Aufnahmen war die Observationsarena im Versorgungsgang neben den Abferkelbuchten platziert, sodass jedes Ferkel während der Observation stets Hör- und Geruchskontakt zur Muttersau und den Wurfgeschwistern hatte.

Vor allen anderen Eingriffen wurden die Ferkel für bis zu zwei Minuten in einer Observationsarena, modifiziert nach DI GIMINIANI et al. (2016) gefilmt. Die Verhaltensbeobachtungen vor der Injektion und Kastration dienten als Baseline-Verhalten, das mit dem Verhalten nach den Eingriffen verglichen wurde. Weitere Aufnahmen wurden jeweils direkt nach der Injektion und der Kastration sowie zwei und 24 Stunden nach der Kastration angefertigt. In der Feldstudie wurde ein zusätzlicher Beobachtungszeitpunkt in der Observationsarena vier Stunden nach Kastration eingefügt, um die postoperative Beobachtung weiter zu intensivieren.



Abbildung 4 Stehendes Ferkel in der nach DI GIMINIANI et al. (2016) modifizierten Observationsarena mit darüber hängender Wärmelampe

2.4.1.3. Injektion des Lokalanästhetikums

Für die Injektion wurden die Ferkel in einem Kastrationsbock (Schippers, Kerken, Deutschland) fixiert und erhielten mittels eines selbstfüllenden Injektors (HSW ECO-MATIC, Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen, Deutschland mit einer 25G Kanüle (0,5x16 mm, B.Braun TravaCare GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) entweder ein Lokalanästhetikum oder eine Natriumchloridlösung in beide Hoden injiziert. Im ersten Teil der Studie erfolgte die Injektion in zwei Stufen, dabei wurden im rechten und linken Hoden je 0,5 ml Injektionslösung intratestikulär und 0,5 ml subkutan ins Skrotum injiziert (Two-Step). Aufgrund einer Dosisanpassung wurde im zweiten Versuchsteil (part 2) insgesamt weniger Lokalanästhetikum injiziert. Die zweistufige Injektionsmethode nach Hansson et al. (2011) (Two-Step (H), die ab dem zweiten Studienteil verwendet wurde, sieht ebenfalls eine intratestikuläre Injektion von 0,4 ml pro Hoden vor, jedoch werden die restlichen 0,2 ml beim Herausziehen der Kanüle verabreicht und nicht punktuell subkutan. Handlingstiere wurden ebenfalls im Kastrationsbock fixiert, eine Injektion jedoch nur durch Druck mit der verschlossenen Kanüle simuliert, die Hoden wurden dabei fixiert. Bei der einstufig, gefensterter Injektionsmethode (One-Step (F)) die vergleichend ebenfalls ab part 2 zum Einsatz kam, wurde eine 25G Kanüle

verwendet (0.5 x 10 mm), die zusätzlich zur distalen Kanülenöffnung mit vier weiteren lateralen Öffnungen versehen war, davon zwei proximal und zwei distal (WERNER et al., 2022). Dies bewirkte, dass bei Injektion gleichzeitig Lokalanästhetikum distal im Hoden und proximal in der Subcutis des Skrotums verabreicht werden konnte.

In der Feldstudie wurde neben der handelsüblichen 25G Kanüle mit 16 mm, eine wie oben beschrieben, gefensterter Kanüle und eine auf 8 mm gekürzte Kanüle verwendet.

2.4.1.4. Kastration

Um die volle Wirksamkeit der verwendeten Lokalanästhetika zu erreichen, wurden die Tiere erst nach einer Wartezeit von 20 Minuten im Kastrationsbock kastriert. Nach der Reinigung des Skrotalbereichs mit antiseptischer Lösung (Octenisept®, Schuelke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) wurden die Ferkel mit einem Skalpell mit einer sterilen Klinge (Skalpellklingen Kohlenstoffstahl, steril 21, Heinz Herenz Medizinalbedarf GbmH, Hamburg, Deutschland; Skalpellgriff Nr. 4, AESCULAP AG & CO. KG, Tuttlingen, Deutschland) kastriert. Das Skalpell wurde verwendet, um zuerst die Haut und die *Tunica vaginalis* einseitig zu eröffnen. Dann wurde der Hoden extrahiert und durch Durchtrennen des *Ductus spermaticus* entfernt. Danach wurde dieser Vorgang auf der anderen Seite wiederholt. Ferkel aus der Handling-Gruppe (Sham) wurden in dem Kastrationsbock fixiert und die Kastration wurde durch manuelle Fixierung der Hoden und Druck durch die stumpfe Seite des Skalpells simuliert. Die Kastration und Injektion wurden standardisiert von denselben drei ausgebildeten Tierärztinnen durchgeführt. Nach der Kastration wurden die Ferkel sofort in die Observationsarena gesetzt.

In der Feldstudie erfolgten erst beidseitig die Hautschnitte bevor nacheinander die beiden Hoden extrahiert und abgesetzt wurden. Dies geschah vor dem Hintergrund, dass in der Feldstudie praxisnäher und damit schneller gearbeitet werden sollte.

2.4.1.5. Versuchsgruppen Laborstudie

Tabelle 1 Versuchsgruppen Laborstudie part 1-3; Erklärungen zu den einzelnen Injektionsmethoden finden sich unter 2.4.1.3. *Injektion des Lokalanästhetikums*

Gruppe	Wirkstoff	Produktinformation und Handelsname	Dosierung	Injektionsmethode	Anzahl Tiere
Proca Two-Step Part 1	Procain-hydrochlorid + Adrenalin	Pronestestic 40 mg/ml Injektionslösung für Pferde, Rinder, Schweine und Schafe FATRO S.p.A, Ozzano Emilia (Bologna), Italien	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	Zweistufige Methode	12
Lido Two-Step Part 1	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	Zweistufige Methode	12
Bupi Two-Step Part 1	Bupivacain-hydrochlorid + Adrenalin	Bupivacain 0.5 %, JENAPHARM®, mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	Zweistufige Methode	12

Mepi Two-Step Part 1	Mepivacain-hydrochlorid	Mepidor® 20 mg/ml Injektionslösung für Pferde, WDT e.G.	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	Zweistufige Methode	12
Sham Part 1				Schein-injektion	11
NaCl Two-Step Part 1	Natrium-chlorid	0,9 % Natriumchlorid Intravenöse Infusion B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	0,5 ml i.t. 0,5 ml s.c.	Zweistufige Methode	12
Lido One-Step (F) Part 2	Lidocainhydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,6 ml	Einstufig, gefensterter Kanüle	11
Lido Two-Step (H) Part 2	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,4 ml i.t. 0,2 ml s.c.	Zweistufig nach Hansson et al, 2011	12

Sham Part 2				Schein-injektion	12
NaCl One-Step (F) Part 2	Natrium-chlorid	0,9 % Natriumchlorid Intravenöse Infusion B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	0,6 ml	Einstufig gefensterter Kanüle	12
Lido One-Step (F) Part 3	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,6 ml	Einstufig, gefensterter Kanüle	12

Lido Two-Step (H) Part 3	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,4 ml i.t. 0,2 ml s.c.	Zweistufig nach Hansson et al,2011	12
Mepi One-Step (F) Part 3	Mepivacain- hydrochlorid	Mepidor® 20 mg/ml Injektionslösung für Pferde,WDT e.G.	0,7 ml	Einstufig, gefensterter Kanüle	12
Sham Part 3	-	-	-	Scheininjektion	12
NaCl One-Step (F) Part 3	Natrium-chlorid	0,9 % Natriumchlorid Intravenöse Infusion B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	0,6 ml	Einstufig, gefensterter Kanüle	12

2.4.1.6. Versuchsgruppen Feldstudie

Tabelle 2 Versuchsgruppen Feldstudie; Erklärungen zu den einzelnen Injektionsmethoden finden sich unter 2.4.1.3. *Injektion des Lokalanästhetikums*

Gruppe	Wirkstoff	Produktinformation und Handelsname	Dosierung	Injektionsmethode	Anzahl Tiere
Lido One-Step (F) Feld	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,6ml	Einstufige, fenestrierte Methode	30
Lido Two-Step Feld	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,4 ml i.t. 0,2 ml s.c.	Zweistufig nach Hansson et al,2011	35
Lido Two-Step (S) Feld	Lidocain-hydrochlorid + Adrenalin	Xylocitin® 2% mit Epinephrin 0,001% mibe GmbH Arzneimittel	0,4 ml i.t. 0,2 ml s.c.	Zweistufig nach Hansson et al., 2011 mit gekürzter Kanüle (8 mm)	29
Betäubungslose Kontrollgruppe	-	-	-	Keine Injektion	16

Alle Ferkel (außer der betäubungslosen Kontrollgruppe) erhielten vor Kastration 0,25 ml Meloxicam + 50 mg Metamizol/kg KGW i.m

2.4.1.7. Ethogramm für die Auswertung des Verhaltens in der Observationsarena

Das Verhalten in der Observationsarena wurde mithilfe eines nach HAY et al., (2003) modifizierten Ethogramms bewertet. Das Verhalten „Sägebockstellung beim Kotabsatz“ wurde gesondert erfasst, um es von den beiden Schmerzparametern „Sägebockstellung“ und „Sägebockstellung mit Pressen gegen Arenawand“ zu trennen.

Tabelle 3 Ethogramm für das Verhalten in der Observationsarena

Funktionskreis	Verhalten	Definition
Schmerzverhalten	Schwanzposition	Schwanz gerade gehalten und nicht geringelt, sowohl abgehalten vom Körper als auch nach unten hängend
	Schwanzwedeln	Wiederholte schnelle Schwanzbewegung nach oben und unten oder auch seitlich
	Sägebockhaltung	Gekrümmte Rückenlinie, kraniale Streckung der Vordergliedmaße
	Sägebockhaltung und Pressen gegen Arenawand	Gekrümmte Rückenlinie, kraniale Streckung der Vordergliedmaße und Pressen des Hinterteils gegen die Wand der Arena
	Sitzen	Ferkel hat die Hinterbeine unter den Bauch geschlagen oder seitlich vom Körper abgespreizt und sitzt auf dem Hinterteil
Ausscheidungsverhalten	Sägebockhaltung beim Kotabsatz	Gekrümmte Rückenlinie mit Kotabsatz

2.4.1.8. Statistik

Für die Analysen wurde die statistische Programmiersprache R (TEAM, 2021) verwendet. Dabei wurde für die Beurteilung der Schmerzparameter entlang des zeitlichen Verlaufs für jeden Schmerzparameter ein gemischtes logistisches Modell für dichotome Zielgrößen angewandt. Hierbei wurden die Indikatoren der Schmerzparameter als Zielgröße und die unterschiedlichen Zeitpunkte als kategoriale Einflussgrößen betrachtet. Tierspezifische Variation wurde mit Hilfe von zufälligen Effekten für die Modellkonstante modelliert. Das Gewicht wurde als Kovariable in allen Modellen berücksichtigt. Als Ergebnis resultierten adjustierte Risiken für die Schmerzparameter entlang der verschiedenen Zeitpunkte. Weiterhin wurden diese Risiken mit Hilfe des relativen Risikos verglichen, entsprechende 95% Konfidenzintervalle und p-Werte angegeben.

IV. ERGEBNISSE

1. Publierte Ergebnisse



Article

Behavior of Piglets in an Observation Arena before and after Surgical Castration with Local Anesthesia

Regina Miller, Andrea Grott, Dorian Patzkéwitsch, Dorothea Döring, Nora Abendschön, Pauline Deffner, Judith Reiser, Mathias Ritzmann, Anna M. Saller, Paul Schmidt et al.

Special Issue

Animal Welfare and Pain Assessment in Farmed Species

Edited by
Dr. Emanuela Dalla Costa



<https://doi.org/10.3390/ani13030529>



Article

Behavior of Piglets in an Observation Arena before and after Surgical Castration with Local Anesthesia

Regina Miller ^{1,*}, Andrea Grott ¹, Dorian Patzkéwitsch ¹, Dorothea Döring ¹, Nora Abendschön ², Pauline Deffner ², Judith Reiser ³, Mathias Ritzmann ², Anna M. Saller ³, Paul Schmidt ⁴, Steffanie Senf ², Julia Werner ³, Christine Baumgartner ³, Susanne Zöls ², Michael Erhard ¹ and Shana Bergmann ^{1,*}

¹ Department of Veterinary Science, Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, LMU Munich, 80539 Munich, Germany

² Clinic for Swine, Ludwig Maximilian University of Munich, 85764 Oberschleißheim, Germany

³ Center for Preclinical Research, Technical University of Munich, 81675 Munich, Germany

⁴ Statistical Consulting for Science and Research, Große Seestr. 8, 13086 Berlin, Germany

* Correspondence: r.miller@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (R.M.); s.bergmann@lmu.de (S.B.)

Simple Summary: Surgical castration of piglets is generally recognized as a painful procedure. Thus, for animal welfare reasons, the German Animal Welfare Act stipulates the use of effective anesthesia during castration. However, whether local anesthesia provides adequate analgesia has been an ongoing debate in Germany. In the present study, we compared the behavior of 178 piglets allocated to various test groups in an observation arena before any of the applied procedures, after administration of the local anesthetic, and 0, 2 and 24 h after surgical castration. The local anesthetic and the injection techniques were evaluated and optimized in three sequential study parts. Overall, the results revealed that when local anesthesia was used, piglets less frequently showed pain-associated behaviors—such as changes in tail position—than piglets of the control group that had been castrated without local anesthesia. Non-castrated piglets showed the fewest pain-associated behaviors in the observation arena. In several test groups, the piglets showed changes in tail position, tail wagging, or hunched-back posture on the day following the procedure. These behaviors differed significantly from those shown before the procedure. The administration of local anesthetics in the present study considerably reduced castration-related pain. However, because local anesthesia has a limited duration of effect, adverse effects due to castration-related pain were still observable one day after castration.

Abstract: Surgical castration of piglets is generally recognized as a painful procedure, but there is currently no gold standard for the assessment of pain behavior in piglets. However, pain assessment is essential for evaluating the effectiveness of local anesthetics. In this study, we investigated the efficacy of four local anesthetics in terms of pain relief during and after surgical castration in three sequential study parts. To do so, we filmed 178 piglets before the applied procedures, after injection of the local anesthetic, and up to 24 h after castration (five observation times in total) in an observation arena and compared their behavior before and after castration and between treatments and control groups. The results showed significant differences in the behavior of the piglets before and after castration and between the sham-castrated control group and the control group castrated without anesthesia. The different local anesthesia treatment groups showed diverging differences to the control groups. The most frequently shown pain-associated behaviors of the piglets were changes in tail position and hunched back posture. We observed a reduction but no complete elimination of the expressed pain-associated behaviors after local anesthesia. Several behavioral changes—such as changes in tail position, hunched back posture or tail wagging—persisted until the day after castration. Owing to the limited duration of the effects of the local anesthetics, local anesthesia did not influence long-term pain.

Keywords: animal welfare; pain relief; procaine; lidocaine; mepivacaine; bupivacaine



Citation: Miller, R.; Grott, A.; Patzkéwitsch, D.; Döring, D.; Abendschön, N.; Deffner, P.; Reiser, J.; Ritzmann, M.; Saller, A.M.; Schmidt, P.; et al. Behavior of Piglets in an Observation Arena before and after Surgical Castration with Local Anesthesia. *Animals* **2023**, *13*, 529. <https://doi.org/10.3390/ani13030529>

Academic Editor: Emanuela Dalla Costa

Received: 10 January 2023

Revised: 25 January 2023

Accepted: 30 January 2023

Published: 2 February 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The International Association for the Study of Pain defines pain as an “unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage or described in terms of such damage” [1]. This definition is the same for all animal species and for humans, although the intensity and expression of pain can differ between species and between individuals of the same species, thus making an objective assessment difficult. Regarding pigs, even experts have difficulties in reliably recognizing pain [2]. However, proper assessment and elimination of pain are mandatory to comply with the requirements of the German Animal Welfare Act and to ensure that the wellbeing of the animals is not negatively affected. According to Article 1 Section 1, Clause 2, no one may inflict unjustified pain, suffering or injury on animals [3]. Therefore, as of 1 January 2021, castration for the purpose of preventing boar taint is only permitted with effective anesthesia in Germany. This regulation applies to about 20 million male piglets annually [4]. Because alternatives—such as boar fattening or immunocastration—do not yet prevail over surgical castration in Germany [5], evidence-based suitable methods of anesthesia that reliably reduce castration-induced pain must be applied. Currently, castration with local anesthesia is not allowed in Germany because its effectiveness in eliminating pain is still a matter of debate.

Whereas humans are mostly able to evaluate and verbally communicate the intensity and quality of pain, veterinary medicine must rely on nonverbal pain parameters [6]. Options for pain assessment in animals include the measurement of physiological parameters such as heart rate, blood pressure or various blood parameters (e.g., catecholamines or cortisol). Because the measurement of these parameters usually requires handling of the animals, the results may be confounded by stress, fear or external factors [7]. Especially for castration-induced pain, but also for other pain-inducing situations, behavior observations were shown to provide reliable assessment parameters [7]. Observation cameras or direct observations can display the behavior of the animals without disturbance by handling. Behavioral reactions to pain include specific pain-associated behaviors—such as hunched back posture, tail wagging and rump scratching—and unspecific changes in physiological behaviors such as suckling or sleeping [8]. However, observation of animal behavior over a long period is very labor intensive and requires the experience and training of the observer [7].

More recent behavior-based assessment systems such as grimace scales, which allow classifying pain based on animal mimics, or standardized behavior tests can facilitate and standardize pain assessment because they assess only specific behavior elements and require no comprehensive observation. Regarding pigs, the use of the grimace scale is still challenging, so behavior observation seems to be a more reliable method [7].

There is currently no gold standard for the assessment of pain behavior in piglets [7]. Therefore, to assess the efficacy of local anesthesia in eliminating pain during and after surgical castration, we analyzed the pain behavior of differently treated piglets under eight days of age in an observation arena. Specifically, we compared the acute pain behavior of piglets where anesthesia had been administered and castrated piglets with the behavior of non-castrated piglets or piglets castrated without anesthetic treatment.

2. Materials and Methods

The present study is part of the joint project “Effectiveness of local anesthesia in eliminating pain during piglet castration,” a collaboration between the Center for Preclinical Research of the Technical University of Munich and the Clinic for Swine of the Ludwig Maximilian University of Munich. The study consisted of three sequential experimental parts (part 1, part 2 and part 3) designed to find the most effective method and the most suited agent for anesthesia during castration. It complied with all legal requirements regarding the planning and conducting of animal research according to the Directive 63/2010/EU of the European Parliament and of the Council and according to the German Animal Welfare Act (2019). The study was approved by the district government of Upper Bavaria (reference number ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11).

2.1. Animals and Housing

In total, 178 male hybrid fattening piglets (crossbreed Piétrain × German Landrace and German Large White) were included in the study. The piglets were between three and seven days old (mean ± SD: part 1: 5.1 ± 1.1 days; part 2: 6.6 ± 0.7 days, part 3: 6.7 ± 1.5 days) and had a minimum weight of 1.4 kg. The average weight (mean ± SD) was 2.2 ± 0.5 kg in part 1, 2.2 ± 0.6 kg in part 2 and 2.3 ± 0.6 kg in part 3. Only animals with completely descended testicles and sound general conditions were included in the study and randomly allocated to the different study groups.

All animals were housed on a farm in Bavaria. This breeding and fattening farm housed eighty sows, which farrowed in a three-week rhythm. Sows were fed a mixed ration, including a minimum of 200 g of raw fiber per day, that was produced and processed at the farm. The farrowing pens were 3.8 m² in size (length: 1.65 m, width: 2.30 m) and had partially slatted concrete floors that were covered with rubber mats in the lying area of the sow. The piglet creep had a solid concrete floor bedded with sawdust and straw. A movable cover and an infrared heat lamp (heat lamp with protective case, 250 W, ARTAS, Armstadt, Germany) were installed above the piglet creep. To avoid pain and thus a possible influence of additional zootechnical procedures on the assessed parameters, the piglets were ear-tagged after completing the trials and before weaning from the mother sow, and their tails were not docked. On the day before castration, all piglets received an intramuscular iron injection (1 mL Ursoferran[®], 200 mg active ingredient per milliliter of injection solution for swine, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Germany).

To allow the collection of behavior data without influence of the observing person, the piglets were placed in an observation arena (modified after Di Giminiani et al. [9]; Figure 1 at five observation time points (see timeline in Figure 2; for a maximum duration of two minutes per observation). This arena consisted of a round black plastic tub with a diameter of 60 cm at the bottom and 70 cm at the rim, with a height of 40 cm. The tub had four evenly spread side openings of 4 cm diameter per opening, through which the lenses of four digital cameras (GoPro Hero7 Black Action Cam 4K, GoPro Inc., San Mateo, CA, USA) were inserted. The bottom of the arena was covered with a fitted round hemp mat (hemp farrowing mat, 5 mm thick, GFS Top Animal Shop, Ascheberg, Germany) to ensure slip-proof standing of the piglets and to absorb excrement. The hemp mat was replaced as needed, e.g., when soiled. To keep the piglet warm and provide adequate lighting, a heat lamp (heat lamp 250 W, ARTAS, Armstadt, Germany) was placed 70 cm above the bottom of the observation arena. The arena and the metal frame were mounted on a wooden platform (1 × 1 m) so that the whole construction was easy to lift and move. During the recordings, the observation arena was placed in the aisle next to the farrowing pens so that the piglets could always hear and smell their mother sow and litter siblings.



Figure 1. Photograph of the observation arena with a standing piglet, modified after Di Giminiani et al. [9]. Photo credit: S.Bergmann.

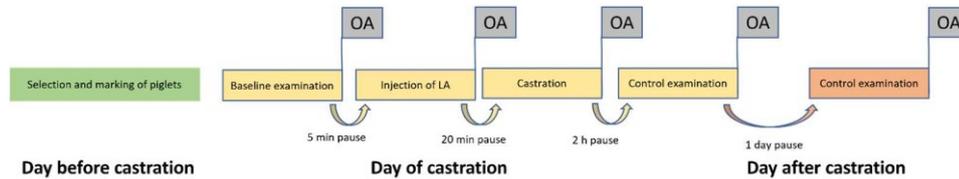


Figure 2. Experimental procedure from the day before castration until the day after castration showing all five observation time points in the observation arena. LA = Local anesthetic; OA = video recording in the observation arena.

2.2. Experimental Design

The study was divided into three parts that were established step by step to optimize the applied local anesthesia. In part 1, 4 local anesthetics were tested on 71 piglets from 16 litters. In part 2, 2 injection techniques were applied with 1 selected local anesthetic on 47 piglets from 10 litters. In part 3, the most effective local anesthetics and injection techniques identified in the first two parts were used [10–12]. In addition, local anesthesia in part 3 was combined with systemic analgesia. Part 3 was conducted on 60 piglets from 11 litters. In addition to the treatment groups, each study part included two control groups: a “handling” group in which injection and castration were only simulated (sham group) and a sodium chloride (NaCl) group in which the piglets were injected with NaCl solution instead of local anesthetic and thus were castrated without anesthesia. Table 1 gives an overview of the study groups investigated in study parts 1–3.

Table 1. Study groups administered drugs and injection techniques in study parts 1–3.

Study Part	Study Group	Drug	Product Information and Brand Name	Dosage	Injection Technique	Number of Piglets
1	Proca Two-Step Part 1	Procaine hydrochloride + adrenaline	Pronestestic 40 mg/mL injection solution for horses, cattle, swine and sheep; FATRO S.p.A, Ozzano Emilia (Bologna), Italy	0.5 mL i.t. 0.5 mL s.c.	Two-step technique	12
	Lido Two-Step Part 1	Lidocaine hydrochloride + adrenaline	Xylocitin® 2% with epinephrine 0.001%; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0.5 mL i.t. 0.5 mL s.c.	Two-step technique	12
	Bupi Two-Step Part 1	Bupivacaine hydrochloride + adrenaline	Bupivacaine 0.5%, JENAPHARM®; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0.5 mL i.t. 0.5 mL s.c.	Two-step technique	12
	Mepi Two-Step Part 1	Mepivacaine hydrochloride	Mepidor® 20 mg/mL injection solution for horses; Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Germany	0.5 mL i.t. 0.5 mL s.c.	Two-step technique	12
	Sham Part 1	n/a	n/a	n/a	Sham injection	11
	NaCl Two-Step Part 1	Sodium chloride	NaCl 0.9% intravenous infusion; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany	0.5 mL i.t. 0.5 mL s.c.	Two-step technique	12

Table 1. Cont.

Study Part	Study Group	Drug	Product Information and Brand Name	Dosage	Injection Technique	Number of Piglets
2	Lido One-Step (F) Part 2	Lidocaine hydrochloride + adrenaline	Xylocitin® 2% with epinephrine 0.001%; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0.6 mL	One-step, fenestrated needle	11
	Lido Two-Step (H) Part 2	Lidocaine hydrochloride + adrenaline	Xylocitin® 2% with epinephrine 0.001%; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0.4 mL i.t. 0.2 mL s.c.	Two-step after Hansson et al. 2011	12
	Sham Part 2	n/a	n/a	n/a	Sham injection	12
	NaCl One-Step (F) Part 2	Sodium chloride	NaCl 0.9% intravenous infusion; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany	0.6 mL	One-step, fenestrated needle	12
3	Lido One-Step (F) Part 3	Lidocaine hydrochloride + adrenaline *	Xylocitin® 2% with epinephrine 0.001%; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0.6 mL	One-step, fenestrated needle	12
	Lido Two-Step (H) Part 3	Lidocaine hydrochloride + adrenaline *	Xylocitin® 2% with epinephrine 0.001%; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany	0.4 mL i.t. 0.2 mL s.c.	Two-step after Hansson et al. 2011	12
	Mepi One-Step (F) Part 3	Mepivacaine hydrochloride *	Mepidor® 20 mg/mL injection solution for horses; WDT eG, Garbsen, Germany	0.7 mL	One-step, fenestrated needle	12
	Sham Part 3	n/a *	n/a	n/a	Sham injection	12
	NaCl One-Step (F) Part 3	Sodium chloride *	NaCl 0.9% intravenous infusion; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany	0.6 mL	One-step, fenestrated needle	12

Abbreviations: n/a = not applicable; i.t. = intratesticular; s.c. = subcutaneous; * = piglets were given systemic analgesia prior to the injection of local anesthetic (0.4 g/kg meloxicam (Metacam® 5 mg/mL), injection solution for cattle and swine, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein, Germany) and 50 mg/kg metamizole (Metamizol WDT 500 mg/mL, injection solution for horses, cattle, swine and dogs, Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Germany).

2.3. Castration

On the day before castration, the piglets were weighed, and their health status was examined. To ensure individual identification of the piglets, they were marked with distinct symbols on the back by using a paintbrush and black marker spray (MS marker spray, black, MS Schippers, Kerken, Germany).

Before castration, the piglets were weighed again on the day of castration with a digital scale (MS Schippers, Kerken, Germany). Afterwards, the piglets were individually filmed in the observation arena for a maximum duration of two minutes to establish a baseline of the behavior. This baseline could then be compared to the recordings after the procedure. For the injection, the piglets were fixed in a castration stand (MS Schippers, Kerken, Germany) and injected into both testicles with either a local anesthetic or NaCl solution by means of a self-filling injector (HSW ECO-MATIC®, Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen, Germany) fitted with a 25-gauge needle (0.5 × 16 mm, B. Braun TravaCare GmbH, Hallbergmoos, Germany). In part 1 of the study, the injection was carried out in two steps (two-step injection), during which the left and right testicles were first injected with 0.5 mL injection solution administered intratesticularly and then with 0.5 mL administered subcutaneously

into the scrotum. Calculated for the mean weight of 2.2 kg, piglets in part 1 of the study received 36.4 mg/kg Procaine (Pronestetic 40 mg/mL injection solution for horses, cattle, swine and sheep; FATRO S.p.A, Ozzano Emilia (Bologna), Italy), 18.2 mg/kg Lidocaine (Xylocitin® 2% with epinephrine 0.001%; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany), 4.5 mg/kg Bupivacaine (Bupivacaine 0.5%, JENAPHARM®; mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Germany) and 18.2 mg/kg Mepivacaine (Mepidor® 20 mg/mL injection solution for horses; Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Germany). Based on a dosage adjustment, less local anesthetic was injected in part 2 of the study (calculated for the mean weight of 2.2 kg: 10.9 mg/kg Lidocaine). In part 3 of the study piglets received 10.4 mg/kg Lidocaine (calculated for the mean weight of 2.3 kg) and 12.2 mg/kg Mepivacaine. The two-step injection technique according to Hansson et al. [13] (two-step [H] injection) used in parts 2 and 3 started with an intratesticular injection of 0.4 mL per testicle, and the remaining 0.2 mL was delivered during withdrawal of the needle instead of a subcutaneous injection into the scrotum. The piglets of the sham group (handling only) were also fixed in the castration stand, and an injection was simulated by pressure exerted with the needle cap while the testicles were fixed with the fingers. The one-step fenestrated injection technique (one-step [F] injection) used for comparison in parts 2 and 3 was carried out with a 25-gauge needle (0.5 × 10 mm) that had four lateral openings in addition to the distal opening, two of them proximally and two distally [12]. Thus, during injection, the local anesthetic was simultaneously administered distally into the testicle and proximally into the subcutis of the scrotum. Afterwards, the piglets were filmed in the observation arena for maximally two minutes and then placed back into the farrowing pen with their mother sow.

To ensure full activity of the administered local anesthetics, the piglets were castrated in the castration stand after a waiting period of 20 min. After cleaning the scrotal area with antiseptic solution (Octenisept®, Schuelke & Mayr GmbH, Norderstedt, Germany), the piglets were castrated with a sterile surgical blade (scalpel blades carbon steel, sterile 21, Heinz Herenz Medizinalbedarf GmbH, Hamburg, Germany; scalpel handle no. 4, AESCULAP AG & CO. KG, Tuttlingen, Germany). First, the skin and the tunica vaginalis were incised on one side. Then, the testicle was exposed and removed after severing the ductus spermaticus. This procedure was repeated on the other side. The piglets of the sham group were fixed in the castration stand, and the castration was simulated by manual fixation of the testicles and pressure exerted with the dull end of the scalpel. Castration and injection were standardized and always conducted by the same three trained and alternating veterinarians. Immediately after castration, the piglets were placed in the observation arena for a maximum of two minutes. Two hours after castration, all piglets were again observed in the observation arena for maximally two minutes.

On the day after castration (approximately 24 h after castration), the weight and general condition of the piglets were re-assessed, and all piglets were once more filmed in the observation arena for maximally two minutes. Each piglet then received 0.4 mg/kg of an analgesic (Metacam® 5 mg/mL, injection solution for cattle and swine, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein, Germany), whose administration had been delayed until this time to exclude the influence of medication on the data collected in the observation arena. An exception was made for the piglets of study part 3; immediately before injection or simulated injection, these piglets received systemic, intramuscularly administered analgesics: 0.4 g/kg meloxicam (Metacam® 5 mg/mL, injection solution for cattle and swine, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim am Rhein, Germany) and 50 mg/kg metamizole (Metamizol WDT 500 mg/mL, injection solution for horses, cattle, swine and dogs, Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Germany).

2.4. Behavior in the Observation Arena

Each piglet was placed in the observation arena for a maximum duration of two minutes at each of the following five time points: (i) baseline, i.e., on the day of castration

before all applied procedures; (ii) after injection or sham injection; (iii) after castration or sham castration; (iv) two hours after castration or sham castration; (v) and twenty-four hours after castration or sham castration. According to predetermined termination criteria, piglets were removed from the observation arena if they showed signs of stress or fear during direct observation. These criteria included stress reactions such as freezing, high-frequency vocalization, flight attempts, or frequent pivoting (see supplementary score sheet Table S1). The recorded behavior was analyzed by focal animal sampling, according to Martin and Bateson [14] for up to 60 s. For the analysis, an ethogram modified after Hay et al. [8] was used (Table 2). All observers were blinded regarding the study group.

Table 2. Ethogram for pain-associated behaviors in the observation arena, modified after Hay et al. [8].

Functional Circle	Behavior	Definition
Pain behavior	Tail position	Tail held straight and not curled, either extended from the rump or hanging down
	Tail wagging	Repeated tail movements up and down or side to side
	Hunched back posture	Kyphosis, front legs extended
	Hunched back posture with pressing against the arena wall	Kyphosis, front legs extended, rump pressed against the wall of the observation arena
Excretion behavior	Sitting	Body weight supported by hind quarters and front legs
	Hunched back posture during excretion	Kyphosis during excretion of feces

2.5. Statistical Analysis

For an initial description of the data, relative frequencies were computed for all behavior variables along study parts, study groups and time points. For further analysis, generalized linear mixed models for binary response variables with logit link function were used for each part independently to estimate risks for the different behaviors along study groups and time points. All models included study group and time point as fixed effects, the interaction of these variables, and the weight of the animals. Subject-specific variation was accounted for by random effects for the intercept. Comparisons of estimated risks between study groups at given time points were performed by risk ratios. Results are presented as estimated risks, risk ratios, the corresponding 95% uncertainty intervals and *p*-values. For analysis, the R language for statistical computing [15] was used. Inter-observer reliability was calculated with Cohen's kappa from the agreement between two observers.

3. Results

The most frequently shown pain-associated behaviors were changes in tail position, hunched back posture, and hunched back posture with pressing (against the arena wall), confirming previously published findings [8,16,17]. In all study parts, we found at least one significant increase in these parameters between the baseline behavior and the behavior at subsequent time points. We also found differences between the subsequent time points in that the frequency of the behavior reached a peak at castration (changes in tail position, tail wagging) or two hours after castration (hunched back posture, hunched back posture with pressing against the arena wall) and decreased afterwards. In the sham group, the parameters were often only increased at single time points. The intraclass correlation coefficient (Cohen's kappa) was $K = 0.71$ for changes in tail position, $K = 0.78$ for tail wagging, $K = 0.78$ for hunched back posture, and $K = 0.77$ for hunched back posture with pressing against the arena wall.

3.1. Study Part 1: Evaluation of Four Local Anesthetics in Comparison with Two Control Groups (Sham; Injection with NaCl, i.e., Castration without Anesthesia)

The piglets of group NaCl Two-Step Part 1 (control group: castration without anesthesia) showed a significant increase in the pain parameter changes in the tail position immediately after castration in comparison with all other groups ($p = 0.044$). Two hours after castration, piglets of group Bupi Two-Step Part 1 showed changes in tail position more frequently than piglets of group Lido Two-Step Part 1 (Figure 3).

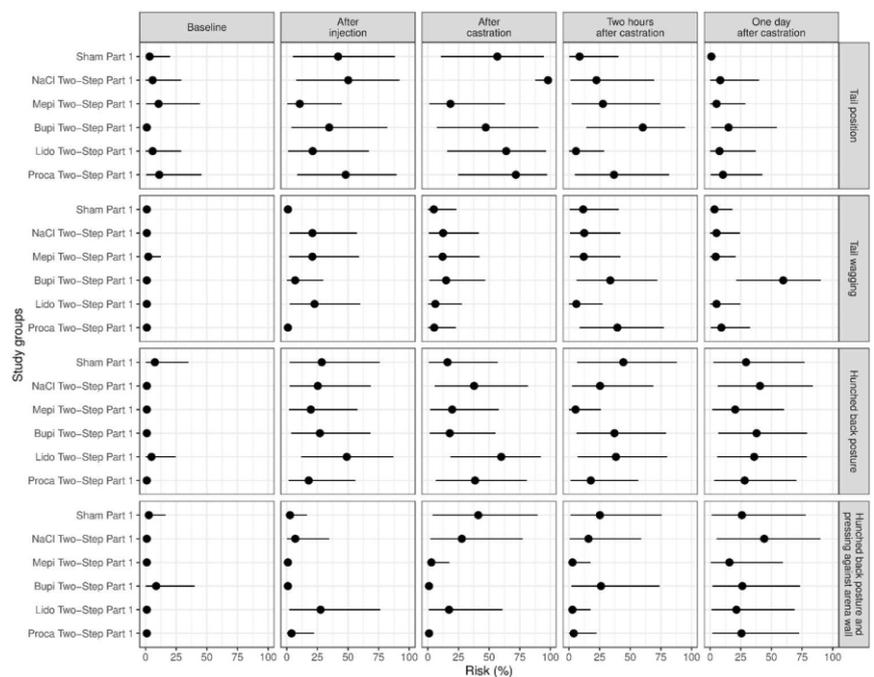


Figure 3. Study part 1: Effect of the study group on the relative risk for the percentage occurrence (median with minimum and maximum) of the parameters changes in tail position, tail wagging, hunched back posture and hunched back posture with pressing against the arena wall. The different study groups were compared according to the five assessed time points baseline (before any procedure), after injection, after castration, two hours after castration and one day after castration. The study groups were Sham Part 1 ($n = 11$), NaCl Two-Step Part 1 ($n = 12$), Mepi Two-Step Part 1 ($n = 12$), Bupi Two-Step Part 1 ($n = 12$), Lido Two-Step Part 1 ($n = 12$) and Proca Two-Step Part 1 ($n = 12$).

Tail wagging after injection occurred more in groups Lido Two-Step Part 1, Mepi Two-Step Part 1 and NaCl Two-Step Part 1 and less in groups Sham Part 1 (control group: handling only) and Proca Two-Step Part 1 ($p \leq 0.014$). On the day after castration, this behavior was shown more frequently in group Bupi Two-Step Part 1 than in all other groups ($p \leq 0.016$), especially in comparison with group Sham Part 1 ($p < 0.001$) (Figure 3).

The parameters of hunched back posture and hunched back posture with pressing against the arena wall showed almost no significant differences in this part of the study (Figure 3). We found an increase in hunched back posture in piglets of group Sham Part 1 two hours after castration, with a significant difference to group Mepi Two-Step Part 1 ($p = 0.046$) (Figure 3).

In this part of the study, we found the significant effects of body weight on the behavior parameter of tail wagging. Heavy piglets showed this behavior more frequently than lighter ones ($p = 0.028$).

3.2. Study Part 2: Evaluation of Two Injection Techniques for Lidocaine in Comparison with Two Control Groups (Sham; Injection with NaCl, i.e., Castration without Anesthesia)

In study part 2, changes in tail position occurred especially often in groups NaCl One-Step (F) Part 2 and Lido Two-Step (H) Part 2 (Figure 4). Furthermore, two hours after castration the piglets of group NaCl One-Step (F) Part 2 showed a hunched back posture more often than the piglets of group Sham Part 2 ($p = 0.030$) (Figure 4). We found no significant influence of body weight on the frequency of the assessed pain parameters in this part of the study ($p > 0.50$).

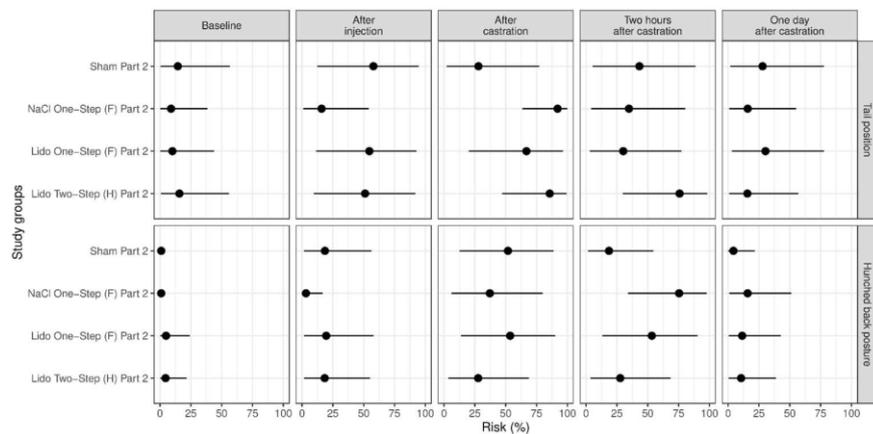


Figure 4. Study part 2: Effect of the study group on the relative risk for the percentage occurrence (median with minimum and maximum) of the parameter changes in tail position and hunched back posture. The different study groups were compared according to the five assessed time points baseline (before any procedure), after injection, after castration, two hours after castration and one day after castration. The study groups were Sham Part 2 ($n = 12$), NaCl One-Step (F) Part 2 ($n = 12$), Lido Two-Step (H) Part 2 ($n = 12$) and Lido One-Step (F) Part 2 ($n = 11$).

3.3. Study Part 3: Evaluation of Two Local Anesthetics Combined with Systemic Analgesia in Comparison with Two Control Groups (Sham; Injection with NaCl, i.e., Castration without Anesthesia)

As observed in the preceding study part, immediately after castration the piglets of group Sham Part 3 showed changes in tail position less often than the piglets of the other groups, especially in comparison with group Lido Two-Step (H) Part 3 ($p = 0.012$). In addition, two hours after castration, the piglets of all other groups showed this behavior more often than the piglets of group Sham Part 3 ($p < 0.001$) (Figure 5). As found in part 2, two hours after castration, the frequency of hunched back posture was lower in group Sham Part 3 than in group NaCl One-Step (F) Part 3 ($p = 0.036$) (Figure 5).

In this part of the study, we found an influence of body weight on one pain parameter. The possibility for the occurrence of a hunched back posture with pressing against the arena wall increased with increasing body weight ($p = 0.008$).

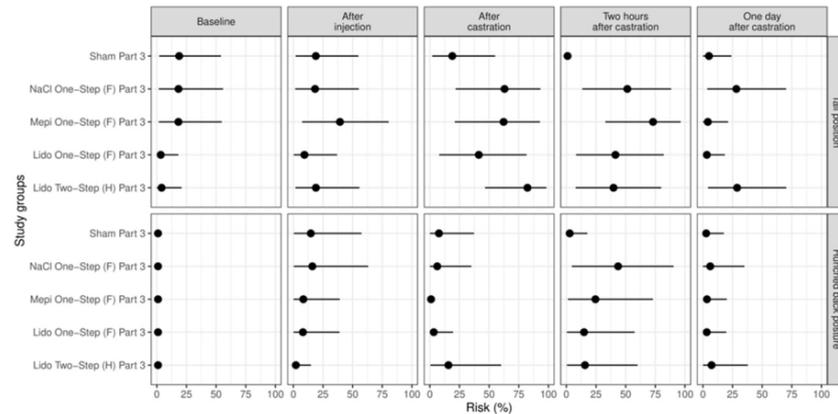


Figure 5. Study part 3: Effect of the study group on the relative risk for the percentage occurrence (median with minimum and maximum) of the parameter changes in tail position and hunched back posture. The different study groups were compared according to the five assessed time points baseline (before any procedure), after injection, after castration, two hours after castration and one day after castration. The study groups were Sham Part 3 (n = 12), NaCl One-Step (F) Part 3 (n = 12), Mepi One-Step (F) Part 3 (n = 12), Lido Two-Step (H) Part 3 (n = 12) and Lido One-Step (F) Part 3 (n = 12).

4. Discussion

The first two publications of the project team presented results of (i) physiological parameters assessed in piglets castrated under low doses of isoflurane and local anesthesia according to a minimal anesthesia model [10] and (ii) defensive movements, vocalization and the behavior in a handling chute assessed in conscious piglets under local anesthesia during or after castration [11]. The results showed that castration without anesthesia is painful, confirming previous findings [18]. However, findings on the effectiveness of local anesthesia during castration have been diverging. In the present study, the occurrence of specific acute behavioral signs of pain could be reduced by the administration of local anesthetics. This result agrees with those of other publications [13,19].

Because castration-related pain induces behavior changes that can persist for up to five days [8,20], we assessed the pain behavior 2 and 24 h after castration based on video recordings made in an observation arena. Changes in tail position were previously described to be associated with various emotions in pigs and piglets [21–23]. The association between specific tail positions and pain could be demonstrated multiple times [21,24,25]. In our study, this behavior occurred most often immediately after castration. Moreover, in comparison with the behavior before the procedure, changes in tail position were still markedly increased 2 or 24 h after castration. Furthermore, a change in tail position was shown significantly more often by castrated than by sham-castrated piglets, suggesting a pain-induced expression of this behavior.

Several studies focused more on the movement than on the position of the tail [8,16,26,27] and mostly found an increase in tail movements after castration. In the present study, we assessed tail movements and tail position separately and found an increase in tail movements (tail wagging) rather on the day after castration or after injection of the local anesthetic. This parameter could be associated with paresthesia—such as itching (due to increased bleeding) or numbness (after administration of the local anesthetic). Other studies also reported increased tail wagging after castration with local anesthesia, whereas piglets castrated without anesthesia showed less tail wagging [27]. The considerably high occurrence of tail movements in the piglets of group Bupi Two-Step Part 1 on the day after castration could be caused by the long-lasting effect of bupivacaine, which induces

numbness [28]. Thus, we could not demonstrate the pain-specificity of the tail-wagging parameter.

The hunched-back posture parameter has been classified as a pain parameter for various animal species, e.g., for cattle [29]. This behavior was previously observed in piglets after castration and persisted up to several hours after the procedure [17,30]. In our study, we found a short-term increase in this parameter also in the sham-castrated piglets—especially in study part 1 and considerably less after preemptive systemic pain medication in study part 3. We assume that fixation of the testicles during handling can already induce pain stimuli that cause a piglet to change its body position and hunch its back. We also found an increase in the hunched-back posture parameter by pressing against the arena wall in the sham-castrated piglets at the time of castration. To ensure an entirely pain-free control group, future assessments in the observation arena should include a control group without handling.

In general, we found differences between castrated and sham-castrated piglets for only a few of the assessed parameters. These results are in line with other studies comparing the behavior of castrated and sham-castrated piglets before and after castration [7]. Differences between the different local anesthetics or injection techniques were even less pronounced. It is possible that a larger number of animals might reveal clearer differences. However, in the NaCl group and in the groups treated with local anesthetics, we noticed a sustained increase in the behavioral pain parameters, which persisted until the day after castration, even with the preemptive administration of meloxicam and metamizole. Various studies have confirmed that the pain induced by castration seems to persist for several days and that swellings and redness can remain visible and palpable for several days [8,11,27]. Therefore, perioperative pain management should go beyond treating acute castration-induced pain. Several review articles emphasized the relevance of observing specific pain behavior [7,31]. However, continuous observation is associated with high technological effort and labor input. Some researchers, therefore, used short observation time points to conduct behavior observations on piglets [9]. Observation in short time intervals (focal sampling) is suited for the assessment of highly frequent specific behaviors, whereas rarely shown behavior parameters are easy to miss with this method. Furthermore, the use of an arena like the one in our study only allows the evaluation of individual behavior. Social behaviors—such as play behavior—cannot be assessed.

5. Conclusions

To evaluate effective anesthesia in piglets undergoing castration, most studies focus on the acute pain at the time or on the day of castration. However, castration-induced pain persists over a longer period. Thus, for animal welfare reasons, the associated long-lasting pain should be included in the evaluation of a castration method. Our results suggest that the administration of local anesthetics seems to reduce pain during castration but cannot eliminate the associated longer-lasting pain, owing to the limited duration of action of the local anesthetics. The recommendation of a specific local anesthetic or injection technique is not possible by means of the presented behavior analysis in the observation arena. However, it was noticeable that some of the local anesthetics—such as lidocaine and mepivacaine—led to stronger or longer-lasting decreases in the pain-associated behavior parameters. The “changes in tail position,” “hunched back posture” and “hunched back posture with pressing against the arena wall” parameters established in this study seem to allow a valid assessment of pain in piglets and generated reproducible results facilitating differentiation between the two control groups (NaCl (castration without anesthesia) and Sham (no castration, only handling)). Because pain-induced behavioral changes in piglets are individual and transient, further studies are needed to evaluate how far pain indicators differ according to the age and race of the assessed piglets. In the long term, a standardized assessment protocol for pain detection in piglets would be useful to allow better comparability between studies and better evaluation of the suitability of alternative methods of anesthetization.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ani13030529/s1>, Table S1: Termination criteria during observation of piglets in the observation arena.

Author Contributions: Conceptualization, S.B., D.P., R.M., S.Z., S.S. and C.B.; methodology, S.B., D.P., R.M., A.G., D.D., N.A., S.S., P.D., J.W., A.M.S. and J.R.; validation, R.M., A.G. and S.B.; formal analysis, P.S., R.M. and S.B.; investigation, R.M., A.G., S.B., N.A., P.D., S.S., J.W., J.R. and A.M.S.; resources, M.E., M.R. and C.B.; data curation, R.M., A.G. and S.B.; writing—original draft preparation, R.M.; writing—review and editing, S.B., D.P., D.D. and A.G.; visualization, R.M., S.B. and P.S.; supervision, S.B., D.P., M.E., S.Z. and C.B.; project administration, C.B. and S.Z.; funding acquisition, M.R., S.Z., M.E. and C.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the German Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL, <https://www.bmel.de>, accessed on 25 May 2022) based on a decision of the Parliament of the Federal Republic of Germany, granted by the Federal Office for Agriculture and Food (BLE, <https://www.ble.de>, accessed on 25 May 2022 grant numbers: 2817HS016, 2817HS013).

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethical Committee for Animal Experiments of the Government of Upper Bavaria, Munich, Germany (reference number ROB-55.2-2532.Vet_02-19-11).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors are very grateful for the support of all participants. A special thank you to all our project partners who made the publication of this paper possible. Invaluable was the help from the staff at our department in setting up, maintaining, and cleaning the camera and arena equipment.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Raja, S.N.; Carr, D.B.; Cohen, M.; Finnerup, N.B.; Flor, H.; Gibson, S.; Keefe, F.J.; Mogil, J.S.; Ringkamp, M.; Sluka, K.A.; et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. *Pain* **2020**, *161*, 1976–1982. [CrossRef]
2. Ison, S.; Rutherford, K. Attitudes of farmers and veterinarians towards pain and the use of pain relief in pigs. *Vet. J.* **2014**, *202*, 622–627. [CrossRef] [PubMed]
3. TierSchG. Tierschutzgesetz, Neugefasst Durch Bek. v. 18.5.2006 I 1206, 1313; Zuletzt Geändert Durch Art. 280 V v. 19.6.2020 I 1328. 2020. Available online: <https://www.gesetze-im-internet.de/tierschg/BJNR012770972.html> (accessed on 16 May 2022).
4. BLE. Schweinehaltung in Deutschland. 2022. Available online: <https://www.praxis-agrar.de/tier/schweine/schweinehaltung-in-deutschland> (accessed on 16 May 2022).
5. Backus, G.; Higuera, M.; Juul, N.; Nalon, E.; De Briyne, N. Second Progress Report 2015–2017 on the European Declaration on Alternatives to Surgical Castration of Pigs. 2018. Available online: <https://www.boarsontheway.com/wp-content/uploads/2018/08/Second-progress-report-2015-2017-final-1.pdf> (accessed on 16 May 2022).
6. Ison, S.H.; Clutton, R.E.; Di Giminiani, P.; Rutherford, K.M.D. A Review of Pain Assessment in Pigs. *Front. Vet. Sci.* **2016**, *3*, 108. [CrossRef] [PubMed]
7. Sheil, M.; Polkinghorne, A. Optimal Methods of Documenting Analgesic Efficacy in Neonatal Piglets Undergoing Castration. *Animals* **2020**, *10*, 1450. [CrossRef]
8. 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. [CrossRef]
9. Di Giminiani, P.; Brierley, V.L.; Scollo, A.; Gottardo, F.; Malcolm, E.M.; Edwards, S.A.; Leach, M.C. The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale. *Front. Vet. Sci.* **2016**, *3*, 100. [CrossRef]
10. Saller, A.M.; Werner, J.; Reiser, J.; Senf, S.; Deffner, P.; Abendschön, N.; Weiss, C.; Fischer, J.; Schorwerth, A.; Miller, R.; et al. Local anesthesia in piglets undergoing castration—A comparative study to investigate the analgesic effects of four local anesthetics on the basis of acute physiological responses and limb movements. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0236742. [CrossRef] [PubMed]
11. Abendschön, N.; Senf, S.; Deffner, P.; Miller, R.; Grott, A.; Werner, J.; Saller, A.M.; Reiser, J.; Weiss, C.; Zablotski, Y.; et al. Local Anesthesia in Piglets Undergoing Castration—A Comparative Study to Investigate the Analgesic Effects of Four Local Anesthetics Based on Defensive Behavior and Side Effects. *Animals* **2020**, *10*, 1752. [CrossRef]

12. Werner, J.; Saller, A.M.; Reiser, J.; Senf, S.; Deffner, P.; Abendschon, N.; Fischer, J.; Grott, A.; Miller, R.; Zablotzki, Y.; et al. Evaluation of Two Injection Techniques in Combination with the Local Anesthetics Lidocaine and Mepivacaine for Piglets Undergoing Surgical Castration. *Animals* **2022**, *12*, 1028. [[CrossRef](#)]
13. Hansson, M.; Lundeheim, N.; Nyman, G.; Johansson, G. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet. Scand.* **2011**, *53*, 1–9. [[CrossRef](#)]
14. Bateson, M.; Martin, P. *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 2021.
15. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2015. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 25 May 2021).
16. Viscardi, A.V.; Hunniford, M.; Lawlis, P.; Leach, M.; Turner, P.V. Development of a Piglet Grimace Scale to Evaluate Piglet Pain Using Facial Expressions Following Castration and Tail Docking: A Pilot Study. *Front. Vet. Sci.* **2017**, *4*, 51. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Luna, S.P.L.; de Araujo, A.L.; da Nobrega Neto, P.I.; Brondani, J.T.; de Oliveira, F.A.; Azeredo, L.; Telles, F.G.; Trindade, P.H.E. Validation of the UNESP-Botucatu pig composite acute pain scale (UPAPS). *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0233552. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Prunier, A.; Bonneau, M.; Borell, E.H.; Cinotti, S.; Gunn, M.; Fredriksen, B.; Giersing, M.; Morton, D.; Tuytens, F.; Velarde, A. A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Anim. Welf.* **2006**, *15*, 277–289. [[CrossRef](#)]
19. Skade, L.; Kristensen, C.S.; Nielsen, M.B.F.; Diness, L.H. Effect of two methods and two anaesthetics for local anaesthesia of piglets during castration. *Acta Vet. Scand.* **2021**, *63*, 1. [[CrossRef](#)]
20. Llamas Moya, S.; Boyle, L.A.; Lynch, P.B.; 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. [[CrossRef](#)]
21. D'Eath, R.B.; Jack, M.; Futro, A.; Talbot, D.; Zhu, Q.; Barclay, D.; Baxter, E.M. Automatic early warning of tail biting in pigs: 3D cameras can detect lowered tail posture before an outbreak. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0194524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Li, X.; Zhao, J.N.; Zhao, P.; Zhang, X.; Bi, Y.J.; Li, J.H.; Liu, H.G.; Wang, C.; Bao, J. Behavioural responses of piglets to different types of music. *Animal* **2019**, *13*, 2319–2326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Marcet Rius, M.; Pageat, P.; Bienboire-Frosini, C.; Teruel, E.; Monneret, P.; Leclercq, J.; Lafont-Lecuelle, C.; Cozzi, A. Tail and ear movements as possible indicators of emotions in pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2018**, *205*, 14–18. [[CrossRef](#)]
24. Tallet, C.; Rakotomahandry, M.; Herlemont, S.; Prunier, A. Evidence of Pain, Stress, and Fear of Humans During Tail Docking and the Next Four Weeks in Piglets (*Sus scrofa domestica*). *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 462. [[CrossRef](#)]
25. Langhoff, R.R. Untersuchungen über den Einsatz von Schmerzmitteln zur Reduktion Kastrationsbedingter Schmerzen beim Saugferkel. Ph.D. Thesis, LMU München, Munich, Germany, 2008.
26. Yun, J.; Ollila, A.; Valros, A.; Larenza-Menzies, P.; Heinonen, M.; Oliviero, C.; Peltoniemi, O. Behavioural alterations in piglets after surgical castration: Effects of analgesia and anaesthesia. *Res. Vet. Sci.* **2019**, *125*, 36–42. [[CrossRef](#)]
27. Kluivers-Poodt, M.; Zonderland, J.J.; Verbraak, J.; Lambooj, E.; Hellebrekers, L.J. Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal* **2013**, *7*, 1158–1162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Garcia, E.R. Local anesthetics. *Vet. Anesth. Analg.* **2015**, *7*, 332–354.
29. Sprecher, D.; Hostetler, D.; Kaneene, J. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* **1997**, *47*, 1179–1187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Lonardi, C.; Scollo, A.; Normando, S.; Brscic, M.; Gottardo, F. Can novel methods be useful for pain assessment of castrated piglets? *Animal* **2015**, *9*, 871–877. [[CrossRef](#)]
31. Baysinger, A.; Webb, S.R.; Brown, J.; Coetzee, J.F.; Crawford, S.; DeDecker, A.; Karriker, L.A.; Pairis-Garcia, M.; Sutherland, M.A.; Viscardi, A.V. Proposed multidimensional pain outcome methodology to demonstrate analgesic drug efficacy and facilitate future drug approval for piglet castration. *Anim. Health Res. Rev.* **2021**, *22*, 163–176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

1.1. Supplementary Material

Table S1. Termination criteria during observation of piglets in observation arena; piglets that showed these behaviors were immediately removed from the observation arena and returned to their home pens.

Termination criterion	Definition
Nervousness	Animal appears scared, shows trembling or jumpiness
Pivoting	Animal is continuously in motion and moves around in circles
Escape attempts	Piglet is rising on hind legs more than once or attempts to jump out of the observation arena
High-frequency vocalization	Piglet makes repeated high-frequency calls
Freezing	Piglet stops all movement and doesn't react to outside stimuli

2. Erweiterte Ergebnisse

2.1. Ergebnisse Laborstudie

Vor allem bei dem Parameter „Veränderungen der Schwanzposition“ war ein deutlicher Anstieg des Verhaltens mit Maximum nach der Kastration und einem deutlichen Rückgang auf das Ausgangsniveau am Tag nach der Kastration erkennbar.

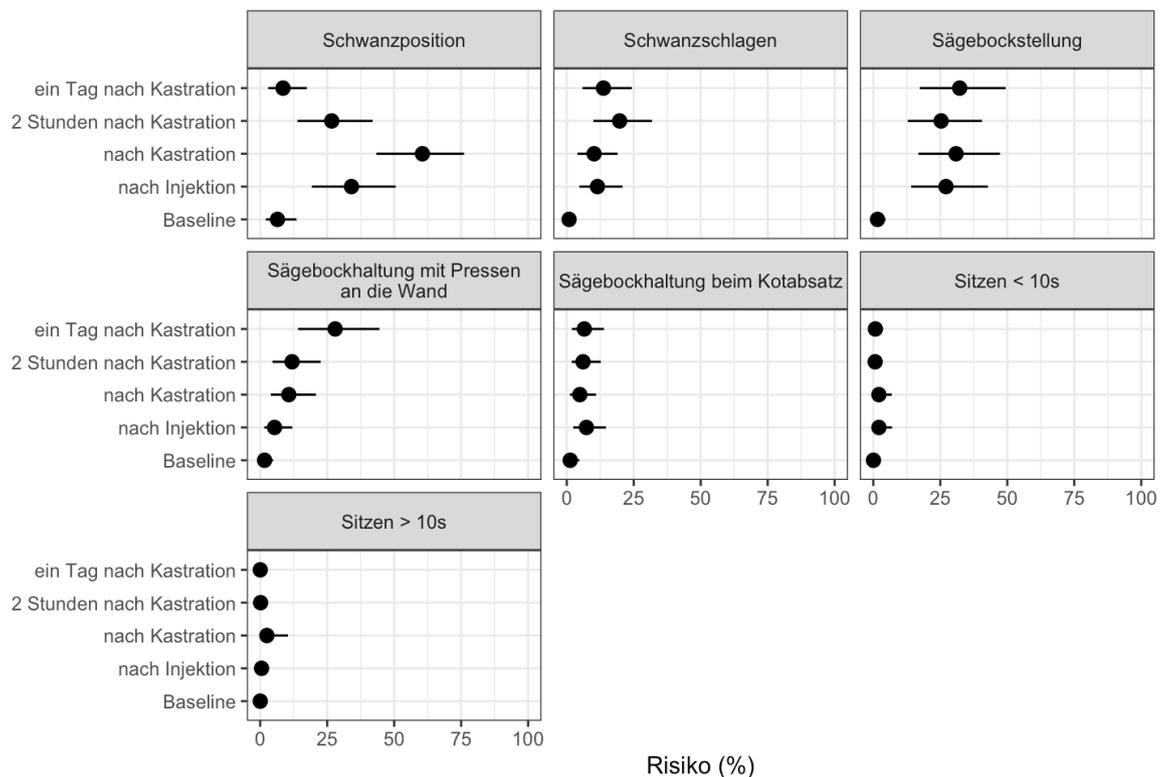


Abbildung 5 Adjustierte Risiken mit 95% Konfidenzintervall für den Effekt des Beobachtungszeitpunktes auf das Auftreten der Schmerzparameter im ersten Teil der Laborstudie (part 1). Das Auftreten der Verhaltensweisen: Schwanzposition, Schwanzschlagen, Sägebockstellung, Sägebockstellung mit Pressen an die Wand, Sägebockhaltung beim Kotabsatz und Sitzen wurden jeweils zu den fünf Zeitpunkten: Baseline, nach Injektion, nach Kastration, zwei Stunden nach Kastration und ein Tag nach Kastration für alle Ferkel ($n = 71$) in diesem Versuchsteil bewertet.

Diese Auf- und Abbewegung des Risikos für die Veränderungen der Schwanzposition lassen sich auch in den anderen beiden Studienteilen erkennen.

In den Laborstudienteilen part 2 und part 3 erkennt man ein ähnliches Muster bei

der Sägebockstellung und der Sägebockstellung mit Pressen.

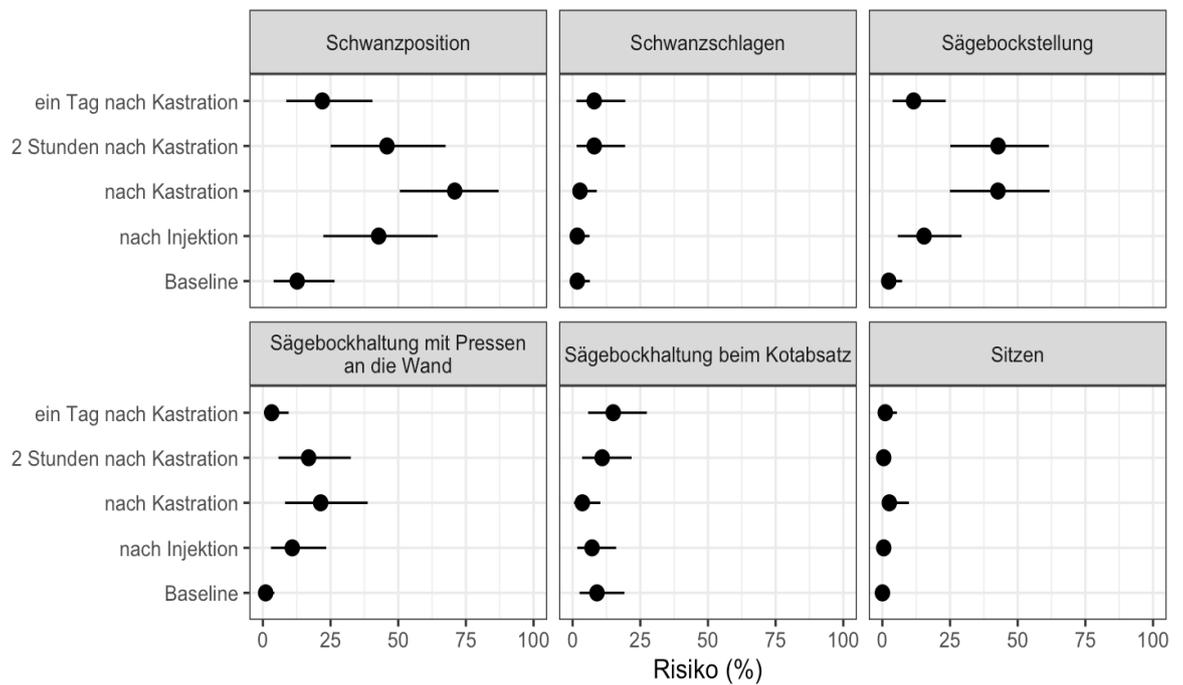


Abbildung 6 Adjustierte Risiken mit 95% Konfidenzintervall für den Effekt des Beobachtungszeitpunktes auf das Auftreten der Schmerzparameter im zweiten Teil der Laborstudie (part 2). Das Auftreten der Verhaltensweisen: Schwanzposition, Schwanzschlagen, Sägebockstellung, Sägebockstellung mit Pressen an die Wand, Sägebockhaltung beim Kotabsatz und Sitzen wurden jeweils zu den fünf Zeitpunkten: Baseline, nach Injektion, nach Kastration, zwei Stunden nach Kastration und ein Tag nach Kastration für alle Ferkel ($n = 47$) in diesem Versuchsteil bewertet.

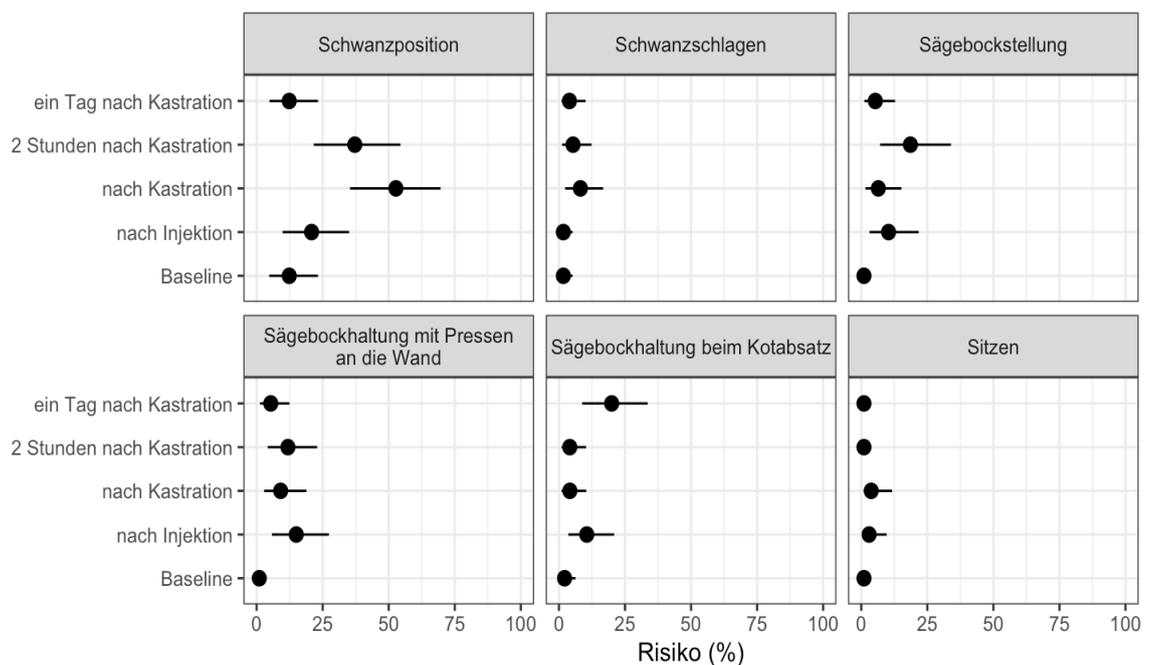


Abbildung 7 Adjustierte Risiken mit 95% Konfidenzintervall für den Effekt des Beobachtungszeitpunktes auf das Auftreten der Schmerzparameter im dritten Teil

der Laborstudie (part 3). Das Auftreten der Verhaltensweisen: Schwanzposition, Schwanzschlagen, Sägebockstellung, Sägebockstellung mit Pressen an die Wand, Sägebockhaltung beim Kotabsatz und Sitzen wurden jeweils zu den fünf Zeitpunkten: Baseline, nach Injektion, nach Kastration, zwei Stunden nach Kastration und ein Tag nach Kastration für alle Ferkel ($n = 60$) in diesem Versuchsteil bewertet.

2.2. Ergebnisse Feldstudie

Zwei Stunden nach Kastration zeigten Ferkel, die mit einer gekürzten Kanüle im two-step Verfahren kastriert worden waren signifikant weniger Veränderungen der Schwanzposition als betäubungslos kastrierte Ferkel ($p = 0,044$).

Ansonsten waren zwischen den Gruppen keine signifikanten Verhaltensänderungen erkennbar.

Auffällig war jedoch, dass sich innerhalb der Gruppen das Auftreten der Parameter Schwanzposition, Sägebockstellung und Sägebockstellung mit Pressen im Verlauf der untersuchten Zeitpunkte ab der Kastration signifikant erhöhte.

Am häufigsten wurden die Schmerzparameter dabei zu den Zeitpunkten zwei Stunden und vier Stunden nach Kastration gezeigt. Auch 24 Stunden nach Kastration waren noch signifikante Erhöhungen dieser Parameter gegenüber den Baseline-Aufnahmen sichtbar.

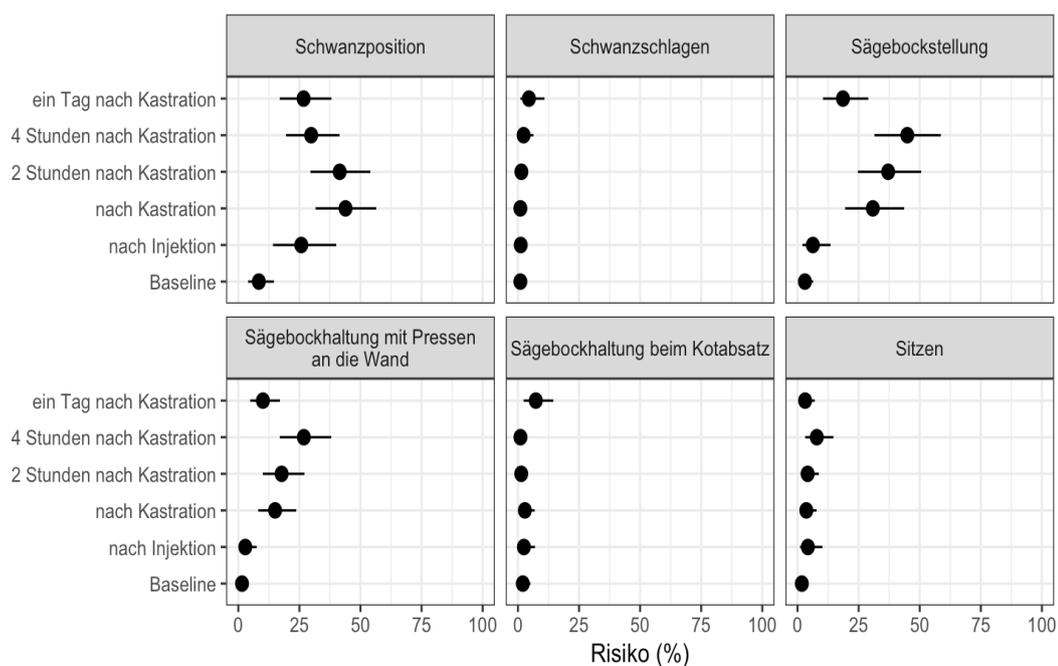


Abbildung 8 Adjustierte Risiken mit 95% Konfidenzintervall für den Effekt des Beobachtungszeitpunktes auf das Auftreten der Schmerzparameter in der Feldstudie. Das Auftreten der Verhaltensweisen: Schwanzposition, Schwanzschlagen, Sägebockstellung, Sägebockstellung mit Pressen an die Wand, Sägebockhaltung beim Kotabsatz und Sitzen wurden jeweils zu den sechs Zeitpunkten: Baseline, nach Injektion, nach Kastration, zwei Stunden nach Kastration, vier Stunden nach Kastration und ein Tag nach Kastration für alle Ferkel (n = 110) in diesem Versuchsteil bewertet.

V. DISKUSSION

1. **Beurteilung von Schmerzen beim Saugferkel**

Für die Beurteilung von Schmerzen bei Saugferkeln gibt es bisher noch keinen Goldstandard (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020). Aus diesem Grund ist es sinnvoll verschiedene Methoden der Schmerzerkennung zu kombinieren, um die Zuverlässigkeit der Beurteilungsmethode zu validieren. In diesem Projekt wurden deshalb neben der Beurteilung des Schmerzverhaltens, welche Teil dieser Arbeit ist, auch physiologische Parameter, vor allem der mittlere arterielle Blutdruck und die Veränderungen der Herzfrequenz (SALLER et al., 2020) und (WERNER et al., 2022), Vokalisationen und Abwehrbewegungen (ABENDSCHÖN et al., 2020), sowie EEG und Fos-Protein-Expression (REISER et al., 2022) mit erhoben.

2. **Schmerzspezifität der verwendeten Parameter**

Die Veränderung der Position des Schwanzes wurde bereits im Zusammenhang mit verschiedenen Emotionen von Schweinen und Ferkeln beschrieben (D'EATH et al., 2018; MARCET RIUS et al., 2018; LI et al., 2019). Der Zusammenhang zwischen spezifischen Schwanzpositionen und Schmerz konnte dabei mehrfach nachgewiesen werden (LANGHOFF, 2008; D'EATH et al., 2018; TALLET et al., 2019).

In unserer Studie zeigte sich dieses Verhalten am häufigsten direkt nach der Kastration. Im Vergleich zum Verhalten vor dem Eingriff war das Verhalten aber auch noch mehrere Stunden nach Kastration bzw. am Folgetag deutlich häufiger zu beobachten. Auch wurde eine Veränderung der Schwanzposition deutlich häufiger von kastrierten Ferkeln gezeigt als von Ferkeln der scheinkastrierten Gruppe (Sham), was eine Schmerzspezifität des Verhaltens nahelegt.

Einige Studien legten den Fokus mehr auf die Bewegung des Schwanzes als auf seine Position (HAY et al., 2003; KLUIVERS-POODT et al., 2013; VISCARDI et al., 2017; YUN et al., 2019), wobei zumeist eine Zunahme der Schwanzbewegungen nach Kastration beobachtet wurde. In der vorliegenden Studie haben wir die Schwanzbewegungen gesondert von der Schwanzposition erfasst und einen Anstieg der Schwanzbewegungen eher am Tag nach der

Kastration beziehungsweise nach Injektion des Lokalanästhetikums beobachtet. Möglicherweise steht dieser Parameter auch im Zusammenhang mit einem Missempfinden wie Juckreiz (z. B. durch vermehrte Blutung) oder Taubheitsgefühl (nach Verabreichung des Lokalanästhetikums). Auch in anderen Studien konnte ein vermehrtes Schwanzschlagen nach Kastration unter Lokalanästhesie beobachtet werden, wobei die betäubungslos kastrierte Gruppe (NaCl) weniger Schwanzschlagen zeigte (KLUIVERS-POODT et al., 2013). Die besonders auffällige Häufung von Schwanzbewegungen der Ferkel der Gruppe Bupi Two-Step Part 1 in Versuchsteil 1 am Tag nach der Kastration könnte durch die langanhaltende Wirkung des Bupivacains verursacht sein, die ein Taubheitsgefühl auslöst (GARCIA, 2015). Eine Schmerzspezifität dieses Parameters konnte deshalb in dieser Studie nicht bewiesen werden.

Auch der Parameter „Sägebockhaltung“ ist bei verschiedenen Tierarten z. B. beim Rind als Schmerzparameter klassifiziert worden (SPRECHER et al., 1997). Genauso konnte bei Ferkeln nach Kastration dieses Verhalten beobachtet werden und persistierte bis zu einigen Stunden nach dem Eingriff (LONARDI et al., 2015; LUNA et al., 2020). In der vorliegenden Studie konnte zumindest ein kurzfristiger Anstieg dieses Parameters auch bei den Handlingstieren beobachtet werden. Dies wurde vor allem im ersten Versuchsteil beobachtet und deutlich seltener nach präemptiver systemischer Schmerzmedikation. Es ist anzunehmen, dass bereits beim Handling durch das Fixieren der Hoden Schmerzreize ausgelöst werden können, die das Ferkel zur Veränderung der Körperposition und zum Aufwölben des Rückens veranlassen. Auch beim Parameter „Sägebock und Pressen“ konnte ein Anstieg des Parameters für die Sham-Gruppe zum Zeitpunkt der Kastration erkannt werden. Um eine komplett schmerzfreie Kontrollgruppe zu gewährleisten, sollte man in folgenden Untersuchungen unter Umständen eine Vergleichsgruppe einsetzen, die ohne vorheriges Handling nur in der Observationsarena beobachtet wird.

Grundsätzlich konnten wir in unserer Studie nur für wenige der untersuchten Parameter Unterschiede zwischen kastrierten und scheinkastrierten Tieren feststellen. Dies deckt sich mit anderen Studien, in denen das Verhalten vor und nach Kastration von kastrierten und unkastrierten Ferkeln verglichen wurde (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020). Noch schwieriger war die Unterscheidung zwischen den unterschiedlichen Lokalanästhetika bzw. Injektionsmethoden. Hier

waren meistens nur geringe Unterschiede sichtbar. Eventuell würde sich bei einer vergrößerten Tierzahl ein noch genaueres Bild ergeben. Dass es in der Feldstudie nur noch sehr wenige signifikante Gruppenunterschiede gab, könnte auch darauf zurückzuführen sein, dass hier keine Kontrollgruppe mehr verwendet wurde, die nicht kastriert wurde.

3. Methodenkritik

Die Relevanz der Beobachtung von spezifischem Schmerzverhalten wurde in mehreren Reviews betont (SHEIL und POLKINGHORNE, 2020; BAYSINGER et al., 2021), jedoch ist mit einer kontinuierlichen Beobachtung ein hoher technologischer und personeller Aufwand verbunden. Manche Autoren und Autorinnen verwenden deshalb nur kurze Beobachtungszeitpunkte um Verhaltensbeobachtungen bei Ferkeln (DI GIMINIANI et al., 2016) oder auch anderen Tierarten durchzuführen (VAN DER SAAG et al., 2018). Die Beobachtung in kurzen Zeitintervallen (focal sampling) eignet sich für die Erfassung hochfrequenter spezifischer Verhaltensweisen. Selten gezeigte Verhaltensparameter können aber mit dieser Methode leicht verpasst werden. Bei der Verwendung einer Arena wie in der vorliegenden Studie ist außerdem nur eine Beurteilung des individuellen Verhaltens möglich. Soziale Verhaltensweisen, wie z. B. Spielverhalten können hier nicht erfasst werden.

Eine weitere Untersuchung, die in der Observationsarena durchgeführt werden könnte, wäre die Beurteilung des Schmerzgesichtes mittels eines Grimace Scales. Bei älteren Schweinen konnten hier relevante Erkenntnisse erlangt werden (NAVARRO et al., 2020; VULLO et al., 2020). Dies gelang in einigen Untersuchungen auch bei Saugferkeln (DI GIMINIANI et al., 2016; VISCARDI et al., 2017; VISCARDI und TURNER, 2018b). In anderen Studien gelang jedoch keine erfolgreiche Schmerzbeurteilung anhand von mimischen Schmerzparametern (LOU, 2020).

4. Belastung der Saugferkel durch die Kastration

Zur Vermeidung des als unangenehm empfundenen Ebergeruchs existieren

verschiedene Möglichkeiten. In Deutschland wird vor allem die chirurgische Kastration mit Betäubung eingesetzt (BLE, 2020). Das Deutsche Tierschutzgesetz fordert hier jedoch eine Schmerzausschaltung (TIERSCHG, 2020). Zu diesem Zweck wurden die beiden Methoden Injektionsnarkose unter Ketamin/Azaperon durchgeführt ausschließlich durch tiermedizinisches Fachpersonal und die Inhalationsnarkose mit Isofluran (auch durch geschulte Personen aus der Landwirtschaft durchführbar) zugelassen (BMEL, 2021).

Ob eine lokale Betäubung eine Schmerzausschaltung bei der chirurgischen Kastration von Saugferkeln bewirkt, war das Ziel der vorliegenden Untersuchung. In anderen europäischen Ländern, wie Schweden oder Dänemark wird diese Methode bereits eingesetzt (DE BRIYNE et al., 2016). Existierende Studien untersuchten bisher vor allem die Wirkstoffe Procain und Lidocain. Einige Schmerzparameter wie die Vokalisation und Abwehrbewegungen bei der Kastration konnten dabei in vielen Studien zumindest reduziert werden. Andere Parameter wie beispielsweise der Anstieg der Cortisolkonzentration konnten durch den Einsatz von Lokalanästhetika nicht immer deutlich vermindert werden. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass zwar meistens eine Reduktion der Schmerzreaktion beobachtet werden konnte, eine komplette Schmerzausschaltung jedoch nicht (ZÖLS et al., 2006; ZANKL, 2007; LEIDIG et al., 2009; SCHIELE, 2010; KLUIVERS-POODT et al., 2013; ABENDSCHÖN et al., 2020; SALLER et al., 2020; SCHWENNEN et al., 2020; SKADE et al., 2021; COUTANT et al., 2022; REISER et al., 2022; WERNER et al., 2022)

Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit.

In dieser Untersuchung zeigte sich auch, dass für die Belastung, die bei einer Betäubungsmethode auf die Ferkel ausgeübt wird, nicht nur die Betrachtung zum Zeitpunkt der Kastration ausreichend ist. Bereits die Injektion der Lokalanästhetika kann Verhaltensänderungen wie Schwanzschlagen oder Veränderungen der Schwanzposition hervorrufen. Am deutlichsten stellte sich dies in unserer Untersuchung bei den Wirkstoffen Procain und Bupivacain dar. Auch andere Studien konnten eine Beeinträchtigung der Schweine durch die Injektion von Lokalanästhetika darstellen, da die Fixation der Tiere und die Manipulation der Hoden Stress und Schmerzen verursachen können (COUTANT et al., 2022). In unserer Untersuchung konnten wir bereits bei den Handlingstieren einen (kurzfristigen) Anstieg der Schmerzparameter vor allem der Sägebockstellung

erkennen. Dies legt nahe, dass bereits die Manipulation der Hoden, die für eine Injektion des Lokalanästhetikums notwendig ist, Schmerzen verursachen kann.

Aus anderen Studien wissen wir, dass der durch die Kastration verursachte Schmerz über mehrere Stunden und Tage bestehen bleiben kann (HAY et al., 2003; LLAMAS MOYA et al., 2008). Auch in unserer Untersuchung waren einige Verhaltensparameter wie die Sägebockhaltung auch noch am Tag nach der Kastration erhöht.

Erkennbar war jedoch sowohl in der NaCl-Gruppe als auch bei den Lokalanästhetika-Gruppen ein anhaltender Anstieg der ethologischen Schmerzparameter, die auch unter präemptiver Meloxicam/Metacam-Gabe zum Teil bis zum Tag nach der Kastration bestehen blieb. Nachdem durch verschiedene Studien bestätigt werden konnte, dass der durch die Kastration ausgelöste Schmerz für mehrere Tage anzuhalten scheint und auch adspektorisch und palpatorisch Schwellungen und Rötungen über mehrere Tage bestehen bleiben können (HAY et al., 2003; KLUIVERS-POODT et al., 2013; ABENDSCHÖN et al., 2020), sollte sich das perioperative Schmerzmanagement nicht nur auf den akuten Kastrationsschmerz begrenzen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Untersuchung zum Schmerzverhalten von Saugferkeln bei der chirurgischen Kastration war Teil eines Verbundprojektes des Lehrstuhls für Tierschutzes und der Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität München sowie dem Zentrum für präklinische Forschung der Technischen Universität München und wurde vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) gefördert und durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) betreut.

Die Studie umfasste eine dreiteilige Laborstudie und eine Feldstudie. Die einzelnen Studienteile bauten aufeinander auf und so wurde die verwendete Lokalanästhesiemethode fortlaufend optimiert.

Die chirurgische Kastration von Saugferkeln stellt einen schmerzhaften Eingriff dar. Das deutsche Tierschutzgesetz fordert deshalb für die Durchführung dieses Eingriffes eine wirksame Schmerzausschaltung. Hierfür sind in Deutschland bisher die Injektionsnarkose mit Ketamin/Azaperon und die Inhalationsnarkose mit Isofluran zugelassen. Ob unter Lokalanästhesie eine ausreichende Schmerzausschaltung bei der Kastration erreicht wird, ist hingegen noch nicht abschließend geklärt.

In der vorliegenden Studie wurden unterschiedliche Lokalanästhetika und Injektionsmethoden an 288 Ferkeln in zwei Betrieben verwendet und das Schmerzverhalten der Ferkel einzeln anhand eines Ethogramms in einer Observationsarena beurteilt. Die Ferkel wurden dabei stets vor allen Eingriffen sowie nach Injektion der Lokalanästhetika, direkt nach Kastration und in den Stunden danach bis zu 24 Stunden nach Kastration beobachtet.

Die wichtigsten beobachteten Schmerzparameter waren Veränderungen der Schwanzposition, Aufkrümmen des Rückens in der Sägebockhaltung und die Sägebockhaltung mit Pressen des Rumpfes an die Arenawand.

Die wenigsten Schmerzparameter wurden von der nichtkastrierten Kontrollgruppe gezeigt. Bereits nach der Injektion der verwendeten Injektionsanästhetika konnten vermehrte Verhaltensänderungen wie Schwanzschlagen gesehen werden. Bei der Kastration und in den Stunden danach konnte mit der Lokalanästhesie eine

Schmerzreduktion erreicht werden. Aufgrund der begrenzten Wirkdauer der Lokalanästhesie zeigten die Ferkel jedoch auch am Tag nach der Kastration Schmerzverhalten.

Der Fokus zur Beurteilung einer wirksamen Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration wird in den meisten Untersuchungen nur auf den akuten Schmerz zum Zeitpunkt bzw. am Tag der Kastration gesetzt. Da Kastrationsschmerzen jedoch über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben, sollten aus Gründen des Tierwohls die langanhaltenden Schmerzen durchaus in die Beurteilung einer Kastrationsmethode mit einbezogen werden. Die Gabe von lokalen Betäubungsmitteln scheint zwar die Schmerzen bei der Kastration zu reduzieren aber, insbesondere durch die begrenzte Wirkdauer der Lokalanästhetika, nicht länger anhaltend vollständig auszuschalten. Eine Empfehlung für ein bestimmtes Lokalanästhetikum oder eine Injektionsmethode ist mithilfe der Verhaltensanalyse in der Observationsarena nicht eindeutig möglich. Tendenziell ist jedoch erkennbar, dass einige der Lokalanästhetika, wie Lidocain und Mepivacain zu stärkeren bzw. länger anhaltenden Verringerungen der schmerzassoziierten Parameter führen. Die in dieser Studie etablierten Parameter „Veränderungen der Schwanzposition“ und „Sägebockstellung“ sowie „Sägebockstellung und Pressen an Arenawand“ erscheinen als valide, um Schmerzen beim Saugferkel zu beurteilen und erbringen reproduzierbare Ergebnisse, die eine Unterscheidung der beiden Kontrollgruppen betäubungslose Kastration (NaCl-Injektion) und Handling (Sham) ermöglichen. Da schmerzbedingte Verhaltensänderungen beim Saugferkel sehr individuell und transient sind, sind weitere Untersuchungen erforderlich, um zu evaluieren, inwieweit sich Schmerzzeichen nach Alter und Rasse der untersuchten Schweine unterscheiden. Langfristig wäre eine standardisierte Beurteilungsmethode zur Schmerzerkennung bei Saugferkeln sinnvoll, um eine bessere Vergleichbarkeit verschiedener Studien zu ermöglichen.

VII. SUMMARY

The present study on the pain behavior of suckling piglets during surgical castration was part of a collaborative project of the Chair of Animal Welfare LMU Munich, Clinic for Swine LMU Munich and Center for Preclinical Research TU Munich. It was funded by the Federal Ministry of Food and Agriculture.

The study comprised a three-part laboratory study and a field study. The individual study parts built on each other and thus the local anesthetic method used was continuously optimized.

Surgical castration of suckling piglets is a painful procedure. For this reason, the German Animal Welfare Act requires effective pain relief for this procedure. Approved methods for pain relief are injection anesthesia by Ketamine/Azaperone and inhalation anesthesia with isoflurane gas. If local anesthesia provides sufficient analgesia during castration is still under debate.

In this study, different local anesthetics and application methods have been tested on 288 piglets in two pig farms. Piglet behavior was evaluated individually in an observation arena using an ethogram. The Piglets were always observed before all other procedures, after injection of local anesthetics, immediately after castration, and in the hours after castration up to 24 hours after the procedure.

The main pain parameters observed were changes in tail position, hunched back posture and hunched back posture with pressing the rump against the arena wall.

The fewest pain behaviors were shown by the sham castrated control group. Behavior changes like tail wagging were already apparent right after injection of the local anesthetic. After castration and during the following observations local anesthesia reduced observed pain behaviors. As the effect of local anesthesia is limited in duration pain behaviors could still be noted on the day after castration.

Most research on castration pain is focused on the time during castration and the pain parameters expressed on the same day. As castration pain can persist over a period of several days this should be taken into consideration when evaluating animal welfare aspects of different castration methods. Local anesthesia can help reduce pain after castration but especially because of the limited duration of effectiveness it is not able to eliminate pain completely. A recommendation for a

specific local anesthetic or injection technique is not clearly possible solely by means of the presented behavior analysis in the observation arena. Some local anesthetics like Lidocaine and Mepivacaine tended to create a better pain relief. The parameters „changes in tail position“, „hunched back“ and „hunched back with pressing against arena wall“ appear to be valid to assess pain and produce reproducible results that allow a differentiation between the two control groups (castration without pain relief and sham castration). As pain-related behavioral changes are highly depended on the individual animal and not consistently shown in high frequencies further research is recommended, e.g., to evaluate the extent to which pain signs differ by age and breed. In the long term, a standardized assessment method for pain would be useful to allow better comparability of different studies.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

ABENDSCHÖN, N., SENF, S., DEFFNER, P., MILLER, R., GROTT, A., WERNER, J., SALLER, A. M., REISER, J., WEISS, C., ZABLOTSKI, Y., FISCHER, J., BERGMANN, S., ERHARD, M. H., BAUMGARTNER, C., RITZMANN, M., ZÖLS, S. (2020): Local Anesthesia in Piglets Undergoing Castration-A Comparative Study to Investigate the Analgesic Effects of Four Local Anesthetics Based on Defensive Behavior and Side Effects. *Animals* 10, 10.

AHRENS, J., LEFFLER, A. (2014): Update zu Pharmakologie und Wirkung von Lokalanästhetika. *Der Anaesthesist* 63, 5, 376-386.

ALUWÉ, M., TUYTTENS, F. A. M., MILLET, S. (2015): Field experience with surgical castration with anaesthesia, analgesia, immunocastration and production of entire male pigs: performance, carcass traits and boar taint prevalence. *Animal* 9, 3, 500-508.

ANAND, K. J. S. (2001): Consensus Statement for the Prevention and Management of Pain in the Newborn. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* 155, 2, 173-180.

BABOL, J., SQUIRES, E., GULLETT, E. (1995): Investigation of factors responsible for the development of boar taint. *Food Research International* 28, 6, 573-581.

BACKUS, G., VAN DEN BROEK, E., VAN DER FELLS, B., HERES, L., IMMINK, V., KNOL, E., KORNELIS, M., MATHUR, P., VAN DER PEET-SCHWERING, C., VAN RIEL, J. (2016): Evaluation of producing and marketing entire male pigs. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences* 76, 29-41.

BATES, J. L., KARRIKER, L. A., STOCK, M. L., PERTZBORN, K. M., BALDWIN, L. G., WULF, L. W., LEE, C. J., WANG, C., COETZEE, J. F. (2014): Impact of transmammary-delivered meloxicam on biomarkers of pain and distress in piglets after castration and tail docking. *PLoS One* 9, 12, e113678.

BATOREK, N., CANDEK-POTOKAR, M., BONNEAU, M., VAN MILGEN, J. (2012): Meta-analysis of the effect of immunocastration on production performance, reproductive organs and boar taint compounds in pigs. *Animal* 6, 8, 1330-1338.

BAYSINGER, A., WEBB, S. R., BROWN, J., COETZEE, J. F., CRAWFORD, S., DEDECKER, A., KARRIKER, L. A., PAIRIS-GARCIA, M., SUTHERLAND, M. A., VISCARDI, A. V. (2021): Proposed multidimensional pain outcome methodology to demonstrate analgesic drug efficacy and facilitate future drug approval for piglet castration. *Animal Health Research Reviews*, 1-14.

BEE, G., QUINIOU, N., MARIBO, H., ZAMARATSKAIA, G., LAWLOR, P. G. (2020): Strategies to Meet Nutritional Requirements and Reduce Boar Taint in Meat from Entire Male Pigs and Immunocastrates. *Animals* 10, 11, 1950.

Bundesanstalt für Ernährung und Landwirtschaften (BLE)(2020). Alternativen zur betäubungslosen Ferkelkastration.

<https://www.ble-medienservice.de/2001/alternativen-zur-betaeubungslosen-ferkelkastration> (zuletzt aufgerufen am 21.01.2023)

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaften (BMEL). (2021). Ausstieg aus der betäubungslosen Ferkelkastration.

<https://www.bmel.de/DE/themen/tiere/tierschutz/ferkelkastration201811.html>

(zuletzt aufgerufen am: 20.01.2023)

BONNEAU, M., ENRIGHT, W. J. (1995): Immunocastration in cattle and pigs. *Livestock Production Science* 42, 2, 193-200.

BONNEAU, M., WEILER, U. (2019): Pros and Cons of Alternatives to Piglet Castration: Welfare, Boar Taint, and Other Meat Quality Traits. *Animals* 9, 11.

BORELL, E. V., BONNEAU, M., HOLINGER, M., PRUNIER, A., STEFANSKI, V., ZOLS, S., WEILER, U. (2020): Welfare Aspects of Raising Entire Male Pigs and Immunocastrates. *Animals* 10, 11.

BUSCH, W., HOLZMANN, A. (2001): Veterinärmedizinische Andrologie: Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung bei männlichen Tieren. Schattauer Verlag.

ČANDEK-POTOKAR, M., ŠKRLEP, M., ZAMARATSKAIA, G. (2017): Immunocastration as Alternative to Surgical Castration in Pigs. *Theriogenology*, 6, 109-126.

CAP, V. (2017). *Evaluation of different dose rate combinations of ketamine, romifidine and azaperone for castration of 3-4 and 5-6 weeks old piglets*. University of Zurich.

CHEN, G., ZAMARATSKAIA, G., ANDERSSON, H. K., LUNDSTRÖM, K. (2007): Effects of raw potato starch and live weight on fat and plasma skatole, indole and androstenone levels measured by different methods in entire male pigs. *Food Chemistry* 101, 2, 439-448.

CLAUS, R., WEILER, U. (1994): Endocrine regulation of growth and metabolism in the pig: a review. *Livestock Production Science* 37, 3, 245-260.

COMAN, L., PĂUNESCU, H., GHIȚĂ, C. I. V., ȚINCU, R. C., VASILE, S., CİNTEZA, D., FULGA, I., COMAN, O. A. (2022): Paracetamol-Induced Hypothermia in Rodents: A Review on Pharmacodynamics. *Processes* 10, 4, 687.

COUTANT, M., MALMKVIST, J., KAISER, M., FOLDAGER, L., HERSKIN, M. S. (2022): Piglets' acute responses to local anesthetic injection and surgical castration: Effects of the injection method and interval between injection and castration. *Frontiers in Veterinary Science* 9, 1009858.

CRONIN, G. M., DUNSHEA, F. R., BUTLER, K. L., MCCAULEY, I., BARNETT, J. L., HEMSWORTH, P. H. (2003): The effects of immuno- and surgical-castration on the behaviour and consequently growth of group-housed, male finisher pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 81, 2, 111-126.

D'EATH, R. B., JACK, M., FUTRO, A., TALBOT, D., ZHU, Q., BARCLAY, D., BAXTER, E. M. (2018): Automatic early warning of tail biting in pigs: 3D cameras can detect lowered tail posture before an outbreak. *PLoS One* 13, 4, e0194524.

DALLA COSTA, E., MINERO, M., LEBELT, D., STUCKE, D., CANALI, E., LEACH, M. C. (2014): Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS one* 9, 3, e92281.

DE BRIYNE, N., BERG, C., BLAHA, T., TEMPLE, D. (2016): Pig castration: will the EU manage to ban pig castration by 2018? *Porcine Health Management* 2, 1, 29.

DI GIMINIANI, P., BRIERLEY, V. L., SCOLLO, A., GOTTARDO, F., MALCOLM, E. M., EDWARDS, S. A., LEACH, M. C. (2016): The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale. *Frontiers in Veterinary Science* 3, 100.

EKMAN, P., AND, OSTER, A. H. (1979): Facial Expressions of Emotion. *Annual Review of Psychology* 30, 1, 527-554.

ENZ, A., SCHÜPBACH-REGULA, G., BETTSCHART, R., FUSCHINI, E., BÜRGI, E., SIDLER, X. (2013a): Erfahrungen zur Schmerzausschaltung bei der Ferkelkastration in der Schweiz Teil 1: Inhalationsanästhesie. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 155, 12, 651-659.

ENZ, A., SCHÜPBACH-REGULA, G., BETTSCHART, R., FUSCHINI, E., BÜRGI, E., SIDLER, X. (2013b): [Experiences with pain control during piglet castration in Switzerland Part 2: Injection anesthesia]. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 155, 12, 661-668.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, E. (2004): Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related to welfare aspects of the castration of piglets. *EFSA Journal* 2, 7, 91.

FERKBETSACHKV. (2020). Ferkelbetäubungssachkundeverordnung vom 8. Januar 2020 (BGBl. I S. 96). Aufgerufen auf <https://www.gesetze-im-internet.de/ferkbetsachkv/FerkBetSachkV.pdf> am 20.01.2023.

FOSSE, T. K., TOUTAIN, P. L., SPADAVECCHIA, C., HAGA, H. A., HORSBERG, T. E., RANHEIM, B. (2011): Ketoprofen in piglets: enantioselective pharmacokinetics, pharmacodynamics and PK/PD modelling. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 34, 4, 338-349.

GARCIA, E. R. (2015): Local anesthetics. *Veterinary Anesthesia and Analgesia, The Fifth Edition of Lumb and Jones*. John Wiley & Sons, Inc., Pondicherry, India, 332-354.

GLEERUP, K. B., ANDERSEN, P. H., MUNKSGAARD, L., FORKMAN, B. (2015): Pain evaluation in dairy cattle. *Applied Animal Behaviour Science* 171, 25-32.

GOTTARDO, F., SCOLLO, A., CONTIERO, B., RAVAGNANI, A., TAVELLA, G., BERNARDINI, D., DE BENEDICTIS, G. M., EDWARDS, S. A. (2016): Pain alleviation during castration of piglets: a comparative study of different farm options¹. *Journal of Animal Science* 94, 12, 5077-5088.

GRAEFE, K. H. (2016): Lokalanästhetika. In K. H. Graefe, W. K. Lutz & H. Bönisch (Hrsg.): *Duale Reihe Pharmakologie und Toxikologie*. Georg Thieme Verlag KG.

GRÉGOIRE, J., BERGERON, R., D'ALLAIRE, S., MEUNIER-SALAÜN, M. C., DEVILLERS, N. (2013): Assessment of lameness in sows using gait, footprints, postural behaviour and foot lesion analysis. *Animal* 7, 7, 1163-1173.

GUESGEN, M. J., BEAUSOLEIL, N. J., LEACH, M., MINOT, E. O., STEWART, M., STAFFORD, K. J. (2016): Coding and quantification of a facial expression for pain in lambs. *Behavioural Processes* 132, 49-56.

HANSSON, M., LUNDEHEIM, N., NYMAN, G., JOHANSSON, G. (2011): Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53, 1, 1-9.

HAY, M., VULIN, A., GÉNIN, S., SALES, P., PRUNIER, A. (2003): Assessment of pain induced by castration in piglets: behavioral and physiological responses over the subsequent 5 days. *Applied Animal Behaviour Science* 82, 3, 201-218.

HERDEGEN, T., BÖHM, R., CULMAN, J., GOHLKE, P., LUIPPOLD, G. (2008): *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*. Thieme Stuttgart, New York.

HERSKIN, M. S., LADEWIG, J., ARENDT-NIELSEN, L. (2009): Measuring cutaneous thermal nociception in group-housed pigs using laser technique—Effects of laser power output. *Applied Animal Behaviour Science* 118, 3-4, 144-151.

HERSKIN, M. S., RASMUSSEN, J. S. (2010): Pigs in pain - Porcine behavioural responses towards mechanical nociceptive stimulation directed at the hind legs. *Scandinavian Journal of Pain* 1, 3, 175-176.

ISON, S. H., CLUTTON, R. E., DI GIMINIANI, P., RUTHERFORD, K. M. D. (2016): A Review of Pain Assessment in Pigs. *Frontiers in Veterinary Science* 3, 108.

JANCZAK, A. M., RANHEIM, B., FOSSE, T. K., HILD, S., NORDGREEN, J., MOE, R. O., ZANELLA, A. J. (2012): Factors affecting mechanical (nociceptive) thresholds in piglets. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 39, 6, 628-635.

KAMPHUES, J., WOLF, P., COENEN, M., EDER, K., IBEN, C., KIENZLE, E., LIESEGANG, A., MÄNNER, K., ZEBELI, Q., ZENTEK, J. (2014): *Supplemente zur Tierernährung für Studium und Praxis*. Schlütersche.

KEATING, S. C., THOMAS, A. A., FLECKNELL, P. A., LEACH, M. C. (2012): Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: changes

in physiological, behavioural and facial expression responses. *PLoS One*, 7, 9.

KLUIVERS-POODT, M., ZONDERLAND, J. J., VERBRAAK, J., LAMBOOIJ, E., HELLEBREKERS, L. J. (2013): Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal* 7, 7, 1158-1162.

KOHUT, S. A., RIDDELL, R. P., FLORA, D. B., OSTER, H. (2012): A longitudinal analysis of the development of infant facial expressions in response to acute pain: immediate and regulatory expressions. *Pain* 153, 12, 2458-2465.

KOJIMA, M., DEGAWA, M. (2013): Serum androgen level is determined by autosomal dominant inheritance and regulates sex-related CYP genes in pigs. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 430, 2, 833-838.

KRESS, K., MILLET, S., LABUSSIÈRE, É., WEILER, U., STEFANSKI, V. (2019): Sustainability of Pork Production with Immunocastration in Europe. *Sustainability* 11, 12.

KURTZ, S., PETERSEN, B. (2019): Pre-determination of sex in pigs by application of CRISPR/Cas system for genome editing. *Theriogenology* 137, 67-74.

LAHRMANN, K. (2006): Klinisch-experimentelle Untersuchungen zur Ketamin/Azaperon-Allgemeinanästhesie bei Schweinen. *Der Praktische Tierarzt* 87, 713-725.

LANGFORD, D. J., BAILEY, A. L., CHANDA, M. L., CLARKE, S. E., DRUMMOND, T. E., ECHOLS, S., GLICK, S., INGRAO, J., KLASSEN-ROSS, T., LACROIX-FRALISH, M. L., MATSUMIYA, L., SORGE, R. E., SOTOCINAL, S. G., TABAKA, J. M., WONG, D., VAN DEN MAAGDENBERG, A. M. J. M., FERRARI, M. D., CRAIG, K. D., MOGIL, J. S. (2010): Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods* 7, 6, 447-449.

LANGHOFF, R. (2008). *Untersuchungen über den Einsatz von Schmerzmitteln zur Reduktion kastrationsbedingter Schmerzen beim Saugferkel*. LMU München.

LARSEN, R. (1999): Lokalanästhetika. In: *Anästhesie und Intensivmedizin für die Fachpflege*. Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28291-1_13

LEE, B. H. (2002): Managing pain in human neonates-applications for animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 221, 2, 233-238.

LEFFLER, A., SCHULZ-STÜBNER, S. (2019): Lokalanästhetika. *Die Anästhesiologie*, 403-416.

LEIDIG, M. S., HERTRAMPF, B., FAILING, K., SCHUMANN, A., REINER, G. (2009): Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Applied Animal Behaviour Science* 116, 2-4, 174-178.

LI, X., ZHAO, J. N., ZHAO, P., ZHANG, X., BI, Y. J., LI, J. H., LIU, H. G., WANG, C., BAO, J. (2019): Behavioural responses of piglets to different types of music. *Animal* 13, 10, 2319-2326.

LLAMAS MOYA, S., BOYLE, L. A., LYNCH, P. B., ARKINS, S. (2008): Effect of surgical castration on the behavioural and acute phase responses of 5-day-old piglets. *Applied Animal Behaviour Science* 111, 1-2, 133-145.

LOMAX, S., HARRIS, C., WINDSOR, P. A., WHITE, P. J. (2017): Topical anaesthesia reduces sensitivity of castration wounds in neonatal piglets. *PLoS One* 12, 11, e0187988.

LONARDI, C., SCOLLO, A., NORMANDO, S., BRSCIC, M., GOTTARDO, F. (2015): Can novel methods be useful for pain assessment of castrated piglets? *Animal* 9, 5, 871-877.

LÖSCHER, W., RICHTER, A., POTSCHKA, H. (2014): Pharmakotherapie bei Haus-und Nutztieren: Begründet von W. Löscher, FR Ungemach und R. Kroker. Georg Thieme Verlag.

LOU, M. E. (2020). *The Grimace Scale as a Method of Acute Pain Assessment for Neonatal Livestock*. University of Minnesota.

LUNA, S. P. L., DE ARAUJO, A. L., DA NOBREGA NETO, P. I., BRONDANI, J. T., DE OLIVEIRA, F. A., AZEREDO, L., TELLES, F. G., TRINDADE, P. H. E. (2020): Validation of the UNESP-Botucatu pig composite acute pain scale (UPAPS). *PLoS One* 15, 6, e0233552.

MALMFORS, B., LUNDSTRÖM, K. (1983): Consumer reactions to boar meat-a review. *Livestock Production Science* 10, 2, 187-196.

MARCET RIUS, M., PAGEAT, P., BIENBOIRE-FROSINI, C., TERUEL, E., MONNERET, P., LECLERCQ, J., LAFONT-LECUELLE, C., COZZI, A. (2018): Tail and ear movements as possible indicators of emotions in pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 205, 14-18.

MARCHANT-FORDE, J. N., LAY, D. C., JR., MCMUNN, K. A., CHENG, H. W., PAJOR, E. A., MARCHANT-FORDE, R. M. (2009): Postnatal piglet husbandry practices and well-being: the effects of alternative techniques delivered separately. *Journal of Animal Science* 87, 4, 1479-1492.

MCGLONE, J. J., HELLMAN, J. M. (1988): Local and general anesthetic effects on behavior and performance of two-and seven-week-old castrated and uncastrated piglets. *Journal of Animal Science* 66, 12, 3049-3058.

MCGLONE, J. J., NICHOLSON, R. I., HELLMAN, J. M., HERZOG, D. N. (1993): The development of pain in young pigs associated with castration and attempts to prevent castration-induced behavioral changes. *Journal of Animal Science* 71, 6, 1441-1446.

MCLENNAN, K. M., MILLER, A. L., DALLA COSTA, E., STUCKE, D., CORKE, M. J., BROOM, D. M., LEACH, M. C. (2019): Conceptual and methodological issues relating to pain assessment in mammals: The development and utilisation of pain facial expression scales. *Applied Animal Behaviour Science* 217, 1-15.

MCLENNAN, K. M., REBELO, C. J. B., CORKE, M. J., HOLMES, M. A., LEACH, M. C., CONSTANTINO-CASAS, F. (2016): Development of a facial expression scale using footrot and mastitis as models of pain in sheep. *Applied Animal Behaviour Science* 176, 19-26.

NAVARRO, E., MAINAU, E., MANTECA, X. (2020): Development of a Facial Expression Scale Using Farrowing as a Model of Pain in Sows. *Animals* 10, 11.

NIESEL, H. C., VAN AKEN, H. (2003): Lokalanästhesie, Regionalanästhesie, Regionale Schmerztherapie. Georg Thieme Verlag.

NOONAN, G. J., RAND, J. S., PRIEST, J., AINSCOW, J., BLACKSHAW, J. K. (1994): Behavioural observations of piglets undergoing tail docking, teeth clipping and ear notching. *Applied Animal Behaviour Science* 39, 3, 203-213.

NUSSBAUMER, I. (2012): Castration of piglets under general anaesthesia: a possible approach. *Veterinary Science Development* 2, 1, e9.

OONK, H. B., TURKSTRA, J. A., SCHAAPER, W. M. M., ERKENS, J. H. F., SCHUITEMAKER-DE WEERD, M. H., VAN NES, A., VERHEIJDEN, J. H. M., MELOEN, R. H. (1998): New GnRH-like peptide construct to optimize efficient immunocastration of male pigs by immunoneutralization of GnRH. *Vaccine* 16, 11, 1074-1082.

PATTERSON, R. L. S. (1968): 5α -androst-16-ene-3-one:—Compound responsible for taint in boar fat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 19, 1, 31-38.

PAULY, C., SPRING, P., O'DOHERTY, J. V., AMPUERO KRAGTEN, S., BEE, G. (2009): Growth performance, carcass characteristics and meat quality of group-penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac®) and entire male pigs and individually penned entire male pigs. *Animal* 3, 7, 1057-1066.

PFANNKUCHE, H. (2008): Nociception and pain: Basic neurophysiologic concepts. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere* 36, 01, 5-11.

PLONAIT, H., BICKHARDT, K. (2004): *Lehrbuch der Schweinekrankheiten: 63 Tabellen*. Georg Thieme Verlag.

PREINERSTORFER, A., LEITHOLD, A., HUBER, G., KRIMBERGER, B., MÖSENBACHER-MOLTERER, I. (2010): Erfahrungen zur Ebermast. *Nutztierschutztagung Raumberg-Gumpenstein* 27, 47.

PRUNIER, A., MOUNIER, L., LE NEINDRE, P., LETERRIER, C., MORMEDE, P., PAULMIER, V., PRUNET, P., TERLOUW, C., GUATTEO, R. (2013): Identifying and monitoring pain in farm animals: a review. *Animal* 7, 6, 998-1010.

PUPPE, B., SCHÖN, P. C., TUCHSCHERER, A., MANTEUFFEL, G. (2005): Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: Complex and specific alterations of the vocal quality. *Applied Animal Behaviour Science* 95, 1, 67-78.

REIMERT, I., BOLHUIS, J. E., KEMP, B., RODENBURG, T. B. (2013): Indicators of positive and negative emotions and emotional contagion in pigs. *Physiology & Behavior* 109, 42-50.

REISER, J., KREUZER, M., WERNER, J., SALLER, A. M., FISCHER, J., SENF, S., DEFFNER, P., ABENDSCHÖN, N., GROLL, T., GROTT, A. (2022): Nociception-Induced Changes in Electroencephalographic Activity and FOS Protein Expression in Piglets Undergoing Castration under Isoflurane Anaesthesia. *Animals* 12, 18, 2309.

REITER, S., ZÖLS, S., RITZMANN, M., STEFANSKI, V., WEILER, U. (2017): Penile Injuries in Immunocastrated and Entire Male Pigs of One Fattening Farm. *Animals* 7, 9, 71.

RICHTER, A., LÖSCHER, W., FREY, H. (2016): *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 4. Auflage. Stuttgart: Enke.

RYDHMER, L., ZAMARATSKAIA, G., ANDERSSON, H. K., ALGERS, B., GUILLEMET, R., LUNDSTRÖM, K. (2006): Aggressive and sexual behaviour of growing and finishing pigs reared in groups, without castration. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science* 56, 2, 109-119.

SALLER, A. M., WERNER, J., REISER, J., SENF, S., DEFFNER, P., ABENDSCHON, N., WEISS, C., FISCHER, J., SCHORWERTH, A., MILLER, R., ZABLOTSKI, Y., BERGMANN, S., ERHARD, M. H., RITZMANN, M., ZÖLS, S., BAUMGARTNER, C. (2020): Local anesthesia in piglets undergoing castration-A comparative study to investigate the analgesic effects of four local anesthetics on the basis of acute physiological responses and limb movements. *PLoS One* 15, 7, e0236742.

SCHIELE, D. M. (2010). *Untersuchungen über den Einsatz von topischer Kryobehandlung und Lokalanästhesie bei der Kastration männlicher Saugferkel*. LMU München.

SCHMIDT, T., KÖNIG, A., VON BORELL, E. (2012): Impact of general injection anaesthesia and analgesia on post-castration behaviour and teat order of piglets. *Animal* 6, 12, 1998-2002.

SCHWENNEN, C. (2015). *Untersuchungen zur Anwendbarkeit der Isoflurannarkose bei der Ferkelkastration sowie deren Auswirkung auf Produktionsparameter in der Ferkelerzeugung unter konventionellen Produktionsbedingungen*. Hannover, Tierärztliche Hochschule.

SCHWENNEN, C., DZIUBA, D., SCHÖN, P., KIETZMANN, M., WALDMANN,

K.-H., ALTROCK, A. V. (2020): Lokale Anästhesieverfahren zur Schmerzreduktion bei der Saugferkelkastration. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 133.

SESSLER, D. I., MCGUIRE, J., MOAYERI, A., HYNSON, J. (1991): Isoflurane-induced vasodilation minimally increases cutaneous heat loss. *Anesthesiology* 74, 2, 226-232.

SHEIL, M., CHAMBERS, M., SHARPE, B. (2020): Topical wound anaesthesia: efficacy to mitigate piglet castration pain. *Austin Veterinary Journal* 98, 6, 256-263.

SHEIL, M., POLKINGHORNE, A. (2020): Optimal Methods of Documenting Analgesic Efficacy in Neonatal Piglets Undergoing Castration. *Animals* 10, 9.

SKADE, L., KRISTENSEN, C. S., NIELSEN, M. B. F., DINESS, L. H. (2021): Effect of two methods and two anaesthetics for local anaesthesia of piglets during castration. *Acta Veterinaria Scandinavica* 63, 1, 1.

SOTOCINAL, S. G., SORGE, R. E., ZALOUM A., T. A. H., J., M. L., S., W. J., J., M., P., W., S., Z., S., Z., J., M., O., K., MOGIL, J. S. (2011): The Rat Grimace Scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7:55.

SPRECHER, D., ET AL., HOSTETLER, D. E., KANEENE, J. (1997): A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 47, 6, 1179-1187.

SQUIRES, E. J., BONE, C., CAMERON, J. (2020): Pork Production with Entire Males: Directions for Control of Boar Taint. *Animals* 10, 9.

STEWART, M., VERKERK, G. A., STAFFORD, K. J., SCHAEFER, A. L., WEBSTER, J. R. (2010): Noninvasive assessment of autonomic activity for evaluation of pain in calves, using surgical castration as a model. *Journal of Dairy*

Science 93, 8, 3602-3609.

SULBAEK ANDERSEN, M. P., SANDER, S. P., NIELSEN, O. J., WAGNER, D. S., SANFORD, T. J., JR, WALLINGTON, T. J. (2010): Inhalation anaesthetics and climate change†. BJA: British Journal of Anaesthesia 105, 6, 760-766.

SUTHERLAND, M. A., BACKUS, B. L., BROOKS, T. A., MCGLONE, J. J. (2017): The effect of needle-free administration of local anesthetic on the behavior and physiology of castrated pigs. Journal of Veterinary Behavior 21, 71-76.

SUTHERLAND, M. A., DAVIS, B. L., MCGLONE, J. J. (2011): The effect of local or general anesthesia on the physiology and behavior of tail docked pigs. Animal 5, 8, 1237-1246.

TALLET, C., RAKOTOMAHANDRY, M., HERLEMONT, S., PRUNIER, A. (2019): Evidence of Pain, Stress, and Fear of Humans During Tail Docking and the Next Four Weeks in Piglets (*Sus scrofa domesticus*). Frontiers in Veterinary Science 6, 462.

TAYLOR, A. A., WEARY, D. M. (2000): Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. Applied Animal Behaviour Science 70, 1, 17-26.

TAYLOR, A. A., WEARY, D. M., LESSARD, M., BRAITHWAITE, L. (2001): Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. Applied Animal Behaviour Science 73, 1, 35-43.

R Core Team. (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>.

TIERSCHG. (2020). Tierschutzgesetz, neugefasst durch Bek. v. 18.5.2006 I 1206, 1313; zuletzt geändert durch Art. 280 V v. 19.6.2020 I 1328. Aufgerufen auf <https://www.gesetze-im-internet.de/tierschg/> am 20.01.2023.

TURNER, P. V., PANG, D. S., LOFGREN, J. L. (2019): A review of pain assessment methods in laboratory rodents. *Comparative medicine* 69, 6, 451-467.

VAN DER SAAG, D., WHITE, P., INGRAM, L., MANNING, J., WINDSOR, P., THOMSON, P., LOMAX, S. (2018): Effects of Topical Anaesthetic and Buccal Meloxicam Treatments on Concurrent Castration and Dehorning of Beef Calves. *Animals* 8, 3.

VAN LOON, J. P. A. M., VAN DIERENDONCK, M. C. (2015): Monitoring acute equine visceral pain with the Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain (EQUUS-FAP): A scale-construction study. *The Veterinary Journal* 206, 3, 356-364.

VANHONACKER, F., VERBEKE, W. (2011): Consumer response to the possible use of a vaccine method to control boar taint v. physical piglet castration with anaesthesia: a quantitative study in four European countries. *Animal* 5, 7, 1107-1118.

VEIT, C., MARAHRENS, M., SCHWARZLOSE, I., KRAUSE, E. T., SCHRADER, L. (2017): Alternativen zur betäubungslosen Ferkelkastration in Deutschland: Überblick zum aktuellen Stand der Forschung. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 131.

VERHAAGH, M. (2019): Wirtschaftlichkeit der Alternativen zur betäubungslosen Ferkelkastration. *Deutsches Tierärzteblatt*, 67 (9).

VISCARDI, A. V., HUNNIFORD, M., LAWLIS, P., LEACH, M., TURNER, P. V. (2017): Development of a Piglet Grimace Scale to Evaluate Piglet Pain Using Facial Expressions Following Castration and Tail Docking: A Pilot Study. *Frontiers in Veterinary Science* 4, 51.

VISCARDI, A. V., TURNER, P. V. (2018a): Efficacy of buprenorphine for management of surgical castration pain in piglets. *BMC Veterinary Research* 14, 1,

318.

VISCARDI, A. V., TURNER, P. V. (2018b): Use of Meloxicam or Ketoprofen for Piglet Pain Control Following Surgical Castration. *Frontiers in Veterinary Science* 5, 299.

VOLD, E. (1969): Fleischproduktionseigenschaften bei Ebern und Kastraten. III. Norges Landbrukshogsk Meld.

VON ENGELHARDT, W., BREVES, G. (2004): Physiologie der Haustiere: . Enke.

VULLO, C., BARBIERI, S., CATONE, G., GRAIC, J. M., MAGALETTI, M., DI ROSA, A., MOTTA, A., TREMOLADA, C., CANALI, E., DALLA COSTA, E. (2020): Is the Piglet Grimace Scale (PGS) a Useful Welfare Indicator to Assess Pain after Cryptorchidectomy in Growing Pigs? *Animals* 10, 3.

WABERSKI, D., RIESENBECK, A., SCHULZE, M., WEITZE, K. F., JOHNSON, L. (2019): Application of preserved boar semen for artificial insemination: Past, present and future challenges. *Theriogenology* 137, 2-7.

WALSTRA, P., MAARSE, G. (1970): Onderzoek gestachlengen van mannelijke mestvarkens. Researchgroep voor Vlees en Vleeswaren TNO, IVO-rapport C-147, Rapport 2, 30.

WEARY, D. M., BRAITHWAITE, L. A., FRASER, D. (1998): Vocal response to pain in piglets. *Applied Animal Behaviour Science* 56, 2, 161-172.

WEILER, U., ISERNHAGEN, M., STEFANSKI, V., RITZMANN, M., KRESS, K., HEIN, C., ZÖLS, S. (2016): Penile Injuries in Wild and Domestic Pigs. *Animals* 6, 4, 25.

WERNER, J., SALLER, A. M., REISER, J., SENF, S., DEFFNER, P.,

ABENDSCHON, N., FISCHER, J., GROTT, A., MILLER, R., ZABLOTSKI, Y., STEIGER, K., BERGMANN, S., ERHARD, M. H., RITZMANN, M., ZÖLS, S., BAUMGARTNER, C. (2022): Evaluation of Two Injection Techniques in Combination with the Local Anesthetics Lidocaine and Mepivacaine for Piglets Undergoing Surgical Castration. *Animals* 12, 8.

WESOLY, R., WEILER, U. (2012): Nutritional Influences on Skatole Formation and Skatole Metabolism in the Pig. *Animals* 2, 2, 221-242.

YUN, J., OLLILA, A., VALROS, A., LARENZA-MENZIES, P., HEINONEN, M., OLIVIERO, C., PELTONIEMI, O. (2019): Behavioural alterations in piglets after surgical castration: Effects of analgesia and anaesthesia. *Research in veterinary science* 125, 36-42.

ZAMARATSKAIA, G., SQUIRES, E. J. (2009): Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal* 3, 11, 1508-1521.

ZANKL, A. (2007). *Untersuchungen zur Wirksamkeit und Gewebeerträglichkeit von Lokalanästhetika bei der Kastration männlicher Saugferkel*. LMU München.

ZOELS, S., REITER, S., RITZMANN, M., WEIß, C., NUMBERGER, J., SCHÜTZ, A., LINDNER, P., STEFANSKI, V., WEILER, U. (2020): Influences of Immunocastration on Endocrine Parameters, Growth Performance and Carcass Quality, as Well as on Boar Taint and Penile Injuries. *Animals* 10, 2, 346.

ZÖLS, S., RITZMANN, M., HEINRITZI, K. (2006): Einsatz einer Lokalanästhesie bei der Kastration von Ferkeln. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere* 34, 02, 103-106.

IX. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei Priv.-Doz. Dr. Shana Bergmann bedanken. Liebe Shana, ohne dich und deinen tatkräftigen Einsatz wäre diese Arbeit niemals angefertigt worden. Du hast mich von Anfang bis Ende unterstützt und sehr viel von deiner Energie und Freizeit geopfert. Vielen Dank für deine Geduld und deine Unterstützung in allen Belangen, vom Korrekturlesen bis hin zu Bauarbeiten im Schweinestall.

Vielen Dank außerdem auch an Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael Erhard, der mir diese Arbeit ermöglicht hat. Ich denke sehr gerne an meine Zeit am Lehrstuhl für Tierschutz unter Ihrer Leitung zurück.

Frau Dr. Andrea Grott danke ich für die vielen gemeinsam verbrachten Arbeitsstunden, vor allem auch für die langen Wartezeiten zu später Stunde im Stall. Außerdem an Dr. Dorian Patzkéwitsch der an der Planung des Projektes maßgeblich beteiligt war und mich sehr gut eingearbeitet hat.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an meine ehemaligen Kolleginnen Priv.-Doz. Dr. Dorothea Döring und Dr. Anna-Caroline Wöhr für ihre fachliche Unterstützung. Außerdem an alle Helferinnen und Helfer vom Lehrstuhl für Tierschutz besonders an Herrn Hermann Kuchler und Frau Barbara Krammer für die Unterstützung im Stall, beim Einbau der Technik und vor allem auch bei der abschließenden Säuberung des Materials.

Dem ganzen LokaFer-Team unter der Leitung von Dr. Susanne Zöls und Prof. Dr. Christine Baumgartner vielen Dank für die Unterstützung während der letzten fünf Jahre. Vielen Dank für die Beantwortung von zahlreichen Fragen und für die gute Zusammenarbeit, es hat immer sehr viel Spaß gemacht mit euch allen zu arbeiten.

Dr. Paul Schmidt danke ich für Unterstützung bei der statistischen Auswertung und das geduldige Rückfragen und Präzisieren meiner Auswertungsansätze.

Dem Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) danke ich für die finanzielle Förderung des Forschungsprojektes.

Zuletzt gilt mein Dank noch all den am Forschungsprojekt beteiligten Schweinen.

Zunächst den Muttersauen, die allen Tumult der durch Versuchsablauf und die technische Vorbereitung geduldig ertragen haben und die sich außerdem über intensive Streicheleinheiten während den langwierigen Wartezeiten am späten Nachmittag sehr gefreut haben. Auch den weiblichen Geschwistertieren, die zwar nicht direkt am Versuch beteiligt waren, die aber trotzdem immer sehr interessiert an allen Vorgängen in den Buchten waren. Besonders aber natürlich den Ferkeln die im Rahmen des Versuches kastriert wurden. Auf dass wir nicht vergessen, für wen wir diese Forschung eigentlich betreiben und dass jedes einzelne dieser Tiere etwas ganz Besonderes ist.