## VALUTAZIONE DI DOLORE E STRESS DURANTE LA CASTRAZIONE DEI SUINETTI: ANALGESIA PREVENTIVA CON ACIDO TOLFENAMICO

# ASSESSMENT OF PAIN AND STRESS DURING CASTRATION IN PIGLETS: PREVENTIVE ANALGESIA USING TOLFENAMIC ACID

LONARDI, C.<sup>1</sup>, TONON, F.<sup>2</sup>, MAZZONI, C.<sup>2</sup>, ROSSI, M.<sup>3</sup>, GOTTARDO, F.<sup>1</sup>, SCOLLO, A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, Università di Padova; <sup>2</sup> SUIVET:

<sup>3</sup> Vétoquinol Italia Corresponding author scollo@suivet.it

Parole chiave: castrazione, analgesia, suinetto, acido tolfenamico.

Key words: castration, analgesia, piglet, tolfenamic acid.

## Riassunto

A causa della crescente pressione dell'opinione pubblica, la suinicoltura si sta orientando verso lo sviluppo di metodi alternativi alla castrazione chirurgica dei suinetti. Scopo del presente lavoro è stato valutare, tramite indicatori comportamentali e fisiologici, l'efficacia della preventiva somministrazione di acido tolfenamico nel ridurre il dolore durante la castrazione. Sono rientrati nella prova 96 suinetti maschi, divisi in 4 gruppi: solo manipolati (M), castrati senza analgesia (C), preventivamente trattati con acido tolfenamico (T), e preventivamente trattati con soluzione placebo (F). Il comportamento è stato osservato 15 minuti per 4 volte dopo la castrazione (0h00, 0h16, 1h00, 1h15). I campioni di sangue sono stati raccolti 0h30 e 4h00 dopo la castrazione per la valutazione dei livelli di cortisolo. I risultati hanno indicato differenze significative tra il gruppo H ed i gruppi C e P per tutti i parametri considerati (P<0.001), con eccezione del cortisolo a 4h00 che è risultato essere simile. I comportamenti cammina e stazione, ed il cortisolo a 0h30, non hanno mostrato differenze significative tra il gruppo T ed il gruppo H (P>0,05). Concludendo, la somministrazione di acido tolfenamico nei suinetti prima della castrazione riduce le alterazioni di parametri comportamentali e fisiologici indicatori di dolore. I risultati suggeriscono che l'uso di acido tolfenamico può ridurre il dolore indotto dalla castrazione nei suinetti, migliorandone lo stato di benessere.

## Abstract

For the increasing animal welfare concerns and the public opinion pressure, alternative methods to surgical castration of piglets will have to be implemented. Aim of this study was to evaluate, by behavioural and physiological indicators, the effectiveness of tolfenamic acid administered before castration to alleviate the pain. The study involved 96 male piglets, divided into 4 groups: handled only (M), castrated without analgesia (C), treated with tolfenamic acid before castration (T), and treated with placebo before castration (F). Behaviour was observed for 15 minutes at 4 time point from castration (0h00, 0h16, 1h00, 1h15). Blood samples were collected 0h30 and 4h00 after castration for cortisol concentration. Results showed significant differences for all the parameters in H group compared to C and P groups (P < 0.001), excluding cortisol level at 4h00 which was similar

in each group. Behaviours such as walking and standing, and cortisol at 0h30, showed no significant difference between T group and H group (P > 0,05). In conclusion, administration of tolfenamic acid before castration reduces alterations in behavioural and physiological indicators of pain in piglets. The findings suggest that tolfenamic acid could decrease the pain induced by castration in piglets, improving the welfare of piglets in practice.

## INTRODUZIONE

Le pressioni sociali di un consumatore sempre più attento ed esigente sono in crescita, e la castrazione chirurgica del suino è tra gli argomenti che suscitano maggiore interesse. Annualmente circa 100 milioni di suini vengono castrati nell'Unione Europea, per la maggior parte senza l'ausilio di anestesia o analgesia (Fredriksen et al., 2009), ma la sostenibilità del metodo fino ad ora utilizzato è largamente messa in discussione per il futuro (de Roest et al., 2009) a causa delle ripercussioni di carattere etico sull'opinione pubblica. A tal proposito alcuni Paesi europei, come Norvegia, Svizzera e Olanda, hanno già introdotto l'obbligo di utilizzare anestesia locale o generale per gli animali destinati al commercio interno (Tuyttens et al., 2012).

La ricerca in campo suinicolo si sta dunque orientando verso l'individuazione di metodi alternativi in grado di ridurre il dolore della castrazione. Sebbene la quantificazione del dolore sia talvolta difficilmente oggettivabile e priva di parametri specifici (Hansson et al., 2011), le alterazioni comportamentali (McGlone and Hellman, 1988; Taylor et al., 2001; Moya et al., 2008) e fisiologiche (White et al., 1995; Prunier et al., 2005; Carroll et al., 2006) registrate durante l'intervento suggeriscono alti livelli di stress acuto che si protraggono almeno fino alle successive 24 ore (Haya et al., 2003).

Tra le soluzioni possibili, attualmente vi sono la castrazione con l'utilizzo di anestesia (locale o generale) e/o analgesia, l'immunocastrazione e l'allevamento dei maschi interi. Tralasciando quest'ultima possibilità, adottata per lo più nei Paesi del nord Europa che producono il suino leggero e difficilmente applicabile al suino pesante, le diverse alternative presentano i loro pro e contro e nessuna sembra rappresentare la soluzione perfetta (Fredriksen et al., 2011), sottolineando la necessità di ulteriori studi.

Nel tentativo di approfondire le conoscenze in ambito di analgesia durante la castrazione del suinetto, il presente lavoro ha il fine di verificare l'effetto dell'acido tolfenamico somministrato prima della castrazione quale principio attivo tra i meno indagati allo scopo. Indicatori comportamentali e fisiologici sono stati utilizzati per la valutazione del dolore.

## MATERIALI E METODI

#### Animali

La prova ha coinvolto 96 suinetti nati da 24 scrofe di genetica Goland. Per l'identificazione individuale degli animali, un'ora prima dell'inizio della prova ciascun suinetto è stato numerato in ordine progressivo sul dorso con un apposito pennarello. Tutti i soggetti avevano età compresa tra i 5 ed i 6 giorni e peso medio di  $2,1\pm0,4$  kg. L'iniezione di Ferro ed il taglio della coda sono stati effettuati al termine della prova, in modo da evitare qualsiasi influenza con i parametri valutati.

## Trattamenti

I suinetti sono stati suddivisi in 4 gruppi di trattamento, ciascuno rappresentato da 24 soggetti equamente distribuiti tra le 24 scrofe, tale per cui ciascuna nidiata aveva all'interno 1 soggetto per ciascun trattamento per eliminare l'effetto nidiata.

- C: Castrazione convenzionale. Non è stato utilizzato alcun farmaco pre-intervento;
- M: Manipolazione. È stata effettuata la stessa manualità della castrazione con uguali tempistiche, senza tuttavia procedere all'incisione dei tessuti né all'asportazione dei testicoli;
- T: Tolfedine cs. Sono stati somministrati per via intramuscolare con ago da insulina 2 mg/kg di acido tolfenamico (Tolfedine cs) a ciascun soggetto 1 ora prima della castrazione, pari a 0,05 ml/kg;
- F: Fisiologica. Sono stati somministrati per via intramuscolare con ago da insulina 0,05 ml/kg di soluzione fisiologica a ciascun soggetto 1 ora prima della castrazione.

Il contenimento dei suinetti, la castrazione e l'eventuale iniezione pre-intervento sono stati effettuati sempre dallo stesso operatore.

## Rilevazioni

Tutti i suinetti sono stati pesati individualmente prima della castrazione per calcolarne la giusta dose di Tolfedine cs e assicurarsi che tutti fossero di peso compreso tra 1,7 e 2,5 kg.

Per evitare qualsiasi influenza tra le tipologie di dati raccolti, la totalità dei suinetti è stata suddivisa in 2 gruppi di 48 soggetti ciascuno (n = 12 per ciascun trattamento).

Il primo gruppo è stato sottoposto a 4 osservazioni comportamentali dirette postintervento, ciascuna della durata di 15 minuti e con inizio dopo 0h00, 0h16, 1h00, 1h15 dopo la castrazione. Le osservazioni sono state effettuate da 2 operatori preventivamente formati con il metodo scan sampling (scan = 1 minuto), che indicavano in quale dei comportamenti indicati in Tabella 1 fosse impegnato ciascun suinetto.

Comportamento rilevato	Descrizione				
Cammina	Il suinetto si sposta camminando				
Stazione	Il suinetto resta fermo in piedi				
Disteso	Il suinetto si trova in decubito laterale o sternale				
Poppata	Il suinetto si alimenta al capezzolo della madre				
Seduto	Il suinetto resta fermo seduto				
Nido	Il suinetto si trova nel nido				
Isolato	Il suinetto si trova solo e lontano dai fratelli				
Dolorante	Il suinetto ha manifestazioni di dolore: tremori, grattamenti, agitazione della coda.				

**Tabella 1.** Comportamenti rilevati durante le osservazioni e loro descrizione.

Negli stessi soggetti sono stati registrati posture e atteggiamenti antalgici a 0h30 e 1h30: cifosi, arti sotto di sé, mancato o non completo appoggio di un arto e coda flessa tra i posteriori.

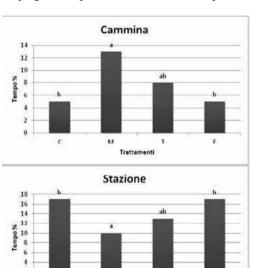
Nel secondo gruppo di prova sono stati invece effettuati 2 prelievi di sangue individuali a 0h30 e 4h00. I campioni sono stati immediatamente refrigerati fino al rapido arrivo al laboratorio, dove sono stati processati per la quantificazione del cortisolo sierico.

## Analisi statistica

I dati sono stati inizialmente analizzati per valutarne la loro distribuzione Gaussiana tramite una PROC UNIVARIATE (SAS 9.2). Il cortisolo è risultato essere l'unica variabile con distribuzione non normale, dunque è stato corretto con una trasformazione logaritmica. I dati sono stati poi processati statisticamente con una PROC MIXED (SAS 9.2) valutando gli effetti dei 4 trattamenti, dei 4 diversi intervalli di osservazione e delle loro interazioni. Le medie sono state comparate utilizzando il test di Bonferroni.

## RISULTATI

I comportamenti che si sono dimostrati essere maggiormente variabili tra un trattamento e l'altro sono stati *cammina* e *stazione*. Per tutti gli altri non si sono invece registrate significatività statistiche. Il gruppo dei manipolati (M) ha manifestato maggiore attività di deambulazione rispetto sia al gruppo dei castrati convenzionali (C) (P < 0.001) che dei suinetti con preventiva somministrazione di soluzione fisiologica (F) (P < 0.01). Il gruppo con Tolfedine (T) ha manifestato invece attività intermedia, risultando l'unico trattamento senza alcuna differenza statistica con i manipolati. Lo stesso risultato si è registrato per il comportamento di stazione: in questo caso il gruppo M ha impiegato una percentuale minore di tempo nel comportamento *stazione* rispetto ai gruppi C (P < 0.001).



M

Т

0

0,001) ed F (P<0,05), senza alcuna differenza statistica invece con il gruppo T (Fig.1).

La differenza significativa della percentuale di tempo impiegato dai suinetti nei comportamenti *cammina* e *stazione* tra il gruppo M ed i gruppi C ed F si è manifestata maggiormente durante il primo intervallo di osservazione (interazione trattamento x intervallo: P < 0.01). Anche in questo caso il gruppo T ha manifestato valori intermedi ma statisticamente paragonabili a quelli dei gruppi C ed F (P > 0.05).

A prescindere dal trattamento, la percentuale del tempo impiegato dai suinetti nei comportamenti *cammina*, *stazione*, *seduto* e *isolato* è stata molto elevata nei primi 15 minuti di osservazione (intervallo 1) per poi calare progressivamente nelle osservazioni successive (P < 0,01). Al contrario, il tempo registrato in *disteso* e *poppata* è aumentato (P < 0,001). Medie percentuali e significatività dei comportamenti sono riportate in Tabella 2.

**Figura 1.** Percentuale media del tempo impiegato dai suinetti nei comportamenti cammina e stazione.

Trattamenti: castrazione (C); manipolazione (M); Tolfedine (T); fisiologica (F).

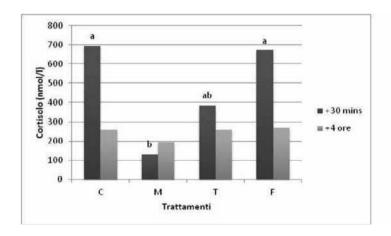
F

a,b Differenti lettere indicano differenze statistiche significative (P < 0.05).

	Trattamento <sup>1</sup>					Intervallo di osservazione <sup>2</sup>				
Comportamento	C (%)	M (%)	T (%)	F (%)	SEM	1(%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	SEM
Cammina	5 <sup>b</sup>	13a	8 <sup>ab</sup>	5 <sup>b</sup>	1,73	16a	4 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	8 <sup>b</sup>	1,62
Stazione	17a	$10^{b}$	13 <sup>ab</sup>	17a	1,76	36ª	6 <sup>b</sup>	9b	5 <sup>b</sup>	1,67
Disteso	65	62	62	70	3,94	$40^{\rm b}$	75a	76ª	68a	3,47
Poppata	9	14	14	7	2,37	4 <sup>b</sup>	13a	10 <sup>ab</sup>	17a	2,30
Seduto	3	2	2	2	0,76	<b>4</b> <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	$2^{ab}$	0,69
Nido	58	50	54	59	6,60	50	61	57	54	4,80
Isolato	6	2	0	4	1,63	6a	4 <sup>ab</sup>	1 <sup>b</sup>	$2^{ab}$	1,34
Dolorante	2	0	0	0	1,06	1	1	0	0	0,81

**Tabella 2.** Percentuale media del tempo impiegato dai suinetti in ciascun comportamento, indicata per trattamento e per ciascun intervallo di osservazione.

I valori di cortisolo sierico valutati dopo 30 minuti dalla castrazione nei gruppi C ed F differiscono da quelli ottenuti dal gruppo M. Gli unici valori che non presentano differenze statisticamente significative dal gruppo M sono quelli del gruppo T, che si presentano intermedi tra gli estremi (Fig. 2). Nessuna differenza di trattamento invece per il cortisolo rilevato dopo 4 ore dalla castrazione, al secondo prelievo di sangue.



**Figura 2.** Valori medi di cortisolo sierico (nmol/l) per ciascun trattamento dopo 00h30 04h00 dalla castrazione.

Trattamenti: castrazione (C); manipolazione (M); Tolfedine (T); fisiologica (F).

e

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Trattamento: castrazione (C); manipolazione (M); Tolfedine (T); fisiologica (F).

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Intervallo di osservazione: 1 = da 0h00 a 0h15 minuti dopo l'intervento di castrazione; 2 = da 0h16 a 0h30 minuti dopo l'intervento di castrazione; 3 = da 1h00 a 1h15 minuti dopo l'intervento di castrazione; 4 = da 1h16 a 1h30 minuti dopo l'intervento di castrazione.

<sup>&</sup>lt;sup>a,b</sup> Differenti lettere indicano differenze statistiche significative (P < 0.05)

a,b Differenti lettere indicano differenze statistiche significative (P < 0.05).

## DISCUSSIONE

La castrazione chirurgica del suinetto è un intervento che provoca modificazioni comportamentali e fisiologiche indicative di dolore acuto (Fredriksen et al., 2011). Anche nel presente lavoro, la castrazione senza l'utilizzo di analgesia (C) ha portato all'alterazione di alcuni parametri rispetto ai valori osservati nel gruppo dei manipolati (M). Per quanto riguarda il comportamento, il gruppo C ha infatti mostrato una minore attività locomotoria evidenziata anche in altri studi (Moya et al. 2008), con concomitante aumento della stazione in immobilità. Diversi autori attribuiscono l'alterazione di queste attività non specifiche, normalmente espresse dai suinetti, come la risposta al dolore provocato dalla castrazione chirurgica (McGlone et al., 1993; Taylor et al., 2001; Hay et al., 2003). È possibile infatti che alcune attività, quali soprattutto la deambulazione, provochino ulteriore dolore al suinetto e che per questo vengano evitate (Moya et al. 2008). Questo adattamento comportamentale è descritto da Mellor et al. (2000) come un processo protettivo che permette agli animali di ridurre la stimolazione dolorifica dei tessuti coinvolti. In accordo con i risultati di altri autori, la castrazione senza trattamenti non ha modificato altri parametri comportamentali e la localizzazione dei suinetti all'interno della gabbia parto (McGlone and Hellman, 1988; Taylor et al., 2001; Hay et al., 2003). Considerando la media delle percentuali osservate, la maggior parte dei comportamenti ha mostrato alterazioni nei primi 15 minuti dopo la castrazione, sebbene Hay et al. (2003) riportino un prolungamento di tale alterazione per i suinetti castrati oltre le 2 ore e 30 minuti per la stazione e l'isolamento, e fino a 2 giorni per altri comportamenti di risposta al dolore come il grattamento della groppa e l'agitazione della coda. Il risultato suggerisce una contenuta risposta comportamentale in termini di tempo allo stress della castrazione.

Nel presente lavoro, il gruppo C ha innalzato anche i livelli di cortisolo sierico misurati dopo 30 minuti dalla castrazione rispetto ai valori registrati nel gruppo dei suinetti manipolati, differenza non più osservabile nel prelievo dopo 4 ore. Questo risultato è in accordo con quanto riportato da Sutherland et al. (2012) che registrano l'aumento del cortisolo solo nelle prime 2 ore post-castrazione, ed è confermato anche dai dati di Prunier et al. (2005), Carroll et al. (2006), and Marchant-Forde et al. (2009).

I dati raccolti per il gruppo C si sono mostrati del tutto sovrapponibili a quelli del gruppo trattato con soluzione fisiologica prima della castrazione (F), sia per quanto riguarda i parametri comportamentali che quelli fisiologici, suggerendo che l'aggiuntiva manualità dell'iniezione con ago da insulina non rappresenta di per sé fonte di ulteriore stress o dolore per il suinetto castrato. I suinetti, se preventivamente trattati con acido tolfenamico (T), hanno mostrato alterazioni del comportamento e del cortisolo sierico meno marcate, con percentuali intermedie rispetto al gruppo C ed al gruppo M. Tuttavia, sia per quanto riguarda deambulazione e stazione che cortisolo, tale alterazione non è stata tale da mostrare differenze significative tra il gruppo T ed il gruppo dei manipolati (M), suggerendo una blanda percezione del dolore nei suinetti trattati. Un risultato simile è riportato anche da Wavreille et al. (2012) che ha osservato tra suinetti trattati con acido tolfenamico e suinetti solo manipolati scarse differenze nel comportamento in risposta allo stimolo dolorifico della castrazione, mostrando simile percentuale di tempo passata isolati dal gruppo e simile agitazione della coda.

Concludendo, i risultati ottenuti confermano che la castrazione provoca alterazioni comportamentali e fisiologiche che suggeriscono una condizione di dolore legata all'intervento. L'utilizzo di acido tolfenamico per l'analgesia durante la castrazione dei suinetti sembra ridurre il dolore e lo stress che l'intervento provoca, limitando le manifestazioni algiche degli animali nel post-intervento associate al tentativo di minimizzare la sofferenza. La preventiva somministrazione di acido tolfenamico sembra dunque essere auspicabile per il miglioramento del benessere dei suinetti durante e dopo la castrazione.

## BIBLIOGRAFIA

Carroll, J. A., E.L. Berg, T. A. Strauch, M. P. Roberts, and H. G. Kattesh. 2006. Hormonal profiles, behavioral responses, and short-term growth performance after castration of pigs at three, six, nine, or twelve days of age. J. Anim. Sci 84:1271–1278.

De Roest, K., Montanari, C., Fowler, T., Baltussen, W., 2009. Resource efficiency and economic implications of alternatives to surgical castration without anaesthesia. Animal 3, 1522–1531.

Fredriksen, B., Furnols, M.F.I., Lundstrom, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuyttens, F.A.M., Bonneau, M., 2009. Practice on castration of piglets in Europe. Animal 3, 1480–1487.

Fredriksen B., Johnsen A.M.S., Skuterud E. 2011. Consumer attitudes towards castration of piglets and alternatives to surgical castration. Research in Veterinary Science 90:352–357.

Hansson M., Lundeheim N., Nyman G. and Johansson G. 2011. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. Acta Veterinaria Scandinavica, 53:34. Haya 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 82:201–218.

McGlone, J. J., and J. M. Hellman. 1988. Local and general anesthetic effects on behavior and performance of two- and seven-week old castrated and uncastrated piglets. J. Anim. Sci. 66:3049–3058.

Moya, S. L., L. A. Boyle, P. B. Lynch, and S. Arkins. 2008. Effect of surgical castration on the behavioral and acute phase responses of 5-day-old piglets. Appl. Anim. Behav. Sci. 111:133–145. Prunier, A., A. M. Mounier, and M. Hay. 2005. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. J. Anim. Sci. 83:216–222.

Taylor, A. A., D. M. Weary, M. Lessard, and L. Braithwaite. 2001. Behavioral responses of piglets to castration: The effect of piglet age. Appl. Anim. Behav. Sci. 73:35–43.

Tuyttens F.A.M., Vanhonacker F., Verhille B., De Brabander D., Verbeke W. 2012. Pig producer attitude towards surgical castration of piglets without anaesthesia versus alternative strategies. Research in Veterinary Science 92: 524–530.

White RG, DeShazer JA, Tressler CJ, Borcher GM, Davey S, Waninge A, Parkhurst AM, Milanuk MJ, Clemens ET. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. Journal of Animal Science 1995, 73:381-386.

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, : 201-218.

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 behavioural changes. J. Anim. Sci. 71, 1441–1446.

Mellor, D.J., Cook, C.J., Stafford, K.J., 2000. Quantifying some responses to pain as a stressor. In: Moberg, G.P., Mench, J.A. (Eds.), The Biology of Animal Stress. CAB International, Amsterdam, pp. 171–198.

Sutherland M. A., Davis B. L., Brooks T. A. and Coetzee J. F. 2012. The physiological and behavioral response of pigs castrated with and without anesthesia or analgesia. J ANIM SCI 2012, 90:2211-2221.

Marchant-Forde, J. N., D. C. Lay, Jr., K. A. McMunn, H. W. Cheng, E. A. Pajor, and R. M. Marchant-Forde. 2009. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: The effects of alternative techniques delivered separately. J. Anim. Sci. 87:1479–1492.

Wavreille J., Danard M., Servais V., Art T., Nicks B., Laitat M. 2012. Analgésie preemptive du porcelet avant la castration: comparaison de l'effet de l'acide tolfénamique et du mélowicam sur la douleur et le stress. Journéès Recherche Porcine, 44; 275-276.