



Sveriges
lantbruksuniversitet

Smärtlindring hos killingar efter avhorning



Madeleine Högberg

Handledare: Kerstin Olsson
Inst. för anatomi, fysiologi & biokemi

Biträdande handledare: Carina Ingvast Larsson
Avd. för farmakologi och toxikologi

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap
Agronomprogrammet

Enskilt arbete
ISBN: 978-91-85911-44-8
Uppsala 2008

Innehåll

Abstract	3
1. Inledning	4
1.1 Avhorning	4
1.2. Icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel	4
1.3. Parametrar analyserade i blod	5
1.4. Smärta och beteende	5
2. Material och metoder	6
2.1. Djur och miljö	6
2.2. Gruppindelning av killingar	6
2.3. Avhorning	7
2.4. Blodprov	8
2.5. Analyser av blodprover	8
2.6. Beteende	8
2.7. Statistik	11
3. Resultat	11
3.1. Variabler analyserade i blod	11
3.1.1. Meloxicam i blodplasma	11
3.1.2. Kortisol	11
3.1.3. Progesteron	12
3.1.4. Glukos	13
3.1.5. Hämatokrit	14
3.2. Beteende	14
Diskussion	20
Slutsats	22
Tillkännagivande	22
Referenser	23

Abstract

The main purpose of this study was to investigate the effects of the non steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) meloxicam in connection with dehorning of goat kids. Six 2-3,5 weeks old dehorned kids were given daily intramuscular injections of meloxicam (0,5 mg/kg; MG) and five age-matched dehorned kids were given isotonic NaCl (NG) for 3 days. The study was randomized and double blinded. The behavior of the kids was studied one day before dehorning, on the dehorning day and three days after. Blood samples were collected each day before the treatment and analyzed for plasma concentrations of meloxicam, hematocrit, cortisol, progesterone and glucose. We also treated four other kids, born without horns, with meloxicam to analyze the concentration of the drug during six hours following the injection. Blood samples were collected every second hour and analyzed as above. In MG kids the plasma concentration of meloxicam increased each day. Signs of pain diminished gradually after the day of dehorning in both MG and NG kids. Only few differences in behavior were observed between MG kids and NG kids. Hematocrit, cortisol, progesterone and glucose did not differ between the two groups, which support the results of the behavioral studies. The behavior of two kids differed from the others. One male kid in the meloxicam group showed more indications of pain compared to the other MG kids, whereas one female kid became hyperactive and showed no signs of pain although she had received NaCl. In conclusion, daily injections of meloxicam, at the dose recommended for cattle, resulted in increasing plasma concentrations of the drug. The kids showed signs of pain after dehorning which gradually declined in both groups. The dehorned kids given meloxicam slept more 2 days after dehorning, but there was no other difference in behavior or in physiology between the groups.

1. Inledning

Det är viktigt att belysa djurs välfärd och att på bästa sätt förebygga och helst förhindra onödigt lidande. Detta innebär att våra tamdjur bör kunna erbjudas god smärtlindring vid behov. I Sverige finns idag inga godkända smärtstillande preparat till små idisslare (getter och får). En substans som används som smärtlindring till nötkreatur är meloxicam som är en anti-inflammatorisk substans (s.k. NSAID -*Non Steroid Anti Inflammatory Drug*). Preliminära resultat på vuxna getter visar att de tolererar preparatet väl (personligt meddelande K. Olsson, 2007), men om det lindrar smärta hos killingar i samband med avhorning har inte rapporterats.

Idag avhornas killingar och kalvar i de flesta besättningar för att lättare kunna hanteras som vuxna (Grøndahl-Nielsen et al., 1999), för att minska risken för stångningsskador samt av utrymmesskäl, då hornlösa djur behöver mindre plats (Falkner & Weary, 2000). En vanlig metod som ofta används är avhorning med elektriskt brännjärn. Flera studier har visat att avhorning utan lokalbedövning eller narkos innebär smärta vid ingreppet (Graf & Senn, 1999; Grøndahl-Nielsen et al., 1999) och enligt svensk lag (SFS 2002) ska avhorning utföras under lokalbedövning eller under annan fullgod anestesi. Effekten av lokalbedövningen upphör 2-3 timmar efter ingreppet (McMeekan et al., 1998b) vilket medför risk för postoperativ smärta (Graf & Senn, 1999; Grøndahl-Nielsen et al., 1999, McMeekan et al., 1999; Faulkner & Weary, 2000; Sylvester et al., 2004). Studier på kalvar har visat att den postoperativa smärtan kan lindras med ett NSAID- preparat timmarna efter ingreppet eftersom den skadade vävnaden är inflammerad (McMeekan et al., 1998b). Sålunda har meloxicam visats minska postoperativ smärta hos kalv i samband med avhorning (Cambrand 2004; Hillström, 2005). För en god smärtlindring vid avhorning rekommenderas en kombination av medel: sedativ behandling (lugnande preparat), lokalbedövning och ett NSAID – preparat. Denna kombination uppges minska smärta vid själva ingreppet samt tiden efteråt (Stafford & Mellor, 2005).

Syftet med studien var att se om meloxicam har smärtlindrande effekter efter avhorning. Tecken på smärta studerades genom att registrera beteende, mäta hormonhalter samt hämatokrit. Noll-hypotesen var att det inte är några skillnader i beteende, hormonnivåer eller hämatokrit mellan killingar som fått meloxicam och de som fått fysiologisk koksalt.

1.1. Avhorning

På nötkreatur bör avhorning ske när djuret är mellan 2-8 veckor då hornkroppen fortfarande sitter löst i huden (Agfact, 1998). Killingars horn växer snabbare och de avhornas inom några veckor efter födseln (Buttle et al., 1991). Avhorning på djur yngre än en vecka bör undvikas då pannbihålorna (Sinus frontalis) ännu inte är helt utvecklade så hjärnan ligger alltför nära huden och kan skadas från värmen av brännjärnet (Habel, 1984). Vid stigande ålder växer hornkroppen fast vid skallbenet då även utskott från skallbenet växer in i hornkroppens centrum som hos yngre djur är ihåligt.

1.2. Icke-steroida anti-inflammatoriska läkemedel (NSAID-preparat)

Läkemedel inom NSAID-gruppen har en smärtstillande, febernedsättande och antiinflammatorisk effekt. Preparaten verkar framförallt genom att hämma syntesen av prostaglandiner och tromboxaner. Prostaglandiner deltar vid uppkomsten av inflammatoriska

reaktioner genom att vidga blodkärlen så att rodnad, svullnad och värmeökning uppstår samtidigt som smärtimpulserna från vävnaden förstärks. Den lokala bildningen av prostaglandin sker med hjälp av enzymet cyklooxygenas (COX) som bildas i minst två former. Den ena formen (COX-1) finns permanent i de flesta vävnader och den andra formen (COX-2) bildas vid inflammatoriska reaktioner. Meloxicam är en substans som tillhör NSAID-gruppen och fungerar som en hämmare av COX-1 och COX-2 varigenom den inflammatoriska reaktionen och smärtan motverkas. Mediciner inom denna grupp har blivit viktiga preparat mot smärta.

1.3. Parametrar analyserade i blod

1.3.1. Kortisol och glukos

Smärta ökar stressnivån hos djuret. Vid en stressituation stimuleras hypothalamus som ökar produktionen av "corticotropin releasing hormone" (CRH) som stimulerar frisättning av ACTH från hypofysens framlob. ACTH transporteras till binjurebarken där det binder till specifika membranreceptorer och kortisol frisätts. Ökade halter kortisol i plasma kan användas som ett fysiologiskt mått på stress eller smärta. Kortisol har många olika funktioner såsom att öka mängden glukos till blodbanorna för att hjärnan och kroppen ska få snabb energitillförsel då det är viktigt för snabbt agerande. Kortisol har även en viss anti-inflammatorisk effekt och minskar tillströmningen av vita blodkroppar till inflammationshärden. Kortisol ökar i plasma efter avhorning (Morisse et al., 1995), vilket ansetts som ett tecken på smärtinducerad stress (McMeekan et al., 1998b). Hos kalvar som fått NSAID-preparat sågs en minskad kortisolhalt (Sutherland et al., 2002; McMeekan et al., 1998b).

1.3.2. Progesteron

Progesteron är ett steroidhormon som framför allt insöndras från äggstockar och placenta, men som också kan frisättas från binjurebarken vid höga stresspåslag (Hydbring-Sandberg et al., 2004).

1.3.3. Hämatokrit

Hämatokrit är ett mått på mängden röda blodkroppar i förhållande till plasma i blodet och anges i procent. Hos vuxna getter ligger hämatokritvärdet normalt mellan 24-38%. Vid fysisk aktivitet, tillfälliga påfrestningar, snabba miljöförändringar eller vid smärtrelaterade tillstånd kan hämatokritvärdet öka. I samband med exempelvis blodprovstagnning och behandling är det inte ovanligt att djuret upplever situationen som stressande vilket resulterar i att det sympatiska nervsystemet aktiveras. Mjälten lagrar röda blodkroppar som frisätts av det sympatiska nervsystemet (Sjaastad et al., 2003). Den akuta stressen medför att mängden röda blodkroppar i blodet ökar för att ge kroppens skelettmuskulatur snabb och riklig syretillförsel.

1.4. Smärta och beteende

Smärta kan beskrivas som en medveten upplevelse som skapar ett känslomässigt och fysiskt obehag associerat med vävnadsskada (Molony & Kent, 1997). Individer reagerar olika vid samma typ av smärtrening, vilket bl.a. kan bero på individens hälsotillstånd, tidigare erfarenheter eller djurets personlighet. Väldefinierade protokoll möjliggör en bedömning av förändringar i djurens beteende. Ett beteendemönster som avviker från det normala eller nya

beteenden, som inte är karakteristiska för djuret, kan uppstå i samband med smärta. Beteendeförändringarna kan ha funktionell betydelse för att minska smärtan och kan bero på att djuret anpassat sig efter situationen. Smärta kan uttryckas på olika sätt som exempelvis överdriven aktivitet eller passivitet (Saywer, 1998). Seksel (2007) påstår att getter som upplever smärta vokaliserar (bräker), gnisslar tänder, blir nedstämda, idisslar mindre samt ökar andningsfrekvensen. Tidigare studier har visat att kalvar som avhornats ökar antalet huvudskakningar och svansviftningar (Morisse et al., 1995; Graf & Senn, 1999; Grøndahl-Nielsen et al., 1999; McMeekan et al., 1999; Faulkner & Weary, 2000). Kalvar undviker att stängas efter avhorning (Graaf & Senn, 1999) och Morisse et al. (1995) påstår att kalvarna även visat färre sociala beteenden efter avhorning. Smärta kan orsaka passivitet hos nötkreatur med nedstämdhet och ointresse för omgivningen (Sanford et al., 1986). Det finns dock studier som visar att kvigor som svansamputerats ökade sin foderkonsumtion jämfört med en kontrollgrupp (Eicher et al., 2000).

2. Material och metoder

2.1. Djur och miljö

Studien utfördes på 15 killingar av Svensk lantras (*Capra hircus*). Killingarna gick tillsammans med sina mammor och andra vuxna getter i lösdrift med spån och halm som underlag. Stallets utformning var väl anpassat till djurslagets naturliga miljö där bord och flera ramper gav killingarna möjlighet att klättra, hoppa och befinna sig på en högre höjd ovan marken. Det fanns också lådor som killingarna kunde ligga i. Getterna utfodrades dagligen med hö och halm klockan 7:00 och 15:00, i övrigt fanns fri tillgång på saltsten och vatten. Försöket var godkänt av Djurförsöksetiska nämnden i Uppsala.

2.2. Gruppindelning av killingar och behandling

Undersökningen bestod av två delstudier.

Delstudie 1. I den första delstudien avhornades 11 killingar varefter 6 killingar injicerades med meloxicam intramuskulärt (0,5 mg/kg kroppsvikt), vilket är den dos som rekommenderas till nötkreatur (Meloxicam® för nötkreatur, svin och häst, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Köpenhamn, Danmark). De andra 5 killingarna gavs isoton NaCl intramuskulärt i en mängd motsvarande meloxicamets dosering. Behandlingarna upprepades varje morgon i tre dagar. Avhorningen genomfördes i tre omgångar baserat på killingarnas ålder där grupp I och II bestod av fyra killingar vardera och grupp III av tre killingar (Tabell 1). Killingarna studerades en dag före operation, under operationsdagen och tre dagar därefter. Endast försöksledaren visste vilken behandling respektive killning fick (en killning i varje tvillingpar lottades till meloxicambehandling). Koden avslöjades först när resultaten från beteendestudierna var klara.

Tabell 1. Information om de 11 killingar som avhornades. Killingar med samma ålder i respektive grupp är syskon. Ålder och vikt är noterade på avhorningsdagen.

Grupp	Djur	Kön	Ålder (dagar)	Vikt (Kg)	Smärtlindring	Lokalbedövning
I	Kristall	Get	24	6,1	Meloxicam	-
I	Bandit	Bock	24	6,7	NaCl	-
I	Jet	Get	17	4,7	NaCl	Ja
I	Svarte P	Bock	17	6,6	Meloxicam	-
II	Ametist	Get	15	4,5	Meloxicam	-
II	Skurk	Bock	15	5,5	NaCl	-
II	Pirat	Bock	20	6,5	NaCl	-
II	Tjuv	Bock	20	6,0	Meloxicam	Ja
III	Citrin	Get	14	4,0	Meloxicam	-
III	Rövare	Bock	14	5,1	Meloxicam	-
III	Topas	Get	19	5,5	NaCl	-

Delstudie 2. I den andra delstudien injicerades samma dos meloxicam intramuskulärt till fyra killingar som fötts kulliga (=utan hornanlag, tabell 2). Preparatet injicerades till alla fyra killingarna samma morgon och blodprov togs därefter varannan timme i sex timmar.

Tabell 2. Två syskonpar kulliga killingar behandlades med meloxicam. Ålder och vikt är noterade på behandlingsdagen.

Djur	Kön	Ålder (dagar)	Vikt (kg)
Snut	Bock	23	7,1
Safir	Get	23	5,8
Opal	Get	28	6,3
Bov	Bock	28	7,8

2. 3. Avhorning

Alla killingar i respektive grupp opererades mellan kl. 10:00 och kl. 11:00. Killingarna togs in i operationsalen en i taget. De fick först det lugnande, smärtstillande och muskelavslappande ämnet xylazine (Narcoxyl®vet. Danderyd, Sverige; 0,22 mg/kg) intramuskulärt och fick sedan vara i stillhet i ett mörkt rum tills de somnat. Därefter injicerades det snabbverkande anestesimedlet ketamin (Ketaminol® vet, Intervet AB; 8,8 mg/kg) intramuskulärt. En getkilling i första gruppen samt en bockkilling i andra gruppen behandlades annorlunda än de övriga. De fick dessutom lokalbedövning (Xylocain® adrenalin, AstraZeneca, Södertälje, Sweden) runt hornnerverna.

När killingen sov klipptes håret runt hornbaserna bort och hornspetsarna skars av med rakblad. Brännjärnet placerades över hornanlaget vinkelrätt mot killingens huvud under ca 10 sekunder på bockkillingar och 6-7 sekunder på getkillingar. Grupp III avhornades med ca 5 sekunder längre bränntid än de två första grupperna. Samtliga killingar i sista gruppen brändes mer noggrant runt kanterna samt djupare in mot anlaget. Direkt efter avhorningen fick killingarna antingen meloxicam eller isoton NaCl.

2.4. Blodprov

Blodprov (ca 4 ml) togs med spruta och kanyl i ena halsvenen. Killingarna hölls i famnen av en medarbetare medan en försökstekniker tog blodproverna.

I delstudie 1 togs prov 0 dagen innan operationerna, inget prov togs dag 1 (avhorningsdagen) och prov 2, 3 och 4 togs följande dagar omedelbart innan meloxicam eller NaCl injicerades.

I delstudie 2 togs blodprov 0 innan meloxicam injicerades till de kulliga killingarna och därefter togs prov 1, 2 och 3 med 2 timmars mellanrum samma dag.

Samtliga blodprover samlades i kylda kalium- EDTA rör och först bestämdes hämatokritvärdet. Därefter centrifugerades proverna i 1500 x g, 20 minuter, 4°C i en kylcentrifug (Hettich Universal 30 RF, Labinstrument AB). Plasman fördelades i tre kylda polypropylenrör och förvarades i -20°C tills samtliga rör var centrifugerade. Slutligen förvarades plasman i -80°C.

2.5. Analyser av blodprov

Analys av meloxicam i plasma utfördes genom extraktion med organiskt lösningsmedel efter surgörning och tillsats av en deuterad internstandard, ²H₃-meloxicam. Efter centrifugering och indunstning av den organiska fasen upplöstes återstoden i metanol/vatten (1:1) och del av denna lösning injicerades på ett vätskekromatografiskt system kopplat till tandem-masspektrometri.

Kortisol och progesteron i plasma bestämdes med "radioimmunoassays" (Coat-a-Count, DPC (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). Lägsta detekterbara värde för kortisol var 3,16 nmol/l och för progesteron 0,03 nmol/l. "The intra-assay coefficient of variance" för kortisol var < 10 % mellan 11,98-1380 nmol/l. "The intra-assay coefficient of variance" för progesteron var < 10 % mellan 0,25-127,20 nmol/l. "Inter-assay coefficient of variance" för kortisol var: låg 7,4 % (28,07 nmol/l), mellan 4,6 % (271,67 nmol/l), hög 0,9 % (404,12 nmol/l). "Inter-assay coefficient of variance" för progesteron var: låg 3,7 % (2,51 nmol/l), mellan 3,9 % (16,79 nmol/l), hög 3,7 % (104,57 nmol/l). Metoderna var validerade för getplasma.

Koncentrationen av glukos i plasma bestämdes med en enzymatisk kolorimetrisk metod utan proteinfällning (Glukos liquicolor GOD-PAP metod, Human GmbH, Wiesbaden Germany).

Hämatokrit analyserades genom att blodet samlades upp i kapillärrör (ARIS micro haematocrit tubes) och centrifugerades därefter i 2 minuter i en hämatokritcentrifug (ALC[®] Haematocrit centrifuge 4208, Italy). Nivåerna avlästes slutligen med hjälp av en hämatokritläsare (ALC[®] 1498, Haematocrit tube reader).

2.6. Beteende

Endast beteendet hos killingar som avhornades studerades (delstudie 1).

Observationerna genomfördes med etogram, där intervallstudier på 20 sekunder samt frekventa beteenden över tid observerades. Två observatörer studerade ett tvillingpar i taget och bytte tvillingpar slumpvis. Samtliga killingar studerades under tre dagar efter operationen (dag 2, 3 och 4). Deras beteende protokollfördes mellan klockan 7:00-9:00, 11:00-13:00 och

15:00-17:00. De studerades i genomsnitt i 40 ± 5 minuter per killing och pass. Därutöver studerades killingarna från grupp II och III vid samma tider under en dag före operationen (resultaten från grupp I redovisas ej eftersom observatörerna då ännu inte hade likvärdiga bedömningar). Dessutom gjordes allmänna observationer av killingarna medan de vaknade upp efter operationen.

Intervallbetenden var 20: e sekund/5min.

<u>Beteende</u>	<u>Beskrivning</u>
Går stadigt	- förflyttning framåt med stabila rörelser
Går oroligt	- vacklande gång med långsamma rörelser
Ligger aktivt	- ligger ner med öppna ögon och har aktivt intresse för omgivningen eller är själv aktiv, exempelvis tuggar på halmstrå
Ligger vilande	- ligger ner avslappnad med halvstängda ögon
Ligger sovande	- ligger ner med stängda ögon och har tung andning
Ligger med Huvudsväng	- ligger ner med oroliga huvudrörelser där huvudet förflyttas fram och tillbaka
Leker med killing	- springer, hoppar, klättrar eller stångas tillsammans med annan killing
Leker med vuxen get	- springer, hoppar, klättrar eller stångas tillsammans med vuxen get
Leker ensam	- springer, hoppar, klättrar eller stångas ensam
Delvis i låda	- befinner sig med halva kroppen inuti en låda
Helt i låda	- har hela kroppen inuti en låda
På låda, bord eller ramp	- står, går eller ligger på låda, bord eller ramp
Nära mamma	- befinner sig en meter eller mindre i närheten av mamma
Nära syskon	- befinner sig en meter eller mindre i närheten av syskon
Nära annan	- befinner sig en meter eller mindre i närheten av annat djur
Öron bakåt	- öron vinklade bakåt
Hängande huvud	- har huvud hängande och inte upprätt
Stängda ögon	- har stängda ögonlock där pupillerna inte syns

- Äter - har munnen i hö eller halm för en längre tidsperiod utan avbrott med tuggande rörelser
- Dricker - har munnen i vattenhink, suger i sig vatten och sväljer
- Idisslar - stöter upp våminnehåll som tuggas om igen

Frekventa beteenden (antal/min)

<u>Beteende</u>	<u>Beskrivning</u>
Bräker	- läte eller ljud som signaleras till andra flockmedlemmar
Huvudskakning	- snabba huvudrörelser från ena sidan till den andra
Klia, krafsa på	- krafsar med ben eller skrapar med tänder på olika delar av kroppen, eller rör hela kroppen fram och tillbaka mot inredning
Höplock	- plockar hö eller halmstrå osammanhängande för en kort tidsperiod
Tail-flick	- snabba rörelser med svansen
Dia	- dricker mjölk från mammas juver
Stånga	- slår eller trycker huvudet mot annat djur eller inredning
Klättra	- står på bakbenen med frambenen lutande mot annat djur eller inredning
Nafsa	- biter eller suger på inredning eller annat djur med snabba rörelser på munnen
Övrigt	- tuggar på spån, urinerar, slickar på saltsten eller annat

2. 6.1. Smärtskala

Smärtintensiteten värderades på en skala mellan 1-10 där 1 definierades som liten smärta och 10 som mycket hög smärta. Direktobservationer av beteenden som isolering från flocken, undvikande av lek, undvikande av stångning, långsamma stela rörelser, ökad frekvens huvudskakningar, frenetiskt tuggande på hö eller halmstrå, pendling mellan beteende som att stå upp och ligga ner i korta intervaller, att ha halvstängda ögon vid aktivitet samt andra avvikande beteenden som att gnissla tänder, skrika högt och att gunga med huvudet värderades som tecken på smärta. Samtliga observationer utgjorde underlag för den subjektiva bedömningen av smärta.

2.7 . Statistik

Värden presenteras som medelvärde \pm standardavvikelse (SD) och har bearbetats i Microsoft Excel 2003 och 2007. Data analyserades med SAS- programmets "mixed procedure" (SAS Institute 2005). Programmet tar hänsyn till att flera prover tagits i följd från samma djur. Signifikansvärdet sattes till $p < 0.05$.

3. Resultat

3.1. Parametrar analyserade i blod

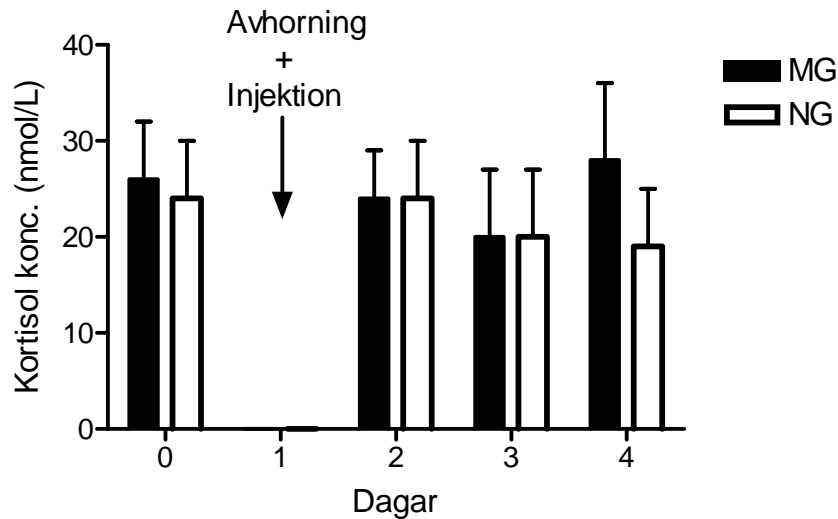
3.1.1 Meloxicam i blodplasma

Delstudie 1. Innan meloxicam injicerades var halterna $<0,50$ ng/ml hos samtliga killingar. Morgonen efter första injektionen (dag 2) var meloxicamhalten 803 ± 147 ng/ml. Nästa dag (dag 3) hade koncentrationen ökat till 1134 ± 249 ng/ml och sista dagen (dag 4) sågs en ytterligare ökning till 1343 ± 291 ng/ml. Den relativt stora standardavvikelsen beror delvis på att en av bockkillingarna (Rövare) hade låga halter meloxicam i blodet i jämförelse med övriga killingar. Hans värden låg på 516, 706 samt 801 ng/ml dag 2, 3 och 4.

Delstudie 2. Endast en dos meloxicam gavs till de kulliga killingarna. Två timmar efter injektionen hade dessa killingar ett värde på 1504 ± 128 ng/ml (prov 1) meloxicam i blodet. Efter fyra timmar var koncentrationen 1342 ± 66 ng/ml (prov 2) och efter sex timmar hade koncentrationen minskat till 1230 ± 70 ng/ml (prov 3).

3.1.2. Kortisol

Delstudie 1. Kortisolkoncentrationen i blodplasma från meloxicamgruppen(MG) skilde sig inte från NaCl-gruppen(NG), men variationen var stor inom båda grupper (figur 1). Den bockkilling som visade låga halter meloxicam i blodet (Rövare) hade hög kortisolhalt samtliga dagar efter avhorningen (48,0, 50,0 och 61,2 nmol/l) dag 2, 3 och 4.

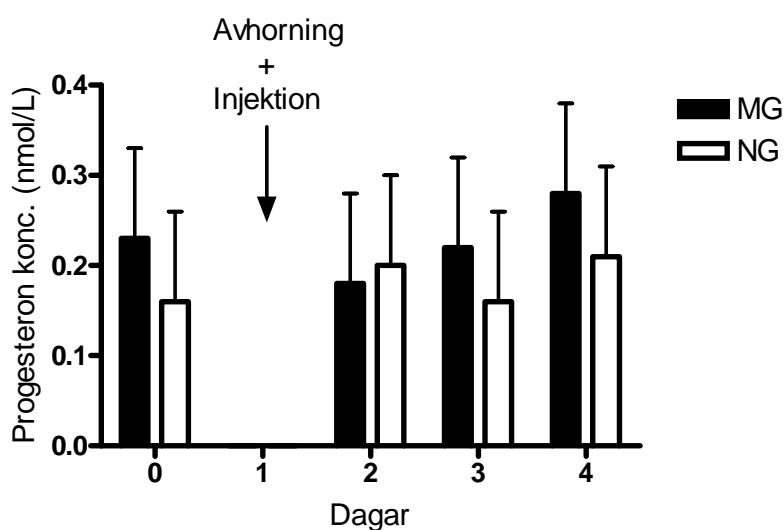


Figur 1. Kortisol i blodplasma hos avhornade killingar som injicerats med meloxicam (MG; $n=6$) och hos killingar som fått isoton NaCl (NG; $n=5$). Blodprov togs innan avhorning (dag 0), en dag efter avhorning (dag 2), två dagar efter avhorning (dag 3) och tre dagar efter avhorning (dag 4). Dag 1 (pilen) avhornades killingarna under narkos och medan de fortfarande sov fick de en intramuskulär injektion av meloxicam (0,5 mg/kg) eller isoton NaCl. Dag 2, 3 och 4 gavs injektionerna omedelbart efter blodprovstagningen. Värden är medeltal \pm standardavvikelse.

Delstudie 2. Innan meloxicambehandlingen (prov 0) visade de kulliga killingarna ett kortisolvärde på 34 ± 18 nmol/l. Kortisolhalten var 24 ± 8 nmol/l i prov 1, 44 ± 24 nmol/l i prov 2, och 36 ± 18 nmol/l i prov 3. En kullig getkilling (Opal) visade lägre kortisolvärden (18, 17, 12 och 16 nmol/l) i prov 0, 1, 2 och 3 jämfört med de andra 3 killingarna (38 ± 18 , 28 ± 8 , 54 ± 14 och 47 ± 2 nmol/l).

3.1.3. Progesteron

Delstudie 1. Progesteronkoncentrationen i blodplasma skilde sig inte signifikant mellan MG och NG grupperna (figur 2).

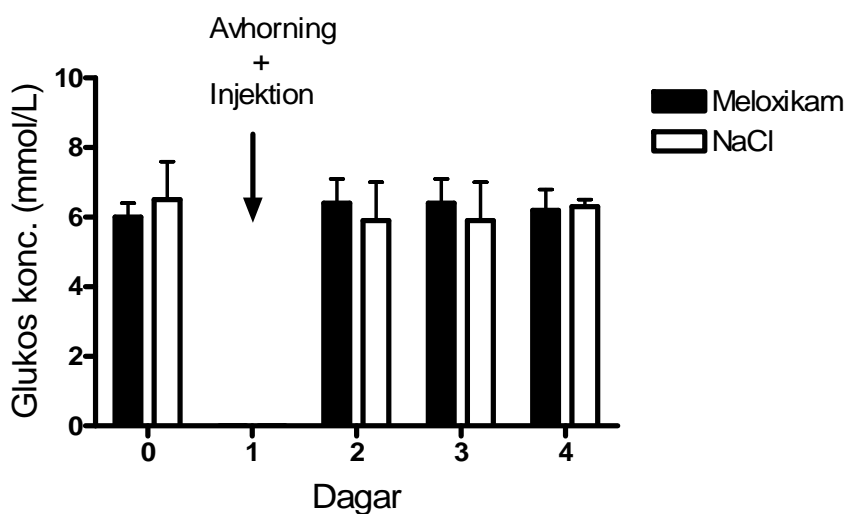


Figur 2. Progesteron i blodplasma hos avhornade killingar som behandlats med meloxicam (MG; n=6) och hos killingar som fått NaCl (NG; n=5). För vidare förklaring, se texten till figur 1

Delstudie 2. Kulliga killingar visade högre halt progesteron i blodplasma än avhornade killingar ($p < 0.01$). Innan meloxicambehandlingen (prov 0) var progesteronhalten $0,54 \pm 0,20$ nmol/l. I prov 1 var koncentrationen $0,60 \pm 0,30$ nmol/l. Prov 2 och 3 visade värdena $0,57 \pm 0,40$ och $0,49 \pm 0,40$ nmol/l. En kullig bockkilling (Snut) visade högre progesteronvärden än övriga killingar. Värdet var högst dag 3 ($1,19$ nmol/l) då även kortisolhalten hos samma killing visade det högsta kortisolvärdet som var $63,7$ nmol/l.

3.1.4. Glukos

Delstudie 1. Glukoshalten i blodplasma skiljde sig inte signifikant mellan MG och NG killingar (figur 3).

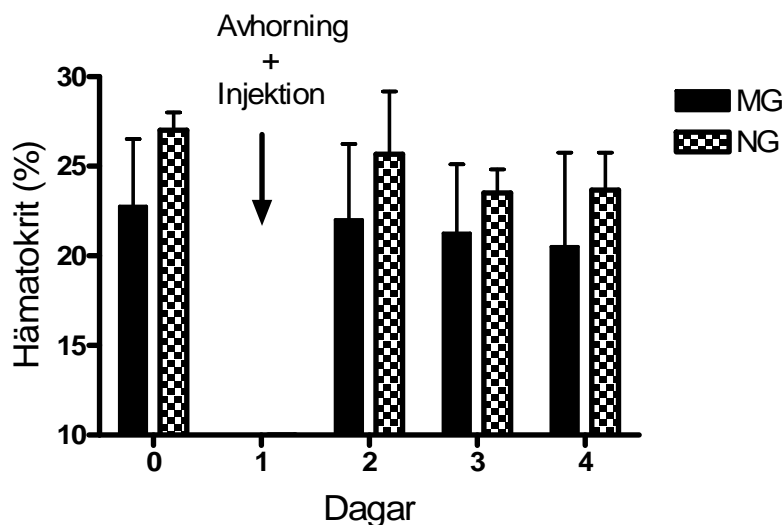


Figur 3. Glukos i blodplasma hos avhornade killingar som behandlats med meloxicam (MG; n=6) och hos killingar som fått NaCl (NG; n=5). För vidare förklaring till bilden, se text till figur 1.

Delstudie 2. De kulliga killingarnas glukosvärden var $4,9 \pm 0,7$ mmol/l innan behandling med meloxicam. Två timmar efter injektionen var glukosvärdet $5,6 \pm 0,6$ mmol/l. Efter 4 och 6 timmar var värdena $5,2 \pm 0,1$ respektive $5,4 \pm 0,4$ mmol/l.

3.1.5. Hämatokrit

Delstudie 1. Hämatokritvärdet hos killingarna sjönk vid upprepade provtagningar (figur 4). Medelvärdet för hämatokriten var lägre hos MG killingarna redan före behandlingen (n=4), vilket delvis berodde på att en av killingarna (samma killing som hade låga meloxicamvärdena och höga kortisolnivåer) hade värdena 19, 17, 17 och 16 %. MG killingar hade lägre hämatokritvärde dag 4 ($P < 0,05$) än dag 1 och NG hade lägre värden dag 3 och 4 ($P < 0,01$) än dag 1.



Figur 4. Hämatokritförändringar hos 4 killingar som fått meloxicam (MG) och 3 killingar som fått NaCl(NG). För vidare förklaring, se text till figur 1.

Delstudie 2. Kulliga killingar visade ett hämatokritvärde vid första blodprovstillfället på 28 ± 2 % som minskade vid prov 1 till 25 ± 2 % ($P < 0,01$). I blodprov 2 var hämatokritvärdet 27 ± 2 % och i prov 3 hade värdet minskat till 26 ± 2 % jämfört med prov 1 ($P < 0,05$). Samtliga prov var hos kulliga killingar högre ($P < 0,05$) än hos de avhornade killingarna som fått meloxicam.

3.2. Beteende

Beteendet studerades endast på killingar som avhornades (delstudie 1).

Killingarna studerades individuellt och i slumpmässig ordning vilket resulterade i att tid per killing varierade mellan dagar. Att leka med killing, att leka med annan get och att leka ensam har sammanslagits och redovisas som leker totalt. De parametrar som utförts fåtaliga gånger som oroligt gående, stå på knä, ha huvud hängande, svänga med huvudet, dricka samt att idissla redovisas inte.

Observationer som gjordes mellan 7:00-9:00, 11:00-13:00 och 15:00-17:00) har slagits ihop. Killingarna var mest aktiva mellan klockan 07:00-09:00 i samband med utfodring och städning i stallet. Mellan klockan 11:00-13:00 var det minst aktivitet då killingarna vilade eller sov i stor utsträckning. Mellan klockan 15:00-17:00 utfodrades getterna och killingarnas aktivitet ökade igen. De plockade med hö, lekte och stångades.

3.2.1. Avhorningsdag (dag 1)

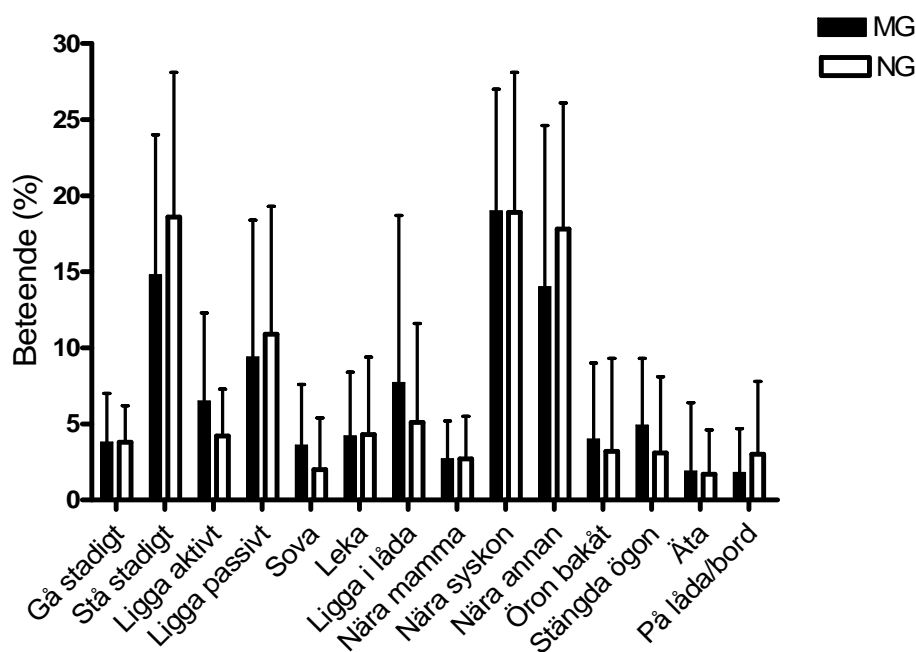
Getterna betedde sig olika gentemot sina killingar efter avhorningen. Tre av getterna gav di ofta och tog väl hand om sina killingar, en get visade rädsla inför sina killingar och vägrade ge dem di och två getter lät killingarna dia som vanligt.

Killingarna studerades vid uppvaknandet samt mellan klockan 15:00-17:00 på avhorningsdagen. Vid uppvaknandet visade killingarna olika beteenden, men det var inte någon tydlig skillnad mellan grupperna. Samtliga killingar visar flera beteenden som bedömts som smärta. Se sektion 3.2.6.

3.2.2. Dagen efter avhorning (dag 2)

Intervallstudier

Beteendet hos MG gruppen skiljde sig inte från NG-gruppen, men variationerna inom grupperna var stora. Killingarnas sociala positioner såsom att vara nära syskon eller nära annan tillhörde de parametrar där flest observationer observerades (figur 5a). Andra beteenden som ofta registrerades var att stå stadigt. En getkilling i NG –gruppen (Jet) var överaktiv och lekte 10 % av tiden medan tre killingar som visade mer smärta (Sv Petter, Bandit och Skurk) endast lekte 1% av observationstiden.

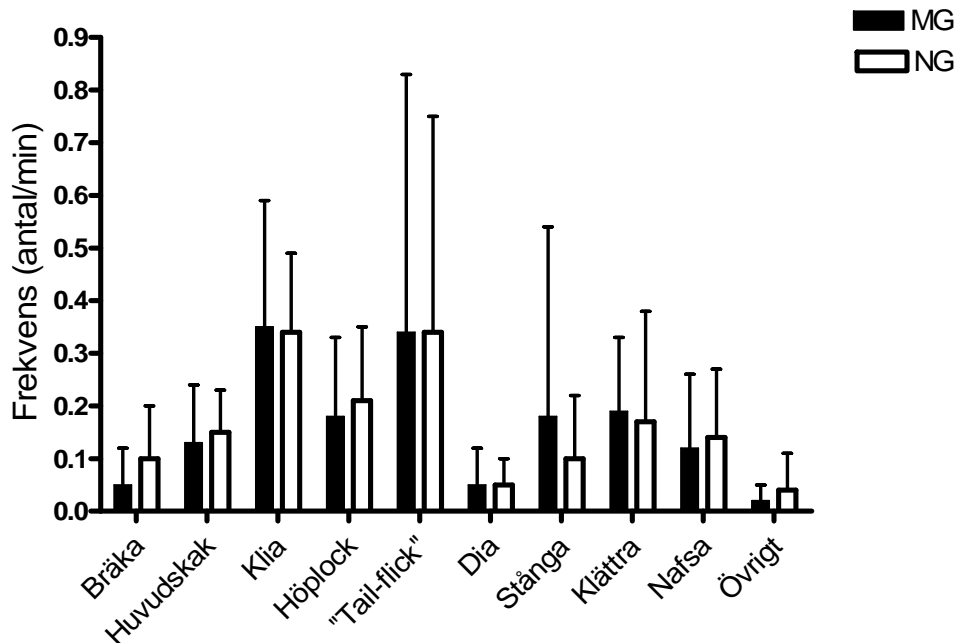


Figur 5a. Intervallstudier var 20:e sekund dagen efter avhorning (dag 2) hos killingar som behandlats med meloxicam (MG; n=6) eller isoton NaCl (NG; n=5) i slumpmässig ordning. Varje killing observerades under sammanlagt 114 ± 11 minuter. Totalantalet observationer per killing = 100%. Data är medelvärde \pm standardavvikelse.

Frekvensstudier

Frekvensbeteenden skiljde sig inte signifikant mellan MG och NG, men killingarnas individuella beteende varierade mycket inom grupperna. Hög frekvens visades i att "klika" där MG hade något högre variation inom gruppen än NG. Killingarna viftade även på svansen (tail-flick) med hög frekvens (figur 5b). Den stora variationen tyder på att tail-flick vanligen

utfördes i samband med att dia då två bockkillingar Tjuv (MG) och Pirat (NG) diade mer än övriga killingar. En bockkilling i MG (Sv Petter) och två bockkillingar (Bandit och Skurk) i NG undvek att stängas genom att springa ifrån andra killingar vid lek. Getkillingen Jet i NG stängades, klättrade och nafsade mer än övriga killingar. Två av de bockkillingar som bedömdes ha högst smärta (Bandit i NG och Sv Petter i MG) gjorde ovanliga rörelser med munnen och gnisslade tänder (se sektion 3.6.6).

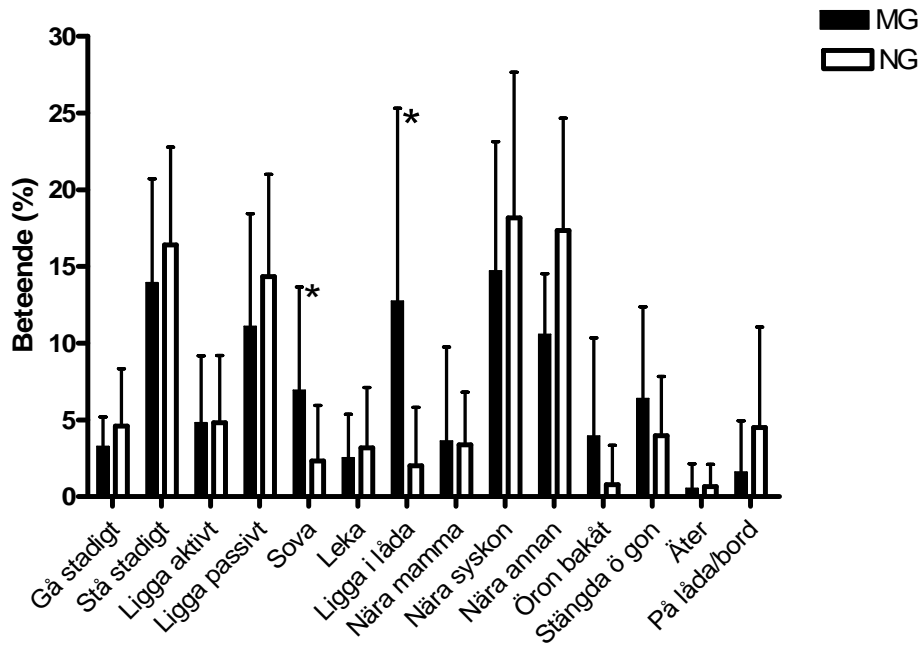


Figur 5b. Frekvensbeteenden dag 2 noterade hos avhornade killingar som behandlats med meloxicam (MG; n=6) eller som fått NaCl (NG; n=5). Observationerna noterades fortlöpande under totalt 114 ± 11 minuter per kiling. Data är medelvärde \pm standardavvikelse.

3.2.3. Två dagar efter avhorning (dag 3)

Intervallstudier

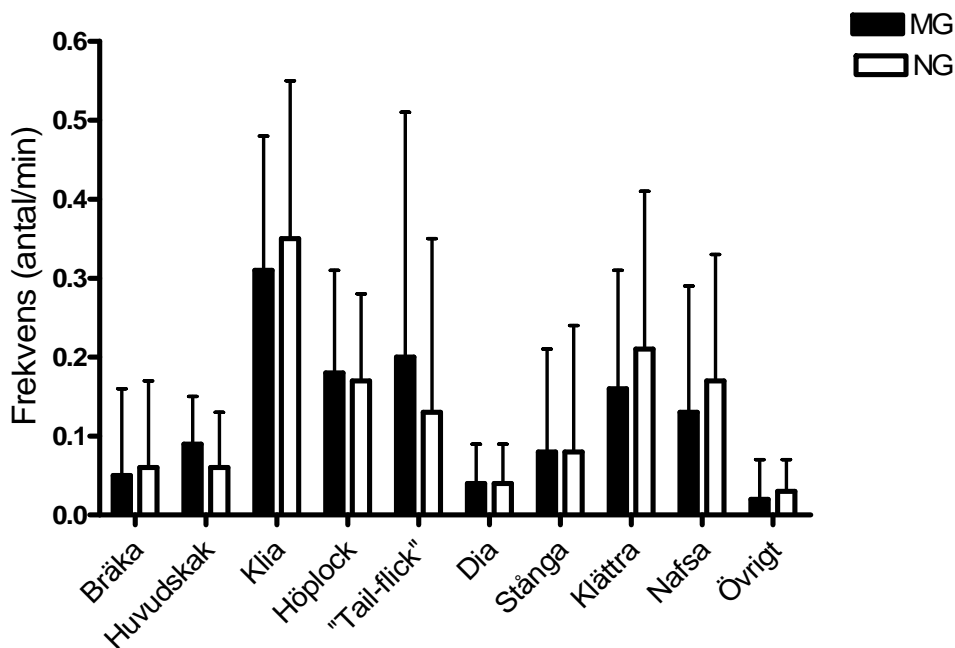
Killingarna i MG låg mer i låda och sov mer än NG killingar (figur 6a). Den överaktiva getkillingen Jet i NG lekte fortfarande mer än övriga killingar.



Figur 6a. Intervallstudier var 20:e sekund under 118 ± 11 minuter per killing under dag 3. Se i övrigt bildtext till figur 5a. * ($P < 0,05$).

Frekvensstudier

MG skilde sig inte i beteende från NG, men variationerna var stora inom båda grupper. Beteende med hög frekvens var att "klika" sig (figur 6b). Den bockkilling i MG (Sv Petter) som visade mycket smärtyttringar gnisslade fortfarande tänder och undvek stångning. Bockkillingen (Bandit) i NG som visade smärta undvek endast stångning. En minskning i antalet huvudskakningar visades hos NG ($P < 0,002$) jämfört med dag 2.



Figur 6b. Frekvensbeteenden dag 3 noterade hos avhornade killingar. Observationerna noterades fortlöpande under totalt 118 ± 11 minuter per killing. Se i övrigt text till figur 5b.

3.2.4. Tre dagar efter avhorning (dag 4)

Intervallstudier

Det var inga skillnader i beteende mellan MG och NG och att stå stadigt var det vanligaste beteendet. Den bockkilling i MG (Sv Petter) som tidigare visat mest smärtyttringar verkade fortfarande öm i huvudet och vinglade efter att ha stångats. Den överaktiva getkillingen Jet i NG var mindre aktiv dag 4.

Killingarna i MG var mer nära syskon dag 4 än dag 2 ($p < 0,05$).

Frekvensstudier

Killingarna i MG kliade sig mer än killingarna i NG ($p < 0,01$). Övriga beteenden skiljde sig inte åt mellan grupperna.

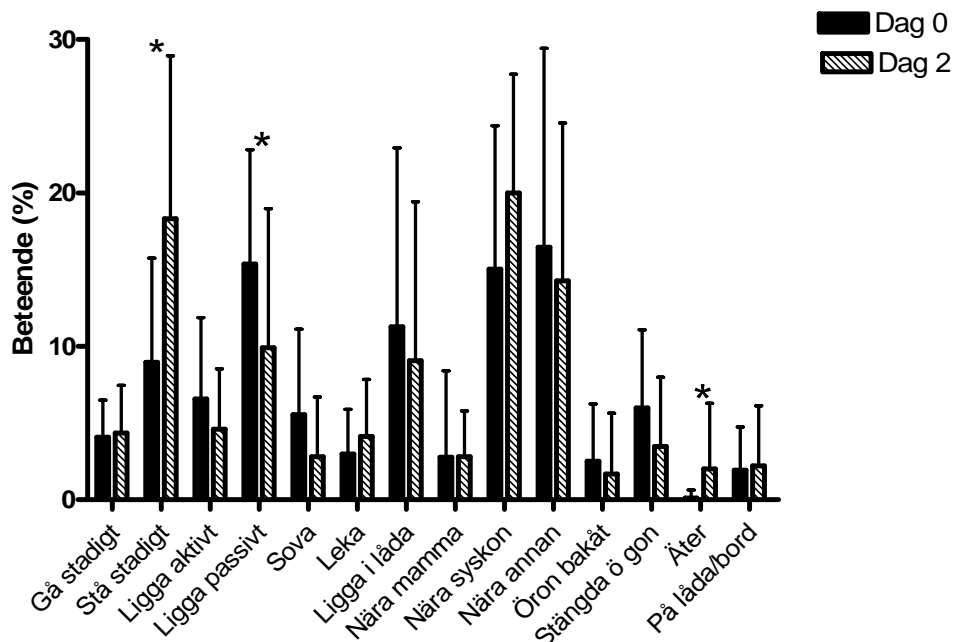
Frekvensen huvudskakningar var lägre hos NG dag 4 än dag 2 ($p < 0,001$) medan MG hade likartat antal huvudskakningar alla dagar.

3.2.5. Jämförelse mellan dagen innan avhorning (dag 0) och dag 2

Beteendedata från killingarna i grupp I var för inte tillförlitliga, men data från alla 7 killingarna i grupp II och III (oberoende av behandling) har jämförts dag 0 och dag 2.

Intervallstudier

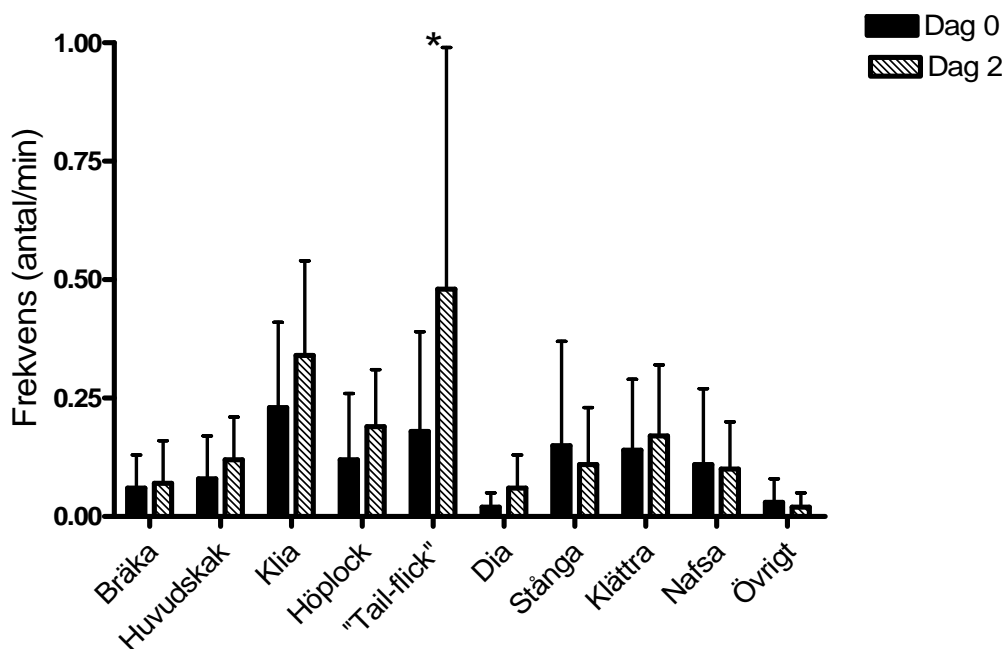
Dag 0 stod killingarna mindre ofta stadigt dag jämfört med dag 2 (Figur 7a). Killingarna låg passivt längre tid dag 0 och de åt mindre dag 0 jämfört med dag 2. Andra beteenden förändrades inte signifikant mellan dagen före och dagen efter avhorning.



Figur 7a. Data från sju av killingarna har summerats dagen före (Dag 0) respektive dagen efter (Dag 2) avhorning. I samband med avhorningen fick 4 av killingarna meloxicam och 3 fick NaCl. Intervallstudier genomfördes var 20:e sekund i 122 ± 13 minuter per killing. Data är medelvärde \pm standardavvikelse. *($P < 0,05$)

Frekvensstudier

Killingarna viftade mer på svansen (tail-flick) efter avhorning (dag 2) än under dagen före (figur 7b). Andra beteenden förändrades inte signifikant efter avhorning.



Figur 7b. Frekvensbeteendet hos 7 killingar studerades under 122 ± 13 minuter per killing dagen före (Dag 0) och dagen efter avhorning (Dag 2). I samband med avhorningen fick 4 av killingarna meloxicam och 3 fick NaCl. Data är medelvärde \pm standardavvikelse. $*(P < 0,05)$

3. 2.6. Smärttecken

Både MG och NG bedömdes ha högre smärta på avhorningsdagen än övriga dagar ($p < 0.001$). Det fanns inga skillnader mellan MG och NG i smärtyttringar, men de individuella variationerna var stora (tabell 3). Några killingar tryckte huvudet mot väggen och andra låg med svängande huvud eller hängde med huvudet samt hade vinglig och stapplande gång. Killingarna vokaliserade mycket vid uppvaknandet, vilket yttrade sig i bråk med hög frekvens, gnäll samt högljudda skrik.

Ett syskonpar (bock och getkilling) hade tydligt avvikande beteenden från övriga killingar. Bockkillingen (Sv Petter), som tillhörde meloxicamgruppen, visade smärta vid bränning av höger horn och efter avhorningen visade han ett avvikande beteende. Han skrek, gnisslade tänder och isolerade sig från flocken. Getkillingen (Jet), som tillhörde NaCl-gruppen, blev överaktiv efter avhorningen och sprang, hoppade, lekte, stängades, klättrade, nafsade samt plockade med hö och åt redan på avhorningsdagen. Killingar som bedömdes ha mindre smärta lekte mer än de som visade fler smärtyttringar.

Tabell. 3. Sammanlagd bedömning av tecken på smärta enligt en skala mellan 1-10 hos killingar som fått meloxicam (n=6) och killingar som fått NaCl (n=5).

Minst smärta = 1 och svår smärta = 10. Data är medelvärde ± standardavvikelse.

Behandling	Avhorningsdag (Dag 1)	Dag 2	Dag 3	Dag 4
Meloxicam	2,96 ± 1,31	1,68 ± 1,10	1,79 ± 1,15	1,54 ± 0,80
NaCl-grupp	2,50 ± 0,95	1,96 ± 0,83	1,59 ± 0,66	1,46 ± 0,63

Diskussion

Studien visar att killingar som behandlades med meloxicam efter avhorning inte skilde sig i beteende från de killingar som fick NaCl. Det kan främst tyda på att meloxicam inte har någon egentlig smärtlindringseffekt efter avhorning på killingar. Doseringen av meloxicam gavs enligt rekommendationer till nötkreatur men kan ha varit för låg till killingar. De uppmätta plasmakoncentrationerna var dock inom det terapeutiska intervallet som rapporterats också för andra djurslag, t.ex. häst (Toutain & Cester, 2004). Resultatet kan även bero på det avvikande syskonparet, där bocken (Sv Petter) som tillhörde meloxicamgruppen reagerade med smärta vid ingreppet och bedömdes ha smärta under hela observationsstudietiden och att getkillingen (Jet) i NG gruppen blev överaktiv. Antalet individer var förhållandevis litet och killingarnas olika åldrar kan även ha medverkat till att tydliga skillnader inte gick att påvisa.

Vid uppvaknandet var det svårt att avgöra om avvikande beteenden berodde på smärta då killingarna fortfarande var påverkade av narkosen. Killingarna reagerade olika. Några vokaliserade med hög frekvens, andra vokaliserade högljutt men med mindre frekvens, vissa tryckte huvudet mot väggen och andra svängde med huvudet. Den ökade vokaliseringen tyder på att killingarna upplevde smärta eller obehag vid uppvaknandet (Seksell, 2007). Andra specifika smärtrelaterade beteenden dagarna efter avhorning sågs hos den avvikande bockkillingen i MG samt hos en bockkillning i NG. Båda killingarna gjorde ovanliga rörelser med munnen samt gnisslade tänder, vilket Seksell (2007) anser beror på smärta. De undvek även stångning och sprang ifrån andra killingar vid lek, vilket är vanligt också hos avhornade kalvar (Graf & Senn, 1999). MG killingen blev även nedstämd under observationstiden. Han var fortfarande öm i huvudet på sista observationsdagen och undvek sin oroliga mamma och vägrade dia. Den överaktiva getkillingen i NG bedömdes inte uppleva smärta även om överdriven aktivitet i vissa fall ansetts som ett smärtrelaterat beteende.

Antalet huvudskakningar hade högst frekvens dagen efter avhorning hos NG- gruppen men dessa beteenden avtog med tiden. Killingarna som behandlats med meloxicam skakade lika mycket på huvudet alla dagar vilket kan tyda på att smärtlindringspreparatet haft viss smärtlindrande effekt. Tidigare studier har visat att kalvar som avhornats har ökat frekvensen huvudskakningar (Morisse et al., 1995; Graf & Senn, 1999; Grøndahl-Nielsen et al. 1999; McMeekan et al., 1999; Faulkner & Weary, 2000). Molony & Kent (1997) påstår att lamm som kastrerats tenderade att bli rastlösa vilket också stämmer överens med denna studie eftersom rastlösa beteenden som att stå upp och ligga ner med korta intervaller observerades.

Det var få skillnader i beteende mellan grupperna dag 3, men MG låg mer i låda än NG. Det kan tolkas som att smärtlindringspreparatet ändå har haft en viss positiv effekt och att de inte var lika rädda om huvudet som killingarna i NG (lådorna är små vilket gör att de stöter huvudet i taket om de sträcker upp huvudet). Tidigare studier på kalvar efter avhorning har

visat att kalvar som fått meloxicam var mindre rädda om huvudet och mer villiga att låta sig klappas på huvudet (Hillström, 2005; Cambrand, 2004). MG killingar sov även mer än killingarna som fått NG dag 3. En förklaring kan vara att meloxicam verkar lugnande men den effekten av meloxicam finns inte rapporterad tidigare. En annan möjlig förklaring kan vara att killingarna upplevde mindre smärta då smärtretningar aktiverar vakenhetscentrat i hjärnan och det blir svårare att slappna av eller sova (Sjaastad et al., 2003). Killingarnas beteende jämfördes även innan avhorning med dagen efter avhorning (dag 2). Killingarna stod mer stadigt efter avhorning än innan vilket tyder på att de var mindre aktiva och mindre villiga att röra sig. De stod med kutig rygg och var allmänt ruggiga. Molony & Kent (1997) påstår att lamm som kastrerats har en liknande hållning då de stått stilla orörligt tiden efter ingreppet. Killingarna låg också mer vilande innan avhorning än efter vilket troligtvis beror på att de upplevde någon form av smärta efter avhorningen (se förklaring ovan om smärtretningar). Det visades även att de åt mer efter avhorning vilket kan ha ett samband med smärta, där tidigare studier har visat att kvigor som svansamputerats har ökat foderintaget (Eicher et al., 2000). De viftade också signifikant mer på svansen efter avhorning än innan vilket stöder andra studier som rapporterat att ökad frekvens tail-flick kan ha ett samband med smärta (Molony & Kent, 1997). Smärtans intensitet minskade med tid där killingarna hade signifikant lägre smärta dagarna efter avhorning än på avhorningsdagen, vilket tyder på att avhorning innebär smärta hos djuret.

Blodplasmans koncentration av kortisol, progesteron och glukos skilde sig inte mellan grupperna vilket stämmer överens med beteendestudierna och bekräftar att meloxicam troligtvis inte minskade postoperativ smärta dagarna efter avhorning. Bockkillingen i MG som hade mindre mängd meloxicam i blodplasman, lägre hämatoritvärden samt högre kortisolnivåer i blodet visade inga tecken på smärta. Smärtskalan låg mellan 1-1,5 samtliga dagar hos den killingen. Killingens låga nivåer av meloxicam och hämatokrit har vi inte hittat någon förklaring till, och den förhöjda kortisolnivån är anmärkningsvärd i ljuset av killingens obetydliga smärtyttringar.

Kontrollkillingarna (kulliga killingar) hade en högre halt progesteron i blodplasman samtliga dagar jämfört med de avhornade killingarna. Detta kan bero på att blodprovstagningen utfördes samma dag och de kände sig stressade av den intensiva hanteringen. Det kan även bero på att de var mindre hanterade och inte lika tama som de avhornade killingarna. För detta talar att de kulliga killingarna också hade de högsta hämatokrit- och kortisolvärdena.

Glukosvärdena hos unga idisslare ligger nära dem hos enkelmagade djur (ca 5 nmol/l) innan förmagarna utvecklats och våmmetabolismen kommit igång. Killingarna var unga. Killingarnas glukoshalt i denna studie låg mellan 4,2-8,2 nmol/liter och de högsta värdena kan ha orsakats av någon form av stress.

Det lägsta glukosvärdet var 4,7 mmol/l hos en kullig getkilling innan meloxicambehandlingen. Samma getkilling hade även relativt låga kortisolnivåer samtliga dagar. Förklaringen till de låga kortisolnivåerna kan vara att hon var den killing som var mest tam och helt orädd för människor. I övrigt fanns inga tydliga samband mellan kortisol, progesteron och glukosnivåer i blodet. Enstaka killingar som visade högre kortisolnivåer hade även höga progesteronvärden.

Hämatokriten minskade vid upprepade blodprovstagningar. Detta kan troligtvis förklaras av att killingarna vände sig vid försökssituationen.

Slutsats

Studien visade inga skillnader i kortisol, progesteron och glukos mellan killingar som behandlats med meloxicam och killingar som fått NaCl. De fåtaliga skillnader i beteende som påvisats kan tala för att meloxicam haft en viss positiv effekt. Killingarna reagerade individuellt och mestadels oberoende av behandling. Studien visade dock att beteendet förändrades efter avhorning på ett sätt som tyder på att ingreppet innebar smärta eller obehag hos killingarna.

Tillkännagivande

Jag vill framförallt tacka Kerstin Olsson som gav mig denna fantastiska möjlighet att få utföra studien på killingar. Kerstin har med ett stort engagemang gett mig en enormt berikad kunskap om ämnet och har gett mig ovärderlig kunskap om getter och killingar. Hon har haft ett enastående tålamod och med sin positiva energi motiverat mig i alla lägen. Jag vill tacka Dr Urge Mengistu för vårt goda samarbete under beteendestudierna. Ett speciellt tack vill jag ge till Åsa Eriksson som skötte djuren föredömligt och tog blodproverna med minsta möjliga stress. Tack Åsa för allt stöd och kunskap som du gett mig. Jag vill tacka Gunilla Drugge för all hjälp på laboratoriet med analyserna i blodet och professor Ulf Bondesson, SVA, som utförde analyserna av metakamkoncentrationen i blodplasma. Jag vill också tacka Mattias Norrby för all datorhjälp, och tack till Carina Ingvast-Larsson som gjort studien möjlig. Tack även till Kenth Svartberg för hjälpen med beteendeprotokollet och Tack till Eva Sandberg för alla bra tips och råd i det skrivna arbetet. Ett stort tack vill jag också ge till alla underbara killingar som deltog i studien.

Referenser

- Agfact A0. 2.4, 2nd edition, 1998. Dehorning cattle. NSW Agriculture, Australia. Website publication, <http://www.agric.nsw.gov.au/reader/1304> (accessed 2003-05-07)
- Buttle, H., Mowlem, A. & Mews, A. 1991. Disbudding and dehorning of goats. *In: Sheep and goat practice*, Boden, E. (editor). Baillière Tindal, pp 59-66.
- Cambrand, M. 2004. Alternativa metoder för avhorning av kalv. Teknik och behandlingseffekt, samt utvärdering av postoperativ smärta med användning av NSAID. Examensarbete 2004:37, SLU, Uppsala. ISSN 1650-7045
- Eicher, S. D., Morrow-Tesch, J. L., Albright, J. L., Dailey, J. W., Young, C. R & Stanker, L. H. 2000. Tail-docking influences on behavioural, immunological and endocrine responses in dairy heifers. *Journal of Dairy Science* 83:1456-1462.
- Faulkner, P. M. & Weary, D. M. 2000. Reducing pain after dehorning in dairy calves. *Journal of Dairy Science* 83: 2037-2041.
- Graf, B. & Senn, M. 1999. Behavioural and physiological responses of calves to dehorning by heat cauterisation with or without local anaesthesia. *Applied Animal Behavioral Science* 62:153-171.
- Grøndahl-Nielsen, C., Simonsen, H. B., Damkjer Lund, J. & Hesselholt, M. 1999. Behavioural, endocrine and cardiac responses in young calves undergoing dehorning without and with use of sedation and analgesia. *Veterinary Journal* 158:14-20.
- Habel, R.E. 1984. Guide to the dissection of the domestic ruminants. 4th edition. Ithaka, New York. Pp 174-178.
- Hillström, A. 2005. Smärtlindring hos kalv efter avhorning. Examensarbete 2005:24, SLU, Uppsala. ISSN 1652-8697
- Hydbring-Sandberg, E., von Walter, L.W., Höglund, K., Svartberg, K., Swenson, L. & Forkman, B. 2004. Physiological reactions to fear provocation in dogs. *Journal of Endocrinology*, 180:439-448.
- McMeekan, C. M., Stafford, K. J., Mellor, D. J., Bruce, R. A., Ward, R. N. & Gregory, N. G. 1998b. Effects of regional analgesia and/or a non-steroidal anti-inflammatory analgesic on the acute cortisol response to dehorning in calves. *Research in Veterinary Science* 64:147-150.
- McMeekan, C. M., Stafford, K. J., Mellor, D. J., Bruce, R. A., Ward, R. N. & Gregory, N. G. 1999. Effects of a local anaesthetic and a non-steroidal anti-inflammatory analgesic on the behavioural responses of calves to dehorning. *New Zealand Veterinary Journal* 47:92-96.
- Molony, V. & Kent, J. E. 1997. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *Journal of Animal Science* 75:266-272.
- Morisse, J.P., Cotte, J.P. & Huonnic, D. 1995. Effect of dehorning on behaviour and plasma

cortisol responses in young calves. *Applied Animal Behavioral Science* 43:239-247.

Petrie, N.J., Mellor, D.J., Stafford, K.J., Bruce, R.A. & Ward, R.N. 1996. Cortisol responses of calves to two methods of disbudding used with or without local anaesthetic. *New Zealand Veterinary Journal* 44:9-14.

Sanford, J., Ewbank, R., Molony, V., Tavernor, W. D. & Uvarov, D. O. (1986). Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals. *Veterinary Record* 118:334-338.

SAS Institute. 2005. *SAS User's Guide Statistics*, Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA

Sawyer, D.C. 1998. Pain control in small-animal patients. *Applied Animal Behaviour Science* 59: 135-146.

Seksel, K. 2007. How pain affects animals. Australian Animal Welfare Strategy Science Summit on Pain Management. Website publication, http://www.daff.gov.au/__data/assets/pdf_file/0008/299105 (assessed 2008-03-19).

SFS 2002:723. Djurskyddsförordningen, 25§

Sjaastad, Ø.V., Hove, K., Sand, O. 2003. *Physiology of Domestic Animals*. Scandinavian Veterinary Press, Oslo.

Sutherland, M. A., Mellor, D. J., Stafford, K. J., Gregory, N. G., Bruce, R.A. & Ward, R.N. 2002. Cortisol responses to dehorning of calves given a 5-h local anaesthetic regimen plus phenylbutazone, ketoprofen, or adrenocorticotrophic hormone prior to dehorning. *Research in Veterinary Science* 73:115-123.

Stafford, K.J. & Mellor, D.J. 2005. Dehorning and disbudding distress and its alleviation in calves. *The Veterinary Journal* 169: 337-349

Sylvester, S. P; Stafford, K. J; Mellor, D. J; Bruce, R. A. and Ward, R. N. 2004. Behavioural responses of calves to amputation dehorning with and without local anaesthesia. *Australian Veterinary Journal* 82:697-700.

Toutain, P. L. & Cester, C. C. 2004. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships and dose response to meloxicam in horses with induced arthritis in the right carpal joint. *American Journal of Veterinary Research* 65:1533-1541.