

# VALIDAZIONE DI UNA SCHEDA COMPORTAMENTALE DI RILEVAZIONE DEL DOLORE NEI SUINETTI SOTTOPOSTI A CASTRAZIONE

## VALIDATION OF A BEHAVIOURAL PAIN SCALE IN PIGLETS UNDERGOING CASTRATION

ROTA NODARI S.<sup>1</sup>, GUERRA O.<sup>2</sup>, SASSI M.<sup>3</sup>, NASSUATO C.<sup>1</sup>, GASTALDO A.<sup>4</sup>, DELLA CASA G.<sup>5</sup>, ARCHETTI I. L.<sup>1</sup>, LOMBARDI G.<sup>1</sup>, CANDOTTI P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Brescia;

<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie c/o Regione del Veneto, Servizio Sanità Animale e Igiene Alimentare

<sup>3</sup>Associazione Regionale Allevatori della Lombardia

<sup>4</sup>Centro Ricerche Produzioni Animali, Reggio Emilia

<sup>5</sup>CRA - Unità di Ricerca per la suinicoltura, S. Cesario s.P. (MO)

**Parole chiave:** castrazione, suino, dolore, cortisolo, etologia, BPS

**Key words:** castration, pig, pain, cortisol, ethology, BPS

**Riassunto.** La valutazione del dolore negli animali rappresenta senza dubbio una grossa sfida. In questo studio abbiamo validato una scala comportamentale di dolore (BPS) in suinetti sottoposti a castrazione. Il punteggio di dolore dell'animale era dato dalla somma dei singoli punteggi di 22 diversi comportamenti per un punteggio massimo di dolore di 28.93. La scheda è stata rilevata su 500 suinetti di 20 diversi allevamenti. La BPS era internamente altamente affidabile ( $\alpha$  Cronbach= 0.88; indice di omogeneità di Greenacre = 80.73) e ha mostrato una buona correlazione con le variazioni di cortisolo post-castrazione (indice di correlazione=0.36, C.I.95% 0.15 - 0.54; n= 78 suinetti). Lo studio ha dimostrato che la BPS potrebbe essere uno strumento valido e affidabile nella misurazione del dolore nei suinetti sottoposti a castrazione.

**Abstract.** Assessing pain in animals is a great challenge. In this study, we validated a behavioral pain scale (BPS) in piglets undergoing castration. The BPS score was the sum of the scores of 22 different behaviours with a maximum score of 28.93. The scale was tested in 500 piglets of 20 farms. The BPS was internally reliable (Cronbach  $\alpha$  = 0.88; Greenacre's homogeneity index = 80.73) and well correlated with the variation of cortisol after castration (correlation index= 0.36, C.I.95% 0.15 - 0.54; n= 78 piglets). This study demonstrated that the BPS can be valid and reliable for measuring pain in piglets undergoing castration.

### INTRODUZIONE

Il dolore è un fenomeno complesso che riunisce componenti non solo sensoriali, ma anche cognitivi e affettivi. Secondo la definizione di Molony e Kent (1997) il dolore "è un'esperienza negativa dal punto di vista sensoriale ed emozionale che rende consapevole l'animale di un danno o di una minaccia all'integrità del suo organismo e determina delle modificazioni fisiologiche e comportamentali finalizzate a minimizzare o evitare ulteriori danni, diminuire la probabilità di ripetere l'esperienza dolorosa e assicurare una guarigione dai danni subiti".

Nell'uomo la misurazione del dolore viene effettuata mediante scale numeriche, visuali o verbali compilate direttamente dal paziente che sta provando l'esperienza dolorosa (Katz J and Melzack R, 1999) mentre nel neonato attraverso le scale di valutazione dell'espressione facciale, il pianto e i movimenti del corpo (Johnston CC, 1989; Larsson BA, 1999). La misurazione del dolore

negli animali è molto problematica e complessa per la mancanza di un parametro misurabile specificatamente indicativo di dolore e per l'impossibilità di misurare direttamente l'esperienza soggettiva del dolore o le emozioni suscitate da esso, rivolgendo domande direttamente al soggetto che ha sperimentato l'esperienza dolorosa o valutandone le espressioni facciali. Ne consegue la necessità di dover ricorrere all'individuazione di comportamenti e parametri fisiologici che si discostano dal normale.

La misurazione del comportamento dell'animale può fornire informazioni sul suo stato emozionale e sul fatto che un'esperienza sia stata vissuta come negativa. La presenza di comportamenti anormali come l'eccessiva vocalizzazione (Weary and Fraser, 1995; Weary et al., 1998), la postura e l'attività locomotoria (Ley et al. 1991; McGlone et al. 1993; Molony and Kent 1997; Whay 1997; McGeown et al. 1999; Thornton and Waterman-Pearson 1999), così come la riduzione di comportamenti "normali" quali ad es. l'alimentazione (Hassall et al. 1993; Rushen et al. 1993; Gentle et al. 1997) e la comparsa di comportamenti stereotipati (Zanella et al. 1996), riflettono uno scarso stato di benessere dell'animale (Gonyou 1994).

Oltre alle risposte di tipo comportamentale, uno stimolo nocicettivo determina anche alcune risposte di tipo organico e nei mammiferi, in particolare nel suino (Prunier et al., 2002), sono presenti variazioni relativamente a:

- concentrazioni ormonali in sangue, urina o saliva (CRH, ACTH, glucocorticoidi, adrenalina, noradrenalina)
- metaboliti sanguigni (glucosio, lattato, acidi grassi liberi)
- risposte neurovegetative (ritmo cardiaco, ritmo respiratorio, pressione arteriosa, temperatura corporea)
- sistema immunitario (immunoglobuline, numero e fenotipi delle cellule immunitarie).

In particolare, diversi studi hanno evidenziato un aumento di adrenalina (Prunier et al., 2002), noradrenalina (Prunier et al., 2002), lattato (Prunier et al., 2002; Prunier et al., 2005), ACTH (Prunier et al., 2002; Prunier et al., 2005) e cortisolo (Prunier et al., 2002; Prunier et al., 2005; Carrol et al., 2006) in seguito alla castrazione. Adrenalina (Prunier et al., 2002), lattato (Prunier et al., 2002; Prunier et al., 2005) e ACTH (Prunier et al., 2002; Prunier et al., 2005) aumentano molto rapidamente in prossimità della castrazione per poi tornare a livelli basali entro i 30 minuti dall'evento doloroso. Il rapido aumento di questi ormoni in seguito allo stimolo doloroso rende difficile una loro valutazione in campo su larga scala, per le ovvie difficoltà operative.

Il cortisolo ematico presenta, invece, un picco della sua concentrazione ematica tra i 30 e i 60 minuti dopo la castrazione (Prunier et al., 2005; Carrol et al., 2006) e dopo 48 ore dalla castrazione (Carrol et al., 2006).

Questo andamento del cortisolo, sebbene con picchi di entità decisamente inferiore, si osserva anche nei suinetti sottoposti esclusivamente a manipolazione (Carrol et al., 2006).

Attualmente sono in corso numerosi studi finalizzati a valutare l'efficacia di diversi trattamenti nel ridurre il dolore provato dall'animale durante la fase di castrazione, ma manca ancora uno strumento condiviso di misurazione del dolore.

L'obiettivo del presente studio era quello di creare e validare statisticamente una scheda di rilevazione comportamentale in grado di assegnare un punteggio al dolore provato dal suino al momento della castrazione.

## **MATERIALI E METODI**

### *Scheda di valutazione etologica*

Per la valutazione della presenza di una sintomatologia algica al momento della castrazione, è stata creata una scheda di rilievo comportamentale in cui sono stati riportati tutti i moduli comportamentali ritenuti al di fuori del "normale" etogramma del suinetto neonato, e che quindi

potessero essere segni di sintomatologia dolorosa. Sono state registrate anche informazioni anamnestiche e relative alle modalità operative che potrebbero in qualche modo influenzare il comportamento osservato.

La scheda è stata somministrata durante la fase di castrazione a 500 suinetti appartenenti a 20 aziende del nord Italia ed è stata successivamente utilizzata nel corso delle sessioni di castrazione svolte presso le strutture del CRA

#### *Castrazione*

La castrazione è stata effettuata senza l'utilizzo di anestetici e/o analgesici mediante l'utilizzo di bisturi, in animali di età pari o inferiore ai 7 giorni di vita.

#### *Prelievi ematici e titolazione del cortisolo*

Il prelievo ematico per la titolazione del cortisolo è stato effettuato su 78 soggetti. Ciascun animale è stato prelevato il giorno prima della castrazione (cortisolo basale) e tra i 30 e i 45 minuti dopo l'inizio della castrazione (picco di cortisolo). I suinetti sono stati prelevati dalla gabbia parto e riposti in carrelli riscaldati fino al momento del prelievo. Suinetti della stessa nidiata sono stati mantenuti in gruppo e non sono stati mescolati con animali appartenenti ad altre nidiate. Al momento del primo prelievo i suinetti sono stati identificati singolarmente mediante colorazione atossica e indolore a livello del dorso.

Il prelievo ematico è stato eseguito su animali in posizione di decubito dorsale con provette tipo Vacutainer® senza anticoagulante. Tutti i prelievi sono stati eseguiti il mattino tra le ore 8 e le ore 13.00. Dopo il prelievo gli animali sono stati riposti in un altro carrello riscaldato per poi essere riposti nuovamente in gabbia parto. Subito dopo il prelievo la provetta è stata messa in un contenitore refrigerato a temperatura 4-8°C e in giornata è stata consegnata al laboratorio per la processazione. Il siero è stato immediatamente separato e conservato a temperatura inferiore a -20°C.

Il cortisolo ematico è stato quantificato mediante metodica immunometrica di tipo competitivo in chemiluminescenza, con l'analizzatore automatico IMMULITE ONE (Medical System, Genova, Italia) e il kit commerciale LKC01 (Medical System, Genova, Italia), in uso presso il laboratorio di biochimica clinica e controllo qualità prodotti, animali e reagenti, IZSLER, Brescia.

#### *Analisi statistica*

Per la costruzione della scala di misurazione del dolore alla castrazione si è proceduto attraverso le seguenti fasi:

1. Analisi preliminare della consistenza interna della scala e delle correlazioni item-total. In questa fase si è proceduto a calcolare la matrice di varianza e covarianza dei risultati ottenuti in fase di rilevazione dei 500 animali, da cui è stato calcolato il coefficiente di Cronbach e le correlazioni item-total come misure di coerenza degli items con la scala.
2. Calcolo delle quantificazioni ottimali delle modalità degli items. Attraverso la procedura di analisi delle corrispondenze multiple descritte da Greenacre (1993) sono state calcolate le quantificazioni ottimali degli items, sulla prima dimensione della scala.
3. Calcolo delle misure di discriminazione dei singoli items. Le quantificazioni ottimali sono state sostituite ai codici delle modalità degli items ed è stata calcolata la media delle varianze dei singoli items.
4. Valutazione dell'unidimensionalità della scala. Gli autovalori sono stati utilizzati per ottenere uno scree plot e per il calcolo del coefficiente  $\tau$  di unidimensionalità di Greenacre.
5. Ottimizzazione della scala. Sulla base delle informazioni ottenute sugli items e sull'unidimensionalità della scala, si è proceduto a ottimizzare la scala eliminando dapprima gli items con coefficiente di correlazione item-total score negativo e gli items con misure di discriminazione inferiori o uguali a 0.20.

6. Calcolo del coefficiente  $\alpha$  di Cronbach. La misura della consistenza interna della scala è stata calcolata, dopo aver verificato l'unidimensionalità della scala ottimizzata, mediante il calcolo del coefficiente  $\tau$  (utilizzando come valore soglia  $\tau > 0.50$ ), condizione necessaria per ottenere stime non distorte di  $\alpha$  di Cronbach.

Per le analisi statistiche è stato valutato l'incremento di cortisolo, pari alla differenza tra il "picco di cortisolo" e il "cortisolo basale". La relazione tra il punteggio calcolato dalla scala e i valori di cortisolo ematico è stata analizzata mediante il calcolo del coefficiente di correlazione lineare.

## RISULTATI

Dopo l'eliminazione degli item con misure di discriminazione  $< 0.10$  si è ottenuta una scala costituita da 22 item (rispetto ai 143 iniziali), sulla quale si è proceduto al calcolo delle quantificazioni ottimali, alla verifica dell'unidimensionalità e al calcolo del coefficiente alpha di Cronbach. Come si rileva in figura 1 il primo autovalore spiega da solo il 30% della varianza.

La riduzione del numero degli item ha portato a un aumento dell'omogeneità della scala, quindi della sua unidimensionalità con l'alpha di Cronbach risultato pari a **0.88** e l'indice di omogeneità di Greenacre pari a **80.73**. Il punteggio massimo ottenibile, sommando i risultati ottenuti per ciascun item dopo quantificazione ottimale riscalata rispetto a quella minima, è risultato pari a **28.93**.

Di seguito sono riportati gli item eliminati nella seconda fase dell'analisi statistica per i motivi precedentemente indicati (non sono riportati i restanti item anamnestici presenti nella scheda e non correlati al dolore):

- *La reazione (tentativi di divincolamento) al 1° taglio è moderata*
- *Il suinetto al 1° taglio emette grugniti di richiamo*
- *Il suinetto al 1° taglio emette poche (<3) urla singole*
- *La reazione (tentativi di divincolamento) all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo è moderata*
- *Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo emette grugniti di richiamo*
- *La reazione (tentativi di divincolamento) alla castrazione del 1° testicolo è moderata*
- *Il suinetto alla castrazione del 1° testicolo emette grugniti di richiamo*
- *Il suinetto alla castrazione del 1° testicolo emette poche (<3) urla singole*
- *Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo emette poche (<3) urla singole*
- *Il suinetto al 2° taglio emette vocalizzazioni*
- *Il suinetto al 2° taglio emette grugniti di richiamo*
- *Il suinetto al 2° taglio emette poche (<3) urla singole*
- *Il suinetto al 2° taglio emette urla intense e continue*
- *La reazione (tentativi di divincolamento) all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo è moderata*
- *Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo emette grugniti di richiamo*
- *Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo emette poche (<3) urla singole*
- *La reazione (tentativi di divincolamento) alla castrazione del 2° testicolo è moderata*
- *Il suinetto alla castrazione del 2° testicolo emette grugniti di richiamo*
- *Il suinetto alla castrazione del 2° testicolo emette poche (<3) urla singole*
- *La reazione (tentativi di divincolamento) alla aspersione del prodotto topico è moderata*
- *La reazione (tentativi di divincolamento) alla aspersione del prodotto topico è violenta*
- *Il suinetto alla aspersione del prodotto topico emette vocalizzazioni*
- *Il suinetto alla aspersione del prodotto topico emette grugniti di richiamo*
- *Il suinetto alla aspersione del prodotto topico emette poche (<3) urla singole*

- Durante la castrazione il suinetto ha evacuato feci/urina
- Durante la castrazione il suinetto è riuscito a divincolare in parte le zampe
- Durante la castrazione vi sono stati degli "intoppi" (es. necessità di ripetere il taglio, pause, ecc.)
- A castrazione avvenuta il suinetto viene deposto: nel contenitore di attesa castrazione / subito in gabbia parto

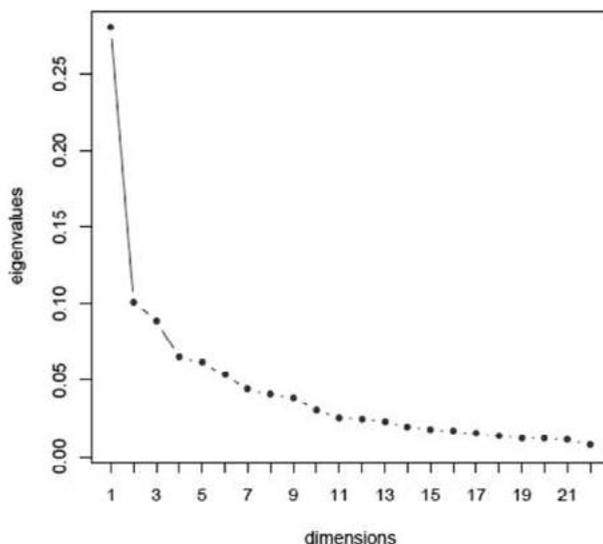
In tabella 1 sono riportati gli item selezionati mediante l'analisi statistica con il relativo punteggio e in figura 1 lo scree plot della scala dolore alla castrazione a 22 item.

**Tabella 1.** Scheda di rilevazione della risposta comportamentale durante la castrazione e punteggio attribuito alla presenza di ciascun comportamento.

**Table 1.** Behavioural form for pain during castration and score for each behavioural pattern

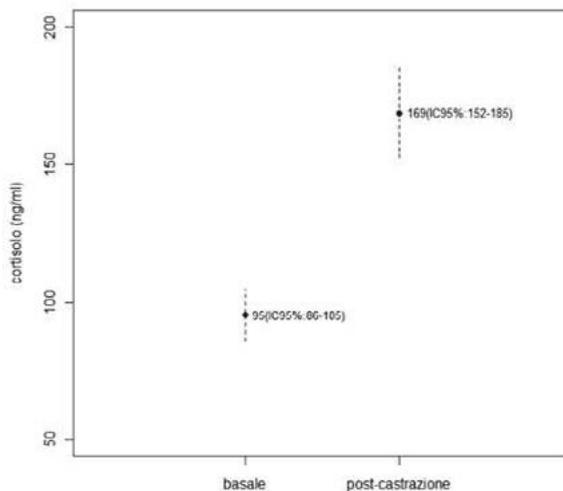
N° Item	Descrizione Item	Punteggio
1	Il suinetto reagisce (tentativi di divincolamento) al 1° taglio	0.871
2	La reazione (tentativi di divincolamento) al 1° taglio è violenta	1.180
3	Il suinetto al 1° taglio emette vocalizzazioni	1.174
4	Il suinetto al 1° taglio emette urla intense e continue	1.176
5	Il suinetto reagisce (tentativi di divincolamento) all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo	1.260
6	La reazione (tentativi di divincolamento) all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo è violenta	1.469
7	Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo emette vocalizzazioni	1.635
8	Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 1° testicolo emette urla intense e continue	1.423
9	Il suinetto reagisce (tentativi di divincolamento) alla castrazione del 1° testicolo	1.409
10	La reazione (tentativi di divincolamento) alla castrazione del 1° testicolo è violenta	1.476
11	Il suinetto alla castrazione del 1° testicolo emette vocalizzazioni	1.521
12	Il suinetto alla castrazione del 1° testicolo emette urla intense e continue	1.392
13	Il suinetto reagisce (tentativi di divincolamento) all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo	1.227
14	La reazione (tentativi di divincolamento) all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo è violenta	1.575
15	Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo emette vocalizzazioni	1.290
16	Il suinetto all'estrazione ed eventuale trazione del 2° testicolo emette urla intense e continue	1.535
17	Il suinetto reagisce (tentativi di divincolamento) alla castrazione del 2° testicolo	1.319
18	La reazione (tentativi di divincolamento) alla castrazione del 2° testicolo è violenta	1.630
19	Il suinetto alla castrazione del 2° testicolo emette vocalizzazioni	1.263
20	Il suinetto alla castrazione del 2° testicolo emette urla intense e continue	1.447
21	Il suinetto reagisce (tentativi di divincolamento) alla aspersione del prodotto topico	0.798
22	Il suinetto alla aspersione del prodotto topico emette urla intense e continue	0.857

**Figura 1.** Scree plot della scala dolore alla castrazione a 22 item  
**Figure 1.** Scree plot for pain scale (22 items) at castration

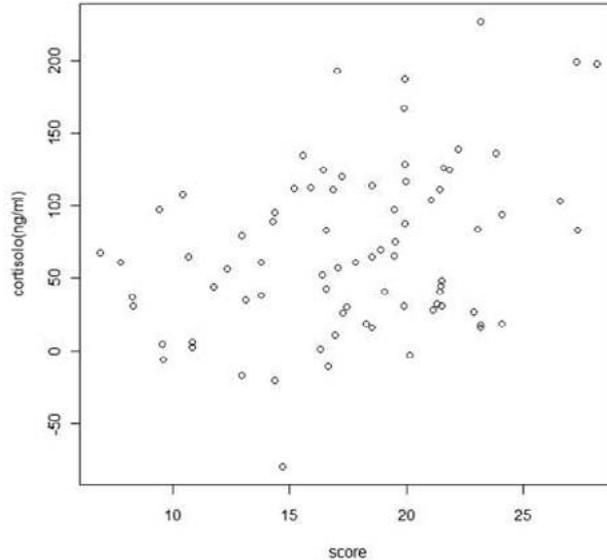


In figura 2 vengono riportati gli esiti relativi al cortisolo basale e post-castrazione.

**Figura 2.** Cortisolo basale e post-castrazione  
**Figure 2.** Basal and post castration-cortisol



Dei 78 animali esaminati, 72 hanno mostrato un aumento del cortisolo dopo la castrazione rispetto al valore basale. In figura 3 il grafico riporta sull'asse delle ordinate la differenza (incremento di cortisolo) registrata tra il valore di cortisolo in  $t_1$  (giorno della castrazione) e  $t_0$  (24 ore antecedenti l'operazione di castrazione) e sull'asse delle ascisse il punteggio calcolato sulla base delle informazioni raccolte con la scheda validata.



**Figura 3.** *Incremento del cortisolo e punteggio di dolore*  
**Figure 3.** *Increase in cortisol and pain score*

Il valore del coefficiente di correlazione lineare calcolato per i punteggi ottenuti dalla scheda e i valori di cortisolo è risultato pari a 0.36 (C.I.95% 0.15 - 0.54).

## DISCUSSIONE

L'utilizzo della scheda si basa sull'osservazione in un animale di uno o più dei comportamenti inclusi nella scheda, determinando l'attribuzione del corrispondente punteggio. La mancata osservazione del comportamento determina l'attribuzione di un punteggio pari a zero. Più comportamenti tra quelli compresi nella *rating scale* vengono osservati, più aumenta il punteggio dell'animale valutato. Il punteggio di dolore attribuito a ciascun animale deriva dalla somma del punteggio corrispondente a ciascun comportamento osservato.

Il confronto tra il punteggio ottenuto da ciascun animale rispetto al punteggio massimo ottenibile per quella scheda, può fornire indicazioni sul grado di dolore percepito dall'animale.

Il riscontro di un coefficiente alpha di Cronbach pari a 0.88 indica un'affidabilità molto elevata della scala nella misurazione della variabile latente, ovvero il dolore (Cronbach LJ, 1951). L'analisi statistica ha anche consentito di ridurre considerevolmente la numerosità degli item, migliorando l'affidabilità dello strumento attraverso la selezione degli item più informativi e fortemente correlati tra loro, quindi con una comune variabile latente (De Vellis 2006, Martinez-Martin 2009). La completa validazione della scala è stata ottenuta attraverso l'analisi di coerenza e concordanza con il cortisolo ematico, un indicatore affidabile del dolore. Nello specifico, al crescere del punteggio di dolore rilevato dalla scheda comportamentale, in caso di coefficiente di correlazione positivo si è osservato un aumento anche del cortisolo ematico. Tale rilievo è perfettamente in linea con le attese: il cortisolo ematico sale, infatti, circa 30 minuti dopo l'evento doloroso o stressante, per poi scendere nuovamente ai livelli basali nell'ora successiva. È, quindi, congrua alle attese una correlazione positiva tra il rilievo comportamentale durante la manualità dolorosa e il relativo picco ematico in cortisolo per quell'evento specifico.

Come già evidenziato dalla bibliografia, il cortisolo aumenta in relazione a eventi dolorosi ma non unicamente in associazione a essi, non essendo un ormone specifico per il dolore. La correlazione evidenziata tra incremento di cortisolo e punteggio calcolato dalla BPS pari al 36% e non superiore era pertanto attesa.

## **CONCLUSIONI**

Il parere degli autori è che la scheda, auto validata dagli elevati valori dell'alfa di Cronbach e positivamente correlata al cortisolo ematico, sia in grado di misurare in modo reale una situazione algica nei suinetti castrati e non stia misurando altri eventi. La scheda rappresenta pertanto un valido strumento per la misurazione del dolore durante la castrazione e può rappresentare uno strumento particolarmente utile per le prove sperimentali nelle quali si voglia confrontare l'efficacia nella riduzione del dolore alla castrazione di diverse molecole o tecniche di esecuzione.

Si ringraziano gli allevatori, rappresentati dalla Sezione Regionale Allevatori di Suini dell'ARAL, che hanno manifestato la volontà di eseguire l'attività di ricerca, concretizzata da ARAL attraverso l'adesione al bando per la Ricerca in agricoltura della Regione Lombardia e l'attuazione operativa, partecipata anche da tecnici delle APA lombarde, con la collaborazione di IZSLER.

IL PRESENTE LAVORO RIPORTA I RISULTATI PRELIMINARI DEL PROGETTO DI RICERCA IN ITINERE  
“MISURA E RIDUZIONE DEL DOLORE DA CASTRAZIONE NEI SUINETTI (MI.RI.DO. C.A.S.)”

FINANZIATO DA:

REGIONE LOMBARDIA

DELIBERA DI GIUNTA REGIONALE DEL 02 APRILE 2008, N. 6924:

PROGETTI FINANZIABILI SECONDO I CRITERI PREVISTI DAL

PROGRAMMA REGIONALE DI RICERCA IN CAMPO AGRICOLO 2007-2009.

ENTE PROPONENTE: ASSOCIAZIONE REGIONALE ALLEVATORI DELLA LOMBARDIA (ARAL)

ASSESSORATO AGRICOLTURA REGIONE EMILIA ROMAGNA

SECONDO LE DIRETTIVE PREVISTE DALLA L.R. 28/98 - P.S.A. 2008

ENTE PROPONENTE: CENTRO RICERCHE PRODUZIONI ANIMALI (CRPA)

## **BIBLIOGRAFIA**

Carrol JA, Berg EL, Strauch TA, Roberts MP, Kattesh HG (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(5), 1271-1278.

Cronbach LJ (1951) Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika* 16:297-334.

De Vellis RF (2006) Classical test theory. *Med Care* 44, 11 Suppl 3, S50-9.

Gentle MJ, Hunter LN, Corr SA (1997) Effects of caudolateral neostriatal ablations on pain-related behaviour in the chicken. *Physiol. Behav.* 61 (4), 493-498.

Gonyou HW (1994) Why the study of animal behaviour is associated with the animal welfare issue. *J. Anim. Sci.* 72 (8), 2171-2177.

Greenacre MJ (1993) Correspondence analysis in practice. London: Academic Press Limited.

Hassall SA, Ward WR, Murray RD. (1997). Effects of lameness on the behaviour of cows during the summer. *Vet Rec.* 5; 132(23): 578-80.

Katz J, Melzack R. (1999). Measurement of pain. *Surg Clin North Am.* 1999 Apr;79(2):231-52.

Johnston C.C. (1989) Pain assesment and management in infants. *Pediatrician*, 16: 16-23.

Larsson BA (1999) Pain management in neonates. *Acta Pædiatr* 88: 1301-10.

Ley SJ, Livingston A, Waterman AE (1991) Effects of chronic lameness on the concentrations of cortisol, prolactin and vasopressin in the plasma of sheep. *Vet. Rec.* 129 (3), 45-47.

Martinez-Martin P (2009) Composite rating scales. *J.Neurol.Sci.* doi:10.1016/j.jns.2009.08.013.

McGeown D, Danbury TC, Waterman-Pearson AE, Kestin SC (1999) Effect of carprofen on lameness in broiler chickens. *Vet. Rec.* 144 (24), 668-671.

McGlone JJ, Nicholson RI, Hellman JM, Herzog DN (1993) The development of pain in young pigs associated with castration and attempts to prevent castration induced behavioral changes. *J. Anim. Sci.* 71 (6), 1441-1446.

Molony V, Kent JE (1997) Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *J. Anim. Sci.* 75 (1), 266-272.

Nunnally JC, Bernstein IH (1994) *Psychometric Theory*. New York: McGraw-Hill.

Prunier A, Hay M, Servière J (2002) Evaluation et prévention de la douleur induite par les interventions de conenance chez le porcelet. *Journées de la Recherche Porcine*, 34, 257-268.

Prunier A, Mounier AM, Hay m (2005) Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stresshormones in young pigs, *J. Anim. Sci.* 83(1), 216-222.

Rushen J, Foxcroft G, DePassille AM (1993) Nursing-induced changes in pain sensitivity, prolactin and somatotropin in the pig. *Physiol. Behav.* 53 (2), 265-270.

Thornton PD, Waterman-Pearson AE (1999) Quantification of the pain and distress responses to castration in young lambs. *Res. Vet. Sci.* 66 (2), 107-118.

Weary DM, Fraser D (1995) Signalling need - costly signals and animal welfare assessment. *App. Anim. Behav. Sci.* 44 (2-4), 159-169.

Weary DM, Braithwaite LA, Fraser D (1998) Vocal responses to pain in piglets. *App. Anim. Behav. Sci.* 56 (2-4), 161-172.

Whay HR (1997) Pain in the lame cow. *Vet. Rec.* 50 (10), 603-609.

Zanella AJ, Broom DM, Hunter JC, Mendl MT (1996) Brain opioid receptors in relation to stereotypies, inactivity, and housing in sows. *Physiol. Behav.* 59 (4-5), 769-775.