

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



**BIENESTAR DEL LECHÓN DURANTE LA EXTIRPACIÓN
QUIRÚRGICA DE LOS TESTÍCULOS: Respuestas fisiológicas,
termográficas y evaluación del proceso de cicatrización**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

P R E S E N T A

M. en C. A. Efraín Pérez Pedraza

Comité Tutorial:

Dr. Daniel Mota Rojas (**Director**)

Dr. Miguel González Lozano (**Co-tutor**)

Dr. Ramiro Ramirez Necoechea (**Asesor**)

Noviembre 2018

“El Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo por convenio PFP-20-93”.

El alumno Efraín Pérez Pedraza del Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, recibió beca del CONACyT de agosto de 2014 a agosto de 2018, con numero de becario 379252.

El Jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco, aprobó la tesis “Bienestar del cerdo durante la extirpación quirúrgica de los testículos: Respuestas fisiológicas, termográficas y evaluación del proceso de cicatrización” que presentó Efraín Pérez Pedraza el día 30 de noviembre de 2018.

Dr. Daniel Mota Rojas

Presidente

Dr. Miguel González Lozano

Secretario

Dr. Ramiro Ramírez Necoechea

Vocal

Dra. Patricia Mora Medina

Vocal

Dr. Julio Martínez Burnes

Vocal

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a los integrantes de Comité Tutorial por la confianza, apoyo y tiempo dedicado para la realización de este trabajo, fue un honor haber trabajado bajo su tutela.

Al Dr. Daniel Mota Rojas, por haber depositado su confianza en mí para realizar este experimento que forma parte del proyecto: “Prácticas dolorosas en animales de granja” y por permitirme formar parte de su equipo de trabajo. Gracias por siempre apoyarme, por la motivación constante para superarme, por siempre exigirme más, por su paciencia y por compartirme su experiencia y conocimientos.

Gracias al Dr. Miguel González Lozano por aceptar ser parte de mi Comité Tutorial, por el tiempo dedicado a mi proyecto, por sus enseñanzas y aportaciones en la construcción de este proyecto.

Al Dr. Ramiro Ramírez Necoechea por que fue un honor para mí ser su estudiante, gracias por su apoyo y confianza.

A la Dra. Isabel Guerrero Legarreta, por sus valiosos conocimientos y por permitir que la fase experimental llegará a su fin.

Gracias a la Dra. Patricia Mora Medina por su apoyo incondicional para la culminación de este proyecto.

Al Dr. Marcelino Rosas, por la realización de los análisis estadísticos y modelos matemáticos utilizados en mis artículos científicos que dieron origen a mi tesis. Gracias por compartir su conocimiento y por siempre estar dispuesto a atenderme.

Gracias Alejandro por tu disposición para apoyar en todo momento, por tu esfuerzo y trabajo el cual fue fundamental para la realización de este proyecto. A Paloma, Patricia, Luis y Ariadna por el apoyo durante el trabajo de campo de este proyecto.

A Angie Elizabeth Vega Vidal, por el apoyo brindado para la realización del proyecto en campo.

A Bárbara porque simple y sencillamente sin ti esto no sería posible, gracias por tu comprensión, por tu paciencia, apoyo y confianza. Por siempre impulsarme a concretar este sueño y por compartir tu vida conmigo. Te amo.

Gracias Teresa por cambiar mi mundo, por ser mi motivación más grande y por qué en los momentos más difíciles una sonrisa tuya puede arreglarlo todo. Te amo.

A mis Padres por su esfuerzo y apoyo para concretar mis metas, y por qué para mí siempre serán las mejores personas del mundo y mi ejemplo a seguir.

A Carolina por aceptarme como parte de tu familia, por tu ejemplo de esfuerzo y dedicación, por toda tu ayuda, paciencia y cariño.

Gracias a mi familia Patricia, Mónica, Susana, Maximiliano, Fito, Toño, Andrea, Francisco, Carmen, Nicolás, Dante, Juan Pablo, Cristian y Alexa por siempre estar dispuestos a ayudarme.

A mis amigos Juan y Miriam por nunca dejarme solo, a José, Oscar, Norma y Juan Jorge por que verlos y estar con ustedes siempre me ayuda a seguir adelante.

Y gracias a ti Padrino por brindarme tu ejemplo, por todas tus enseñanzas y por todo el cariño que me diste, siempre te llevo en mi mente y mi corazón.

RESUMEN

El objetivo de la presente tesis fue evaluar el efecto de la anestesia, edad y técnica de castración del cerdo, sobre las respuestas fisio-metabólicas, las alteraciones de la temperatura corporal y el proceso de cicatrización de la herida, el experimento se dividió en tres fases experimentales: **Fase 1.** Con la intención de determinar el efecto de la edad de castración sobre las respuestas fisio-metabólicas y alteraciones de la temperatura superficial del lechón, se evaluaron 72 lechones machos de 5 y 13 días de edad divididos en 6 grupos: Simulación de la castración (SC5 y SC13), castración realizada con una sola incisión (C1-5 y C1-13, respectivamente) y castración realizada mediante dos incisiones sobre el escroto (C2-5 y C2-13). La evaluación de la temperatura se realizó con una cámara termográfica infrarroja portátil en tres regiones anatómicas: Los ojos (bordes del párpado y carúncula lagrimal), flanco derecho y el área escrotal, 24 h antes de la castración (VR), inmediatamente después de la cirugía (PC), 24 y 48 h posteriores a realizar la castración, así mismo, fueron evaluadas las concentraciones sanguíneas de glucosa y lactato en los mismos tiempos. Se presentó disminución de la temperatura en la carúncula lagrimal de 1.17 °C a las 24 h post-castración en los lechones del grupo C1-13 en comparación con los lechones del grupo C1-5, ($P<0.05$). La superficie del tórax presentó una temperatura infrarroja inferior en los lechones de 13 días comparado con lechones de los grupos C1-5 y C2-5, ($P<0.05$). En la evaluación PC, los lechones castrados por dos incisiones a los 13 días de edad presentaron valores superiores de glucosa comparados con los lechones de los grupos C1-5 y C2-5 ($P<0.05$). Se

encontró que independiente de la edad y el tipo de castración los valores de lactato se incrementan en el tiempo PC ($P=0.0001$). Los resultados indican que los lechones castrados a los 5 días de edad son menos susceptibles a presentar cambios de temperatura independientemente del número de incisiones utilizadas en la cirugía, además, los lechones castrados a los 13 días de edad con dos incisiones presentan un descenso de la temperatura infrarroja y desajustes en las concentraciones de glucosa y lactato. **Fase 2:** En esta fase el objetivo fue determinar el efecto del uso del anestésico y el número de incisiones sobre el perfil fisio-metabólico del lechón. La inclusión de los lechones en cada grupo se determinó por el uso de lidocaína y el número de incisiones en el escroto, los grupos fueron constituidos de la siguiente manera: Lechones castrados mediante una incisión horizontal con (C1+L) y sin el uso de lidocaína (C1), lechones castrados por dos incisiones en el escroto con y sin el uso de lidocaína (C2+L y C2), mientras que, los lechones del grupo control fueron sujetos durante 120 s simulando la castración (SIM). Se colectaron muestras de sangre 24 h previas a realizar la cirugía (VR), PC, 24, y 48 h posteriores a la castración, para determinar el perfil fisio-metabólico incluyendo pH, hematocrito (%), glucosa (mg/dL), electrolitos (Na^+ , K^+ y Ca^{++} [mmol/ L]), niveles de lactato (mg/dL), presión parcial de dióxido de carbono [pCO_2 (mmHg)], y bicarbonato (HCO_3^-). En la evaluación PC los niveles de lactato y el porcentaje de hematocrito se incrementan, mientras que el pH, HCO_3^- y BE disminuyen, estos cambios pueden ser asociados con acidosis metabólica principalmente en lechones castrados por una incisión, sin embargo, más investigación es necesaria respecto al uso de lidocaína durante la

castración quirúrgica de los lechones. **Fase 3:** Le tercera fase tuvo como objetivo determinar el efecto del número de incisiones sobre el proceso de cicatrización en el escroto y la temperatura de la herida. Se utilizaron 30 lechones de 5 días de vida, la evaluación de las temperaturas y el proceso de cicatrización en la herida fueron evaluados inmediatamente después de la castración (PC), 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la cirugía, las heridas originadas por la castración fueron evaluadas visualmente y recibieron una calificación en una escala de 1-5, dónde 1 representa una herida abierta con presencia de sangre y 5 herida completamente cerrada. La temperatura escrotal en el grupo C1 fue más elevada en las evaluaciones posteriores a las 24 h en comparación con la medición post castración (PC) ($P \leq 0.0292$). Respecto a la evaluación del proceso de cicatrización se encontraron diferencias estadísticamente significativas a las 96 h después de la cirugía ($P = 0.0198$) entre el grupo C1 de lechones castrados por una incisión horizontal (Escala: 3.16 ± 0.11) *versus* los lechones del grupo C2. En conclusión, la orquiectomía mediante dos incisiones no originó variaciones de temperatura estadísticamente significativas, sin embargo, presentan un proceso de cicatrización más lento en comparación con la castración con una sola incisión.

ABSTRACT

The aim of the thesis was to evaluate the effect of anesthesia, age, and castration technique of the pig, on the physiometabolic responses, changes in body temperature and the process of wound healing, **Phase 1:** The objective was to evaluate infrared temperature, and metabolic responses in different-aged piglets castrated surgically with one or two incisions. Seventy-two piglets were divided into groups according to age (5- and 13-days old) and the number of incisions: simulated castration (SC5 and SC13); castration with one incision (C1-5 and C1-13); and castration via two incisions (C2-5 and C2-13). Temperature evaluations were performed with an infrared thermal thermography camera in the eyes, the thorax, and the scrotal area, at 24 h before castration (Rv), immediately after castration (PC), 24 and 48 h post-surgery. The study also evaluated plasma glucose and lactate concentrations at the same times. A significant decrease in temperature of the lacrimal caruncle of 1.17 at 24 hrs post-surgery in group C1-13, compared to those in C1I5 ($P<0.05$) was observed. The thorax presented significant lower infrared temperatures in the groups C1-13 and C2-13 than those in C1-5 and C2-5 ($P<0.05$). Castrated piglets by two incisions at 13 days of age, showed higher glucose values compared to piglets castrated by a single incision (C1-5 and C2-5) ($P<0.05$). Regardless of age and type of castration, plasma lactate values increased by time PC ($P=0.0001$). The piglets castrated at five days of age were less susceptible to presenting temperature changes regardless of the number of surgical incisions, while the animals castrated at 13 days with two incisions showed lower temperatures and imbalances in plasma glucose and

lactate concentrations. **Phase 2:** The objective was to determine the effect of local anesthesia and number of incisions performed while surgically castrating piglets on their physiological profile. Sixty male 5 day-old piglets were divided into five groups of 12 each, based on the surgical method and the use or not of local anesthesia, as follows: Surgical castration using one horizontal incision in both testicles with (C1+L) and without local anesthesia(C1); surgical castration using two vertical scrotal incisions with and without local anesthesia (C2+L and C2). Piglets of the control group were held in a head-down position by their hind limbs for approximately 90 seconds simulating castration (SIM). Blood samples were collected 24 hrs before castration (VR), immediately after surgery or simulated castration (PC), and at 24 and 48 hrs post-castration to determine the physiological profiles including pH, hematocrit (%), glucose (mg/dL), electrolytes (Na^+ , K^+ and Ca^{++} [mmol/ L]), lactate levels (mg/dL), partial pressure of carbon dioxide [pCO_2 (mmHg)], and bicarbonate(HCO_3^-). The results showed an increase in lactate and hematocrit immediately after surgical or simulated castration, and a decrease of pH, HCO_3^- and BE. Surgical castration produced strong physiological profile alterations, detected by pH and HCO_3^- diminution, an increase of lactate levels and BE alterations. Such changes indicated metabolic acidosis, which is greater in surgically castrated piglets using one horizontal incision than in those castrated using two verticals. More research is necessary to evaluate the use of lidocaine during surgical castration. **Phase 3:** With the aim to determine if the number of incisions used during orchiectomy in piglets has an effect on the superficial body and scrotal temperature and the wound healing process, thirty 5-day-old male

piglets were divided into two groups, C1 castrated by a single horizontal incision and C2 by two vertical incisions. Temperatures and wound healing were evaluated immediately after castration (PC), and at 24, 48, 72, 96 and 120 hr after surgery. The wounds were scored from 1 to 5, with one still showing evidence of fresh blood and five completely healed. The scrotal temperature in C1 was higher at different postsurgical times, compared to immediately after castration (IAC) ($P \leq 0.0292$). Regarding the wound healing, lower scores statistically significant ($P = 0.0198$ and $P = 0.0261$ respectively) at 96 and 120 hr post-surgery were found in group C2 compared to C1. In conclusion, after castration by a single incision, the scrotal temperature was higher compared to the immediately after castration, possibly associated with the inflammatory response. Orchiectomy by two incisions did not show temperature variations, however, a slower healing process compared to the castration by a single incision.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 La castración del cerdo en el mundo	4
2.2 Anatomía del testículo del cerdo	5
2.2.1 Escroto	5
2.2.2 Testículos	6
2.2.3 Cordones espermáticos	6
2.2.4 Túnicas del testículo	7
2.3 El olor sexual en la carne de cerdo	7
2.3.1 Androstenona	8
2.3.2 Escatol	9
2.4 Técnicas quirúrgicas	9
2.5 Edad de castración	10
2.6. Uso de anestésico local durante la castración del cerdo	12
2.7. Lidocaína	14
2.8 Proceso de cicatrización	14
2.9 Uso de la gasometría sanguínea para la evaluación del bienestar de animales domésticos	17
2.10 Uso de la termografía infrarroja en animales	20
2.10.1 Radiación térmica	20
2.10.2 Emisividad	21
2.10.3 Aplicaciones de la termografía infrarroja en medicina veterinaria	21
3.PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	24
4.HIPÓTESIS	25
5.OBJETIVOS	26
5.1 Objetivo General:	26
5.2 Objetivos específicos:	26
6. MATERIAL Y MÉTODOS	27
6.1 Sitio del estudio	27

6.2 Nota ética	27
6.3 Características y alojamiento de los animales	27
6.4 Aplicación de lidocaína	30
6.5 Procedimiento quirúrgico	31
6.6 Muestreo sanguíneo	34
6.6.1 Muestreo sanguíneo de la fase experimental 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del	34
6.6.2 Muestreo sanguíneo de la fase experimental 2: Efecto del uso de lidocaína para realizar la castración quirúrgica del cerdo	35
6.7 Evaluación termográfica	35
6.7.1 Evaluación termográfica fase experimental 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato.	36
6.7.2 Evaluación termográfica fase experimental 3: Efecto del número de incisiones sobre el escroto en las repuestas térmicas y la evolución de la cicatrización.	39
6.8 Escala de cicatrización	39
6.9 Diseño experimental	41
6.9.1 Diseño experimental Fase 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato	41
6.9.2 Diseño experimental Fase 2: Efecto del uso de lidocaína para realizar la castración quirúrgica del cerdo	43
6.9.3 Diseño experimental Fase experimental 3. Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre la evolución de la cicatrización.	45
6.10 Análisis estadísticos	48
6.10.1 Análisis estadístico fase 1	48
6.10.2 Análisis estadístico fase 2	48
7.1 Fase experimental 1. Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato	50
7.1.1 Termografía infrarroja de la carúncula lagrimal (ocular) en lechones castrados	50
7.1.2 Termografía infrarroja de la superficie del tórax en lechones castrados	52
7.1.3 Termografía de la superficie escrotal en lechones castrados	54
7.1.5 Niveles de lactato en sangre de lechones castrados	58
7.2 Fase experimental 2. Efecto del número de incisiones en el escroto sobre el perfil fisio-metabólico en lechones	60

7.2.1 Estado de Acidosis (pH y lactato en sangre).....	60
7.2.3 Intercambio gaseoso	61
7.2.4 Equilibrio ácido-base y sistema de amortiguación	64
7.2.5 Glucosa y hematocrito	66
7.3 Fase experimental 3. Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre el proceso de cicatrización.	68
7.3.1 Evaluación termográfica.....	68
7.3.2 Evolución del proceso de cicatrización	72
8. DISCUSIÓN	75
8.1 Fase experimental 1. Efecto de la edad de castración sobre las respuestas metabólicas y termográficas.	75
8.1.1 Cambios en la temperatura superficial de lechones castrados.....	75
8.1.2 Metabolismo energético.....	79
8.2.1 Efecto del número de incisiones	80
8.2.2 Efecto del uso de un anestésico local.....	83
8.2.3 Alteraciones del perfil fisiológico posteriores a la castración.....	85
8.3 Fase 3. Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre el proceso de cicatrización	86
8.3.2 Evaluación del proceso de cicatrización	88
9. CONCLUSIONES	92
9.1 Fase 1. Efecto de la edad y número de incisiones para realizar la castración sobre las respuestas fisio-metabólicas y termográficas.....	92
9.2 Fase 2. Efecto del número de incisiones y el uso de lidocaína sobre el perfil fisio-metabólico del lechón.....	92
9.3 Fase 3. Efecto del número de incisiones utilizadas para realizar la castración sobre las respuestas termográficas y la evolución de la cicatrización	93
10. IMPLICACIONES	95
11. APLICACIONES PRÁCTICAS	96
12. ARTICULOS CIENTÍFICOS DERIVADOS DE LA TESIS	97
Artículo 1	97
Artículo 2	108
Artículo 3	115
13. REFERENCIAS DE LA TESIS	132

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Medición de la temperatura ocular (°C) (áreas pequeñas alrededor del párpado, borde del ojo y carúncula lagrimal) en lechones castrados quirúrgicamente por una o dos incisiones en el escroto a los 5 y 13 días de edad	51
Cuadro 2. Medición de la temperatura (°C) de la superficie del tórax en lechones castrados quirúrgicamente por una o dos incisiones del escroto a los 5 y 13 días de edad.	53
Cuadro 3 . Medición de la temperatura (°C) del escroto en lechones castrados por una o dos incisiones a los 5 y 13 días de edad.....	55
Cuadro 4. Concentración plasmática de glucosa(mg/dL) en lechones castrados por una o dos incisiones a los 5 y 13 días de edad antes de la cirugía y a diferentes tiempos post-cirugía.	57
Cuadro 5. Intercambio gaseoso sanguíneo en lechones orquiectomizados por una y dos incisiones, con y sin uso de anestésico local.	63
Cuadro 6. Sistema de amortiguación ácido-base en sangre de lechones orquiectomizados por una y dos incisiones en escroto, con y sin uso de anestésico local.	65
Cuadro 7. Porcentaje de hematocrito (HTC) en lechones orquiectomizados por una y dos incisiones en el escroto con y sin uso de anestésico local.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aplicación de 5 mg de lidocaína en cada testículo 10 minutos previos a la castración de lechones.	31
Figura 2. Sujeción y castración de lechones realizada por médicos veterinarios previamente entrenados.....	32
Figura 3. Secuencia de la castración quirúrgica.....	33
Figura 4. Imágenes termográficas infrarrojas de lechones castrados quirúrgicamente.	38
Figura 5. Escala de cicatrización en lechones castrados por una y dos incisiones en el escroto (Modificada de Sutherland et al., 2010).	40
Figura 6. Diseño experimental Fase 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato.	42
Figura 7. Diseño experimental Fase 2: Efecto del uso de lidocaína para realizar la castración quirúrgica del cerdo.....	44
Figura 8. Diseño experimental fase 3: Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre la evolución de la cicatrización.....	46
Figura 9. Termogramas escrotales de lechones castrados por una y dos incisiones.	47
Figura 10. Concentración plasmática de lactato (mg/dL) en lechones castrados quirúrgicamente por una o dos incisiones a los 5 y 13 días de vida antes de la cirugía y diferentes tiempos post-cirugía.	59
Figura 11. Curso de acidosis en lechones orquiectomizados por una y dos incisiones en el escroto, con y sin uso de anestésico local.....	62
Figura 12. Temperatura de la carúncula lagrimal (°C) de lechones castrados por una incisión horizontal (C1) y dos incisiones (C2).....	69
Figura 13. Temperatura (°C) del sitio donde se realizó la incisión en el escroto en lechones castrados por una y dos incisiones.....	71
Figura 14. Evolución de la cicatrización después de la cirugía y hasta las 120 h en lechones castrados por una y dos incisiones en el escroto.....	73

INDICE DE PUBLICACIONES CIENTIFICAS

Artículo1: Effect of the number of incisions and use of local anesthesia on thephysiological indicators of surgically-castrated piglets.....	97
Artículo 2: Infrared Thermography and Metabolic Changes in Castrated Piglets due to the Effects of Age and the Number of Incisions in the Testicles.....	108
Artículo 3: Infrared thermography during and post castration in piglets: Facial and scrotal temperatures and evolution of the healing process by two incision methods.....	115

1. INTRODUCCIÓN

El término castración se refiere al retiro de los testículos o a la destrucción *in situ* de la función testicular (Rault *et al.*, 2011). En el cerdo, ésta práctica es realizada con la intención de mejorar la calidad de la carne, disminuir problemas conductuales de agresividad y eliminar el olor a verraco, problema que afecta la carne de machos porcinos (Sutherland *et al.*, 2010). Hasta el 2013 en Europa cada año, 100 millones de cerdos eran sometidos a la castración (Lervik *et al.*, 2013), sin embargo, hasta el día de hoy son varias las controversias que acompañan el tema, debido principalmente a sus implicaciones adversas sobre el bienestar animal (Fàbrega *et al.*, 2009). Los testículos y la piel del escroto son inervados por nociceptores, lo cual tiene como consecuencia la percepción de dolor agudo al momento de realizar la cirugía (White *et al.*, 1995). En cerdos, la extirpación quirúrgica de los testículos se puede realizar por medio de dos incisiones verticales, o también se puede realizar con una sola incisión horizontal o vertical seguida de la exteriorización de los testículos y finalizando con el corte de los cordones espermáticos (Rault *et al.*, 2011). En este sentido, la castración es comúnmente realizada utilizando 2 incisiones verticales (78%), mientras que en menor medida mediante una sola incisión horizontal (22%) de aproximadamente 2 cm de largo (Rault *et al.*, 2011). Sin embargo, hasta el momento no existe evidencia científica que señale si el número de incisiones tiene efecto sobre la respuesta fisio-metabólica del lechón o la evolución del proceso de la cicatrización. Otro aspecto importante a corroborar en esta tesis es el hecho que se asume que los animales neonatos son menos susceptibles al dolor en comparación con

animales destetados o en crecimiento, e inclusive en algunos países como es el caso de Canadá, se recomienda realizar la castración siempre antes de los 14 días de edad (Taylor *et al.*, 2001). No obstante, los datos son contradictorios ya que algunos hallazgos científicos demuestran que la edad de castración no tiene efecto sobre el comportamiento (McGlone *et al.*, 1993) la presencia de vocalizaciones (Taylor *et al.*, 2001) o los niveles de cortisol (Kattesh *et al.*, 1996). Mientras que por el contrario también hay argumentos que indican que la castración induce respuestas fisiológicas relacionadas con dolor durante y después del procedimiento sin importar la edad a la que se realice (Bonastre *et al.*, 2016). Es por ello que cobra relevancia la aplicación de un protocolo de anestesia para reducir el dolor ocasionado por la castración y sus efectos favorables sobre el bienestar animal, reduciendo las respuestas endocrinas y de comportamiento después de la castración (Haga y Ranheim, 2005). Sin embargo, muchos productores se muestran renuentes al uso de un anestésico local previo a la cirugía debido al incremento en el costo y tiempo invertido para realizar el procedimiento (Barticciotto *et al.*, 2016). Es importante señalar que la castración al ser un evento doloroso y estresante requiere la medición y análisis de distintos tipos de parámetros entre las que destacan el comportamiento, la fisiología, la salud y la eficiencia productiva (Rault *et al.*, 2011). Al respecto, las mediciones fisiológicas han sido utilizadas como el mayor indicador de dolor y estrés, principalmente determinando los niveles de cortisol, catecolaminas, frecuencia cardíaca y el efecto sobre la función inmune (Carroll *et al.*, 2006, Marchant-Forde y Marchant-Forde, 2009). Sin embargo, varios de estos indicadores están más

relacionados con las respuestas ante un estímulo estresante crónico, por ejemplo, ante una situación aversiva los niveles de cortisol en sangre deben evaluarse al menos 10 minutos después de que el animal haya sido expuesto por primera vez al estímulo (Mormède *et al.*, 2007). En este sentido, la evaluación del grado de estrés agudo mediante la evaluación de perfiles fisiológicos (intercambio gaseoso, metabolismo energético, y el balance hídrico y mineral) es una herramienta novedosa y valida ante distintos estímulos estresantes en diversas especies como burros y mulas (Corrales-Hernández *et al.*, 2018), ovejas y corderos (Mora-Medina *et al.*, 2018), conejos (Reséndiz-Cruz *et al.*, 2018), pollos de engorda (Medina-Vara *et al.*, 2016), avestruces (Vazquez-Galindo *et al.*, 2013), perros (Mendoza-Lara *et al.*, 2012) y cerdos (Mota-Rojas *et al.*, 2012d, Roldan-Santiago *et al.*, 2015). Adicionalmente, el incremento en la temperatura corporal es un indicador valioso del grado de estrés que presenta el animal, se ha descrito un aumento en la temperatura corporal central de entre 0.5 y 1.5 ° C dentro de 10 a 15 minutos después de un evento aversivo debido a mecanismos de redistribución del flujo sanguíneo (Edgar *et al.*, 2013), por lo que la aplicación de la termografía infrarroja representa una herramienta útil y eficaz para evaluar la temperatura de un individuo de una manera no invasiva (Lahiri *et al.*, 2012).

El objetivo de la presente tesis es evaluar el efecto de la edad, uso de anestesia y técnica de castración del cerdo, sobre las respuestas fisio-metabólicas, desajustes termográficos y evaluación del proceso de cicatrización.

2. ANTECEDENTES

2.1 La castración del cerdo en el mundo

La castración es una práctica común en la producción porcina (Shi *et al.*, 2016) e históricamente se ha realizado por la obtención de beneficios como: prevención de la reproducción no deseada, modificación del comportamiento para reducir peleas entre individuos, facilitar el manejo de los animales, y mejora de la calidad de la carne en animales destinados al consumo humano (Rault *et al.*, 2011).

En Europa 100 millones de cerdos son castrados cada año, (Lervik *et al.*, 2013) y en países como Noruega, Suiza y Holanda la castración debe ser realizada únicamente por veterinarios y siempre con el uso de anestésico (Leidig *et al.*, 2009, Tuytens *et al.*, 2011). En Noruega, el uso de anestesia local combinada con analgesia ha sido obligatorio desde 2002, en Suiza desde 2010 la castración quirúrgica se realiza únicamente con la aplicación de anestesia general, adicionalmente, en Alemania desde 2009 el sistema alemán de seguridad y calidad alimentaria requiere del uso de analgesia (Aluwé *et al.*, 2015). Mientras que, en algunos países principalmente de Europa la castración quirúrgica ha sido completamente prohibida (Shi *et al.*, 2016). En este sentido, esta práctica ha generado un debate debido a su impacto negativo sobre el bienestar de los animales, dando como resultado la Declaración Europea sobre alternativas a la castración quirúrgica de cerdos. Esta declaración fue redactada por representantes de la industria cárnica, agricultores, científicos, veterinarios y ONGs bajo la coordinación de la Unión Europea con la intención de poner fin a la

práctica de la castración quirúrgica (con o sin anestesia) de cerdos en Europa antes del 1 de enero de 2018 (Borrisser-Pairó *et al.*, 2016). Sin embargo, en México hasta la fecha no existe ningún reglamento o legislación que señale o regule la castración quirúrgica del cerdo.

2.2 Anatomía del testículo del cerdo

El tracto reproductor del macho es sostenido por la pelvis, y se encuentra internamente ubicado en el abdomen, mientras que fuera de la cavidad abdominal se encuentra ubicado entre las ingles (Knox, 2003). Los genitales externos del macho se componen del pene y dos testículos, que se localizan dentro de un escroto fibroelástico cutáneo. El sistema reproductivo del macho está constituido por las siguientes estructuras: cordones espermáticos, glándulas accesorias, testículos, pene y músculos para la protrusión, erección y eyaculación (Grossman y Sisson, 2000).

2.2.1 Escroto

El escroto es un saco cutáneo que se adapta a la forma y tamaño de los testículos, la piel es plegable delgada y descubierta de pelo (Frandsen *et al.*, 1995). El escroto está situado a corta distancia del ano y no se encuentra tan marcadamente definido de las porciones circundantes como en otros animales (Briones, 2006). El escroto del cerdo presenta una posición perineal o subanal, por lo que la situación de los testículos es fácilmente identificable. Los testículos del verraco son de grandes dimensiones (Grossman y Sisson, 2000).

2.2.2 Testículos

Los testículos tienen un contorno regularmente elíptico, están situados de forma que el eje mayor se dirige dorsal y caudalmente, su borde es superficial, la cola del epidídimo es la parte más alta y la cabeza se sitúa ventralmente (Briones, 2006). Al corte transversal, el testículo presenta un parénquima de color pardo-rosáceo con una porción central más fibrosa que corresponde al mediastino del testículo, lugar donde asienta la *rete testis* (Grossman y Sisson, 2000).

2.2.3 Cordones espermáticos

En el cerdo, los cordones espermáticos comienzan en el anillo inguinal profundo, donde sus partes constituyentes se juntan, se extienden oblicua y ventralmente a través del canal inguinal, pasan sobre el lado del pene y terminan en el borde del testículo (Briones, 2006). Están formados por las siguientes estructuras:

- 1.- Arteria y venas testiculares.
- 2.- Plexo testicular de nervios autónomos.
- 3.- Conducto deferente.
- 4.-Capa visceral.

El inicio del conducto deferente es también flexuoso y se sitúa medialmente al epidídimo. Posteriormente, se incorpora al cordón espermático, y junto con él atraviesa el canal inguinal para entrar en la cavidad abdominal. Ambos conductos

deferentes confluyen a la entrada de la cavidad pelviana, situándose dorsalmente a la vejiga de la orina y medialmente a los uréteres (Grossman y Sisson, 2000).

2.2.4 Túnicas del testículo

Cada testículo consta de una masa de túbulos seminíferos, rodeados de una recia capsula fibrosa llamada túnica albugínea, de esta al interior avanzan varios tabiques fibrosos o trabéculas cuyo conjunto es una red o estroma que sostiene los túbulos, dichas trabéculas se unen en el centro de la glándula para formar un cordón fibroso llamado mediastino testicular (Frandsen *et al.*, 1995).

Los testículos, están envueltos por una cápsula, la túnica albugínea, la cual está compuesta por tejido conjuntivo denso, a su vez esta túnica la cubre la capa visceral de la túnica vaginal. De la túnica albugínea se producen los tabiques o estratos que en el caso del verraco son profundos y gruesos, y que por la parte medial del testículo se unen y forman lobulillos (Navarro, 2007).

Bajo el escroto, se encuentra otro tejido fibroelástico llamado túnica dartos, el cual al descender la temperatura provoca contracción de sus fibras musculares para colocar los testículos lo más cercano posible a la pared abdominal, por otra parte, el dartos pasa en el plano medio entre ambos testículos dividiendo ambas glándulas dentro del saco escrotal (Frandsen *et al.*, 1995).

2.3 El olor sexual en la carne de cerdo

La castración quirúrgica de los lechones machos es una práctica tradicional realizada para evitar características indeseables en la carne de cerdo (Nautrup *et*

al., 2018). Los defectos sensoriales en la carne de machos enteros (principalmente cuando es cocinada) son descritos como un olor desagradable que es conocido como olor sexual (Bernau *et al.*, 2018, Font i Furnols *et al.*, 2001).

Dicha característica indeseable en la carne esta originada por dos sustancias:

Una de ellas es la androsterona, que es una feromona sexual masculina que se libera por los testículos a partir de la semana 13 de vida, mientras que el escatol es una sustancia de degradación bacteriana a partir del triptófano en el intestino grueso, y que afecta a los cerdos por igual independientemente del sexo (Quiles, 2009).

2.3.1 Androstenona

La androstenona es un esteroide que se produce en el tejido intersticial de los testículos y sus niveles están directamente relacionados con la actividad testicular y aumentan drásticamente durante la pubertad (Nautrup *et al.*, 2018). La androstenona es un esteroide anabólico cuya función es de feromona sexual de marcaje y se libera en el ambiente para inducir a las hembras a una respuesta de apareamiento y es comúnmente asociada con el olor de la orina o la transpiración (Font i Furnols *et al.*, 2001). Esta feromona sexual es comúnmente asociada al olor a orina y transpiración que puede detectarse en la carne de cerdo. Se sintetiza en las células de Leydig de los testículos y mediante la sangre, se transporta y acumula de manera reversible, en el tejido adiposo, una parte de la androstenona, sin embargo, se elimina por la saliva, la orina o se cataboliza en el hígado (Font i Furnols y Oliver, 2002).

2.3.2 Escatol

Escatol, es un metabolito producto de la degradación bacteriana del triptófano aminoácido de la dieta, al incrementarse las concentraciones de escatol este tiende a acumularse en el tejido adiposo (Nautrup *et al.*, 2018). El escatol crea un efecto sinérgico con la androsterona aumentando el olor sexual, y dietas altas en carbohidratos causan su reducción en la grasa. Los aditivos alimenticios antibióticos reducen el escatol por reducción de la biomasa microbiana en el intestino (Font i Furnols y Oliver, 2002). El escatol es neutralizado en el hígado, sin embargo, la presencia de hormonas masculinas impide este proceso, de ahí su mayor presencia en machos enteros (Quiles, 2009).

2.4 Técnicas quirúrgicas

La técnicas quirúrgicas utilizadas para realizar la gonadectomía (castración) varían dependiendo de cada país y persona que lo realiza, sin embargo, en la mayoría de los casos el escroto es incidido con una hoja de bisturí realizando dos incisiones verticales una sobre cada testículo y en un menor número de ocasiones se utiliza una sola incisión horizontal de aproximadamente 2 cm de ancho entre ambos testículos, posteriormente se realiza la separación del tejido que rodea a cada testículo, ambos son exteriorizados y removidos mediante el corte de los cordones espermáticos; lo más común es cortar los cordones con la hoja del bisturí o jalar y desgarrar los cordones; esta última técnica está prohibida en Europa (Fredriksen *et al.*, 2009).

2. 5 Edad de castración

Los lechones machos son castrados quirúrgicamente con la intención de eliminar características indeseables en la carne y disminución de comportamientos agresivos y comúnmente es realizada sin mitigación del dolor durante la primera semana de vida (Maršálek *et al.*, 2011).

Durante los primeros días de vida los lechones son sometidos a una serie de prácticas rutinarias de dudosa efectividad, enfocadas supuestamente a prevenir problemas subsiguientes de salud y bienestar para ellos u otros individuos, por ejemplo, el corte de cola se realiza para disminuir la mordedura de colas entre individuos (Hunter *et al.*, 2001), el descolmillado para evitar que los lechones provoquen lesiones a sus compañeros y las tetas de la cerda durante el amamantamiento (Lewis *et al.*, 2005) y la aplicación de hierro para la prevención de anemias (Marchant-Forde *et al.*, 2014).

En la práctica, la castración quirúrgica por lo general se lleva a cabo sin alivio del dolor, por lo que esta práctica ha sido criticada cada vez más. Hoy no existe evidencia científica que señale que el procedimiento es menos doloroso conforme la edad del animal se reduce (Heid y Hamm, 2013). Diversos estudios indican que lechones castrados durante la primera semana de vida, no presentan menos dolor que aquellos que son castrados a las 2 o 3 semanas (Taylor *et al.*, 2001). Por otra parte, algunos estudios sugieren que, al castrar cerdos muy jóvenes, entre 1 y 3 días de edad, éstos pueden presentar una disminución en el crecimiento debido a que la castración puede influir en el establecimiento del orden de la teta, lo que puede poner en desventaja a un cerdo castrado para competir por las tetas más

productivas (Hay *et al.*, 2003). Por su parte, Heinritzi *et al.* (2006) señalan que cerdos castrados a los 4 días de edad comparados con cerdos castrados a los 7, 10 y 28 días presentan una mejor recuperación en las heridas ocasionadas por la castración. No obstante, los datos son contradictorios. Por ejemplo, al comparar los niveles de cortisol y el desempeño productivo de cerdos castrados a los 3, 6, 9 o 12 días de edad Carroll *et al.* (2006) encontraron incrementos similares en los niveles de cortisol en todas las edades, aunado a ello, dichos autores reportaron también que la edad en la que se realice la castración no tiene efecto sobre la ganancia de peso en lechones. Asimismo, al castrar lechones a los días 1, 5, 10, 15, o 20 días de edad, McGlone *et al.* (1993) encontraron que los lechones presentan comportamientos similares sin importar la edad en que realice la cirugía. Resultados similares son descritos por Taylor *et al.* (2001) al comparar cerdos castrados a los 3, 10 o 17 días y no encontrar diferencias en la frecuencia de las vocalizaciones por efecto de la edad. Asimismo, Kattesh *et al.*, (1996) señalan que, al castrar cerdos de 7 y 14 días de edad, no se encuentran diferencias en los niveles de cortisol.

Adicionalmente, una creencia arraigada entre productores señala que la castración quirúrgica en neonatos es menos dolorosa debido a un sistema nervioso inmaduro que limitaría la capacidad del lechón para percibir dolor, sin embargo, estudios recientes señalan que la capacidad de los mamíferos para experimentar dolor no está influenciada por la edad (Fitzgerald y Beggs, 2001). En otro estudio, al comparar lechones sometidos a castración quirúrgica a los 3, 6, 9 o 12 días de edad, Carroll *et al.* (2006) observaron aumentos similares en los niveles

plasmáticos de cortisol. Este aumento en el cortisol plasmático después de la castración fue acompañado por un aumento en la frecuencia cardíaca, independientemente de la edad de los lechones. De manera similar, no hubo influencia de la edad en la castración sobre la tasa de crecimiento de los lechones durante los días siguientes. Lo que indicaría que la castración es estresante sin importar la edad a la que se realiza, además, la edad de castración no tendría efecto sobre el desempeño productivo de los animales.

2.6. Uso de anestésico local durante la castración del cerdo

El procedimiento quirúrgico de la castración alrededor del mundo es comúnmente realizado sin el uso de algún anestésico (EFSA, 2004) a sabiendas de que la extirpación quirúrgica de los testículos es considerada como un procedimiento doloroso y estresante, demostrable por una serie de cambios fisiológicos y de comportamiento que son claros indicativos de dolor y estrés (Rault *et al.*, 2011).

Existe evidencia de que los lechones castrados sin anestesia muestran una fuerte respuesta al procedimiento mediante el incremento de vocalizaciones comparados con lechones que fueron castrados utilizando anestesia local. Sin embargo, existe la polémica de si la administración de un anestésico produce más dolor y estrés que la cirugía por si sola (Hay *et al.*, 2003, Leidig *et al.*, 2009).

En este sentido, la aplicación de lidocaína es considerada por algunos productores como un procedimiento poco práctico debido a la sujeción extra que implica la administración del fármaco, aun a sabiendas de que la aplicación de agentes

anestésicos puede reducir el dolor ocasionado por la castración, y en algunos casos el dolor postoperatorio (Taylor *et al.*, 2001).

Datos de Europa señalan que el 95% de los veterinarios utilizan lidocaína al 2% con adrenalina como anestésico durante la castración de cerdos, debido a que es poco frecuente la presencia de problemas postoperatorios. Además, el 72 % de los veterinarios que realizan esta práctica nunca han experimentado la muerte de un lechón después de la castración (Fredriksen y Nafstad, 2006).

El uso de anestesia general en granja es complicada de realizarse por cuestiones prácticas, principalmente debido al periodo de recuperación de la anestesia (Rault *et al.*, 2011). Por lo tanto, el uso de un anestésico local como la aplicación de lidocaína inyectada directamente en los testículos, o en los cordones espermáticos, es considerada efectiva para reducir el dolor agudo provocado por la castración (Von Borell *et al.*, 2009). Asimismo, la castración con lidocaína intratesticular en el saco escrotal ha demostrado reducir la producción de hormonas y de respuestas en el comportamiento asociadas con el dolor (Thun *et al.*, 2006), además se sabe que la aplicación de un anestésico reduce la presión sanguínea, frecuencia cardíaca, vocalizaciones y las respuestas conductuales en cerdos (Sutherland *et al.*, 2012).

Uno de los indicadores asociados con la respuesta al dolor que más se han evaluado en lechones castrados son las vocalizaciones, en este sentido, Hasson *et al.*, (2011) señalan que cerdos castrados con el uso de anestesia local (lidocaína) emiten menos vocalizaciones y de menor intensidad en comparación

con cerdos castrados sin anestesia, lo que coincide con los resultados señalados por Von Borell *et al.* (2009). En contraste, resultados de Leidig *et al.* (2009) señalan que las vocalizaciones emitidas por cerdos castrados con uso de un anestésico local son similares a las emitidas por cerdos castrados sin el uso de un anestésico.

Resulta importante señalar que la información disponible acerca del uso de anestésicos en lechones aun es contradictoria. Sin embargo, debe garantizarse el alivio de dolor en los lechones castrados, tratando de que el método elegido sea práctico para su aplicación en condiciones comerciales, que genere el menor grado de estrés posible, una recuperación rápida, además de que sea rentable para el productor y de esta manera favorecer su implementación rutinaria.

2.7. Lidocaína

La lidocaína es un anestésico local antiarrítmico (2-(dietilamino)-N-(2,6-dimetil fenil) acetamida), el cual impide la generación y la propagación del impulso nervioso a través de reducir la permeabilidad de la membrana a los iones de sodio y potasio; debido al aumento de la presión superficial de la capa lipídica de la membrana, al desorden de esta estructura celular, el desplazamiento de los iones de calcio y la combinación de receptores específicos en los canales de sodio (Rodríguez, 2005).

2.8 Proceso de cicatrización

La cicatrización de heridas es un proceso fisiológico importante para mantener la integridad de la piel después de un traumatismo (Wang *et al.*, 2017). La

cicatrización es un proceso dinámico mediado por proteínas solubles (citocinas y factores de crecimiento) y células encargadas de la proliferación celular para el restablecimiento del tejido lesionado (Valencia Basto, 2010).

La reparación de heridas es un proceso multifacético cuyas fases pueden clasificarse como: fase de inflamación, fase de proliferación y remodelación (Wang *et al.*, 2017).

En la fase aguda o inflamatoria, se destacan por su actividad el Factor de Crecimiento Transformante *beta* (TGF β), Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF), y Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos (G-CSF), junto con interleucinas implicadas en la inflamación (EGF), Factor de Crecimiento de los Queratinocitos (KGF), Factor de Crecimiento de los Fibroblastos Básico (bFGF), Factor de Necrosis Tumoral (TNF), Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF), Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) e IGF (Factor de Crecimiento Insulínico). Finalmente, la etapa de remodelación es conducida por factores como: Factor de Crecimiento de los Hepatocitos (HGF), KGF, EGF, bFGF, TGF β y PDGF (Valencia Basto, 2010).

Los neutrófilos son las primeras células que aparecen en el sitio de la lesión para realizar la fagocitosis de bacterias para proporcionar el medio óptimo para la curación de la herida, posteriormente, los macrófagos se acumulan para realizar la fagocitosis de bacterias y del tejido dañado (Wang *et al.*, 2017).

2.8 Implicaciones de la castración en el bienestar animal

La evaluación del comportamiento también ha servido para la evaluación del dolor y grado de estrés por el que cursa el lechón. La evaluación del comportamiento incluye entre otras variables la locomoción anormal, el mover la cabeza hacia los miembros posteriores, el levantamiento de las piernas del tren posterior y movimientos lentos de la cola, las cuales han sido utilizadas como indicadores de dolor asociados a la extirpación quirúrgica de los testículos (Wemelsfelder y Van Putten, 1985). Aunado a ello, la valoración de las vocalizaciones ha sido también de gran utilidad debido a que se ha demostrado que los cerdos jóvenes responden a la castración mediante la emisión de vocalizaciones de alta frecuencia (>1000Hz) (Taylor *et al.*, 2001).

Los cerdos responden al dolor mediante la emisión de vocalizaciones, así como modificaciones fisiológicas y de comportamiento (agresión, respuestas de miedo y escape, automutilación, sudoración, postración y vocalizaciones) (Hansson y Lundeheim, 2012, Taylor y Weary, 2000). Estudios realizados por Puppe *et al.* (2005) demostraron que el dolor agudo provocado por la castración quirúrgica tiene como consecuencia el deterioro del bienestar del animal. Esto debido a que la castración quirúrgica tiene como resultado la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales, con el consecuente incremento en plasma de la hormona adrenocorticotropica (ACTH) y cortisol (Prunier *et al.*, 2005). Asimismo, las emociones del animal modulan la presencia de vocalizaciones; las áreas del cerebro que controlan la presencia de vocalizaciones son la corteza sensorial y el sistema límbico (Puppe *et al.*, 2005).

Varios pasos del procedimiento quirúrgico de la castración son dolorosos para el lechón. Algunos estudios han comparado el efecto de la sujeción del cerdo, el lavado de la región ano-genital, la incisión escrotal y la tracción para la rotura de los cordones espermáticos sobre la presencia de vocalizaciones. Por ejemplo, Taylor y Weary (2000) reportaron que la incisión sobre el escroto provocó vocalizaciones de mayor frecuencia en comparación con la sujeción del cerdo, asimismo, la incisión escrotal provoca aumento en la cantidad e intensidad de las vocalizaciones en comparación con la sujeción del cerdo y el lavado de la región ano-genital. Sin embargo, la rotura de los cordones espermáticos es el componente de la castración que más dolor provoca en los lechones, comprometiendo su bienestar, especialmente cuando es practicada sin anestesia (Puppe *et al.*, 2005). Aunado al dolor inmediato, después del procedimiento se presenta dolor crónico post-quirúrgico que puede prolongarse hasta por 5 días y que generalmente no es tratado con terapia analgésica (Hay *et al.*, 2003).

2.9 Uso de la gasometría sanguínea para la evaluación del bienestar de animales domésticos

Los animales responden a estímulos estresantes mediante varios mecanismos fisiológicos de adaptación como la secreción de catecolaminas, corticoides y opioides endógenos, además de incremento en el gasto cardíaco, aumento en el consumo de oxígeno, alteraciones de la temperatura corporal, disminución del pH sanguíneo y acumulación de ácido láctico (Le Bars *et al.*, 2001; Mota-Rojas *et al.*, 2012a).

En este sentido, la evaluación del grado de estrés mediante el uso del perfil fisiometabólico permite la valoración del intercambio mineral, ácido-base y gases en sangre que proporcionan información importante al estimar el grado de oxigenación, los perfiles biofísicos y el balance ácido-base, permitiendo la detección de alteraciones en las concentraciones de pO_2 , saturación de oxígeno (SaO_2), pCO_2 , lactato, bicarbonato, hematocrito y pH (Mota-Rojas *et al.*, 2012b). La valoración del perfil fisiometabólico ha sido utilizado para evaluar el grado de oxigenación de la sangre, el cual puede alterarse en desordenes en el organismo como un metabolismo anaerobio en animales y humanos, que a su vez, puede relacionarse con alteraciones del equilibrio ácido-base reflejado por las concentraciones de lactato y el déficit de base (Sabogal *et al.*, 2014).

En este sentido, el lactato es un metabolito que causa glucogenólisis muscular debido a la falta de glucosa 6 fosfato, que es necesaria para la síntesis de glucógeno, el lactato que se forma en el músculo es transportado por la sangre al hígado, donde se transforma en glucosa (Mota-Rojas *et al.*, 2012c). Este sistema genera únicamente 2 moléculas de ATP, el lactato es usado posteriormente como combustible metabólico a través del ciclo de Cori o del ácido láctico (Sabogal *et al.*, 2014).

Por ejemplo, el ejercicio muscular provoca una alta demanda de oxígeno, producto de una contracción muscular sostenida que da como resultado la activación de la glucólisis anaeróbica generando un aumento del lactato y la consiguiente fatiga muscular (Mota-Rojas *et al.*, 2011; Bolaños-López *et al.*, 2014b).

En este sentido se ha reportado que cerdos que recuperaron la conciencia después de ser aturdidos presentan desequilibrios fisiometabólicos y ataques de ansiedad que desencadenan la liberación de catecolaminas, que a su vez causan aumento en la frecuencia cardíaca, el consumo de oxígeno y la temperatura corporal, al tiempo que disminuye el pH y origina acumulación de ácido láctico (Bolaños-López *et al.*, 2014b).

Por otra parte, los valores de glucosa son considerados como un indicador indirecto del estrés, la glucemia es regulada bajo control hormonal; pudiendo influir el glucagón, glucocorticoides, epinefrina, hormonas tiroideas, hormona del crecimiento y la progesterona debido a su efecto hiperglucémico y actúan activando la gluconeogénesis y glucogenólisis, como respuesta al estrés los niveles de glucosa aumentan debido a la secreción de catecolaminas y glucocorticoides (Mota-Rojas *et al.*, 2010).

Asimismo, el incremento en el hematocrito es atribuido a la contracción esplénica, por ejemplo, en cerdos transportados presentan un incremento del 20% respecto a los niveles basales, la contracción esplénica es consecuencia de la liberación de catecolaminas debido a la estimulación del sistema nervioso (Mota-Rojas *et al.*, 2012a).

Sin embargo, hasta el día de hoy no hay información que señale el efecto de la castración quirúrgica sobre el perfil fisio-metabólico del lechón.

2.10 Uso de la termografía infrarroja en animales

La temperatura corporal es un parámetro fisiológico particularmente valioso, y sus variaciones están estrechamente relacionadas con muchas funciones del organismo (Nord *et al.*, 2016). En este sentido se ha propuesto el uso de cámaras termográficas infrarrojas como una herramienta no invasiva que permite la evaluación precisa de la superficie corporal de los animales (Knížková *et al.*, 2007), la termografía en animales de granja ha sido utilizada como una herramienta para evaluar cambios en la temperatura corporal de los animales ante diversos estímulos, tales como, la identificación de procesos inflamatorios como mastitis, procesos febriles, trastornos respiratorios, termorregulación y aspectos reproductivos (Cook *et al.*, 2015, McCafferty *et al.*, 2011, Menegassi *et al.*, 2016).

2.10.1 Radiación térmica

La energía térmica o radiación infrarroja consiste en ondas electromagnéticas emitidas por un cuerpo que no son detectables por el ojo humano (Redaelli *et al.*, 2014). Las cámaras térmicas tienen la capacidad de absorber dicha radiación infrarroja emitida y utilizarla para formar una imagen a partir de las variaciones en la temperatura de dicha superficie (Okada *et al.*, 2013). Resulta importante mencionar que la termografía es capaz de detectar y generar mediciones de cualquier objeto que presente una temperatura mayor al cero absoluto (-273.16°C) (Redaelli *et al.*, 2014, Godyń *et al.*, 2013).

2.10.2 Emisividad

Un factor de suma importancia a considerar cuando se usa la termografía infrarroja es la emisividad, la cual se define como la capacidad de un cuerpo de emitir y absorber radiación (McCafferty *et al.*, 2011, Schwartzkopf-Genswein y Stookey, 1997).

La capacidad de absorber o emitir calor por parte de los animales puede estar influenciada por varios factores. Un estudio realizado en cerdos adultos con el objetivo de determinar la emisividad de la piel señala que, después de realizar mediciones en varias regiones corporales (hombro, base de la oreja, ubre) los valores pueden encontrarse entre 0.96 y 0.98 (Soerensen *et al.*, 2014).

2.10.3 Aplicaciones de la termografía infrarroja en medicina veterinaria

Ante la necesidad de métodos no invasivos para medir variables fisiológicas en animales, el uso de cámaras termográficas infrarrojas ha sido una herramienta útil para evaluar la temperatura corporal en distintas especies animales, presentando grandes ventajas en comparación con los métodos tradicionales como el termómetro de mercurio, principalmente al evitar la sujeción de los animales y la obtención de medidas continuas en tiempo real (Pérez-Pedraza, 2018).

Al respecto, la termografía ha sido utilizada en animales principalmente para la evaluación de cambios en la temperatura originados por procesos inflamatorios o distintas patologías, por ejemplo en bovinos ha sido utilizada para detectar mastitis subclínica, ya que se ha identificado un incremento en la temperatura de ubres con mastitis de 2.35°C en comparación con ubres sanas (conteo de células

somáticas $\leq 400,000$ células/ml) lo cual representa una herramienta sumamente útil para veterinarios y productores para la identificación de mastitis subclínica y por consiguiente para la inmediata aplicación de tratamiento (Polat *et al.*, 2010).

Asimismo, la termografía ha servido para identificar el ganado infectado por el virus de la fiebre aftosa antes y después del desarrollo de signos clínicos, midiendo las temperaturas máximas de animales sanos ($n = 53$), animales inoculados ($n = 12$), animales en contacto con animales que fueron directamente inoculados ($n = 6$) y aplicación de vacuna ($n = 21$). Se estableció un valor de corte de 34.4°C (sensibilidad = 61.1%, especificidad = 87.7%) con el objetivo de detectar animales infectados tanto antes como después de que se observaran signos clínicos. Siete de 12 (58%) de los inoculados y 3/6 (50%) de los animales en contacto mostraron temperaturas máximas de las patas, superiores al límite de 34.4°C antes del desarrollo de vesículas del pie, mientras que, solo 5/21 (24%) de los animales vacunados mostraron temperaturas del pie preclínicas por encima de este punto de corte. Por lo que los resultados muestran que la termografía sirve como una herramienta para identificar rápidamente animales potencialmente infectados y posteriormente realizar pruebas diagnósticas confirmatorias (Rainwater-Lovett *et al.*, 2009).

Por otra parte, en un estudio en pollos de engorda, cuyo objetivo fue determinar el efecto de la sujeción sobre la temperatura de las patas, Moe *et al.* (2017) indicaron que la sujeción por 10 minutos origina disminución de la temperatura en esta región ($p < 0.001$, -0.45°C), así mismo, la temperatura superficial de la cabeza (fosa nasal, cresta, el ojo y temperatura promedio de la cabeza) aumentó ($p =$

0.004, 0.76 ° C), dichas modificaciones en la temperatura pueden ser asociadas con la hipertermia inducida por estrés.

Sin embargo, hasta el momento no existen estudios que evalúen el efecto de la castración quirúrgica sobre los cambios en la temperatura superficial del lechón, ya que están más enfocados los estudios de termografía en cerdos a la evaluación de la pérdida de calor al nacimiento y durante su estancia en corrales de descanso en el rastro.

3.PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los desajustes en la temperatura superficial del lechón y en los niveles de glucosa y lactato en sangre originados por la castración quirúrgica a los 5 y 13 días de vida?

¿El uso de lidocaína previo a realizar la castración del cerdo disminuye los desajustes del equilibrio ácido-base, intercambio gaseoso y equilibrio mineral?

¿El número de incisiones utilizado para realizar la castración quirúrgica tiene efecto sobre la evolución de la cicatrización del escroto?

4.HIPÓTESIS

La temperatura de la carúncula lagrimal, superficie del tórax, la herida en el escroto y los niveles de glucosa y lactato en sangre se incrementarán inmediatamente después de realizar castración en mayor medida en lechones de 13 días de vida, en comparación con lechones más jóvenes (5 días de vida).

Los desajustes de equilibrio ácido-base, intercambio gaseoso y equilibrio mineral serán más pronunciados en lechones castrados sin el uso de lidocaína.

Los lechones castrados por una incisión presentarán puntuaciones más cercanas a la cicatrización antes que los lechones castrados por dos incisiones.

5.OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

Evaluar el efecto de la anestesia, edad y técnica de castración del cerdo, en las respuestas fisio-metabólicas, desajustes termográficos y evaluación del proceso de cicatrización.

5.2 Objetivos específicos:

1. Evaluar el efecto de la castración a los 5 y 13 días de vida del lechón, en las alteraciones en la temperatura superficial de la carúncula lagrimal y regiones torácica y escrotal.
2. Evaluar el efecto de la edad de castración del cerdo en los valores de glucosa y lactato sanguíneos.
3. Determinar si el uso de lidocaína previo a la castración del cerdo disminuye los desajustes del equilibrio ácido-base, intercambio gaseoso y equilibrio mineral.
4. Comparar el efecto de la sujeción y el número de incisiones realizadas en el escroto sobre los desajustes del equilibrio ácido-base, intercambio gaseoso y equilibrio mineral en cerdos inmediatamente después de realizar la extirpación quirúrgica de los testículos.
5. Determinar si el número de incisiones sobre el escroto tiene un efecto sobre la evolución del proceso de cicatrización.
6. Evaluar las alteraciones de la temperatura superficial del lechón y su relación con el proceso de cicatrización en el escroto.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Sitio del estudio

El presente estudio fue realizado en una granja comercial de producción porcina en la localidad de Amecameca Estado de México, situada en la Sierra Nevada y ubicada en el eje volcánico de la cuenca del río Moctezuma-Pánuco, las coordenadas geográficas son longitud (98° 37' 34" y 98° 49' 10"; latitud 19° 3' 12" y 19° 11' 2").

6.2 Nota ética

Durante el desarrollo de las distintas fases experimentales todos los animales fueron tratados cordialmente, los procedimientos relacionados con el uso y cuidado de los animales para experimentación siguieron estrictamente la regulación de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (NOM 1999).

Las fases experimentales fueron realizadas en una granja comercial de producción porcina ubicada en Amecameca en el Estado de México después de obtener la aprobación de la Comisión del Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa-Xochimilco con el Código de Ética de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki). Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo con los lineamientos para el uso ético de animales (Sherwin *et al.*, 2003).

6.3 Características y alojamiento de los animales

Los datos se obtuvieron de lechones machos de 5 y de 13 días de edad (Yorkshire x Landrace) con un peso de 1.68 ± 0.40 y 5.46 ± 1.01 kg, respectivamente. Los lechones se obtuvieron de 12 camadas, únicamente de cerdas de tercer parto, los lechones con anomalías en la posición de los testículos (criptorquidismo unilateral o bilateral, hernias escrotales etc.) o signos de enfermedad sistémica fueron excluidos. Se siguieron los procedimientos de rutina de la granja al día 3 posparto todos los lechones recibieron una inyección de 1 ml (100 mg) de Fe^{3+} en forma de hierro dextran, y posteriormente se colocaron nuevamente en la jaula de parto con su madre.

En los lechones utilizados durante el experimento no se practicó el descolmillado ni corte de cola. Las cerdas y sus camadas se alojaron en corrales de 1.9-2.5 m², la cerda se mantuvo en jaulas individuales de parto fabricadas de tubo. Las dimensiones fueron de 2.07 m de largo x 0.60 m de ancho x 101 m de alto, con un espacio total incluyendo el área para lechones de 2 m de ancho por 2.5 m de largo. Cada jaula estaba equipada con un alimentador de acero inoxidable de 50 cm y un bebedero con boquilla, para la cerda.

Se utilizó una lámpara radiante eléctrica para calentar el cajón microclimático. Cada habitación tenía 12 jaulas de partos, colocadas en dos filas de seis corraletas separadas por un pasillo. Las corraletas tenían pisos completamente enrejados hechos de malla de alambre, cubiertos de plástico.

La ventilación y la temperatura fueron controladas automáticamente por ventiladores y calefacción por aire (27° C y 60% de humedad relativa en la sala de

maternidad). Las cerdas y los lechones tuvieron acceso *ad libitum* al agua en bebederos de chupón separado. Desde el primer día posparto, todos los lechones fueron pesados y marcados con un número en el lomo, fueron utilizados distintos colores para diferenciar a los grupos experimentales, estos procedimientos se realizaron por la misma persona.

El proyecto fue dividido en 3 fases experimentales para lo cual fueron utilizados 60 lechones, 30 lechones de 5 días y 30 lechones de 13 días de vida.

Para la **fase experimental 1**, los lechones fueron designados aleatoriamente en 6 grupos de 10 lechones cada uno, los grupos quedaron constituidos de la siguiente manera: Lechones de 5 días de vida en los que se simuló la castración quirúrgica (**SC5, n=10**), lechones de 5 días de vida castrados por una incisión horizontal en el escroto (**C1-5, n=10**), lechones de 5 días de vida castrados por dos incisiones verticales en el escroto (**C2-5, n=10**), lechones de 13 días de vida en los que se simuló la castración quirúrgica (**SC13, n=10**), lechones de 13 días castrados por una incisión horizontal en el escroto (**C1-13, n=10**) y lechones de 13 días de vida castrados por dos incisiones verticales en el escroto (**C2-13, n=10**). En la **fase experimental 2**, sesenta lechones de 5 días de edad fueron designados a 5 grupos de 12 lechones cada uno, determinados por la aplicación de lidocaína y número de incisiones: Lechones en los que se simuló (**SIM, n=12**), lechones castrados por una incisión horizontal en el escroto sin aplicación de lidocaína (**C1, n=12**), lechones castrados por una incisión horizontal en el escroto con aplicación de lidocaína (**C1+L, n=12**), lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto sin aplicación de lidocaína (**C2, n=12**) y lechones castrados por dos

incisiones verticales en el escroto con aplicación de lidocaína (**C2+L, n=12**). Por último, en la **fase experimental 3**, treinta lechones fueron designados a dos grupos experimentales dependiendo el número de incisiones mediante el que fueron castrados: Lechones castrados por una incisión horizontal en el escroto (**C1, n=15**) y lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto (**C2, n=15**).

6.4 Aplicación de lidocaína

Antes de realizar la castración, el área escrotal fue limpiada superficialmente con alcohol isopropílico, posteriormente, como anestésico local se utilizó Lidocaína 10 mg/ml (Pisacaína 2%, Pisa® Laboratorios, S.A. de C.V., México), aplicando 0.5 ml inyectados en cada testículo de acuerdo a lo descrito por Hansson y Lundenheim (2012), con la intención que se extendiera desde el sitio de aplicación hasta los cordones espermáticos. Una vez aplicado el anestésico los lechones fueron devueltos a la corraleta en espera de la castración. La lidocaína se administró al menos 10 minutos antes de la castración de acuerdo con la metodología empleada por Kluivers-Poodt *et al.*(2012) (**Figura1**).

Es importante señalar que la aplicación de lidocaína no fue realizada en los lechones de los grupos C1 y C2 de la fase experimental 2, con la intención de evaluar la castración sin el uso de anestésico.



Figura 1. Aplicación de 5 mg de lidocaína en cada testículo 10 minutos previos a la castración de lechones.

6.5 Procedimiento quirúrgico

La cirugía de los lechones fue realizada por un médico veterinario experto en el procedimiento, un ayudante con previa capacitación sujetó al animal para poder realizar la castración (**Figura 2**). La piel sobre el escroto se tensó con una mano para ayudar a exponer los testículos y el sitio de la incisión. Dependiendo del tratamiento, se realizaron una incisión horizontal o dos incisiones verticales en el escroto de alrededor de 10 mm de largo con el uso de una hoja de bisturí para exponer los testículos, posteriormente, la túnica vaginal y cordones espermáticos fueron cortados (Barticciotto *et al.*, 2016, Bonastre *et al.*, 2016) (**Figura 3**).

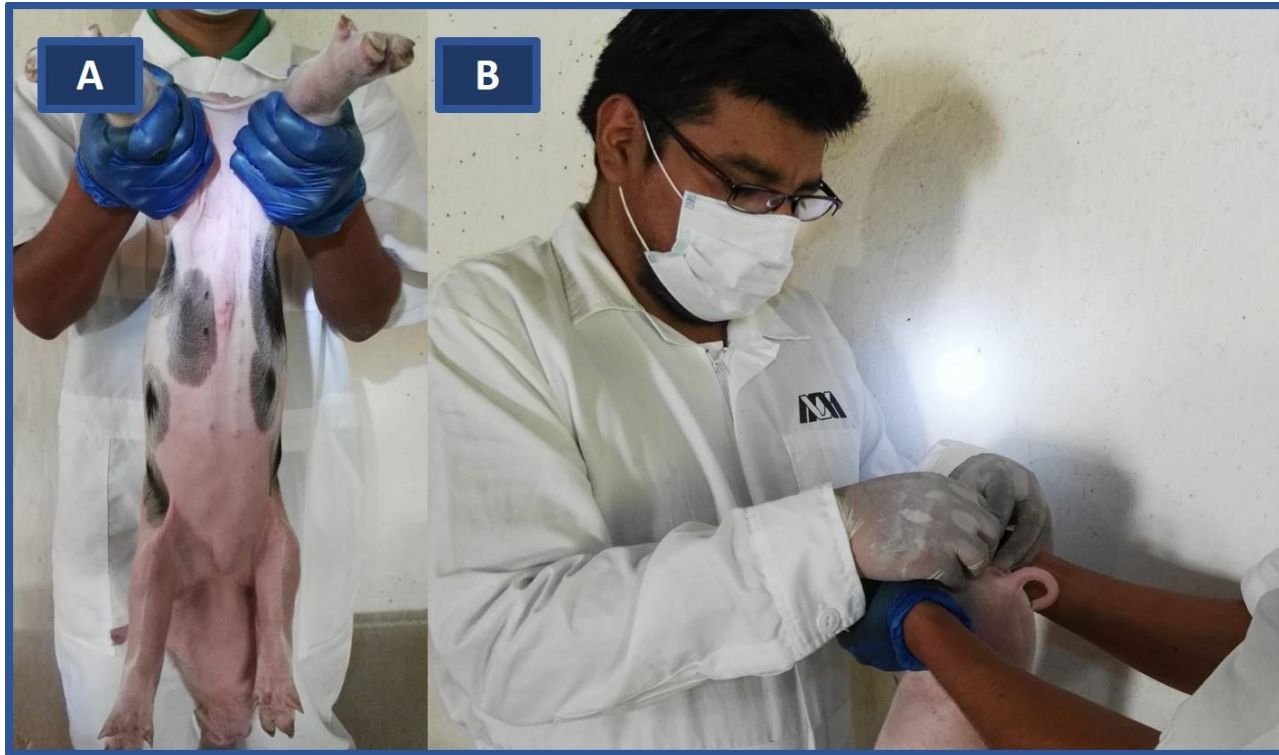


Figura 2. Sujeción y castración de lechones realizada por médicos veterinarios previamente entrenados.

A) Sujeción de lechón para realizar la cirugía por ayudante previamente capacitado, B) Procedimiento de orquiectomía realizado por personal con entrenamiento previo.

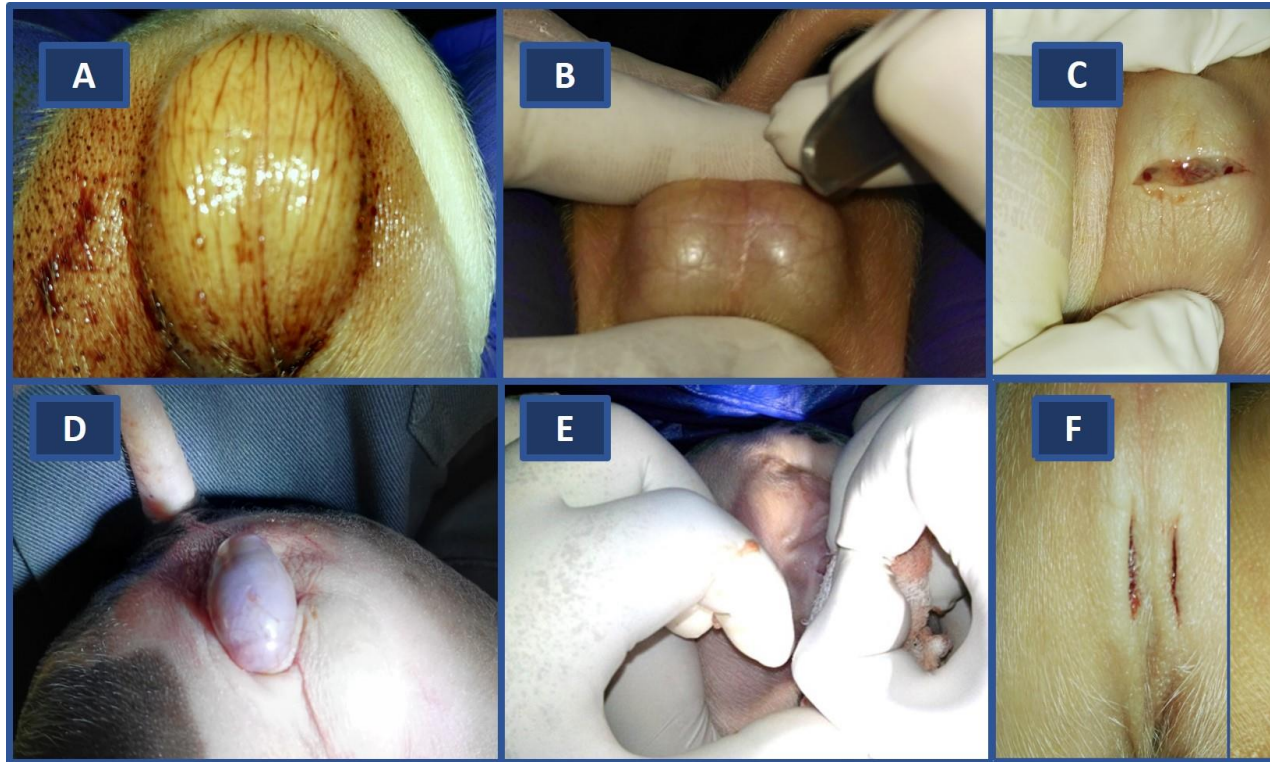


Figura 3. Secuencia de la castración quirúrgica

A) Desinfección del escroto previo a realizar la cirugía, B) Incisión sobre el escroto, C) Manipulación y exteriorización de los testículos, D) Exteriorización de los testículos, E) Corte de los cordones espermáticos, F) Resultado final de la castración con dos incisiones verticales y por una incisión horizontal.

6.6 Muestreo sanguíneo

Todas las muestras de sangre fueron obtenidas de la vena cava anterior en un periodo menor a 20 s mediante la contención física del lechón en la misma posición utilizada para el procedimiento quirúrgico. Todo el personal que colaboró en el muestreo fue previamente capacitado. Después de la obtención de 150 μ L de sangre, las muestras fueron procesadas en un analizador de electrolitos y gases en sangre (GEM Premier, Instrumentation Laboratory Co., Lexington, USA and Instrumentation Laboratory SpA, Milano, Italy).

6.6.1 Muestreo sanguíneo de la fase experimental 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato

Las muestras de sangre fueron colectadas 24 h previas a realizar o simular la castración (VR), inmediatamente después de realizar la cirugía (PC), 24 y 48 h posteriores a la castración.

Inmediatamente después de la obtención de la muestra, 150 μ L fueron procesados por personal capacitado mediante un analizador de electrolitos y gases en sangre GEM PREMIER 3000 (GEM Premier, Instrumentation Laboratory Co., Lexington, USA and Instrumentation Laboratory SpA, Milano, Italy) con la finalidad de determinar las concentraciones plasmáticas de glucosa (mg/dL) y lactato (mg/dL).

6.6.2 Muestreo sanguíneo de la fase experimental 2: Efecto del uso de lidocaína para realizar la castración quirúrgica del cerdo

Se tomaron muestras de sangre inmediatamente después de la castración simulada o quirúrgica en la vena cava usando agujas y jeringas de 1 ml pre-preparadas con heparina de litio. El muestreo se realizó en cinco momentos: 24 h antes de la castración (RV), inmediatamente después de la cirugía (PC: post castración) a las 6, 24 y 48 h después de la castración. Todas las muestras se obtuvieron en menos de 15 s bajo restricción física colocando los lechones en la misma posición que para la castración. Todo el personal involucrado en el muestreo tenía experiencia y había recibido capacitación previa. Una vez obtenidos, se colocaron 150 μ L de todas las muestras en un analizador de electrolitos y gases en sangre (GEM Premier, Instrumentation Laboratory Co., Lexington, EE.UU. e Instrumentation Laboratory SpA, Milano, Italia). El personal capacitado procesó todas las muestras de inmediato para determinar los perfiles fisiometabólicos incluyendo pH, hematocrito (%), glucosa (mg / dL), electrolitos (Na^+ , K^+ y Ca^{++} [mmol / L]), niveles de lactato (mg / dL), presiones parciales de dióxido de carbono [pCO_2 (mmHg), pO_2 (mmHg)] y bicarbonato (HCO_3^-).

6.7 Evaluación termográfica

La evaluación de la temperatura corporal de los lechones se realizó con una cámara térmica infrarroja portátil (ThermaCam E45, Flir Systems, Boston, MA, EE. UU.). Antes de comenzar el estudio, la cámara fue calibrada a la temperatura y la humedad relativa de la habitación donde se tomaron las medidas. El valor de

emisividad utilizado fue 0.98, según lo recomendado por Soerensen y Pedersen (2015).

Para evitar el efecto de confusión de las condiciones ambientales en la variación de temperatura ocular, se registró la temperatura ambiente y la humedad relativa y se adjuntaron a la cámara mientras se capturaban las imágenes.

Para optimizar la precisión de la imagen termográfica y reducir las interferencias de radiación emitida por otros artefactos, antes de cada sesión de prueba se tomó la misma imagen de una superficie Lambert (una superficie ideal, perfectamente difusa para la cual la intensidad de la radiación reflejada es independiente de la dirección) para definir la emisión de radiación y para anular el efecto de las reflexiones superficiales en los animales probados. Todas las lámparas con capacidad de emitir radiación eléctrica fueron apagadas del mismo modo que el sistema de ventilación durante la castración de los cerdos y cada vez que se usó la cámara térmica infrarroja. Las cerdas se mantuvieron a una temperatura ambiente promedio de $26^{\circ} \text{C} \pm 2$ con una humedad relativa del 60%. La iluminación se estableció en 39.8 candelas.

6.7.1 Evaluación termográfica fase experimental 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato.

Mientras los lechones fueron retenidos por el asistente, y después de extraer las muestras de sangre, un segundo asistente, tomó tres fotografías de cada región, de la siguiente manera: las caras de los lechones, para permitir la evaluación de

ambos ojos (el área del borde palpebral posterior medial del párpado inferior y la carúncula lagrimal), el flanco derecho y el área escrotal (**Figura 4**). Se tomaron tres imágenes de cada región del cuerpo cada vez. Las imágenes termográficas infrarrojas se capturaron a una distancia de 50 cm de los lechones en los siguientes intervalos: 24 h antes de la castración (valores de referencia, VR), inmediatamente después de la castración (PC), y a las 24 y 48 h después de la cirugía. Un total de 900 imágenes se registraron como archivos JPEG utilizando el software de análisis de imágenes ThermaCam Researcher Basic (Flir Systems) para obtener temperaturas mínimas, medias y máximas de las áreas de piel muestreadas. Se eligió una imagen infrarroja clara (ubicación precisa y enfoque perfecto) para cada animal.

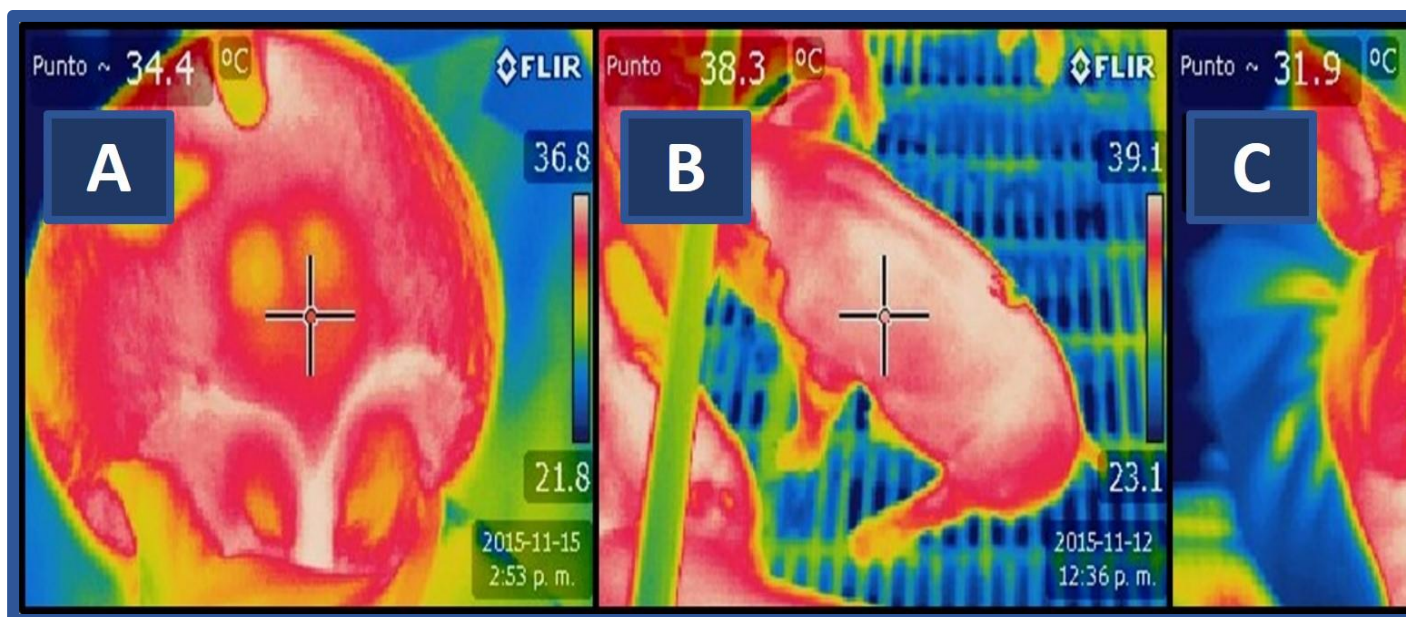


Figura 4. Imágenes termográficas infrarrojas de lechones castrados quirúrgicamente.

A) Imagen termográfica infrarroja de la herida provocada por la castración quirúrgica, B) Imagen termográfica infrarroja del lado izquierdo del lechón para obtener la temperatura de la superficie del tórax, C) Imagen termográfica infrarroja del lechón para obtener la temperatura de los ojos (pequeñas áreas alrededor del ojo y el borde del párpado y la ca

6.7.2 Evaluación termográfica fase experimental 3: Efecto del número de incisiones sobre el escroto en las repuestas térmicas y la evolución de la cicatrización.

La evaluación termográfica de lechones castrados por una y dos incisiones en el escroto se realizó inmediatamente después de realizar la cirugía y cada 24 h hasta las 120 h, obteniendo una imagen termográfica frontal de la cabeza del lechón para evaluar las alteraciones de la temperatura del ojo (bordes del parpado y carúncula lagrimal) y una imagen termográfica de la región escrotal para realizar la evaluación en los cambios en la temperatura de la herida originada por la cirugía.

6.8 Escala de cicatrización

Todos los lechones se observaron diariamente durante los 5 días posteriores a la castración y se anotó la cicatrización de heridas para evaluar cualquier efecto perjudicial (por ejemplo, abscesos) causado por cualquiera de los métodos de castración evaluados.

Las heridas se clasificaron en base a una escala de puntos de 1 a 5 (**Figura 5**), uno correspondía a una herida todavía con evidencia de sangre fresca y cinco con herida completamente cerrada (sin costra), según la metodología propuesta por Sutherland *et al.* (2010). Las heridas quirúrgicas siempre fueron evaluadas y calificadas por el mismo individuo.



Figura 5. Escala de cicatrización en lechones castrados por una y dos incisiones en el escroto (Modificada de Sutherland *et al.*, 2010).

6.9 Diseño experimental

6.9.1 Diseño experimental Fase 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato

Cada uno de los seis grupos de estudio consistió en 12 lechones divididos según la edad y el número de incisiones realizadas durante la castración quirúrgica, por lo tanto los grupos fueron designados de la siguiente manera: castración simulada (SC5 y SC13): grupo control en el que los lechones de 5 y 13 días fueron sujetos por los miembros posteriores y mantenidos en posición de cabeza abajo durante 120 s; castración con una incisión horizontal en ambos testículos en lechones de 5 y 13 días (C1-5 y C1-13, respectivamente); y castración con dos incisiones escrotales verticales en lechones de 5 y 13 días (C2-5 y C2-13) (**Figura 6**).

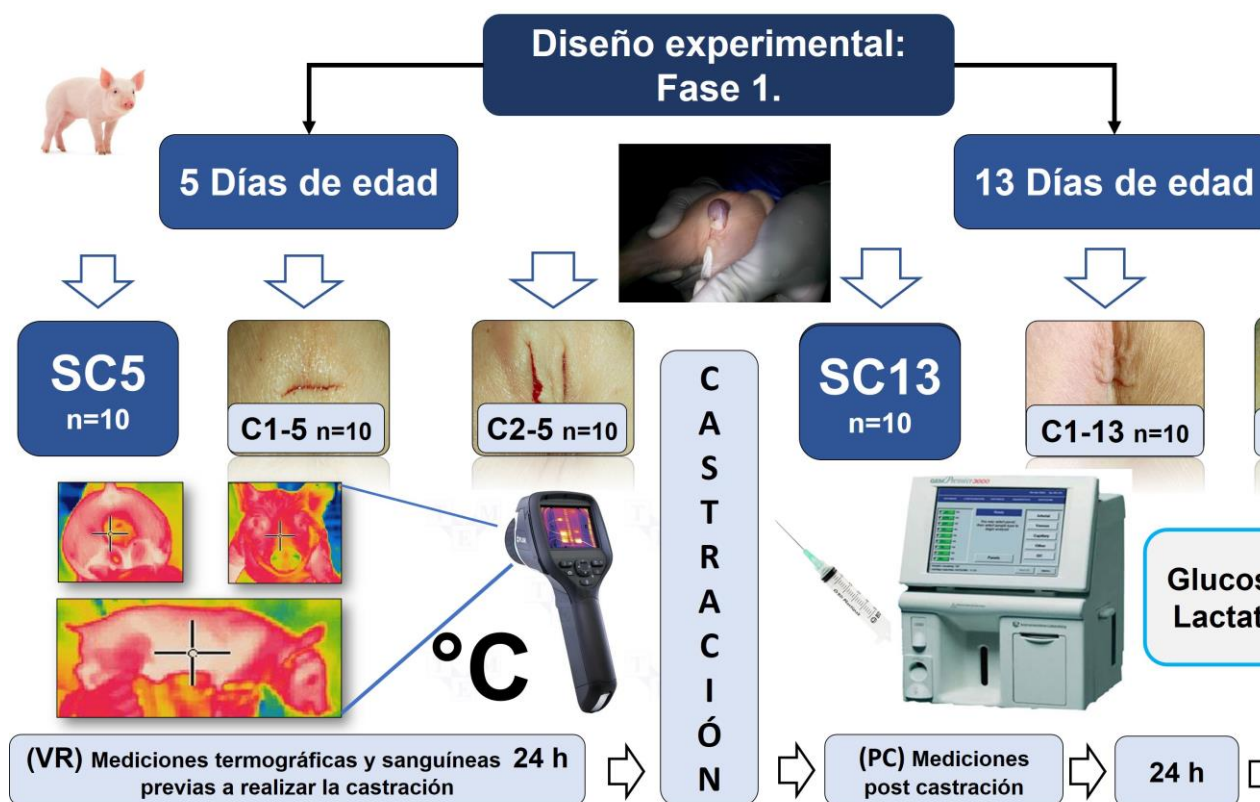


Figura 6. Diseño experimental Fase 1: Efecto de la edad de castración sobre la temperatura s
concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato.

SC5 = Lechones de 5 días de edad en los que se simuló la castración, C1-5 = Lechones castrados por una incisión a
Lechones castrados por dos incisiones en el escroto a los 5 días de vida, SC13 = Lechones de 13 días de edad en lo
Lechones castrados por una incisión a los 13 días de edad, C2-13 = Lechones castrados por dos incisiones en el escro

6.9.2 Diseño experimental Fase 2: Efecto del uso de lidocaína para realizar la castración quirúrgica del cerdo

Cada uno de los cinco grupos de estudio consistió en 12 lechones divididos según el número de incisiones (uno o dos) realizadas durante la castración quirúrgica, con y sin usar lidocaína para la analgesia local y los lechones sometidos a castración simulada (SIM), los grupos se identificaron de la siguiente manera: castración con una incisión horizontal en ambos testículos con y sin lidocaína como analgésico local (C1 + L y C1), castración con dos incisiones escrotales verticales con y sin analgesia local (C2 + L y C2), lechones del grupo control, fueron sujetados y sostenidas en una posición de cabeza abajo por sus extremidades posteriores durante 90 s (SIM) **(Figura 7)**.

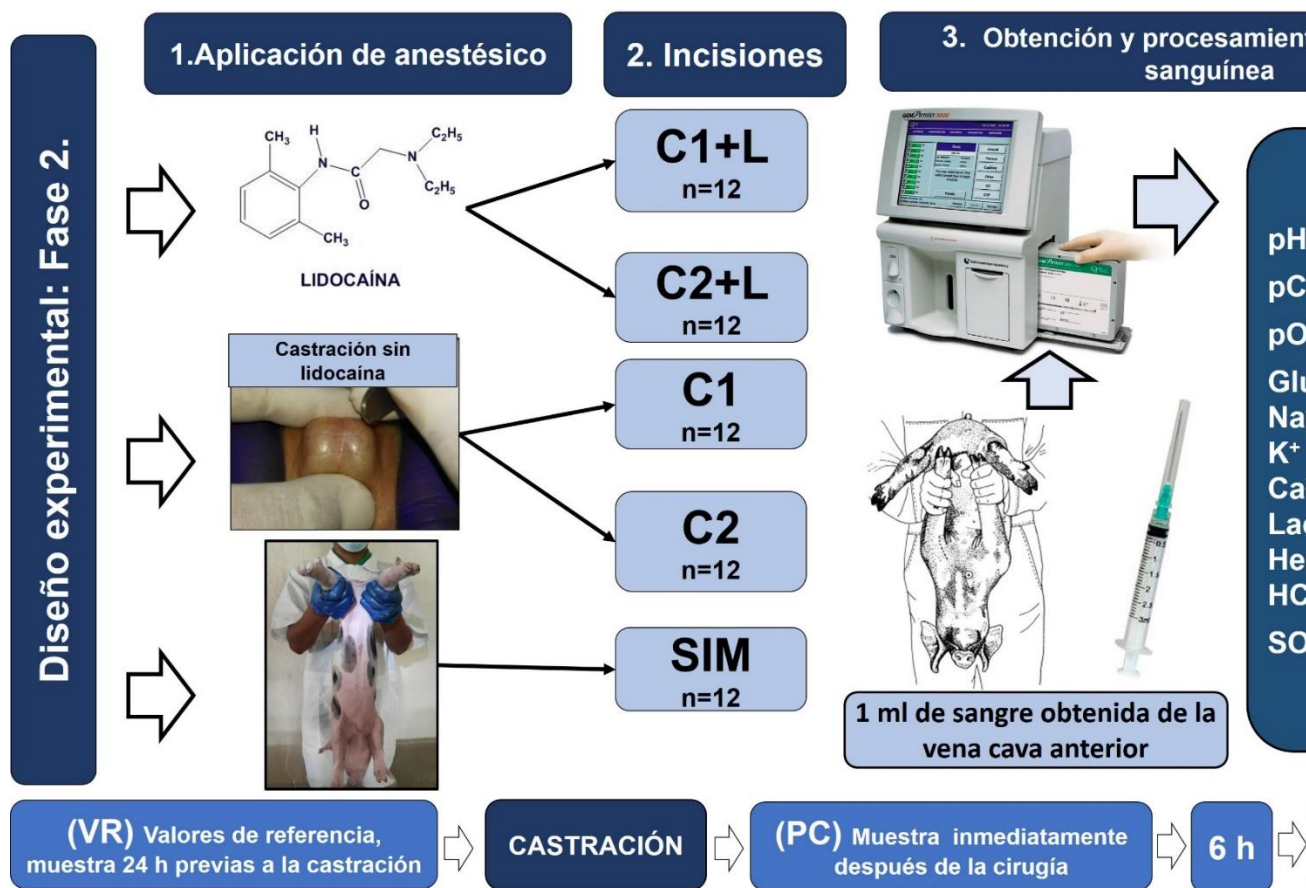


Figura 7. Diseño experimental Fase 2: Efecto del uso de lidocaína para realizar la castración q

C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= lechones castrados por dos incisiones en el escroto; lechones que solamente fueron sujetos por 120 s pero no fueron castrados.

VR= Valores de referencia; PC= muestra de sangre obtenida inmediatamente después de realizar la cirugía; 6 h, 24 h obtenidas a las 6, 24 y 48 h posteriores a la cirugía. EB= Exceso de base.

6.9.3 Diseño experimental Fase experimental 3. Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre la evolución de la cicatrización.

Los lechones fueron seleccionados al azar en cada grupo dependiendo del número de incisiones mediante el cual se realizó la orquiectomía, los grupos quedaron constituidos de la siguiente manera: lechones castrados por una sola incisión en el escroto (C1) y lechones castrados por 2 incisiones en el escroto con el uso de (C2) **(Figura 8)**.

Las imágenes termográficas infrarrojas se capturaron a una distancia de 50 cm de los lechones en los siguientes intervalos: inmediatamente después antes de la castración (PC), y a las 24, 48 y 72, 96 y 120 h después de la cirugía **(Figura 9)**.

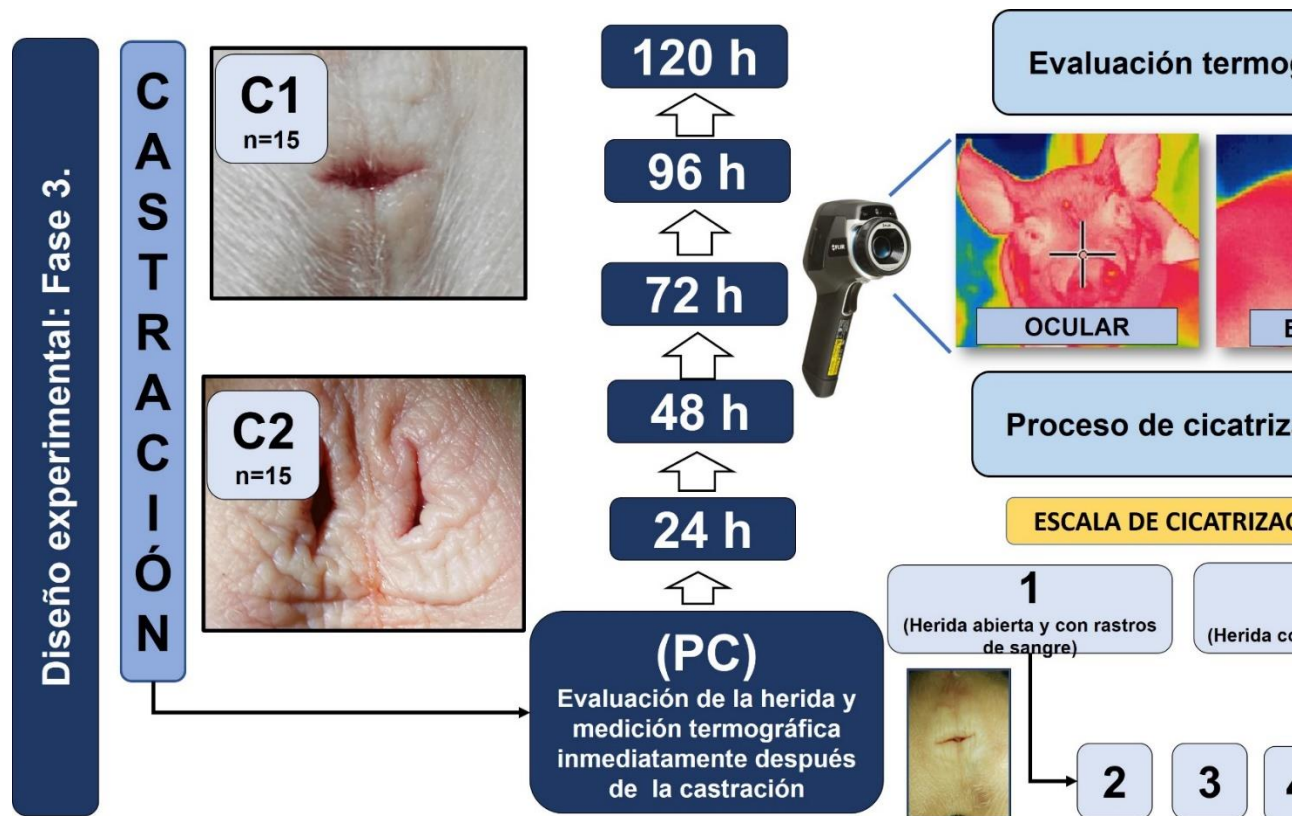


Figura 8. Diseño experimental fase 3: Efecto del número de incisiones para realizar la castración en la evolución de la cicatrización.

PC: Medición inmediatamente después de realizar la castración; C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= Lechones castrados por dos incisiones en el escroto.

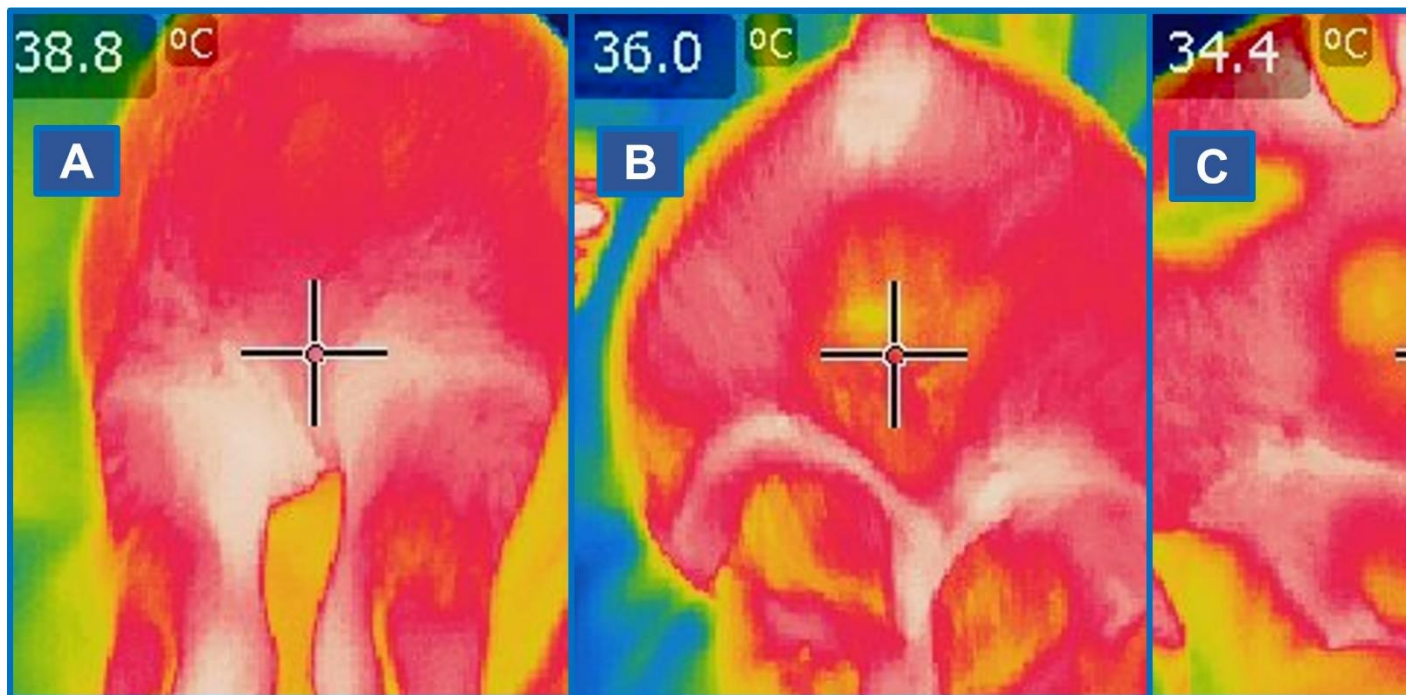


Figura 9. Termogramas escrotales de lechones castrados por una y dos incisiones.

A) Escroto sin incisiones, B) Escroto de lechón castrado por una incisión, C) Región escrotal de lechón castrado por dos incisiones .

6.10 Análisis estadísticos

6.10.1 Análisis estadístico fase 1

Se realizaron ensayos de normalidad (PROC UNIVARIATE, SAS 9.0) para todas las variables examinadas, se consideraron los dos métodos de castración y los dos grupos de edad para demostrar lo siguiente: que los errores tenían distribuciones normales y la existencia de una media nula con una desviación típica (α). Para evaluar el efecto de la edad y el método de castración en la temperatura, se realizó un ANDEVA de medidas repetidas (SAS 9.0). Los investigadores que llevaron a cabo la evaluación y recopilaron los resultados del estudio no conocían los tratamientos y no participaron en la selección de los animales ni en el análisis de los datos. Del mismo modo, el investigador responsable de analizar los datos desconocía los tratamientos. Un $P < 0.05$ de dos colas se consideró significativo en cada prueba.

6.10.2 Análisis estadístico fase 2

Se realizaron pruebas de normalidad con la versión 9.3 del programa SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EE. UU.). (PROC UNIVARIATE, SAS 9.0). Se utilizó un modelo general lineal mixto para analizar los valores del perfil fisiológico. Los resultados son presentados como medias y errores estándar de la media. Para evaluar el efecto del número de incisiones y el uso de lidocaína sobre el perfil fisiológico y para modelar y dirigir directamente la estructura de covarianza para obtener errores estándar válidos y pruebas estadísticas eficientes, se utilizó la metodología de modelos lineales mixtos para el análisis de datos de mediciones repetidas de los metabolitos medidos en sangre en la misma unidad experimental (lechón), a las 24 h antes de la castración,

inmediatamente después de la cirugía (PC), 6, 24 y 48 h posteriores a la intervención quirúrgica. El modelo lineal mixto para analizar los valores en la sangre incluyó los efectos fijos de: 1) número de incisiones mediante el cual se realizó la castración; 2) tratamiento; 3) momento de medición; y 4) las interacciones de primer y segundo orden entre estos factores y, como efecto aleatorio el lechón. Para modelar la estructura de covarianza se utilizó el PROC MIXED del Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 2012), donde la variación entre los animales se especificó con la instrucción RANDOM, y la covarianza dentro de los animales se especificó con la instrucción REPEATED. El análisis se enfocó a comparaciones entre grupos de tratamiento y tiempos de medición antes y posterior a la cirugía. Los errores estándar se calcularon con base en el método de análisis. Una $P < 0.05$ de dos colas se consideró significativo en cada prueba.

6.10.3 Análisis estadístico fase 3

Se realizó un análisis de mediciones repetidas en el tiempo con una estructura de covarianza regresiva utilizando la metodología de modelos lineales mixtos, mediante el uso del Proc. Mixed. del SAS. (SAS. Ver. 9.4).

7. Resultados

7.1 Fase experimental 1. Efecto de la edad de castración sobre la temperatura superficial del lechón y concentraciones plasmáticas de glucosa y lactato

7.1.1 Termografía infrarroja de la carúncula lagrimal (ocular) en lechones castrados

El **cuadro 1** muestra los valores de temperatura infrarroja obtenidos para la carúncula lagrimal de los lechones previos a la castración y a los diferentes tiempos postcastración, a dos edades distintas (5 y 13 días) y con una y dos incisiones sobre el escroto. Se observaron diferencias significativas entre los grupos de edad y los tipos de castración, pero solo a las 24 h después de la castración en todos los grupos. En ese momento, los lechones del grupo C1-13 presentaban una temperatura de 1.17 °C, inferior a la de los neonatos en el grupo C1-5. Además, los lechones en el grupo C2-13 presentaron una temperatura infrarroja de 1.09 °C, menor que la de los neonatos en el grupo C2-5 ($P < 0.05$). Los lechones C2-13 evidenciaron temperaturas infrarrojas más bajas inmediatamente después de la castración y 24 h después de la cirugía, en comparación con el VR; sin embargo, las temperaturas infrarrojas volvieron a su valor de referencia (VR) a las 48 h después de la castración.

Cuadro 1. Medición de la temperatura ocular (°C) (áreas pequeñas alrededor del párpado, borde del ojo y carúncula lagrimal) en lechones castrados quirúrgicamente por una o dos incisiones en el escroto a los 5 y 13 días de edad

	Lechones de 5 días			Lechones de 13 días			
	SC5	C1-5	C2-5	SC13	C1-13	C2-13	
TIME	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	P-Value
VR	35.35±0.42 ^{a1}	35.72±0.26 ^{a1}	35.97±0.28 ^{a1}	36.30±0.37 ^{a1}	36.40±0.25 ^{a1}	35.95±0.24 ^{a1}	0.25
PC	35.35±0.58 ^{a1}	35.33±0.38 ^{a1}	35.50±0.52 ^{a1}	34.72±0.44 ^{a2}	34.54±.33 ^{a2}	34.31±.33 ^{a2}	0.22
24 h	36.00±.56 ^{ab1}	35.50±0.35 ^{a1}	35.07±0.39 ^{a1}	35.46±0.50 ^{ab12}	34.33±0.34 ^{b2}	33.98±0.32 ^{b2}	0.0069
48 h	35.20±0.86 ^{a1}	35.84±0.54 ^{a1}	33.20±1.22 ^{a1}	35.80±0.61 ^{a12}	35.08±0.35 ^{a,12}	35.34±0.35 ^{a12}	0.48
P-Value	0.51	0.62	0.09	0.003	0.0002	0.0029	

SC5= Simulación de la castración en lechones de 5 días de edad; **C1-5**= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 5 días de edad; **C2-5**=Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 5 días de edad; **SC13**= Simulación de la castración en lechones de 13 días de edad; **C1-13**= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 13 días de edad; **C2-13** = Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 13 días de edad.

EEM, error estándar de la media, VR, valores de referencia (24 h previas a la castración); PC, postcastración (inmediatamente después); 24 h, 24 h post-castración; 48 h, 48 h postcirugía.

a, b, c Literales diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.1.2 Termografía infrarroja de la superficie del tórax en lechones castrados

Los valores de temperatura de la superficie del tórax se muestran en el **cuadro 2**. Es importante destacar que a las 24 h post-castración los lechones de los grupos C1-13 y C2-13 presentaron temperaturas promedio 1.64°C más bajas que los lechones SC13, y 1.12°C menos que los grupos C1-5 y C2-5. Además, los lechones de los grupos SC13 y C2-13 mostraron una disminución de la temperatura inmediatamente después de la castración y a las 24 h posteriores a la cirugía en comparación con VR; sin embargo, la temperatura en todos los grupos se reestableció a los niveles de referencia (VR) a las 48 h post castración.

Cuadro 2. Medición de la temperatura (°C) de la superficie del tórax en lechones castrados quirúrgicamente por una o dos incisiones del escroto a los 5 y 13 días de edad.

	Lechones de 5 días			Lechones de 13 días			P-Value
	SC5	C1-5	C2-5	SC13	C1-13	C2-13	
TIME	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Mean ± EEM	Media ± EEM	P-Value
VR	37.52±0.45 ^{a1}	37.51±0.28 ^{a1}	37.41±0.30 ^{a1}	36.58±0.40 ^{a1}	36.78±0.27 ^{a1}	37.13±0.26 ^{a1}	0.26
PC	37.00±0.67 ^{a1}	36.65±0.47 ^{a1}	37.46±0.54 ^{a1}	35.90±0.42 ^{a1}	35.69±0.30 ^{a1}	35.74±0.27 ^{a2}	0.05
24 h	37.40±0.59 ^{ab1}	37.63±0.37 ^{a1}	37.68±0.42 ^{a1}	35.90±0.53 ^{ab1}	35.74±0.34 ^{b1}	35.74±0.34 ^{b2}	0.0003
48 h	37.30±0.61 ^{a1}	36.98±0.38 ^{a1}	36.20±0.86 ^{a1}	35.45±0.43 ^{a1}	36.51±0.27 ^{a1}	36.48±0.24 ^{a1}	0.13
P-Value	0.93	0.08	0.32	0.33	0.11	0.0048	

SC5= Simulación de la castración en lechones de 5 días de edad; C1-5= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 5 días de edad; C2-5=Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 5 días de edad; SC13= Simulación de la castración en lechones de 13 días de edad; C1-13= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 13 días de edad; C2-13 = Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 13 días de edad.

EEM, error estándar de la media, VR, valores de referencia (24 h previas a la castración); PC, post-castración (inmediatamente después); 24 h, 24 h post-castración; 48 h, 48 h post-cirugía.

a, b, c Literales diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.1.3 Termografía de la superficie escrotal en lechones castrados

El **cuadro 3** muestra los valores de temperatura de la región escrotal de lechones castrados por una y dos incisiones y de distintas edades en diferentes tiempos. Los resultados indican que inmediatamente después de realizar la castración los lechones de los grupos C1-13 y C2-13 presentaron temperaturas infrarrojas 1.95°C y 2.44°C menores, respectivamente que los lechones del grupo SC13.

Cuadro 3 . Medición de la temperatura (°C) del escroto en lechones castrados por una o dos incisiones a los 5 y 13 días de edad

	Lechones de 5 días			Lechones de 13 días			
	SC5	C1-5	C2-5	SC13	C1-13	C2-13	
TIME	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	P-Value
VR	37.75±0.62 ^{a1}	37.33±0.44 ^{a1}	36.64±0.41 ^{a1}	36.94±0.56 ^{a1}	36.07±0.37 ^{a1}	36.58±0.36 ^{a1}	0.18
PC	36.55±0.65 ^{a1}	35.38±0.34 ^{ab2}	35.33±0.53 ^{abc2}	36.08±0.41 ^{a1}	34.13±0.32 ^{bc1}	33.64±0.27 ^{c3}	0.0001
24 h	36.47±0.67 ^{ab1}	36.97±0.42 ^{a1}	36.80±0.47 ^{a1}	35.25±0.67 ^{ab1}	34.65±0.42 ^{b1}	34.66±0.40 ^{b23}	0.0005
48 h	37.65±0.59 ^{a1}	36.96±0.37 ^{a1}	35.90±0.84 ^{ab12}	35.86±0.48 ^{ab1}	35.48±0.28 ^{b1}	35.30±0.24 ^{b12}	0.029
P-Value	0.2	0.0005	0.02	0.07	0.05	0.0001	

SC5= Simulación de la castración en lechones de 5 días de edad; C1-5= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 5 días de edad; C2-5=Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 5 días de edad; SC13= Simulación de la castración en lechones de 13 días de edad; C1-13= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 13 días de edad; C2-13 = Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 13 días de edad.

EEM, error estándar de la media, VR, valores de referencia (24 h previas a la castración); PC, post-castración (inmediatamente después); 24 h, 24 h post-castración; 48 h, 48 h post-cirugía.

a, b, c Literales diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

A las 24 h post castración el grupo C1-13 presentó temperaturas infrarrojas 2.32°C más bajas que el grupo C1I5. Además, el grupo C2-13 evidenció una temperatura 2.14°C más baja que el grupo C2I5 ($P<0.05$). En contraste, las mediciones realizadas a las 48 h post-cirugía en el grupo C1-13 fue 1.48°C menor en comparación con el grupo C1-5 ($P=0.029$).

En relación con la temperatura y el efecto de la edad en diferentes tiempos, los resultados indican una disminución de los valores inmediatamente después de la castración por una o dos incisiones en los lechones de los grupos C1-5 y C2-5, sin embargo, no se presentaron alteraciones a las 24 y 48 h post-castración, en comparación con los VR ($P<0.05$). Los lechones del grupo C2-13, en contraste mostraron una marcada disminución en la temperatura escrotal inmediatamente después de la castración y se mantuvieron hasta las 24 h ($P<0.05$).

7.1.4 Niveles de glucosa plasmática de lechones castrados

El cuadro 4 presenta los valores de glucosa en plasma de lechones de ambas edades castrados por una y dos incisiones. El estudio señala diferencias estadísticamente significativas entre los valores de referencia a los 5 y 13 días de edad, siendo más alta en los lechones de una mayor edad ($P<0.05$). Por otra parte, se encontró que inmediatamente después de la cirugía los lechones castrados a los 13 días por dos incisiones presentaron valores más elevados de glucosa que los lechones castrados por dos incisiones a los 5 días ($P<0.05$).

Cuadro 4. Concentración plasmática de glucosa(mg/dL) en lechones castrados por una o dos incisiones a los 5 y 13 días de edad antes de la cirugía y a diferentes tiempos post-cirugía.

	Lechones de 5 días			Lechones de 13 días			P-Value
	SC5	C1-5	C2-5	SC13	C1-13	C2-13	
TIME	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	Media ± EEM	
VR	89.00±5.38 ^{d1}	94.81±3.63 ^{cd1}	97.27±3.63 ^{cd1}	117.80±5.38 ^{a1}	111.27±3.63 ^{ab1}	109.63±3.63 ^{abc1}	0.0002
PC	102.20±8.20 ^{ab1}	99.90±5.53 ^{b1}	94.90±5.80 ^{b1}	100±60±8.20 ^{ab1}	118.63±5.53 ^{ab1}	124.45±5.53 ^{a1}	0.003
24 h	104.20±6.72 ^{a1}	101.12±5.31 ^{a1}	99.55±5.01 ^{a1}	107.00±6.72 ^{a1}	105.72±4.53 ^{a1}	106.18±4.53 ^{a1}	0.89
48 h	109.75±7.21 ^{a1}	98.63±4.35 ^{a1}	107.33±4.80 ^{a1}	120.75±7.21 ^{a1}	109.72±4.35 ^{a1}	102.50±4.56 ^{a1}	0.14
P-Value	0.33	0.65	0.17	0.29	0.27	0.06	

SC5= Simulación de la castración en lechones de 5 días de edad; C1-5= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 5 días de edad; C2-5=Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 5 días de edad; SC13= Simulación de la castración en lechones de 13 días de edad; C1-13= Lechones castrados por una incisión horizontal a los 13 días de edad; C2-13 = Lechones castrados por dos incisiones verticales en el escroto a los 13 días de edad.

EEM, error estándar de la media, VR, valores de referencia (24 h previas a la castración); PC, post-castración (inmediatamente después); 24 h, 24 h post-castración; 48 h, 48 h post-cirugía.

a, b, c Literales diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.1.5 Niveles de lactato en sangre de lechones castrados

La **figura 10** muestra los valores de lactato en sangre en ambos grupos de edades y una y dos incisiones. Los resultados muestran que inmediatamente después de realizar la castración por una incisión en los lechones de 13 días de vida, éstos presentaron niveles elevados de lactato en comparación con los lechones de 5 días de edad castrados por el mismo número de incisiones y que los lechones del grupo simulación. A las 24 h de post-cirugía los resultados señalan que los lechones castrados por dos incisiones a los 5 días de edad presentaron mayores concentraciones de lactato en comparación con los valores sanguíneos de lactato que los lechones de 13 días, en los que se simuló la castración y en los castrados por una incisión ($P<0.05$). Independientemente de la edad y tipo de castración los resultados muestran que los niveles plasmáticos de lactato se incrementan inmediatamente después de realizar la castración ($P=0.0001$).

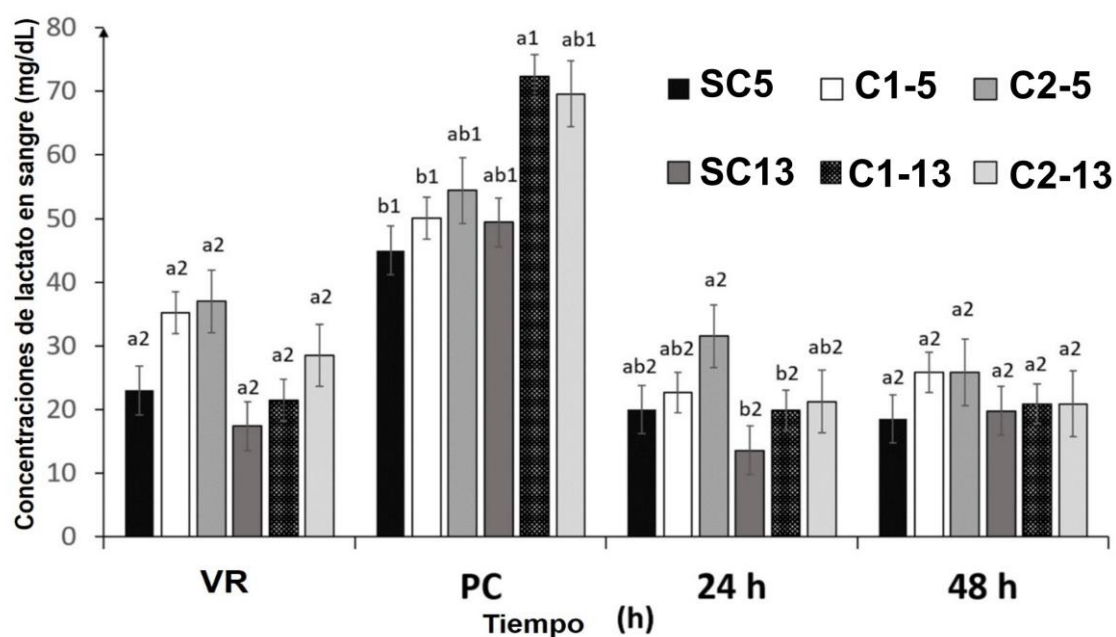


Figura 10. Concentración plasmática de lactato (mg/dL) en lechones castrados quirúrgicamente por una o dos incisiones a los 5 y 13 días de vida antes de la cirugía y diferentes tiempos post-cirugía.

SC5 = Lechones de 5 días de edad en los que se simuló la castración, C1-5 = Lechones castrados por una incisión a los 5 días de edad, C2-5 = Lechones castrados por dos incisiones a los 5 días de vida, SC13 = Lechones de 13 días de edad en los que se simuló la castración, C1-13 = Lechones castrados por una incisión a los 13 días de edad, C2-13 = Lechones castrados por dos incisiones a los 13 días de vida.

a, b, c Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.2 Fase experimental 2. Efecto del número de incisiones en el escroto sobre el perfil fisio-metabólico en lechones.

Los lechones en el grupo de dos incisiones, muestran menos alteraciones y mejor recuperación en términos de acidosis a lo largo del muestreo. Sin embargo, los valores de hematocrito del mismo grupo mostraron más estabilidad durante el muestreo cuando la lidocaína se utilizó previamente al realizar la castración, los valores de hematocrito mostraron una respuesta similar en el grupo castrado por una incisión con el uso de lidocaína. Sin embargo, en el intercambio gaseoso de CO₂ y O₂, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, mientras que el pH y el sistema buffer mostraron diferencias solamente al comparar los tiempos de medición en los valores de referencia *versus* los valores post-castración.

7.2.1 Estado de Acidosis (pH y lactato en sangre)

El pH de la sangre mostró una marcada disminución inmediatamente después de la castración en todos los grupos inclusive en el grupo simulación (VR vs PC). En el caso de los lechones en el grupo C1+L ($P<0.0001$) y C1 ($P<0.0001$), las diferencias fueron 0.18 menores, mientras que para los grupos C2+L ($P=0.0092$) y C2 ($P=0.0019$), la disminución fue de 0.14. Por otra parte, la disminución en el grupo SIM fue de 0.13 ($P<0.0001$), independientemente del grupo los niveles de pH se restablecieron a partir de las 6 h post castración (**Figura 11**).

Respecto a los valores de lactato sanguíneo, todos los grupos mostraron diferencias estadísticamente significativas inmediatamente después de la castración incluyendo el grupo SIM (VR vs PC). El incremento para el grupo C1+L fue de 139.33% ($P<0.0001$) y 134.85% para el grupo C1 ($P<0.0001$) al

compararse con la muestra de referencia. En los lechones castrados utilizando dos incisiones, el incremento del lactato en el grupo C2+L fue de 28.33% ($P=0.0039$) al compararse con la muestra VR. Mientras que, para el grupo C2 el incremento fue de 172.71% ($P<0.0001$) siendo el más alto observado (VR vs PC). Los lechones designados al grupo SIM, mostraron un incremento en los niveles de lactato de un 95.87 % ($P<0.0001$); sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en los mismos tiempos de muestreo (**Figura 11**).

7.2.3 Intercambio gaseoso

El patrón de difusión de gases en sangre de todos los demás grupos no mostró diferencias independientemente del número de incisión o el uso o no de analgesia local, tanto entre grupos como entre tiempos de muestreo dentro de los grupos. Sin embargo, llama la atención que en la pO_2 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, pero pudo observarse una disminución respecto a los valores de referencia en todos los grupos incluyendo el SIM. El intercambio gaseoso sanguíneo solamente muestra cambios en los lechones que fueron castrados por una incisión con el uso de lidocaína (grupo C1+L), el incremento de pCO_2 fue de 28.40% inmediatamente después de la castración (VR vs PC: $P=0.0082$) (**Cuadro 5**).

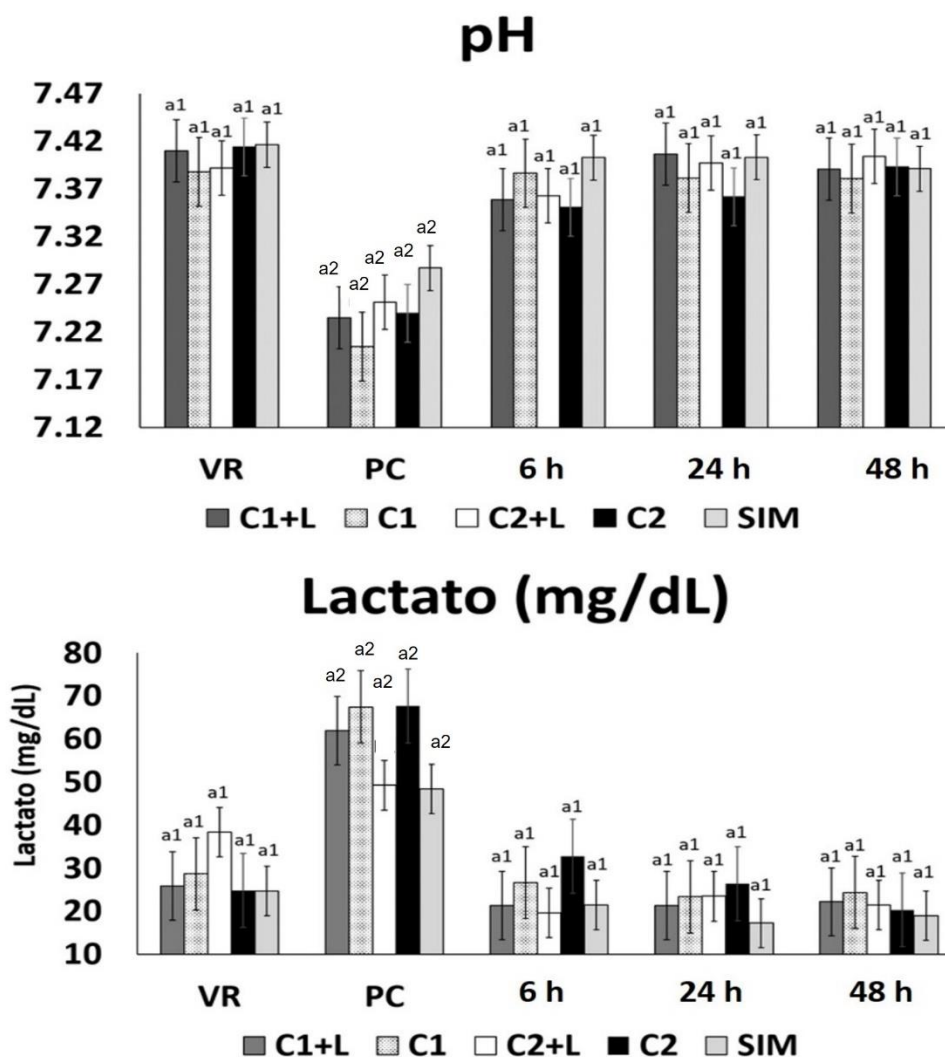


Figura 11. Curso de acidosis en lechones orquiectomizados por una y dos incisiones en el escroto, con y sin uso de anestésico local

C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= lechones castrados por dos incisiones en el escroto; +L: uso de lidocaína; SIM: lechones que solamente fueron sujetos por 120 s pero no fueron castrados.

VR= Valores de referencia; PC= muestra de sangre obtenida inmediatamente después de realizar la cirugía; 6 h, 24 h y 48 h: muestras de sangre obtenidas a las 6, 24 y 48 h posteriores a la cirugía.

a, b, c Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición (entre el mismo grupo de barras). ^{1,2} Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo (entre barras del mismo color), Tukey (P<0.05).

Cuadro 5. Intercambio gaseoso sanguíneo en lechones orquiectomizados por una y dos incisiones, con y sin uso de anestésico local.

pO ₂	Castración					
(mm/Hg)	1 incisión		2 incisiones			
	C1+L	C1	C2+L	C2	SIM	P-
Grupo	Mean±EEM	Mean±EEM	Mean±EEM	Mean±EEM	Mean±EEM	value
VR	37.10±6.36a1	35.36±6.07a1	38.50±6.36a1	39.00±5.38a1	55.00±7.61a1	0.3274
PC	28.58±4.29a1	31.07±4.72a1	27.00±6.25a1	39.70±5.59a1	33.36±5.33a1	0.5226
6 h	35.30±4.94a1	32.55±5.21a1	26.44±5.21a1	37.81±4.71a1	38.00±4.71a1	0.4722
24 h	31.50±4.33a1	31.18±4.13a1	28.36±4.13a1	36.66±4.57a1	32.11±4.57a1	0.7621
48 h	41.00±3.83a1	33.33±4.43a1	42.57±5.02a1	31.66±5.42a1	35.71±5.02a1	0.4195
P-value	0.3348	0.9592	0.1054	0.8898	0.2503	
pCO ₂						
(mm/Hg)						
VR	38.66±2.70a1	42.40±3.23a1	38.80±3.24a1	40.23±2.80a1	39.85±2.29a1	0.8219
PC	49.64±1.96b1	48.35±2.73a1	44.75±3.62a1	44.10±3.20a1	44.36±1.83a1	0.6857
6 h	42.55±2.56ab1	42.55±3.41a1	45.66±3.41a1	43.72±3.05a1	38.70±1.92a1	0.5402
24 h	42.20±2.56ab1	42.27±3.08a1	40.81±3.08a1	42.60±3.20a1	40.44±2.02a1	0.9576
48 h	39.90±2.44a1	44.25±3.62a1	38.28±3.87a1	40.60±4.52a1	42.42±2.29a1	0.3870
P-value	0.0082	0.5261	0.4569	0.8718	0.2660	

C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= lechones castrados por dos incisiones en el escroto; +L: uso de lidocaína; SIM: lechones que solamente fueron sujetos por 120 s pero no fueron castrados.

VR= Valores de referencia; PC= muestra de sangre obtenida inmediatamente después de realizar la cirugía; 6 h, 24 h y 48 h: muestras de sangre obtenidas a las 6, 24 y 48 h posteriores a la cirugía.

a, b, c Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.2.4 Equilibrio ácido-base y sistema de amortiguación

El **cuadro 6** muestra disminuciones en las concentraciones de bicarbonato en todos los grupos inmediatamente después de la castración, especialmente entre las muestras de VR y PC. Independientemente del efecto inmediato posterior a la castración, esos valores vuelven a los niveles normales después de seis horas. En este sentido, los lechones del grupo C1 mostraron una disminución más marcada de 6.73 mmol / L ($P < 0.0001$), seguidos por el grupo C2 con una disminución de 5.9 mmol/L ($P = 0.0017$), seguidos de los grupos C2 + L y C1 + L con disminuciones de 4.9 mmol/L ($P = 0.0015$) y 3.6 mmol / L ($P < 0.0001$), respectivamente. La disminución menos evidente se presentó en el grupo SIM de 3.21 mmol/L ($P < 0.0008$).

Con respecto al exceso de base (BE), aunque no hubo diferencias entre los grupos, cuando se compararon los tiempos de muestreo, se pueden observar diferencias entre VR y PC en todos los grupos con una disminución en los niveles de exceso base en comparación con los valores de referencia: 9.88 mmol / L en el grupo C1 ($P < 0.0001$), grupo C1 + L de 7.28 mmol / L ($P < 0.0001$), para el grupo C2 + L de 6.81 mmol / L ($P < 0.0001$) y 4.06 mmol / L en el grupo SIM ($P < 0.0001$), mientras que no se encontraron diferencias significativas en el grupo C2 ($P = 0.1145$) (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Sistema de amortiguación ácido-base en sangre de lechones orquiectomizados por una y dos incisiones en escroto, con y sin uso de anestésico local.

HCO ₃ ⁻	Castración					
(mmol/L)	1 incisión		2 incisiones			
	C1+L	C1	C2+L	C2	SIM	P-
Grupo	Mean±EE	Mean±EE	Mean±EE	Mean±EE	Mean±EE	value
VR	24.42±0.96 ^{a1}	25.31±0.91 ^{a1}	23.19±0.91 ^{a1}	24.44±0.96 ^{a1}	24.20±.0.96 ^{a1}	0.6057
PC	20.82±0.79 ^{a2}	18.58±0.87 ^{a2}	19.10±1.15 ^{a2}	18.53±1.03 ^{a2}	20.99±0.98 ^{a2}	0.1597
6 h	24.65±0.82 ^{a1}	25.21±0.98 ^{a1}	25.16±0.94 ^{a1}	23.81±1.01 ^{a1}	24.41±0.7 ^{a1}	0.6575
24 h	26.58±0.86 ^{a1}	24.82±0.88 ^{a1}	24.83±0.80 ^{a1}	23.38±1.06 ^{a1}	25.27±0.79 ^{a1}	0.5710
48 h	23.75±0.58 ^{a1}	25.55±0.67 ^{a1}	23.71±0.76 ^{a1}	24.82±0.90 ^{a1}	25.48±0.76 ^{a1}	0.2103
P-value	<0.0001	<0.0001	0.0015	0.0017	0.0008	
BE						
(mmol/L)						
VR	0.61±1.24 ^{a1}	0.79±1.17 ^{a1}	-0.84±1.17 ^{a1}	0.84±1.24 ^{a1}	-0.22±1.24 ^{a1}	0.8209
PC	-6.67±1.13 ^{a2}	-9.09±1.25 ^{a2}	-7.65±1.65 ^{a2}	-4.61±1.56 ^{a1}	-4.28±1.41 ^{a2}	0.0853
6 h	-0.36±0.88 ^{a1}	0.72±0.93 ^{a1}	0.42±0.93 ^{a1}	-1.26±0.84 ^{a1}	0.37±0.84 ^{a1}	0.5018
24 h	2.09±0.96 ^{a1}	0.34±0.92 ^{a1}	0.69±0.92 ^{a1}	-1.58±0.96 ^{a1}	1.20±1.01 ^{a1}	0.1156
48 h	-0.44±0.76 ^{a1}	0.92±0.87 ^{a1}	-0.17±0.99 ^{a1}	0.03±1.07 ^{a1}	0.97±.99 ^{a1}	0.5364
P-value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.1145	0.0011	

C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= lechones castrados por dos incisiones en el escroto; +L: uso de lidocaína; SIM: lechones que solamente fueron sujetos por 120 s pero no fueron castrados.

VR= Valores de referencia; PC= muestra de sangre obtenida inmediatamente después de realizar la cirugía; 6 h, 24 h y 48 h: muestras de sangre obtenidas a las 6, 24 y 48 h posteriores a la cirugía. EB= Exceso de base.

^{a, b, c} Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.2.5 Glucosa y hematocrito

El grupo de lechones C1 mostró diferencias estadísticamente significativas debido a un aumento de 5.91% ($P = 0.0298$) en los niveles plasmáticos de glucosa después de la castración en relación a los valores de referencia, mientras que el aumento del grupo C2 fue de 8.17% ($P = 0.0462$) comparado con sus valores de referencia. Las concentraciones de glucosa, Na^+ , K^+ y Ca^{2+} no mostraron diferencias entre los grupos o los tiempos de muestreo dentro de los grupos.

Por otra parte, en la evaluación del hematocrito se observó incremento de del porcentaje inmediatamente después de realizar la cirugía en los lechones castrados por una y dos incisiones sin el uso de lidocaína respecto a los valores de referencia siendo de 5.91% para los lechones del grupo C1 y de 8.17% para los lechones del grupo C2 (**Cuadro 7**).

Cuadro 7. Porcentaje de hematocrito (HTC) en lechones orquitectomizados por una y dos incisiones en el escroto con y sin uso de anestésico local

HCT	Castrados					
(%)	1 incisión		2 incisiones			
	C1+L	C1	C2+L	C2	SIM	P-
Grupo	Media±EE	Media±EE	Media±EE	Media±EE	Media±EE	value
VR	33.42±2.38 ^{a1}	32.66±2.07 ^{a12}	31.16±3.35 ^{a1}	29.63±2.03 ^{a1}	31.00±2.30 ^{a1}	0.6460
PC	38.00±1.80 ^{a1}	38.57±1.66 ^{a2}	31.42±3.10 ^{a1}	37.80±2.13 ^{a2}	36.63±1.96 ^{a1}	0.2093
6 h	34.90±1.99 ^{a1}	33.77±2.07 ^{a12}	31.33±2.73 ^{a1}	30.45±2.03 ^{a1}	31.63±1.96 ^{a1}	0.6575
24 h	34.60±1.99 ^{a1}	33.81±1.88 ^{a12}	33.27±2.47 ^{a1}	31.77±2.24 ^{a1}	30.66±2.17 ^{a1}	0.5710
48 h	33.00±1.90 ^{a1}	29.28±2.35 ^{a1}	38.16±3.35 ^{a1}	36.50±3.37 ^{a1}	33.40±2.91 ^{a1}	0.2044
P-value	0.2876	0.0298	0.5167	0.0462	0.2382	

C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= lechones castrados por dos incisiones en el escroto; +L: uso de lidocaína; SIM: lechones que solamente fueron sujetos por 120 s pero no fueron castrados.

VR= Valores de referencia; PC= muestra de sangre obtenida inmediatamente después de realizar la cirugía; 6 h, 24 h y 48 h: muestras de sangre obtenidas a las 6, 24 y 48 h posteriores a la cirugía.

^{a, b, c} Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos en el mismo tiempo de medición. ^{1,2} Números diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de medición en el mismo grupo, Tukey (P<0.05).

7.3 Fase experimental 3. Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre el proceso de cicatrización.

7.3.1 Evaluación termográfica

La temperatura de la carúncula lagrimal no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos C1 y C2 de los lechones en ninguno de los momentos evaluados. De manera similar, no se observaron diferencias significativas en las imágenes térmicas infrarrojas dentro de los grupos C1 y C2 ($P = 0.7424$, $P = 0.4928$, respectivamente) al comparar diferentes tiempos post-quirúrgicos (**Figura 12**).

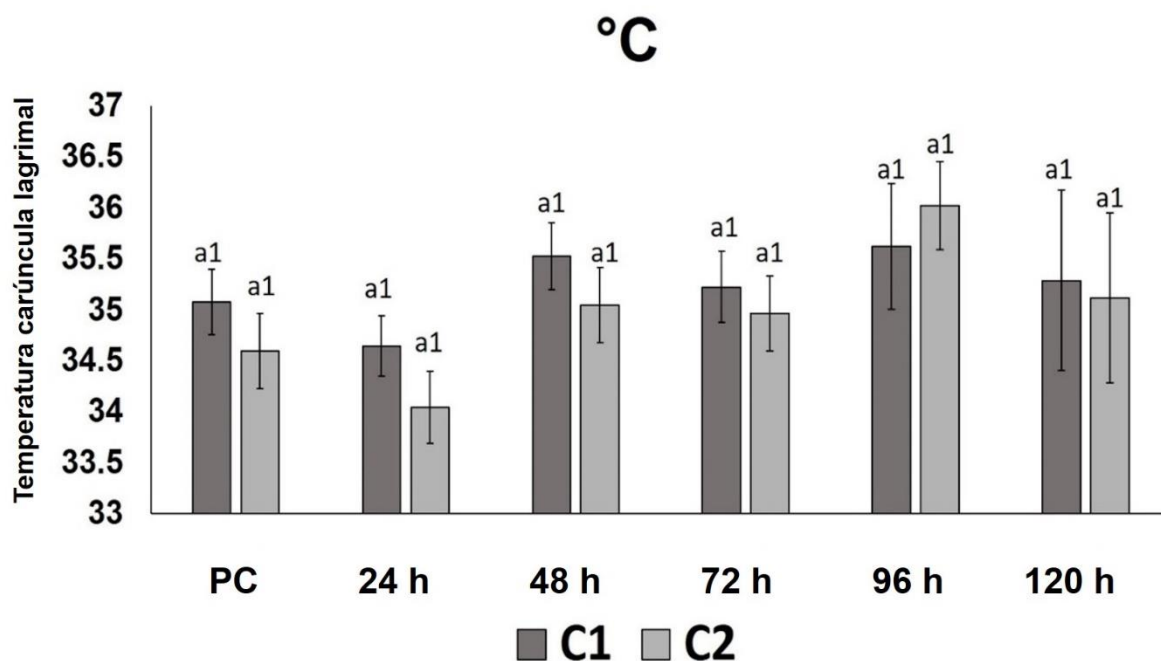


Figura 12. Temperatura de la carúncula lagrimal (°C) de lechones castrados por una incisión horizontal (C1) y dos incisiones (C2).

Literales diferentes (a,b,c) indican diferencias estadísticamente significativas de la temperatura entre grupos (C1 vs C2) en cada tiempo de evaluación post-cirugía (PC, 24, 48, 72, 96 y 120 h.).

Números diferentes después de las literales (1,2,3) indican diferencias significativas de la temperatura en diferentes tiempos post-castración en el mismo grupo-.

PC: Medición inmediatamente después de realizar la castración; C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= Lechones castrados por dos incisiones en el escroto.

Con respecto a la temperatura infrarroja en el sitio de la incisión quirúrgica, el grupo C1 mostró un aumento de 1.12, 1.38, 1.27, 1.02 y 1.28 °C a las 24, 48, 72, 96 y 120 h respectivamente, en comparación con la temperatura obtenida inmediatamente después de la castración (IAC)($P \leq 0.0292$). En contraste, las temperaturas escrotales en lechones del grupo C2 no cambiaron significativamente en los diferentes tiempos evaluados ($P = 0,6913$) (**Figura 13**).

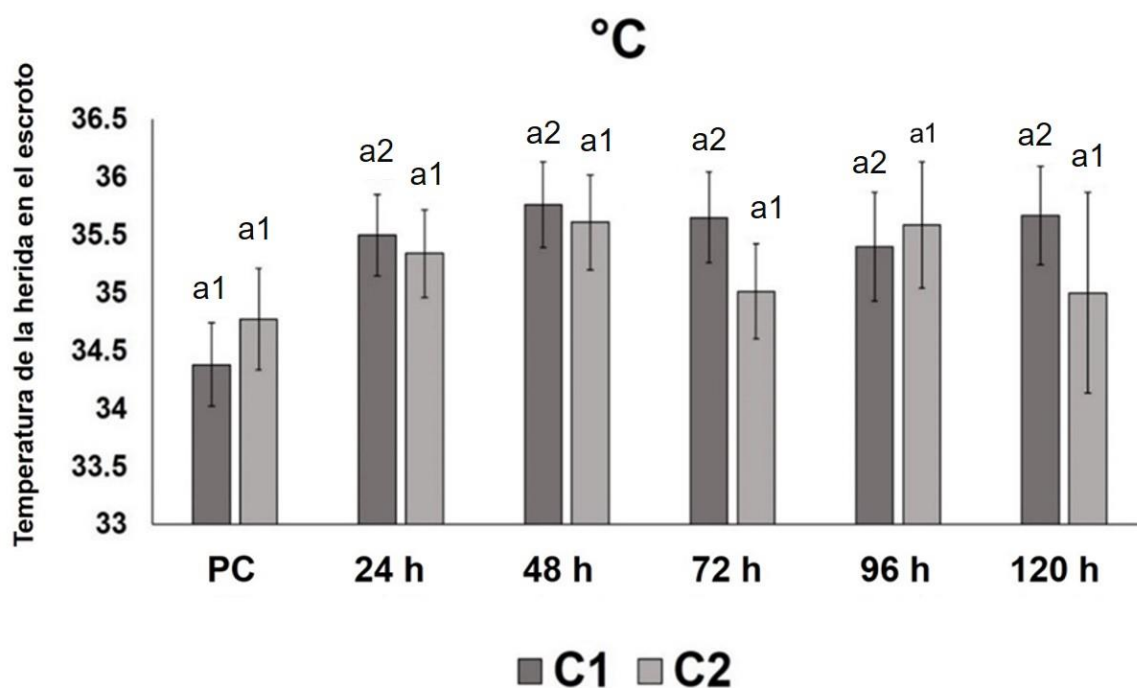


Figura 13. Temperatura (°C) del sitio donde se realizó la incisión en el escroto en lechones castrados por una y dos incisiones.

Literales diferentes (a,b,c) indican diferencias estadísticamente significativas de la temperatura entre grupos (C1 vs C2) en cada tiempo de evaluación post-cirugía (PC, 24, 48, 72, 96 y 120 h.).

Números diferentes después de las literales (1,2,3) indican diferencias significativas de la temperatura en diferentes tiempos post-castración en el mismo grupo.

PC: Medición inmediatamente después de realizar la castración; C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= Lechones castrados por dos incisiones en el escroto

7.3.2 Evolución del proceso de cicatrización

La evolución de la cicatrización de la herida fue evaluada por medio de la metodología de Shuderland *et al.*, (2010) con una escala del 1 a 5, no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en los diferentes tiempos posquirúrgicos y hasta las 72 h ($P \geq 0.2262$). Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas a las 96 h después de la cirugía ($P = 0.0198$) entre el grupo C1 de lechones castrados por una incisión horizontal (Escala: 3.16 ± 0.11) *versus* los lechones del grupo C2 (Escala: 2.78 ± 0.11) (**Figura 14**).

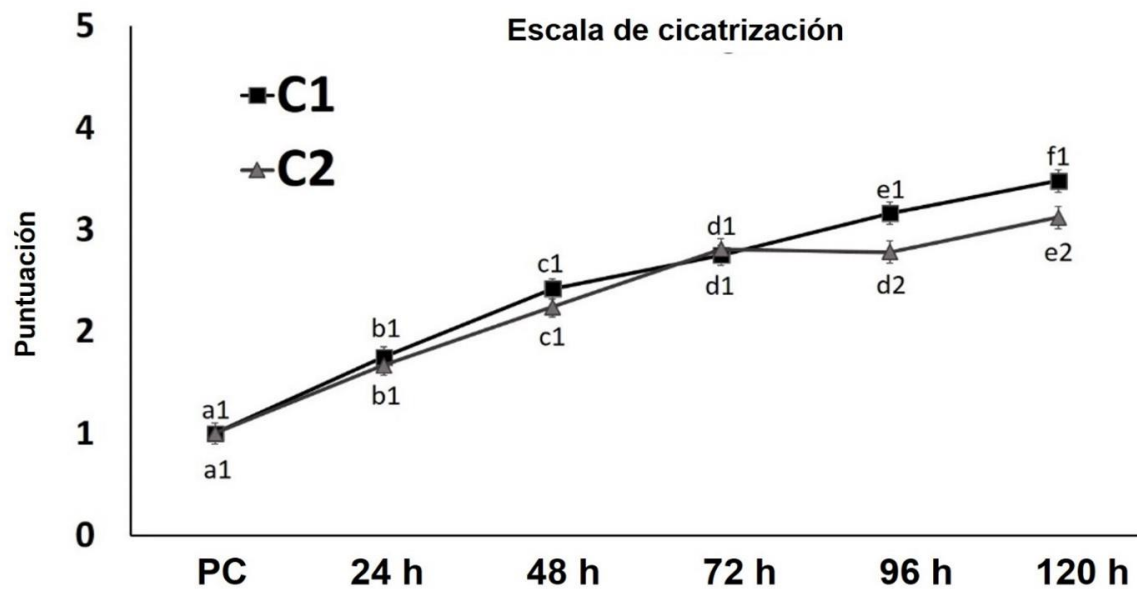


Figura 14. Evolución de la cicatrización después de la cirugía y hasta las 120 h en lechones castrados por una y dos incisiones en el escroto

Literales diferentes (a,b,c) indican diferencias significativas entre las puntuaciones de la escala de cicatrización entre grupos (C1 vs C2) en el mismo tiempo de valuación (PC, 24, 48, 72, 96 y 120 h).

Números diferentes después de las literales (1,2,3) indican diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de evaluación en el mismo grupo.

PC: Medición inmediatamente después de realizar la castración; C1= Lechones castrados por una incisión en el escroto; C2= Lechones castrados por dos incisiones en el escroto.

De la misma manera, la evolución de la cicatrización de la herida a las 120 h después de la cirugía reveló una escala más alta en los lechones del grupo C1 en comparación con C2 (Escala: 3.48 ± 0.11 *versus* 3.12 ± 0.11 , respectivamente), lo que sugiere un proceso de curación más prolongado en los lechones del grupo C2.

Por otro lado, la comparación de la evolución del proceso de cicatrización en diferentes momentos dentro del grupo C1, reveló un aumento constante y significativo ($P < 0.0001$) en la escala de cicatrización en los diferentes tiempos evaluados.

Comparativamente, la escala de cicatrización de heridas en lechones castrados del Grupo C2 aumentó progresivamente hasta 72 h después de la cirugía. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre 72 h y 96 h ($P = 0.9811$), así como entre 96 y 120 h ($P = 0.0434$). Estos resultados podrían interpretarse como un retraso en el proceso de curación en lechones castrados por dos incisiones.

8. DISCUSIÓN

8.1 Fase experimental 1. Efecto de la edad de castración sobre las respuestas metabólicas y termográficas.

8.1.1 Cambios en la temperatura superficial de lechones castrados

Los resultados del presente estudio indican que los lechones castrados a los 13 días de edad son más susceptibles a presentar alteraciones en su temperatura superficial en comparación con los lechones que se son sometidos a cirugía a los 5 días de edad. En este sentido, Guatteo *et al.* (2012) señalan, que la edad de castración puede influenciar la capacidad de un animal para responder ante un estímulo doloroso como lo es la castración quirúrgica, debido a que las respuestas son menos pronunciadas en sujetos jóvenes en comparación con individuos más longevos. Del mismo modo, Janczak *et al.* (2012) observaron que los lechones de 14 días tenían un mayor umbral de dolor nociceptivo mecánico, que puede estar relacionado con su mayor edad y peso en comparación con los más jóvenes de 7 días, lo que podría producir una menor capacidad para responder al dolor en los lechones más jóvenes. McGlone y Hellman (1988), mientras tanto, compararon la castración en lechones a las 2 semanas de edad *versus* 7 semanas, y reportaron que el uso de anestesia local eliminaba los comportamientos inducidos por el dolor en los sujetos más jóvenes, pero parecía ser ineficaz en los de mayor edad (Von Borell *et al.*, 2009, White *et al.*, 1995). Estos hallazgos pueden ayudar a explicar los resultados de este estudio, con respecto a las alteraciones en las temperaturas corporales infrarrojas y el metabolismo energético que manifestaron los lechones más jóvenes, a pesar de la aplicación de anestesia local. Los resultados presentados en este documento podrían interpretarse como una sugerencia de que es más recomendable realizar una

castración bajo anestesia en animales más jóvenes. Adicionalmente, Taylor *et al.* (2001) señalan que los lechones no experimentan menos dolor cuando son castrados durante la primer semana de edad en comparación con 2 o 3 semanas.

Las respuestas a la castración observadas en el presente estudio incluyen disminución de las temperaturas en el ojo, tórax y herida escrotal. En este sentido, se ha demostrado que los cambios en la temperatura de la piel se asocian con respuestas emocionales en humanos y en animales, mientras que los cambios rápidos en el flujo sanguíneo pueden asociarse con respuestas de estrés (Yarnell *et al.*, 2013). Cuando un animal se estresa, el eje hipotálamo-hipófisis-adrenales se activa generando aumento de los niveles de catecolaminas y cortisol provocando respuestas del flujo sanguíneo que generan cambios en la temperatura superficial modulando la pérdida de calor (Schaefer *et al.*, 2012). La hipertermia inducida por el estrés ocurre en numerosas especies, caracterizadas por un aumento en la temperatura corporal central pero una disminución en la temperatura de la superficie de 0.5 a 1.5 ° C dentro de los 10-15 minutos del inicio del "estrés emocional" (Edgar *et al.*, 2013). Esto coincide con los resultados de nuestro estudio, donde la temperatura de la superficie de los lechones disminuyó inmediatamente después de la castración, independientemente del número de incisiones realizadas. En este sentido, estudios en lechones castrados por Lonardi *et al.* (2015) informó un aumento en la temperatura ocular 20 minutos después de la cirugía, o una simulación de esto, que difiere de los hallazgos de nuestro estudio, donde la reducción de la temperatura en los lechones de 13 días continuó hasta las 24 h después de la cirugía. Es importante tener en cuenta que también se han reportado disminuciones en la temperatura ocular en otras especies que se enfrentan a diferentes estímulos

estresores; por ejemplo, la temperatura de los ojos en las aves disminuyó con el manejo (Herborn *et al.*, 2015), adicionalmente, se ha sugerido que la disminución de la temperatura ocular observada en bovinos después del descornado sin anestesia local puede ser causada por una vasoconstricción simpática (Stewart *et al.*, 2008b). La disminución de la temperatura ocular también puede deberse a la presencia de una red de sangre venosa de la cavidad nasal que es más fría y cuya función es disminuir la temperatura de la sangre que irriga el cerebro. Por lo tanto, esta sangre también puede disminuir la temperatura del ojo y las áreas pequeñas alrededor del borde posterior del párpado y la carúncula lagrimal (Loughmiller *et al.*, 2001, Stewart *et al.*, 2007). Es importante señalar que además de la disminución de la temperatura del ojo, los lechones de 13 días también tuvieron temperaturas más bajas en el tórax. Este fenómeno puede explicarse por la activación del sistema nervioso simpático (SNS), que produce dilatación pupilar, incremento de la presión arterial y frecuencia cardíaca, vasoconstricción periférica y, en consecuencia, una disminución de la temperatura de la superficie de la piel, mientras que la activación de la rama simpática induce un aumento de la temperatura central (cerebro y órganos superiores), pero disminuye la temperatura de áreas periféricas del cuerpo como la nariz, la cara y las orejas. Esto es causado por la vasoconstricción, que controla la conducción del calor a la piel por la sangre en las arteriolas y las anastomosis arterio-venosas que la suministran al plexo venoso de la piel (Bonastre *et al.*, 2016, Guyton y Hall, 1996, McCafferty *et al.*, 2011, Travain *et al.*, 2016, Yarnell *et al.*, 2013). Soerensen y Pedersen (2015), evaluaron la temperatura de la superficie de los lechones después de remover sus incisivos. Descubrieron que esta práctica provoca un aumento de los niveles de noradrenalina, cuyo efecto vasoconstrictor puede

reducir el flujo de sangre a la piel y, como resultado, disminuir la temperatura superficial. Menzel *et al.* (2014) presentaron la hipótesis de que la reducción de la temperatura del tórax podría ser causada por la ventilación fisiológica del tejido pulmonar con aire fresco.

Con respecto a los cambios de temperatura en la herida causada por la castración, el presente estudio señala una disminución evidente en todos los grupos que se sometieron a cirugía, pero esto fue más pronunciado en los lechones de 13 días. Este resultado puede deberse al hecho de que la vasoconstricción en la piel en respuesta a un estímulo estresante es una respuesta regional específica (Herpin *et al.*, 2004); es decir, una respuesta aguda inicial al estrés que, presumiblemente, actúa para aumentar la presión de perfusión y redirigir el flujo sanguíneo a los órganos y la musculatura esquelética, áreas que tienen requerimientos metabólicos más urgentes. La vasoconstricción de los vasos sanguíneos que abastecen la piel también protege contra la pérdida excesiva de sangre en caso de daño al tejido externo (Stewart *et al.*, 2007). Este mecanismo para prevenir la pérdida excesiva de sangre podría explicar la reducción más marcada de la temperatura en los lechones de 13 días de edad en la castración que tuvieron dos incisiones. Es importante señalar que la primera respuesta a las heridas es la hemostasia, que se produce en cuestión de minutos para detener la hemorragia y sellar la herida mediante la acción de tres mecanismos: la agregación de grupos de plaquetas, vasoconstricción y la formación de un coagulo de fibrina (Clark *et al.*, 1996, Kimani, 2013). Es probable que, cuando se produce una reducción del flujo sanguíneo a la herida, los glóbulos blancos queden atrapados a nivel capilar. Esto resulta en el taponamiento de los bucles capilares que producen áreas de isquemia localizada. Finalmente, en la fase inflamatoria, las plaquetas se

agregan y forman coágulos para minimizar la pérdida de sangre y líquido en el sitio de la herida (Paz y West, 2013).

8.1.2 Metabolismo energético

Con respecto al aumento en los niveles de glucosa en plasma en los lechones de 13 días de edad inmediatamente después de la castración, es bien sabido que este índice se considera un indicador indirecto de estrés en los cerdos, porque en respuesta a esa condición, los niveles de glucosa aumentan debido a la secreción de catecolaminas y glucocorticoides (Pollard *et al.*, 2002). Adicionalmente, Von Borell *et al.* (2009) mencionan que la castración induce reacciones fisiológicas y de comportamiento que son indicativas de dolor, al tiempo que genera estrés y molestias antes y después de la cirugía. Estas reacciones son de gran magnitud durante la cirugía y en las primeras horas siguientes. Otros estudios señalan que los aumentos en las concentraciones de glucosa en plasma pueden ocurrir debido a la descomposición del glucógeno del hígado o al agotamiento de las reservas de glucógeno de los músculos esqueléticos (Averós *et al.*, 2008, Martínez-Rodríguez *et al.*, 2015, Tadich *et al.*, 2005). Estos hallazgos sugieren que la castración es más estresante para los lechones cuando se realizan a edades mayores. Sin embargo, es importante recordar que evaluar el dolor requiere un enfoque integrado y multidisciplinario que incluya enfoques de comportamiento y fisiológicos, debido a las diferentes formas en que los animales responden individualmente a los factores estresantes (Gottardo *et al.*, 2016).

Volviendo ahora a los niveles de lactato en plasma, todos los lechones castrados, independientemente de su edad, presentaron un aumento de este metabolito

inmediatamente después de la castración. En este sentido, varios estudios en cerdos adultos (Becerril-Herrera *et al.*, 2010, Mota-Rojas *et al.*, 2012a) y neonatos (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2011) señalan que el aumento de las concentraciones plasmáticas de lactato puede resultar de la exposición a diferentes factores estresantes. El lactato es un metabolito que causa la glucogenólisis muscular debido a la falta de glucosa fosfatasa 6, que es necesaria para la síntesis de glucógeno (Mota-Rojas *et al.*, 2012b). El lactato que se forma en el músculo se transporta a través del torrente sanguíneo al hígado, donde se transforma en glucosa (Pollard *et al.*, 2002, Moberg, 2000). Prunier *et al.* (2005) encontraron mayores concentraciones de lactato en la sangre en lechones después de la castración en comparación con animales no castrados, ya que una proporción significativa del estrés/malestar que experimentan es resultado de la sujeción (Leidig *et al.*, 2009). En base a la evidencia, podemos concluir que los cambios fisiológicos observados en los lechones en el presente estudio podrían estar asociados con el dolor generado por la castración cuando esta cirugía se realiza a una mayor edad, independientemente del número de incisiones.

8.2 Fase experimental 2. Efecto del número de incisiones en el escroto sobre el perfil fisio-metabólico en lechones

8.2.1 Efecto del número de incisiones

Los resultados del presente estudio muestran alteraciones fisiológicas (pH, Lactato, pO₂, pCO₂, HCO₃⁻, HCT) en todos los grupos inmediatamente después de realizar la extirpación de los testículos o solo la sujeción sin cirugía, dicho efecto es muy evidente sobre el estado de acidosis. Particularmente se observa una disminución importante sobre los valores de pH e incremento en más del doble en los niveles de

lactato con respecto a los valores de referencia de cada grupo, con excepción del grupo C2+L, en el cual se observa mayor estabilidad al respecto. Como consecuencia se observa una reducción marcada en los niveles HCO_3^- y BE particularmente en los cerdos pertenecientes a los grupos castrados por una sola incisión y los castrados sin aplicación previa de lidocaína. Así mismo, el incremento en el porcentaje de hematocrito es significativo en los grupos sin aplicación de un anestésico local previo a la extirpación de los testículos.

En el presente estudio, el desbalance en el intercambio de gases sanguíneos puede ser explicado con el incremento notable en la pCO_2 de todos los grupos, dicho aumento ha sido observado previamente en cerdos y relacionado con una respuesta fisiológica ante estímulos estresantes como el destete a los 8 y 15 días de vida (Roldan-Santiago *et al.*, 2015). Dicho aumento, se describe como un reflejo de la presencia de una acidosis metabólica que intentó ser modulada por hiperventilación (Kiwull-Schöne *et al.*, 2007).

Respecto a los valores de pH sanguíneo, éstos disminuyen inmediatamente después de realizar la castración en todos los grupos, no obstante, se muestra un desajuste más marcado en lechones castrados por una sola incisión en comparación con los lechones castrados por dos incisiones. En consecuencia, el incremento del nivel de lactato fue evidente en el momento PC, tanto en los grupos sometidos a la extirpación de los testículos como en el grupo donde los lechones experimentaron solo la sujeción sin castración. En consecuencia, la reducción en el nivel de pH puede deberse a que los tejidos asociados con la castración están inervados y el daño tisular causado por la castración quirúrgica puede generar estímulos dolorosos que activan el sistema nervioso simpático (White *et al.*, 1995). En situaciones estresantes,

los cerdos pasarán del metabolismo aeróbico al anaeróbico para producir ATP a partir del glucógeno muscular (Hedrick *et al.*, 1994), como consecuencia de la estimulación de las catecolaminas, el glucógeno se moviliza, lo que lleva a un aumento transitorio en el lactato de los músculos (Hay *et al.*, 2003), por lo tanto, con el aumento del lactato disminuye el pH sanguíneo (Bolaños-López *et al.*, 2014a).

Los niveles de pH en la sangre generalmente se mantienen dentro de un rango estrecho a través de la acción de varios sistemas de tampón en el cuerpo (Orozco-Gregorio *et al.*, 2008), incluyendo HCO_3^- , que en presencia de un aumento en la producción/concentración de hidrogeniones captura más hidrogeniones de los ambientes para formar ácido carbónico y se despliega en agua y anhídrido carbónico, que se libera a través de la respiración (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2015). De tal forma que la disminución en el pH y el incremento en las concentraciones de lactato de los lechones castrados por una o dos incisiones pudo originar alteraciones en las concentraciones de bicarbonato, y el exceso de base.

En este sentido, Ritter *et al.* (2009) señalan, que el número de factores estresantes experimentados por el cerdo aumenta, la temperatura rectal y el lactato en sangre aumentaron linealmente, mientras que los valores de pH plasmático, bicarbonato y exceso de base disminuyeron linealmente, lo cual sugiere que la sujeción más la castración, originarían mayores alteraciones fisiológicas en comparación con solo la sujeción, lo cual sería consistente con los resultados del presente estudio, ya que a pesar de no encontrarse diferencias significativas entre los grupos, puede observarse mayor niveles de lactato en los lechones castrados en comparación con los lechones que solo experimentaron la sujeción por la simulación de la castración.

Por último, debemos considerar que normalmente el escroto protege al testículo por medio de tres estructuras de tejido conectivo de soporte (la piel del escroto, la túnica dartos y la fascia escrotal). A su vez, ambos testículos se encuentran separados uno del otro, por el tabique mediano o tabique escrotal, el cual se conforma de una cantidad importante de tejido conectivo y tejido graso (Senger, 2012). Por tal motivo, el método de sujeción para realizar la castración adicionalmente a la herida generada, podrían tener consecuencias aditivas sobre los indicadores de gasometría y metabolitos sanguíneos como se ha observado en los resultados del presente estudio. Es decir, si la herida se realiza directamente en el rafe del escroto (grupos C1), éste posee mayor proporción de tejido tanto graso como conectivo y a su vez nociceptores polimodales, resultando en un mayor espesor y profundidad, lo cual deberá ser considerado como más invasivo comparado con una castración en donde se realizan dos incisiones sobre la piel de cada testículo (en particular C2+L), las cuales atraviesan solo tres estructuras de tejido conectivo de soporte.

8.2.2 Efecto del uso de un anestésico local

Tradicionalmente se ha evaluado el efecto del uso de lidocaína previo a la castración mediante el análisis de los parámetros vocales y del cortisol plasmático, la castración con lidocaína es menos doloroso y estresante en comparación con la castración sin anestesia (Kluivers-Poodt *et al.*, 2012, White *et al.*, 1995). En lo que se refiere al efecto del uso de un anestésico local previo a la castración en el presente estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos castrados con o sin el uso de lidocaína, sin embargo, estudios realizados por Haga y Ranheim

(2005) señalan que la castración sin anestesia local indujo una respuesta nociceptiva más pronunciada que la lidocaína, lo que indica que inyectar lidocaína reduce el dolor y las respuestas cardiovasculares a la castración, los anestésicos locales bloquean el inicio y la propagación de potenciales de acción en las células nerviosas al prevenir el aumento dependiente del voltaje en la conductividad de Na^+ (Stevens *et al.*, 2013). En este sentido, el anestésico local, lidocaína, inyectado en el testículo y / o el cordón espermático se consideró eficaz para reducir el dolor agudo inducido por castración según Haga y Ranheim (2005).

Los resultados del presente estudio no muestran un efecto del uso de lidocaína sobre las respuestas fisiológicas, esto es probablemente causado por una distribución desigual de lidocaína en los tejidos afectados que resulta en un bloqueo sensorial incompleto (Haga y Ranheim, 2005). Cabe señalar que la aplicación de lidocaína en el presente estudio se realizó 10 minutos previos a realizar la cirugía. Ranheim y Haga (2006) señalan que diez minutos después de la inyección intratesticular de lidocaína, la concentración en el músculo cremáster es baja, lo que puede representar un área de bloqueo sensorial incompleto, el ligamento escrotal y la región intra-abdominal del cordón espermático son otras áreas donde el bloqueo sensorial puede estar disminuido.

Aunque no fueron observadas diferencias en el estado de acidosis ni en el estado de intercambio gaseoso sanguíneo en respuesta al uso de anestésico local, es importante señalar que el porcentaje de hematocrito fue significativamente mayor en los lechones castrados sin el uso de lidocaína inmediatamente después de realizar la castración, lo cual puede ser atribuido a la contracción esplénica y, en parte, a la disminución del volumen plasmático. Las contracciones esplénicas son uno de los

efectos de las catecolaminas liberadas por la estimulación de la rama simpática del sistema nervioso autónomo (Becerril-Herrera *et al.*, 2010, Mota-Rojas *et al.*, 2012a). Adicionalmente los lechones pertenecientes a los grupos C1 y C2 muestran las mayores disminuciones en los valores de bicarbonato comparados con los grupos C1+L y C2+L. La caída en bicarbonato sérico es un proceso que produce un exceso de protones libres. Cuando se demuestra en una medición sanguínea que el pH es menor de lo normal, se habla de acidemia de origen metabólico.

8.2.3 Alteraciones del perfil fisiológico posteriores a la castración

Las alteraciones del perfil fisiológico completo fueron estadísticamente significativas solamente en la evaluación realizada inmediatamente después de la cirugía dentro de cada grupo, otros estudios señalan que la castración induce reacciones fisiológicas y de comportamiento indicativas de dolor, estas reacciones son de gran magnitud durante la castración y las primeras horas después de la castración quirúrgica, pero disminuyen rápidamente después de eso. Sin embargo, algunas alteraciones de comportamiento persisten durante varios días (Ranheim y Haga, 2006), por otra parte, Marsalek *et al.* (2015) al evaluar el efecto del uso de lidocaína durante la castración en lechones sobre los niveles de cortisol como un indicador de estrés y dolor, señalan que las concentraciones de cortisol aumentaron significativamente 1 h después de la castración quirúrgica, sin embargo, el uso de lidocaína no produjo una reducción de la concentración de cortisol.

En este sentido, estudios realizados por Davis *et al.* (2017), muestran menores alteraciones fisiológicas (nivel de cortisol) a los 30 minutos post-cirugía en lechones

en los que se simuló la castración en comparación con animales castrados. Así mismo, Prunier *et al.* (2006) señalan que el aumento de la hormona adrenocorticotrópica en plasma (ACTH), que alcanza un máximo a los 5 minutos después de la cirugía y regresa al nivel preoperatorio dentro de las 3 h.

8.3 Fase 3. Efecto del número de incisiones para realizar la castración escrotal sobre el proceso de cicatrización

8.3.1 Evaluación termográfica

El número de incisiones durante la castración en los lechones evaluados, influyó en la temperatura de la superficie de la piel y en el sitio de la incisión obtenido por las imágenes térmicas infrarrojas. La temperatura del sitio de la incisión en el grupo C1 (con una sola incisión) aumentó significativamente de 24 a 120 h después de la cirugía en comparación con la temperatura inicial inmediatamente después de la castración quirúrgica. Los lechones del Grupo C2 castrados por dos incisiones verticales no mostraron los cambios de temperatura del sitio de la incisión en ningún momento postquirúrgico. Se ha demostrado que los cambios en la temperatura de la piel se asocian con respuestas clínicas y emocionales en muchas especies animales, mientras que los cambios rápidos en el flujo sanguíneo pueden asociarse con las respuestas al estrés (Yarnell *et al.*, 2013).

Los cambios térmicos en la superficie del cuerpo se pueden examinar a distancia, a través de una cámara térmica infrarroja que puede detectar áreas frías y calientes que indican cambios en el flujo sanguíneo (Hurley-Sanders *et al.*, 2015).

En los lechones castrados integrados al presente estudio el aumento de la temperatura de la piel, después de la castración quirúrgica podría estar asociado con el proceso inflamatorio inducido por la cirugía.

El proceso de cicatrización de la herida se puede dividir en tres fases: (i) inflamación, (ii) proliferación / formación de tejido y (iii) remodelación (Gawronska-Kozak y Bukowska, 2017). En este sentido, cada fase del proceso de cicatrización de la herida puede influir en la temperatura en el lugar de la incisión. Sin embargo, no se observaron alteraciones en la temperatura de la piel de los lechones castrados por dos incisiones verticales.

Se ha demostrado que la primera respuesta a las heridas es la hemostasia, para detener el sangrado y sellar la herida mediante la acción de tres mecanismos: la agregación de grupos de plaquetas, la vasoconstricción y la formación de un coágulo de fibrina (Celeste *et al.*, 2013, Clark *et al.*, 1996). El flujo de sangre en la lesión disminuye, en los capilares los glóbulos blancos quedan atrapados, lo que lleva a la isquemia en áreas específicas cerca de la herida (Paz y West, 2013). En este sentido, el proceso de isquemia en la herida puede hacer que, en el momento de la evaluación, inmediatamente después de la cirugía (PC), la temperatura de la herida escrotal fuera la más baja.

El aumento de la temperatura en el sitio de la incisión en diferentes momentos después de la cirugía fue evidente en ambos grupos. El aumento esperado podría estar relacionado con la respuesta inflamatoria caracterizada por un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos que resulta en un flujo sanguíneo aumentado que altera el patrón de calor (Alsaad *et al.*, 2015). Comparativamente, las heridas

cutáneas en caballos también tienen la temperatura más alta en la superficie a la mitad del proceso de curación (Celeste *et al.*, 2013). El aumento inicial de la emisividad de las heridas podría deberse al aumento del flujo sanguíneo durante la inflamación, cuando la región ya no está inflamada, el flujo sanguíneo debería volver a la normalidad y la emisividad debería aproximarse a la de la piel intacta (Keenan *et al.*, 2017).

Después de la lesión, los eventos cronológicos en la inflamación se caracterizan por el reclutamiento de neutrófilos polimorfonucleares en el sitio de la herida y se convierten en las células predominantes durante los primeros dos días después de la lesión (Martin, 1997, Stramer *et al.*, 2007).

Aunque en este estudio no se encontraron diferencias significativas en la temperatura lagrimal en los lechones después de la cirugía en ninguno de los grupos, comparativamente, estudios previos han mostrado disminuciones en la temperatura del ojo en otras especies que enfrentan diferentes estímulos estresantes (Edgar *et al.*, 2013).

El eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal desempeña un papel clave en la adaptación a las tensiones ambientales. Cuando un animal está estresado, produce cambios en la temperatura y la pérdida de calor debido al aumento de los niveles de catecolamina y cortisol y las respuestas del flujo sanguíneo (Schaefer *et al.*, 2012).

8.3.2 Evaluación del proceso de cicatrización

En el presente estudio, los resultados de la evaluación con la escala de cicatrización indican que la castración por dos incisiones provoca un proceso de cicatrización más

lento, que puede estar influenciado por varios factores. La velocidad de reepitelización de las heridas cutáneas depende de varios factores: el control del entorno de procesamiento aséptico, la forma y el tamaño de la herida y la edad del paciente (Gawronska-Kozak y Bukowska, 2017).

Con respecto a la duración del proceso de cicatrización o reparación de la herida, estudios en minipigs de 6 a 12 meses de edad a los que se les provocó una herida de 8 mm en el lomo, señalan que después de 72 h las heridas mostraban coágulos de sangre sin presencia aparente de tejido de granulación. Mientras que, en el día 5, el espacio de la herida se encontraba cubierto en un 50% con tejido de granulación y presentándose al día 10 la contracción de la herida (Clark *et al.*, 1996). Otros estudios en becerros de 25 días de edad castrados quirúrgicamente indican que la cicatrización completa tomó entre 28 y 63 días (Mintline *et al.*, 2014).

Con respecto a la edad de castración, un estudio reveló que la herida de castración en lechones de 4 días de edad cicatrizó más rápido y con menos complicaciones que los lechones castrados a los 28 días (Heinritzi *et al.*, 2006).

Es importante tener en cuenta que la cicatrización de heridas después de la castración no solo involucra a la piel del escroto, sino también los cordones espermáticos (Marti *et al.*, 2017). La liberación localizada de mediadores químicos, incluida la sustancia P y la bradicinina, es el resultado del daño tisular involucrado en la respuesta inflamatoria (Lomax *et al.*, 2017). La cicatrización es un evento complejo que implica múltiples interacciones de diferentes estructuras tisulares, un gran número de sustancias bioquímicas y tipos de células infiltrantes (Marti *et al.*, 2017). La reparación de heridas es un proceso multitisular que involucra epitelios, tejidos

dérmicos y mesenquimales, vasos sanguíneos y células inmunitarias que responden integralmente a una compleja red de señales bioquímicas para resolver la lesión o el daño (Murawala *et al.*, 2012).

El proceso más lento de curación de heridas en lechones castrados por dos incisiones encontradas en el presente estudio y evaluadas por la escala de cicatrización de heridas, podría explicarse por el mayor efecto estresante de la cirugía de dos incisiones en comparación con el procedimiento de incisión única. Se sabe que el estrés afecta la función inmune en animales de granja, que puede incluir una respuesta inflamatoria alterada y una cicatrización retardada de las heridas (Merlot, 2004). Por ejemplo, se ha demostrado que las terneras castradas quirúrgicamente pasan más tiempo de pie después de la cirugía debido al dolor y el estrés causados por el procedimiento (White *et al.*, 2008).

Se ha documentado que otras posibles complicaciones del procedimiento de castración incluyen hemorragia e hinchazón excesiva, principalmente si se cortan los cordones espermáticos (Taylor *et al.*, 2001). En este sentido, se podría sugerir que la castración por dos incisiones, de alguna manera, es más traumática y, por lo tanto, retrasa el proceso de reparación de la herida.

Otros factores que podrían influir en la evolución del proceso de reparación podrían incluir la aplicación de anestesia local; sin embargo, la información publicada sobre los beneficios del manejo del dolor durante la castración en cerdos es controvertida. Recientemente, los estudios realizados por Sutherland *et al.* (2017), demuestran que la castración de cerdos con y sin alivio del dolor no afectó la cicatrización de la herida. Sin embargo, en un estudio previo Sutherland *et al.* (2010) para evaluar el efecto de

la aplicación de anestesia tópica en el proceso de cicatrización de heridas en lechones, encontraron que las puntuaciones de cicatrización fueron similares entre los lechones castrados con y sin anestésico tópico; sin embargo, la cicatrización de la herida pareció retrasarse ligeramente en los lechones que recibieron un anestésico tópico de acción corta. En este sentido, en el presente estudio, el anestésico local fue infiltrado en cada testículo, por lo tanto, es posible que el efecto de bloqueo del cordón espermático no se haya logrado totalmente.

Algunos estudios sugieren que los anestésicos locales tienen varios efectos en la cicatrización de heridas. En estudios experimentales en cobayas, se ha demostrado que la procaína a altas concentraciones retrasa la curación en heridas quirúrgicas al disminuir la síntesis de mucopolisacáridos y, por lo tanto, probablemente de colágeno (Drucker *et al.*, 1998), además, posiblemente se deba no solo a la alteración de los mecanismos involucrados en la producción de colágeno, sino también a la necrosis del tejido en el sitio en el lugar de la inyección (Sutherland *et al.*, 2010).

Por lo tanto, es posible que la herida quirúrgica en el mismo lugar de la infiltración de bloqueo de anestesia (en el grupo C2 de lechones con dos incisiones verticales, una en cada testículo) pueda interferir de manera importante en la evolución del proceso de reparación de la herida en comparación con el grupo C1 con una única incisión horizontal, realizada en un sitio diferente del sitio de bloqueo.

9. CONCLUSIONES

9.1 Fase 1. Efecto de la edad y número de incisiones para realizar la castración sobre las respuestas fisio-metabólicas y termográficas

Los resultados del presente estudio indican que los lechones castrados a los 13 días de edad por una o dos incisiones presentaron valores más bajos de temperatura infrarroja en la carúncula lagrimal y tórax, así como un aumento de los niveles de glucosa y lactato en plasma inmediatamente después de la castración. Estos hallazgos se asociaron con respuestas indirectas caracterizadas por el estrés y el dolor. En contraste, los lechones castrados a los 5 días de edad mantuvieron sus niveles de lactato en plasma y la temperatura infrarroja en comparación con los Valores de Referencia, independientemente del número de incisiones realizadas en los testículos. Por lo tanto, nuestra recomendación es que la castración se realice en lechones durante los primeros 5 días postparto para evitar desequilibrios en su metabolismo energético y cambios en la temperatura de la superficie.

9.2 Fase 2. Efecto del número de incisiones y el uso de lidocaína sobre el perfil fisio-metabólico del lechón

Independientemente del número de incisiones, la castración escrotal origina desajustes en el perfil fisiológico sanguíneo, de hecho, se observa una tendencia que

señala mayores desajustes del perfil fisiológico sanguíneo originados por la castración con una incisión horizontal. Así mismo y aunque en menor grado, la sujeción por si sola ocasiona desajustes en el perfil fisiológico completo cuando es comparada con lechones sujetados y castrados. Por lo tanto, las alteraciones en el perfil fisiológico sanguíneo de lechones castrados son evidentes única e inmediatamente después de realizar la cirugía y son restablecidos a sus valores de referencia dentro de las primeras 6 h post-castración. Adicionalmente es necesario seguir estudiando el uso de lidocaína durante la castración, ya que, aunque aparentemente no tiene efectos sobre el perfil fisiológico completo, si se observa un efecto sobre los valores de hematocrito y estado de acidosis. Por lo cual, se concluye que el uso de lidocaína puede ayudar a mitigar los desajustes del perfil fisiológico sanguíneo, en lechones castrados.

9.3 Fase 3. Efecto del número de incisiones utilizadas para realizar la castración sobre las respuestas termográficas y la evolución de la cicatrización

En conclusión, la temperatura de la carúncula lagrimal no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos castrados en ninguno de los tiempos evaluados. Sin embargo, después de 24 h y hasta 120 h después de la castración por una única incisión en lechones, la temperatura en la herida causada por la cirugía fue mayor en comparación con la temperatura registrada inmediatamente después de realizar la castración. Por otro lado, la orquiectomía con dos incisiones no mostró variaciones de temperatura en el área escrotal, sin embargo, presenta un proceso de reparación más lento en comparación con la castración por una sola incisión. Sin

embargo, la posible interacción de la incisión quirúrgica en el mismo sitio de la infiltración con un anestésico local, en el proceso de reparación, no se descarta, por lo que es un tema que requiere mayor investigación.

10. IMPLICACIONES

El presente estudio indica que los lechones castrados a una edad mayor presentan desajustes más marcados en su temperatura en comparación con lechones más jóvenes, mediados por modificaciones en el flujo sanguíneo que pueden estar asociados a una respuesta de estrés.

La castración sin importar el número de incisiones origina desajustes del perfil fisiometabólico por sí sola, además, el uso de lidocaína puede disminuir el estado de acidosis que presenta el lechón post-cirugía.

La castración por dos incisiones requiere más tiempo para cicatrizar en comparación con la castración por una sola incisión.

11. APLICACIONES PRÁCTICAS

Las aplicaciones prácticas de esta tesis están relacionadas con la mejor edad de castración, los datos señalan que el lechón al ser castrado a una edad menor presentará menos desajustes fisio-metabólicos lo que indicaría indirectamente menor grado de estrés que pudiese repercutir en su desempeño productivo.

Por otra parte, la termografía infrarroja es una herramienta útil para la evaluación de los cambios en la temperatura superficial del lechón y que puede tener gran utilidad en condiciones de campo.

El número de incisiones para realizar la castración tiene un efecto sobre la evolución de la cicatrización, debido a que la castración por dos incisiones requiere mayor tiempo para cerrar completamente las heridas, por lo que se recomienda realizar la castración por una sola incisión debido a su menor tiempo de cicatrización, lo que en condiciones de campo podría representar menor riesgo de complicaciones post-cirugía.

12. ARTICULOS CIENTÍFICOS DERIVADOS DE LA TESIS



ELSEVIER

Artículo 1

“Effect of the number of incisions and the use of the local anesthesia on the physiological indicators of surgically-castrated piglets”

**Publicado en la revista: International Journal of Veterinary Science and
Medicine
(Holanda)**



HOSTED BY



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Veterinary Science and Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijvsm

Full Length Article

Effect of the number of incisions and use of local anesthesia on the physiological indicators of surgically-castrated piglets

Efraín Pérez-Pedraza^a, Daniel Mota-Rojas^{b,*}, Ramiro Ramírez-Necoechea^b,
Isabel Guerrero-Legarreta^c, Julio Martínez-Burnes^d, Karina Lezama-García^b,
Patricia Mora-Medina^e, Marcelino Rosas^f, Víctor Martínez^g, Miguel González-Lozano^g

Ph.D. Program in Biological and Health Sciences [Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud], Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Mexico City, Mexico

Neurophysiology, Behavior and Assessment of Welfare in Domestic Animals. Department of Animal Production and Agriculture. Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Mexico City, Mexico ^cDepartment of Biotechnology, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Mexico City, Mexico ^dGraduate and Research Department, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Victoria City, Tamaulipas, Mexico ^eDepartment of Livestock Sciences, FESC, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, State of Mexico, Mexico ^fBiological Sciences Department, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, FESC, State of Mexico, Mexico ^gCentro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP), FMVZ, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Animal welfare
Blood gas test
Lidocaine
Local anesthesia
Orchiectomy
Physiological profiles

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of local anesthesia and the number of incisions performed on the physiological blood profile of piglets after surgical castration. A total of 60 male piglets were divided into five groups of 12 each, based on the surgical method employed and the use, or not, of local anesthesia, as follows: surgical castration using one horizontal incision in both testicles with (C1+L) and without (C1) local anesthesia; surgical castration using two vertical scrotal incisions with and without local anesthesia (C2+L and C2); and control piglets which were removed from their pens and held head-down by their hind limbs for approximately 90 s to simulate castration (SIM). Reference blood samples were drawn 24 h before castration (RV), immediately after surgery or simulated castration (PC), and at 24 and 48 h post-castration, to determine physiological profiles including: pH, hematocrit, glucose, electrolytes, lactate, pCO₂ (mmHg), SO₂ (mmHg), and bicarbonate. Results showed increases in lactate and hematocrit immediately after surgical or simulated castration with decreases in pH, HCO₃⁻ and base excess (BE). Surgical castration produced marked alterations of the physiological profile, detected by reduced pH and HCO₃⁻, higher lactate levels and BE alterations. These changes indicated metabolic acidosis that was greater in the piglets castrated surgically with one horizontal incision than in those castrated with two vertical incisions. More research is needed on the use of lidocaine during surgical castration, as it showed no effect on physiological profile in this study, but did alter hematocrit values.

Peer review under responsibility of Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University.

* Corresponding author at: Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Del. Coyoacán, CP: 04960, Mexico City, Mexico.

E-mail address: dmota100@yahoo.com.mx (D. Mota-Rojas).

<https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.10.002> Received 1 September 2018; Received in revised form 8

October 2018; Accepted 17 October 2018

2314-4599/ © 2018 Published by Elsevier B.V. on behalf of Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Please cite this article as: Perez-Pedraza, E., International Journal of Veterinary Science and Medicine, <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.10.002>

1 Introduction

In the first days after birth, piglets undergo several production practices that induce pain and stress, so a number of studies have been performed to identify techniques that will cause less harm to their wellbeing; e.g.: tooth-clipping vs. tooth-grinding [1–3], tearing vs. cutting the spermatic cords during surgery [4], and hot- vs. cold-iron docking of the neonates' tails [5]. Surgical castration is a particularly controversial production practice, but one performed to obtain several recognized benefits: (a) preventing unwanted breeding; (b) reducing fighting in mature pigs; (c) safer handling of boars; and, (d) reducing the risk of boar taint in meat [6–8]. However, no research has yet been conducted to determine whether the number of scrotal incisions during surgical castration affects the piglets' well-being. The most common castration method involves making a surgical incision in the scrotum to reveal the testes, which are then removed by tearing, cutting or twisting [9]. This is traditionally done at a young age and without anesthesia [10], but strong evidence suggests that it involves various stressful events that are likely to cause pain, including incisions, extracting the testes, and severing the spermatic cords [11,12]. While there is no consensus on how many scrotal incisions should be made, the technique most often used consists of two, not one [13]. When two incisions are made, they are normally longitudinal in each testicle [11], while the single-incision method requires a transverse cut across both testicles and into the scrotum and tunica vaginalis [7]. However, surgical castration triggers physiological responses that reflect pain during the operation and in the ensuing hours. The stress and pain present during surgery can activate both the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system (SNS) [14]. Physiological changes of this kind are important for evaluating the level of distress that farm animals suffer when exposed to acute noxious circumstances, like castration, taildocking or dehorning [12,15]. Certainly, these effects and physiological responses can be mitigated by

administering general or local anesthesia, while post-operative pain is often relieved with analgesics [16,17].

Most current research focuses on the impact of surgical procedures on normal behavior [18], cortisol levels [15], and immune system responses [11], so no studies have been published on the effect of surgical castration with or without local anesthesia on the physiological profiles of piglets. Hence, the objective of this work was to determine to what extent the number of incisions performed during the surgical castration of piglets affects their physiological profile. The decrease of this response due to the use of local anesthesia during surgery was also assessed.

2 Material and Methods

2.1 Ethical note

All handling of animals in this study was followed the procedures outlined for the use and care of animals in Mexico's norm NOM-062ZOO-1999 (Department of Agriculture, Ranching, Rural Development, Fishing and Alimentation for animal-based experimentation [19]). The study took place in a porcine farm located in Amecameca, Mexico (Latitude: 19° 07' 25.82" N. Longitude: -98° 45' 59.36" W.), following The Code of Ethics of the World Medical Association (Helsinki Declaration) and in strict accordance with the guidelines for the ethical use of animals in applied ethological studies, recorded elsewhere [20].

2.2 Animals

Data were collected from 60, 5-day old male piglets (Yorkshire x Landrace) obtained from twelve different litters delivered by thirdparity sows. Neonates with abnormalities in the position of the testicles (unilateral or bilateral cryptorchidism, scrotal hernias, etc.) or signs of systemic disease were excluded. Following the regular handling practices at the host farm, on day 3 post-farrowing, all piglets received a subcutaneous injection of 1 mL (100 mg) of Fe³⁺ in

the form of iron dextran. They were not subjected to tooth or tail resection before the experiment. The sows and their litters were held in 1.9–2.5 m² farrowing pens. Dimensions were 2.07 m long × 0.60 m wide × 1.01 m high, with a total space of 2 m wide by 2.5 m long. Each pen was equipped with a 50-cm stainless steel feeder and a nipple drinker, and its creep area was warmed by a radiant electric lamp. Each room had 12 pens set up in two rows of six pens each with a dividing aisle. The pens had slatted, wire mesh floors with a plastic carpet over them. Fans and air-heating were installed to control ventilation and temperature (27 °C and 60% relative humidity in the farrowing room). Sows and piglets had ad libitum access to water in separate nipple drinkers. On day one of life, all piglets were weighed and identified individually by marking a number on their back in different colors to distinguish the experimental groups. All procedures were carried out by the same person and near the farrowing pens.

Each one of the five study groups consisted of 12 piglets divided according to the number of incisions (one or two) received during surgical castration and with or without the use of the local anesthetic, lidocaine. There was also a control group that underwent simulated castration (SIM). The groups were identified as follows: castration with one horizontal incision in both testicles with and without lidocaine as a local analgesic (C1+L and C1); castration with two vertical scrotal incisions with and without local anesthesia (C2+L and C2); and a control group with piglets that were removed from their pens and held head-down by their hind limbs for approximately 90 s (SIM) near the farrowing pen similar to the groups subjected to surgery.

2.3 Surgical procedure

Before surgical castration, the skin of the scrotal area was cleaned with chlorhexidine and isopropyl alcohol. Lidocaine at 10 mg/mL (Pisacaina 2%, Pisa® Laboratories S.A. de C.V., Mexico) was the local anesthetic, with 0.5 mg injected into each testicle, anticipating that it would spread into the

spermatic cord [21]. The piglets were returned to the farrowing pen with the others to await castration. Lidocaine was administered at least 10 min before castration following the methodology in Kluivers-Poodt et al. [22].

Surgery for piglets in groups C2+L and C2 was performed with a scalpel. Two vertical incisions were made in the scrotum, the testicles were extracted, and the spermatic cords were severed [11]. For groups C1+L and C1, castration involved making just one horizontal incision in the scrotum to expose the testicles. In both cases spermatic cords were scarified with a scalpel, and the testicles removed [23].

All operations were performed by an experienced surgeon on the same day with the piglets restrained in supine position by an assistant. The skin over the scrotum was tautened with one hand to help expose the testicles and incision site. According to treatment group, castration was performed by making one or two incisions (10 mm) on the skin of the scrotum with a scalpel to expose the testicles. Next, the vaginal tunic and spermatic cords were cut, and the testicles removed. Immediately after each castration, a healing agent was applied to the wound (Negasunt Powder 20 Gm®: Coumaphos: 3%, Propoxur: 2%, Prontalbin: 5%). It is important to note that no other post-operative treatment was applied and that castration time was 90 s per piglet.

2.4 Blood Samples

Blood samples were collected from the cava cranialis vein using 1mL syringes –pre-prepared with lithium heparin– at five moments: 24 h before castration (RV); immediately after surgery (PC: post-castration); and then at 6, 24 and 48 h after castration. All samples were obtained in less than 15 s while the piglets were physically restrained, by placing them in the same position as for castration. The study personnel who drew the samples had experience and were fully-

trained. From each sample, 150 μ L were placed in an analyzer to determine the parameters of plasma, gas and electrolytes (GEM Premier, Instrumentation Laboratory Co., Lexington, USA; Instrumentation Laboratory SpA, Milano, Italy). Experimenters processed samples immediately to ascertain the physiometabolic profiles as follows: pH, hematocrit (%), glucose (mg/dL), electrolytes (Na^+ , K^+ , Ca^{++} [mmol/ L]), lactate levels (mg/dL), partial pressures of carbon dioxide [PvCO_2 (mmHg) and PvO_2 (mmHg)], and bicarbonate (HCO_3^-).

2.5 Statical analyses

Statistical analyses were performed with the SAS program version 9.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). A general MIXED linear model was applied to analyze the values of the physiological profiles. Results are presented as means and standard errors.

To evaluate the effect of the number of incisions and the use of lidocaine on the physiological profiles, and to directly model and direct the structure of covariance in order to obtain valid standard errors and efficient statistical tests, we utilized the mixed linear model methodology to analyze the repeated measures data of the metabolites that were examined in the blood from the same experimental units (piglets) 24 h pre-castration, immediately post-surgery, and then at intervals of 6, 24 and 48 h. The mixed linear model applied to analyze the blood values included the fixed effects of: 1) the number of incisions made during castration; 2) treatment group; 3) measurement interval; and 4) the first and second order interactions among these factors, taking the piglet as the random effect. To model the structure of covariance, we utilized the PROC MIXED of the Statistical Analysis System (SAS, 2012), where the between-animal variation was specified using the RANDOM instruction, and the covariation within animals was specified using the REPEATED instruction. The analyses focused on

comparisons between treatment groups and measuring intervals pre- and post-surgery.

The personnel responsible for all evaluation procedures, and those who gathered the results of the study were not informed as to the treatments involved and had no role in dividing the groups of piglets or in the final analysis of the data. Also, the researcher who was in charge of the statistical analyses was unaware of the treatment regimens applied. In all statistical tests, the level of significance was set at a twotailed $P < .05$.

3 Results

Piglets in the two-incision group showed fewer alterations and better recovery in terms of acid-base balance at all sampling intervals. Regarding hematocrit values, this group also showed greater stability between sampling times when lidocaine was applied as a local anesthetic prior to castration. Hematocrit values showed a similar behavior in the group castrated with one incision when lidocaine was used; however, no between-group differences were found in terms of blood gases exchange. Finally, the pH buffer system showed within-group differences between the different sampling times (reference vs. postcastration values).

3.1 Acid-Base balance (pH and blood lactate)

Blood pH showed a strong decrease after castration in all groups, even SIM (samples: RV vs. PC). For the piglets in groups C1+L ($P < .0001$) and C1 ($P < .0001$), the difference was 0.18 lower, while for those in groups C2+L ($P = .0092$) and C2 ($P = .0019$), the decrease was 0.14. The decrease for group SIM, meanwhile, was 0.13 ($P < .0001$). pH was re-established at six hours after castration in all piglets regardless of group (Fig. 1a).

All groups, including SIM, showed statistically-significant increases in blood lactate levels immediately after castration (samples: RV vs. PC). The increase in group C1+L was 139.3% ($P < .0001$), while for group C1 it was 134.8% ($P < .0001$) when post-castration values were

compared to reference values (PC vs. RV). Of the piglets castrated with two incisions, group C2+L showed the smallest increase in lactate, at 28.3% ($P = .0039$), upon comparing RV to PC. The increase in group C2 was 172.7% ($P < .0001$), the highest value observed (RV vs. PC). The piglets that underwent simulated castration (SIM) showed a 95.8% increase in lactate ($P < .0001$). Though no significant differences in lactate levels were found among groups at the same sampling times, CL +2 (surgical castration with two incisions and lidocaine) showed a lower increase than SIM at the post-castration and post-simulated castration times (Fig. 1b).

3.2 Blood gas measurements

The blood gas exchange only showed changes in the piglets castrated using one incision and lidocaine as anesthetic (group C1+L). The increase in $PvCO_2$ was 28.4% immediately after castration (RV vs.

6, 24 and 48 h after castration. Different letters indicate significant differences between sampling times within groups (same color bars).

PC: $P = .0082$). In no other group did the blood gas measurements show significant differences, regardless of the number of incisions or the use of local anesthesia, and between groups as well as between sampling times within each group. However, the decrease in PvO_2 at post-castration, and the later increase, were noted in every group compared to the remaining sampling times within groups, including SIM (Table 1).

3.3 Acid-Base disorders

Table 2 shows significant blood bicarbonate concentration decreases in all groups immediately after castration (PC vs. RV samples). Despite this immediate post-castration decrease, these values returned to normal levels after six hours. By group, the C1 piglets showed the sharpest decrease -6.73 mmol/L ($P < .0001$)— followed by group C2 at 5.9 mmol/L ($P = .0017$), and groups C2+L and C1+L with decreases of 4.9 mmol/L ($P = .0015$) and 3.6 mmol/L ($P < .0001$), respectively. The lowest decrease was in SIM at 3.21 mmol/L ($P < .0008$, Table 2).

Regarding base excess (BE), while no significant differences were found between groups when sampling times were compared, differences were observed in RV vs. PC in most groups. The decreases in base excess levels compared to reference values were as follows: 9.88 , 7.28 , 6.81 , and 4.06 mmol/L ($P < .0001$ in all cases) for groups C1, C1+L, C2+L and SIM, respectively. No significant differences were found in C2 ($P = .1145$) (Table 2).

3.4 Glucose and hematocrit

No significant differences were found in hematocrit values between groups, though C1 showed a significant increase of 5.91% ($P = .0298$)

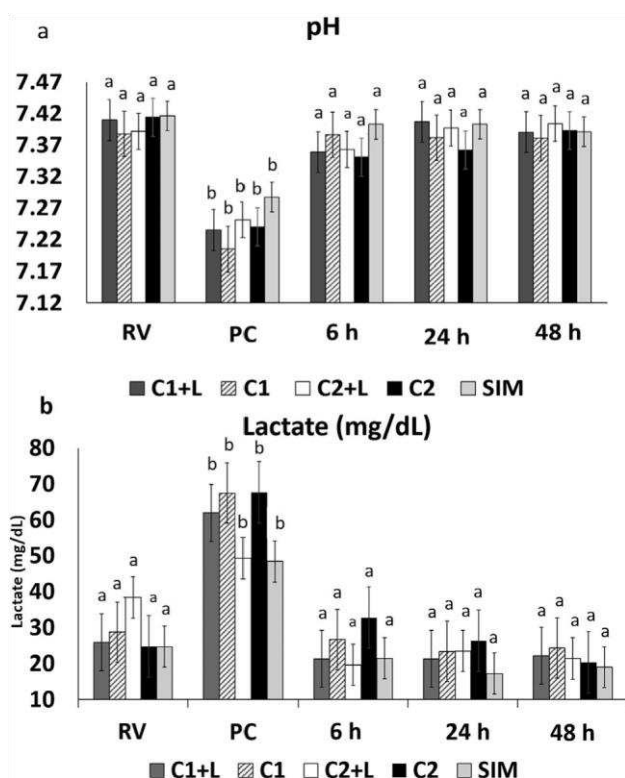


Fig. 1. Acid-Base balance in surgically-castrated piglets after one or two incisions, and with or without local anesthesia. C1: surgically-castrated piglets with one scrotal incision; C2: surgically-castrated piglets with two scrotal incisions; +L: Lidocaine use; SIM: Simulated castration. RV: Reference Values; PC: Blood sample obtained immediately after castration; 6 h, 24 h and 48 h: Blood samples taken at

Table 1
Blood gas exchange of surgically-castrated piglets after 1 or 2 incisions.

PvO ₂ (mm/Hg) Group	Castrated				SIM Mean ± SE	P-value
	One incision		Two incisions			
	C1+L Mean ± SE	C1 Mean ± SE	C2+L Mean ± SE	C2 Mean ± SE		
RV	37.10 ± 6.36	35.36 ± 6.07	38.50 ± 6.36	39.00 ± 5.38	55.00 ± 7.61	0.3274
PC	28.58 ± 4.29	31.07 ± 4.72	27.00 ± 6.25	39.70 ± 5.59	33.36 ± 5.33	0.5226
6 h	35.30 ± 4.94	32.55 ± 5.21	26.44 ± 5.21	37.81 ± 4.71	38.00 ± 4.71	0.4722
24 h	31.50 ± 4.33	31.18 ± 4.13	28.36 ± 4.13	36.66 ± 4.57	32.11 ± 4.57	0.7621
48 h	41.00 ± 3.83	33.33 ± 4.43	42.57 ± 5.02	31.66 ± 5.42	35.71 ± 5.02	0.4195
P-value	0.3348	0.9592	0.1054	0.8898	0.2503	
PvCO ₂ (mm/Hg)						
RV	38.66 ± 2.70 ^a	42.40 ± 3.23	38.80 ± 3.24	40.23 ± 2.80	39.85 ± 2.29	0.8219
PC	49.64 ± 1.96 ^b	48.35 ± 2.73	44.75 ± 3.62	44.10 ± 3.20	44.36 ± 1.83	0.6857
6 h	42.55 ± 2.56 ^{ab}	42.55 ± 3.41	45.66 ± 3.41	43.72 ± 3.05	38.70 ± 1.92	0.5402
24 h	42.20 ± 2.56 ^{ab}	42.27 ± 3.08	40.81 ± 3.08	42.60 ± 3.20	40.44 ± 2.02	0.9576
48 h	39.90 ± 2.44 ^a	44.25 ± 3.62	38.28 ± 3.87	40.60 ± 4.52	42.42 ± 2.29	0.3870
P-value	0.0082	0.5261	0.4569	0.8718	0.2660	

C1: surgically-castrated piglets with one scrotal incision; C2: surgically-castrated piglets with two scrotal incisions; +L: Lidocaine use; SIM: Simulated castration.

RV: Reference Values; PC: Blood sample obtained immediately after castration; 6 h, 24 h and 48 h: Blood samples taken at 6, 24 and 48 h after castration. Different letters indicate significant differences between sampling times within groups (same column).

after castration, while group C2 had an increase of 8.17% ($P = 0.0462$) compared to reference values (Table 3). Glucose, Na⁺, K⁺, and Ca⁺⁺ concentrations showed no differences among groups or sampling times within group

4 Discussion

The results of this study show physiological alterations (pH, lactate, PvO₂, PvCO₂, HCO₃⁻, HCT) in all groups after surgical castration or simulated castration, an effect that was especially strong on the acidbase balance. Two particularly important results were the decrease in pH values and the increase in lactate levels, which more than doubled the RV for each group, except C2+L, which showed greater profile stability. As a consequence, a marked reduction in HCO₃⁻ and BE levels was observed, especially in the piglets in the groups castrated surgically with one scrotal incision and those castrated surgically without pre-surgery anesthesia. Likewise, the hematocrit values were significantly higher values in the groups that were castrated surgically without lidocaine.

Blood gas exchange observed in this study can be explained by the considerable PvCO₂ increase found in all groups, including SIM. This increase has been

observed previously in pigs in association with a physiological response to stressful stimuli like handling and weaning at 8 and 15 days [24]. Descriptions of this phenomenon emphasize the incidence of metabolic acidosis that the animals attempted to modulate through hyperventilation [25].

Blood pH values decreased immediately after surgical castration in all groups including SIM; however, the imbalance was greater in the piglets castrated with one incision than in those castrated using two. The increase in lactate was apparent at PC sampling in both the surgically-castrated groups and the simulated group. Thus, the decrease in pH may be due to the fact that the tissues affected by castration are innervated, so the damage caused by surgical castration probably produces painful stimuli in response to the activation of the sympathetic nervous system [26]. When pigs find themselves in stressful conditions, they may shift from aerobic to anaerobic metabolism, which means producing ATP from muscle glycogen [27]. As a consequence of catecholamine stimulation, glycogen is mobilized, leading to a transient increase in lactate from muscles [28]. Blood pH then decreases due to the increase in lactate [29], which was observed in both surgical

Table 2

Blood acid-base balance of surgically-castrated piglets after 1 or 2 incisions, with and without administration of a local anesthetic (lidocaine).

HCO ₃ ⁻ (mmol/L) Group	Castration				SIM Mean ± SE	P-value
	One incisión		Two incisions			
	C1+L Mean ± SE	C1 Mean ± SE	C2+L Mean ± SE	C2 Mean ± SE		
RV	24.42 ± 0.96 ^a	25.31 ± 0.91 ^a	23.19 ± 0.91 ^a	24.44 ± 0.96 ^a	24.20 ± 0.96 ^a	0.6057
PC	20.82 ± 0.79 ^b	18.58 ± 0.87 ^b	19.10 ± 1.15 ^b	18.53 ± 1.03 ^b	20.99 ± 0.98 ^b	0.1597
6 h	24.65 ± 0.82 ^a	25.21 ± 0.98 ^a	25.16 ± 0.94 ^a	23.81 ± 1.01 ^a	24.41 ± 0.7 ^a	0.6575
24 h	26.58 ± 0.86 ^a	24.82 ± 0.88 ^a	24.83 ± 0.80 ^a	23.38 ± 1.06 ^a	25.27 ± 0.79 ^a	0.5710
48 h	23.75 ± 0.58 ^a	25.55 ± 0.67 ^a	23.71 ± 0.76 ^a	24.82 ± 0.90 ^a	25.48 ± 0.76 ^a	0.2103
P-value	< 0.0001	< 0.0001	0.0015	0.0017	0.0008	
Base excess (BE) (mmol/L)						
RV	0.61 ± 1.24 ^a	0.79 ± 1.17 ^a	-0.84 ± 1.17 ^a	0.84 ± 1.24	-0.22 ± 1.24 ^a	0.8209
PC	-6.67 ± 1.13 ^b	-9.09 ± 1.25 ^b	-7.65 ± 1.65 ^b	-4.61 ± 1.56	-4.28 ± 1.41 ^b	0.0853
6 h	-0.36 ± 0.88 ^a	0.72 ± 0.93 ^a	0.42 ± 0.93 ^a	-1.26 ± 0.84	0.37 ± 0.84 ^a	0.5018
24 h	2.09 ± 0.96 ^a	0.34 ± 0.92 ^a	0.69 ± 0.92 ^a	-1.58 ± 0.96	1.20 ± 1.01 ^a	0.1156
48 h	-0.44 ± 0.76 ^a	0.92 ± 0.87 ^a	-0.17 ± 0.99 ^a	0.03 ± 1.07	0.97 ± .99 ^a	0.5364
P-value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.1145	0.0011	

C1: surgically-castrated piglets with one scrotal incision; C2: surgically-castrated piglets with two scrotal incisions; +L: Lidocaine use; SIM: Simulated castration.

RV: Reference Values; PC: Blood sample obtained immediately after castration; 6 h, 24 h and 48 h: Blood samples taken at 6, 24 and 48 h after castration.

Different letters indicate significant differences between sampling times within groups (same column).

Table 3

Hematocrit (HTC) percentage in surgically-castrated piglets after 1 or 2 scrotal incisions with and without administration of a local anesthetic (lidocaine).

HCT (%) Group	Castrated				SIM Mean ± SE	P-value
	One incision		Two incisions			
	C1+L Mean ± SE	C1 Mean ± SE	C2+L Mean ± SE	C2 Mean ± SE		
RV	33.42 ± 2.38	32.66 ± 2.07 ^{ab}	31.16 ± 3.35	29.63 ± 2.03 ^a	31.00 ± 2.30	0.6460
PC	38.00 ± 1.80	38.57 ± 1.66 ^b	31.42 ± 3.10	37.80 ± 2.13 ^b	36.63 ± 1.96	0.2093
6 h	34.90 ± 1.99	33.77 ± 2.07 ^{ab}	31.33 ± 2.73	30.45 ± 2.03 ^a	31.63 ± 1.96	0.6575
24 h	34.60 ± 1.99	33.81 ± 1.88 ^{ab}	33.27 ± 2.47	31.77 ± 2.24 ^a	30.66 ± 2.17	0.5710
48 h	33.00 ± 1.90	29.28 ± 2.35 ^a	38.16 ± 3.35	36.50 ± 3.37 ^a	33.40 ± 2.91	0.2044
P-value	0.2876	0.0298	0.5167	0.0462	0.2382	

C1: surgically-castrated piglets with one scrotal incision; C2: surgically-castrated piglets with two scrotal incisions; +L: Lidocaine use; SIM: Simulated castration.

RV: Reference Values; PC: Blood sample obtained immediately after castration; 6 h, 24 h and 48 h: Blood samples taken at 6, 24 and 48 h after castration.

Different letters indicate significant differences between sampling times within groups (same column).

castration and SIM groups.

Blood pH levels normally remain within narrow limits because of the action of various corporal buffer systems [30], including HCO_3^- . When an increase in the production or concentration of hydrogen ions occurs, HCO_3^- takes additional hydrogen ions from the environment, thus forming carbonic acid, which dissolves in water and carbonic anhydride and is then liberated through respiration [31]. Hence, the pH decrease and lactate increase in SIM and piglets castrated surgically with one or two incisions could alter the bicarbonate concentrations and base-excess values as found in this study.

On this issue, Ritter et al. [32] observed that as pigs are exposed to additional stressors, their rectal temperature and blood lactate levels increased linearly, while blood pH, bicarbonate and base-excess values declined, also in a linear fashion. This suggests that restraint and castration could cause more pronounced physiological alterations than those result from restraint exclusively. This argument is consistent with the findings of this study in terms of the higher lactate levels detected in the surgically-castrated piglets compared to the neonates in the simulated castration group, though this difference was not significant.

It is important to consider that the testicular protection provided by the scrotum depends on three connective tissue structures (skin, the dartos fascia and the scrotal fascia). Also, the testicles are separated by a significant amount of connective and fat tissues that form the scrotal wall [16]. For these reasons, the restraining method used during surgical castration, and the type of surgical incision made, could have additional consequences for blood gases and metabolites, as we observed in this study. Thus, a surgical incision made directly over the scrotal raphe (C1 groups) turns out to be a more invasive method due to the aforementioned anatomical characteristics and the polymodal nociceptors, when compared to the castration technique that makes two incisions, one over each testicle (i.e., C2+L), since those incisions sever only three connective tissue structures.

Lidocaine, a local anesthetic, has typically been evaluated by analyzing vocal parameters and plasma cortisol. Applying lidocaine reduces the pain and stress involved in the castration procedure [22]. Regarding the effect of administering local anesthesia prior to surgical castration, our results show no statistical differences between the surgically-castrated groups with and without the use of lidocaine; however, Haga and Ranheim's [10] findings suggest that when castration is performed with no local anesthesia the nociceptive response generated is more pronounced than when lidocaine is applied. This suggests that injecting this anesthetic does, indeed, decrease pain and modulate cardiovascular responses to castration. All local anesthetics act by interrupting the onset and propagation of action potentials in nerve cells by blocking the increase in Na^+ conductance which, of course, is voltage-dependent [33]. Thus, when lidocaine is injected into the testis and/or spermatic cord it proved to be effective in reducing the acute pain that castration induces [10].

The unexpected result of this study was the absence of any effect of lidocaine use on physiological responses. One possible explanation of this finding is that the lidocaine did not flow evenly into all the tissues affected by castration, with the result that the sensory block achieved was uneven [10]. It should be noted that we administered the lidocaine 10 min prior to surgery, but Ranheim and Haga [34] found only low lidocaine concentrations in the cremaster muscle ten minutes after injection into the testes. Therefore, the 10-minute interval may be insufficient to achieve a complete sensory block, a condition that might also affect other tissues, including the scrotal ligament and the intraabdominal area of the spermatic cord.

Although no differences were found in the state of acidosis and blood gas diffusion in response to the use of local anesthesia, it is important to note that the hematocrit was significantly higher immediately after surgery in the piglets castrated without lidocaine. This can be attributed to two reactions: first, splenic contraction and, at least in part, the lower volume of blood plasma. Splenic contractions are triggered by the catecholamines liberated whenever the sympathetic branch of the autonomic nervous system is stimulated [35]. Additionally, the piglets in groups C1 and C2 showed the largest decrease in serum bicarbonate values compared to groups C1+L and C2+L. The drop in serum bicarbonate produces an excess of free protons, and when a lower than normal blood pH is found, metabolic acidemia is evidenced.

Alterations of the physiological profiles differed statistically only in the blood samples obtained from each group immediately after castration. Other studies have shown that castration causes reactions –both physiological and behavioral– that reflect pain. These reactions may be quite marked during surgery and the early hours post-castration, though they diminish quickly. Some behavioral alterations, however, have been seen to persist for a few days [34]. In their evaluation of the effect of lidocaine on cortisol levels during surgical castration in piglets as an indicator of stress and pain, Marsalek et al. [11] found that concentrations of cortisol increased in a significant manner at 1 h after the surgery was performed, and that administering lidocaine did not reduce those concentrations. In this regard, Davis et al. [36] found fewer physiological alterations (i.e., cortisol levels) 30 min after simulated castration in piglets compared to surgically-castrated animals. Similarly, Prunier et al. [16] showed that the plasma adrenocorticotrophic hormone (ACTH) increased and then peaked at 5 min after surgery, but returned to the pre-surgery level within 3 h.

5 Conclusions

Regardless of the number of incisions, scrotal surgical castration produces alterations in the blood physiological profiles of piglets. In fact, a tendency towards more pronounced blood physiological profile mismatches is observed in neonates castrated with one horizontal incision. Likewise, though to a lesser degree, simulated castration also causes alterations in the physiological profile compared to surgically-castrated piglets. Therefore, alterations in the physiological profile of piglets that underwent surgical castration are evident only immediately after castration, and return to normal values within 6 h of surgery. Clearly, more research is needed on the use of lidocaine during surgical castration because, even though our results did not reach statistical significance for the complete physiological profile, they do show an effect on hematocrit values and the state of acidosis. Thus, we conclude that lidocaine can be helpful in reducing alterations in the physiological profile of the blood in surgically-castrated piglets.

Competing interests

There is no competing interest to declare.

References

- Hay M, Rue J, Sansac C, Brunel G, Prunier A. Long-term detrimental effects of tooth clipping or grinding in piglets: a histological approach. *Anim welfare* 2004;13:27–32.
- Holyoake P, Broek D, Callinan A. The effects of reducing the length of canine teeth in sucking pigs by clipping or grinding. *Aust Vet J* 2004;82:574–6.
- Moya SL, Boyle L, Lynch P, Arkins S. Influence of teeth resection on the skin temperature and acute phase response in newborn piglets. *Anim welfare* 2006;15:291–7.
- Taylor AA, Weary DM. Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. *Appl Anim Behav Sci* 2000;70:17–26.
- Sutherland M, Bryer P, Krebs N, McGlone J. Tail docking in pigs: acute physiological and behavioural responses. *Animal* 2008;2:292–7. <https://doi.org/10.1017/S1751731107001450>.
- Rault JL, Lay D, Marchant-Forde J. Castration induced pain in pigs and other livestock. *Appl Anim Behav Sci* 2011;135:214–25. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.10.017>.
- Kluivers-Poodt M, Zonderland JJ, Verbraak J, Lambooj E, Hellebrekers J. Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal* 2013;7:1158–62.
- O'Connor A, Anthony R, Bergamasco L, Coetzee J, Gould S, Johnson A, et al. Pain management in the neonatal piglet during routine management procedures. part 2: grading the quality of evidence and the strength of recommendations. *Anim Health Res Rev* 2014;15:39–62. <https://doi.org/10.1017/S1466252314000073>.
- Godyn D, Herbut E, Walczak J. Infrared thermography as a method for evaluating the welfare of animals subjected to invasive procedures – a review. *Ann Anim Sci* 2013;13:423–34. <https://doi.org/10.2478/aoas-2013-0027>.

Haga HA, Ranheim B. Castration of piglets: the analgesic effects of intratesticular and intrafunicular lidocaine injection. *Vet Anaesth Analg* 2005;32:1–9.

Marsalek P, Svoboda M, Bernady J, Vecerek V. Concentrations of neopterin, bipterin, and cortisol associated with surgical castration of piglets with lidocaine.

Czech J Anim Sci 2015;60:473–8. <https://doi.org/10.17221/8555-CJAS>.

Mota-Rojas D, Ceballos M, Orihuela A, Corredor M, Pérez E, Ramírez R, et al.

Painful practices in farm animals. In: Mota-Rojas D, Velarde A, Huertas-Canen S,

Cajiao MN, editors. *Animal welfare (in spanish)*. España: Elsevier; 2016. p. 137–54. [13] Fredriksen B, Furnols MFI, Lundstrom K, Migdal W, Prunier A, Tuytens FAM, et al.

Practice on castration of piglets in Europe. *Animal* 2009;3:1480–7.

Bonastre C, Mitjana O, Tejedor M, Calavia M, Yuste AG, Úbeda L, et al. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: the effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *Animal* 2016;10:1474–81. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000586>.

Marchant-Forde J, Lay D, McMunn K, Cheng HW, Pajor A, Marchant-Forde RM. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: the effects of alternative techniques delivered in combination. *J Anim Sci* 2009;92:1150–60. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1080>.

Prunier A, Bonneau M, Von Borell E, Cinotti S, Gunn M, Fredriksen B, et al. A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Anim welfare* 2006;15:277–89.

Von Borell E, Baumgartner J, Giersing M, Jaggin N, Prunier A, Tuytens F, et al.

Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs.

Animal 2009;3:1488–96. <https://doi.org/10.1017/S1751731109004728>.

Moya SL, Boyle LA, Lynch PB, Arkins S. Effect of surgical castration on the behavioural and acute phase responses of 5-day-old piglets. *Appl Anim Behav Sci* 2008;111:133–45. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.05.01>.

NOM-062-ZOO-1999. Technical specifications for production, care and use of animals. México: Diario oficial de la federación. México D. F.

Sherwin CM, Christiansen SB, Duncan IJ, Erhard HW, Lay DC, Mench JA, et al. Guidelines for the ethical use of animals in applied ethology studies. *Appl Anim Behav Sci* 2003;81:291–305.

Hansson M, Lundeheim N, Nyman G, Johansson G. Effect of local anaesthesia and/ or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet Scand* 2011;53:34–42.

Kluivers-Poodt M, Houx B, Robben S, Koop G, Lamboij E, Hellebrekers L. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *Animal* 2012;6:1469–75. <https://doi.org/10.1017/S1751731113000086>.

Sturlini Barticciotto L, Loureiro Luna SP, Rodolfo de Sá Lorena SE, Garcia F, Antonio D. Weight gain, behavioral and cortisol changes after orchietomy with or without local anaesthesia in piglets. *Semina: Ciências Agrárias* 2016;37:1307–16. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n3p1307>.

Roldan P, Trujillo-Ortega M, Borderas-Tordesillas F, Martínez-Rodríguez R, MoraMedina P, et al. Physiometabolic responses to road transport in weaned piglets for a short period and the effects of straw bedding. *Anim Sci J* 2015;86:563–71.

Kiwull-Schöne H, Kiwull P, Frede S, Wiemann Martin. Role of brainstem sodium/ proton exchanger 3 for breathing control during chronic acid–base imbalance. *Am J Resp Crit Care* 2007;176:513–9. <https://doi.org/10.1164/rccm.200703-347OC>.

White R, DeShazer J, Tressier C, Borchert G, Davey S, Waninge A, et al. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *J Anim Sci* 1995;73:381–6.

Hedrick HB, Aberle ED, Forrest JC, Judge MD, Merkel RA. *Principles of Meat Science*. 3rd ed. Dubuque, IA: Kendall/Hunt Publishing Company; 1994. p. 87–92.

Hay M, Vulin A, Génin S, Sales P, Prunier A. Assessment of pain induced by castration in piglets: behavioral and physiological responses over the subsequent 5 days. *Appl Anim Behav Sci* 2003;82:201–18. [https://doi.org/10.1016/S01681591\(03\)00059-5](https://doi.org/10.1016/S01681591(03)00059-5).

Mota-Rojas D, López A, Martínez-Burnes J, Muns R, Villanueva-García D, MoraMedina P, et al. Invited review: Is vitality assessment important in

neonatal animals? *CAB Reviews* 2018;13(36):1–13. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR13036>.

Islas-Fabila P, Mota-Rojas D, Martínez-Burnes J, Mora-Medina P, González-Lozano M, Roldan-Santiago P, et al. Physiological and metabolic responses in newborn piglets associated with the birth order. *Anim Reprod Sci* 2018;197:247–56. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.037>.

Martínez-Rodríguez R, Roldan-Santiago P, Orozco-Gregorio H, Trujillo-Ortega M, Mora-Medina P, González-Lozano M, et al. Physiological responses and blood gas exchange following long-distance transport of piglets weaned at different ages over unpaved or paved roads. *Livest Sci* 2015;172:69–78. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.12.013>.

Ritter M, Ellis M, Anderson D, Curtis S, Keffaber K, Killefer J, et al. Effects of multiple concurrent stressors on rectal temperature, blood acid-base status, and longissimus muscle glycolytic potential in market-weight pigs. *J Anim Sci* 2009;87:351–62. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-0874>.

Stevens B, Posner L, Jones C, Lascelles B. Comparison of the effect of intratesticular lidocaine/bupivacaine vs. saline placebo on pain scores and incision site reactions in dogs undergoing routine castration. *Vet J* 2013;196:499–503.

Ranheim B, Haga HA. Local anaesthesia for pigs subject to castration. *Acta Vet Scand* 2006;48:S13. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-48-S1-S13>.

Mota-Rojas D, Becerril-Herrera M, Roldan-Santiago P, Alonso-Spillsbury M, FloresPeinado S, Ramírez-Necoechea R, et al. Effects of long distance transportation and CO₂ stunning on critical blood values in pigs. *Met Sci* 2012;90:893–8. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.027>.

Davis K, Seddon Y, Creutzinger K, Bouvier M, Brown J. An investigation into the use of sucrose to reduce castration pain in piglets. *Can J Anim Sci* 2017;97:439–47. <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0170>.



Artículo 2

**“Infrared Thermography and Metabolic Changes in Castrated
Piglets due to the Effects of Age and the Number of Incisions
in the Testicles”**

**Publicado en la revista: American Journal of Animal and Veterinary Sciences 2018, 13
(3): 104.114 DOI: 10.3844/ajavsp.2018.104.114**

(Estados Unidos de América)



Original Research Paper

Infrared Thermography and Metabolic Changes in Castrated Piglets due to the Effects of Age and the Number of Incisions in the Testicles

¹Efraín Pérez Pedraza, ^{2*}Daniel Mota-Rojas, ³Miguel González-Lozano, ⁴Isabel Guerrero-Legarreta, ⁵Julio Martínez-Burnes, ⁶Patricia Mora-Medina, ⁷Rosy Cruz-Monterrosa and ²Ramiro Ramírez Necoechea

¹Ph.D. Program in Biological and Health Sciences

[Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud], Universidad Autónoma Metropolitana, Mexico city, Mexico

²Neurophysiology, behavior and assessment of welfare in domestic animals, DPAA.

Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Campus Xochimilco, Mexico City, Mexico

³CEIEPP, FMVZ, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

⁴Department of Biotechnology, Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Iztapalapa, México

⁵Graduate Studies and Research, Veterinary Medicine Faculty,

Universidad Autónoma de Tamaulipas, Ciudad Victoria, Mexico

⁶Department of Livestock Sciences, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico

⁷Department of Food Science, Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Lerma, Mexico

Article history

Received: 14-06-2018

Revised: 27-08-2018

Accepted: 27-09-2018

Corresponding Author:

Daniel Mota-Rojas,
Neurophysiology, behavior and
assessment of welfare in domestic
animals. Universidad Autónoma
Metropolitana, Xochimilco.
Calzada del Hueso 1100, Col.
Villa Quietud, Del. Coyoacán,
CP:04960, Mexico Tel/Fax:
+525.55.54837535
Email: dmota100@yahoo.com.mx ,
dmota@correo.xoc.uam.mx

Abstract: The objective of the study was to evaluate infrared temperature and metabolic responses in different-aged piglets castrated surgically with one or two incisions. The piglets were divided into groups according to age (5- and 13-day old) and the number of incisions: simulated castration; castration with one incision (C1I5 and C1I13); and castration via two incisions (C2I5 and C2I13). Temperature evaluations were performed with an infrared thermal thermography camera in the eyes, the thorax and the scrotal area, at 24 h before castration (RV), immediately after castration (PC), 24 and 48 h post-surgery. The study also evaluated plasma glucose and lactate concentrations. The thorax presented lower infrared temperature in the groups C1I13 and C2I13 than those in C1I5 and C2I5 ($p < 0.05$). Regardless of age and type of castration, plasma lactate values increased PC ($P = 0.0001$). The piglets castrated at 5 days of age were less susceptible to presenting temperature changes regardless of the number of incisions, while the animals castrated at 13 days with two incisions showed lower temperatures and imbalances in plasma glucose and lactate concentrations. Castration in piglets of 13 days causes a decrease in temperature in the lacrimal caruncle immediately after performing surgery. The physiological responses caused by castration are less marked in 5-day-old piglets.

Keywords: Castration, Piglets, Infrared Thermography, Metabolic Changes

Introduction

In most countries, pigs reared in pork-producing operations are castrated to obtain several well-recognized benefits: (a) preventing unwanted breeding; (b) behavioral modifications that reduce fighting in mature pigs and make handling easier; and, (c) reducing the risk of boar taint in meat (Rault *et al.*, 2011; Kluivers-Poodt *et al.*, 2013; O'Connor *et al.*, 2014).

While surgical castration is still the most common method used in the pork industry (Godyn *et al.*, 2013), there is strong evidence that this surgery propitiates various stressful events that are likely to cause pain. These events include scrotal incisions, extraction of the testes and severing the spermatic cords (Bonastre *et al.*, 2016). The stimulation of nociceptors in the scrotal skin activates neurons of various orders which transmit information from the periphery to the brain that can be interpreted as

pain and distress, regardless of the age at which the animals are castrated (McGlone and Hellman, 1988; Sutherland *et al.*, 2010; Mota-Rojas *et al.*, 2016). The most common procedure used by producers involves castrating piglets at 3-5 or 10-14 days of age (Nord *et al.*, 2016). It is well-known that after a painful or stressful short-term handling event, catecholamine and glucocorticoid concentrations increase, stimulating the mobilization of muscular glycogen and the resulting hepatic metabolism that triggers increases in plasma lactate and glucose concentrations (Prunier *et al.*, 2005; Lonardi *et al.*, 2015); increases in metabolic activity that can generate higher core body temperatures (Carroll *et al.*, 2006; Marchant-Forde *et al.*, 2009; Weschenfelder *et al.*, 2013). Infrared Thermography (IRT) is currently being used to detect the effects of painful, stressful and emotionally-upsetting stimuli on temperature changes in several species (Stubsjøen *et al.*, 2009) that are believed to reflect internal body temperature (Kastberger and Stachl, 2003).

There are many reports in the literature of veterinary medicine that describe the benefits of local intra- testicular, scrotal sac and spermatic cord anesthesia for controlling the pain and stress associated with the effects of castration in many species (Haga and Ranheim, 2005; Suriano *et al.*, 2014; Nickell *et al.*, 2015). They do not make recommendations as to how many scrotal incisions should be made, but the most common technique uses two incisions rather than one (Fredriksen *et al.*, 2009). When two incisions are made, they are normally performed longitudinally on each testicle (Marsalek *et al.*, 2015), while the single-incision method requires a transverse cut across both testicles and into the scrotum and tunica vaginalis (Kluivers-Poodt *et al.*, 2013). Considering this background, the objective of the present study was to evaluate infrared temperature changes and metabolic responses in different-aged piglets castrated surgically with one or two incisions.

Material and Methods

Geographical Location of the Experimental Site

This study was conducted at a commercial pig farm in Amecameca located in the foothills of the Sierra Nevada, within the province of the volcanic axis and in the basin of the Moctezuma-P  nuco river. Geographic coordinates are longitude (98  37' 34" y 98  49' 10"; latitude 19  3' 12" y 19  11' 2").

Ethical Note

All animals were handled humanely throughout the study. All procedures related to the use and care of the animals strictly followed the Mexican regulation norm, NOM-062-ZOO-1999 of Mexico's Department of Agriculture, Ranching, Rural Development, Fishing and Alimentation for animal-based experimentation (NOM, 1999).

This study was conducted at a commercial pig farm located in central Mexico, after obtaining approval from the Doctoral Commission of Biological Sciences of the Universidad Autonoma Metropolitana Iztapalapa-Xochimilco in Mexico City in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki). All procedures were conducted in accordance with the guidelines for the ethical use of animals in applied ethological studies, described elsewhere (Sherwin *et al.*, 2003).

Animals

Data were collected from 72, 5- and 13-day-old male piglets (Yorkshire x Landrace) that weighed 1.68 ± 0.40 and 5.46 ± 1.01 kg, respectively. Piglets were obtained from twelve different litters delivered by third-parity sows. Piglets with abnormalities in the position of the testicles (unilateral or bilateral cryptorchidism, scrotal hernias, etc.) or signs of systemic disease were excluded. Following the regular handling practices at the host farm, on day 3 post-farrowing all piglets received a subcutaneous injection of 1 mL (100 mg) of Fe in the form of iron dextran, then they were returned to the farrowing pen. The piglets were not subjected to tooth or tail resection before the experiment. The sows and their litters were held in 1.9-2.5 m cages and housed in individual farrowing crates made of tubing. Dimensions were 2.07 m long $\times$ 0.60 m wide $\times$ 101 m high, with a total space of 2 m wide by 2.5 m long. Each cage was equipped with a 50-cm stainless steel feeder and a nipple drinker. An electric radiant lamp was used to heat the creep area in each crate. Each room held 12 farrowing crates, arranged in two rows of six crates separated by an aisle. The crates had fully-slatted floors made of wire mesh, covered with a plastic carpet. Ventilation and temperature were controlled automatically by fans and air heating (27 C and 60% relative humidity in the maternity room). Sows and piglets had *ad libitum* access to water in separate nipple drinkers. From day one of post-partum life, all piglets were weighed and identified individually by marking a number on their back. Different colors were used to distinguish the experimental groups. All these procedures were conducted by the same person.

Each one of the six study groups consisted of 12 piglets divided according to age and the number of incisions made during surgical castration, as follows: simulated castration (SC5 and SC13): a control group in which the 5- and 13-day old piglets, respectively, were removed from their pens and held in a head-down position by the legs for 120 s; castration with one horizontal incision in both testicles in 5- and 13-day old piglets (C1I5 and C1I13, respectively); and castration with two vertical scrotal incisions in 5- and 13-day old piglets (C2I5 and C2I13).

Surgical procedure

Before performing surgical castration, the scrotal area was superficially cleaned with chlorhexidine surgical scrub and isopropyl alcohol. Lidocaine at 10 mg/ml

(Pisacaina 2%, Pisa Laboratorios, S.A. de C.V.,

Mexico) was used as the local anesthetic, with 0.5 ml being injected into each testicle Hansson *et al.* (2011), with the expectation that it would spread from there into the spermatic cord. Those piglets were then returned to the crate with the other ones awaiting castration. Lidocaine was administered at least 15 min before castration in accordance with the methodology employed by Kluivers-Poodt *et al.* (2012).

Surgery for the piglets in groups C2I5 and C2I13 was performed with a scalpel to make two incisions in the scrotum, extract the testicles and sever the spermatic cords (Bonastre *et al.*, 2016). For groups C1I5 and C1I13, castration was carried out by making one incision in the scrotum to expose the testicles. The spermatic cord was scarified with a scalpel and the testicles removed (Sturlini Barticciotto *et al.*, 2016).

All surgical procedures were performed by experienced surgeons on the same day with the piglets restrained in the supine position by an assistant. The skin over the scrotum was tautened with one hand to help expose the testicles and incision site. Depending on the treatment group, castration was performed by making one or two incisions (2-3 cm) on the skin of the scrotum with a scalpel to expose the testicles. Next, the vaginal tunic and spermatic cords were cut and the testicles removed. Immediately after each castration, a healing agent was applied to the wound (Negasunt Powder 20

Gm : Coumaphos: 3%, Propoxur: 2%, Prontalbin: 5%).

It is important to mention that no other post-operative treatment was applied.

Infrared Thermal Camera

Evaluation of the piglets' body temperature was performed with a portable infrared thermal camera (ThermaCam E45; FLIR Systems, Boston, MA, USA). Before beginning the study, the camera was calibrated

for the temperature and relative humidity of the room where measurements were to be taken. The emissivity value used was 0.98, as recommended by Soerensen and Pedersen (2015).

To avoid the confounding effect of ambient

conditions on ocular temperature variation, a data logger; registering ambient temperature and relative humidity was attached to the camera while images were captured.

To optimize the accuracy of the thermographic image and to reduce sources of artifacts, before every testing session the same image of a Lambert Surface (An ideal, perfectly diffusing surface for which the intensity of reflected radiation is independent of direction) was taken to define the radiance emission and to nullify the effect of surface reflections on tested animals. All the electric radiant lamp and the ventilation system were turned off during the castration of the pigs and each time the infrared thermal camera was used. The sows were kept at an average room temperature of $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ with a relative humidity of 60%. Lighting was set at 39.8 candelas.

While the piglets were restrained by the assistant and after drawing the blood samples, a second assistant –who was blind to the treatments– took three photographs of each region, as follows: the piglets' faces, to allow evaluation of both eyes (the area of the medial posterior palpebral border of the lower eyelid and the *caruncula lacrimalis*), the right flank and the scrotal area (Fig. 1). Three images of each body region were taken each time. The infrared thermographic images were captured at a distance of 50 cm from the piglets at the following intervals: 24 h prior to castration (Reference values, RV), immediately after castration (PC) and at 24 and 48 h post-surgery. A total of 900 images were recorded as JPEG files using ThermaCam Researcher Basic image analysis software (FLIR Systems) to obtain minimum, average and maximum temperatures of the skin areas sampled. One clear infrared image (precise location and perfect focus) was chosen for each animal.

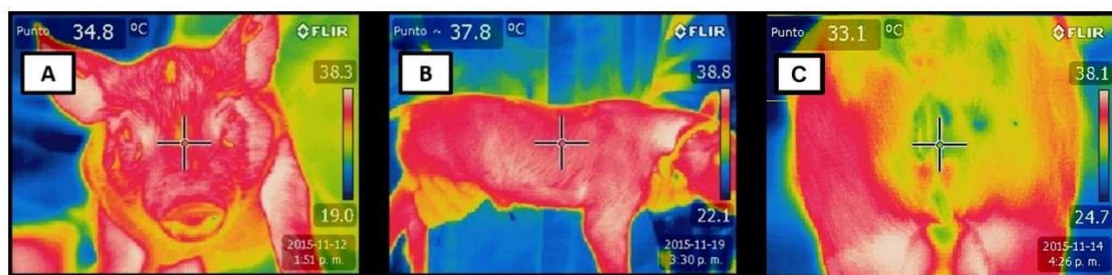


Fig. 1: Infrared thermographic images of surgically-castrated piglets. A = frontal infrared thermographic image showing measurement of the surface temperature of the eyes (small areas around the posterior border of the eyelid and the *caruncula lacrimalis*), B = infrared thermographic image showing the right side of the piglet to obtain the surface temperature of the thorax, C = infrared thermographic image of the scrotal wound made to perform surgical castration

Blood Samples

Blood samples were collected immediately after the simulated or surgical castration from the *cava cranialis* vein using 3-ml syringes at four sampling time points: 24 h before castration (RV), immediately after surgery (0h) and at 24 and 48 h post-castration. All samples were obtained in less than 20 s under physical restraint by placing the piglets in the same position as for castration. All personnel involved in sampling were experienced and had received training previously. Once obtained, 150 μ L of the samples from both age groups and type of castration were placed in a plasma gas and electrolyte parameter analyzer (GEM Premier, Instrumentation Laboratory Co., Lexington, USA and Instrumentation Laboratory SpA, Milano, Italy). Trained personnel processed all samples immediately to determine plasma glucose (mg/dL) and lactate levels (mg/dL).

Statistical Analysis

Normality assays were performed (PROC UNIVARIATE, SAS 9.0) for all variables examined, the two methods of castration considered and the two age

groups to demonstrate the following: that errors had normal distributions and the existence of a null mean with a typical deviation (α). To test for the effect of age and castration method on temperature, a repeated measures ANOVA was performed (SAS 9.0). The researchers who carried out the evaluation and collected the study outcomes were not aware of the treatments and did not participate in selecting the animals or data analysis. Likewise, the researcher responsible for analyzing the data was unaware of the treatments. A two-tailed $p < 0.05$ was considered significant in every test.

Results

Infrared Thermography of the Caruncula Lacrimalis in the Castrated Piglets

Table 1 shows the infrared temperature values obtained for the *caruncula lacrimalis* of the piglets due to the effects of age and type of castration at the different sampling time points. Significant differences were observed among the age groups and types of castration, but only at 24 h post-castration in all groups.

Table 1: Temperature assessment ($^{\circ}$ C) of the eyes (small areas around the posterior border of the eyelid and the *caruncula lacrimalis*) in castrated piglets by scrotal surgery with one or two incisions at 5 and 13 days of age

Piglets 5d								Piglets 13d			
		SC5									
TIME	Mean ± SEM	C1I5 Mean ± SEM	C2I5 Mean ± SEM	SC13 Mean ± SEM	C1I13 Mean ± SEM	C2I13 Mean ± SEM	P-Value				
RV	35.35±0.42 ^{a1}	35.72±0.26 ^{a1}	35.97±0.28 ^{a1}	36.30±0.37 ^{a1}	36.40±0.25 ^{a1}	35.95±0.24 ^{a1}	0.25				
PC	35.35±0.58 ^{a1}	35.33±0.38 ^{a1}	35.50±0.52 ^{a1}	34.72±0.44 ^{a2}	34.54±.33 ^{a2}	34.31±.33 ^{a2}	0.22				
24 h	36.00±.56 ^{ab1}	35.50±0.35 ^{a1}	35.07±0.39 ^{a1}	35.46±0.50 ^{ab1,2}	34.33±0.34 ^{b2}	33.98±0.32 ^{b2}	0.0069				
48 h	35.20±0.86 ^{a1}	35.84±0.54 ^{a1}	33.20±1.22 ^{a1}	35.80±0.61 ^{a1,2}	35.08±0.35 ^{a,1,2}	35.34±0.35 ^{a1,2}	0.48				
P-Value	0.51	0.62	0.09	0.003	0.0002	0.0029					

SC5, simulated castration 5-day old piglets; C1I5, castration with one horizontal incision in both testicles in 5-day old piglets; C2I5, castration with two vertical scrotal incisions 5-day old piglets; SC13, simulated castration 13-day old piglets; C1I13, castration with one horizontal incision in both testicles in 13-day old piglets; C2I13, castration with two vertical scrotal incisions 13-day old piglets. SEM, standard error of the mean, RV, reference values (24 hours prior to castration); PC, post castration (immediately); 24 h, 24 hours before castration; 48 h, 48 hours post-surgery.

^{a, b, c} Different letters in the same row indicate statistically significant differences among groups at the same time. ^{1,2} Different numbers in the same column indicate statistically significant differences among times in the same group, Tukey ($p < 0.05$).

Table 2: Temperature assessment ($^{\circ}$ C) of the thorax surface in piglets castrated by scrotal surgery with one or two incisions at 5 and 13 days of age

		Piglets 5d			Piglets 13d			
	SC5	C1I5	C2I5	SC13	C1I13	C2I13		
TIME	Mean ± SEM	Mean ± SEM	Mean ± SEM	Mean ± SEM	Mean ± SEM	Mean ± SEM	P-Value	
RV	37.52±0.45 ^{a1}	37.51±0.28 ^{a1}	37.41±0.30 ^{a1}	36.58±0.40 ^{a1}	36.78±0.27 ^{a1}	37.13±0.26 ^{a1}	0.26	
PC	37.00±0.67 ^{a1}	36.65±0.47 ^{a1}	37.46±0.54 ^{a1}	35.90±0.42 ^{a1}	35.69±0.30 ^{a1}	35.74±0.27 ^{a2}	0.05	
24 h	37.40±0.59 ^{ab1}	37.63±0.37 ^{a1}	37.68±0.42 ^{a1}	35.90±0.53 ^{ab1}	35.74±0.34 ^{b1}	35.74±0.34 ^{b2}	0.0003	
48 h	37.30±0.61 ^{a1}	36.98±0.38 ^{a1}	36.20±0.86 ^{a1}	35.45±0.43 ^{a1}	36.51±0.27 ^{a1}	36.48±0.24 ^{a1}	0.13	
P-Value	0.93	0.08	0.32	0.33	0.11	0.0048		

SC5, simulated castration 5-day old piglets; C1I5, castration with one horizontal incision in both testicles in 5-day old piglets; C2I5, castration with two vertical scrotal incisions 5-day old piglets; SC13, simulated castration 13-day old piglets; C1I13, castration with one horizontal incision in both testicles in 13-day old piglets; C2I13, castration with two vertical scrotal incisions 13-day old piglets. SEM, standard error of the mean, RV, reference values (24 hours prior to castration); PC, post castration (immediately); 24 h, 24 hours before castration; 48 h, 48 hours post-surgery.

^{a, b, c} Different letters in the same row indicate statistically significant differences among groups at the same time. ^{1,2} Different numbers in the same column indicate statistically significant differences among times in the same group, Tukey ($p < 0.05$).

At that time, the piglets in group C1I13 presented a temperature that was 1.17°C below that of the piglets in group C1I5. Also, the piglets in group C2I13 presented an infrared temperature that was 1.09°C lower than that of the piglets in group C2I5 ($p<0.05$). The C2I13 piglets had lower infrared temperatures immediately after castration and at 24 h post-surgery, compared to the RV; however, infrared temperatures returned to RV at 48 h post-castration.

Infrared Thermography of the Thorax Surface in Castrated Piglets

The infrared temperature values from the surface of the thorax are shown in Table 2 at 24 h post-castration. The C1I13 and C2I13 piglets presented an average infrared temperature that was 1.64°C lower than that of the piglets in group SC13 and 1.12°C lower than the piglets in groups C1I5 and C2I5. Also, the SC13 and C2I13 piglets had reduced infrared temperatures immediately after castration and at 24 h post-surgery, compared to the RV. However, temperatures in all groups returned to RV at 48 h post-castration.

Infrared Thermography of the Scrotal Surface in Castrated Piglets

Table 3 shows the infrared temperature values for the scrotal region of the piglets due to the effects of age and type of castration at the different sampling time points. Our results may suggest that immediately after castration, the piglets in C1I13 and C2I13 presented infrared temperatures that were 1.95°C and 2.44°C lower, respectively, than the temperature values determined for SC13.

At 24 h post-castration, the C1I13 group presented an infrared temperature that was 2.32°C lower than that of group C1I5. Also, group C2I13 had an infrared temperature 2.14°C lower than group C2I5 ($p<0.05$). In contrast, the measurements taken at 48 h post-surgery

showed an infrared temperature that was 1.48°C lower in group C1I13 than in C1I5 ($p=0.029$).

In relation to the infrared temperatures evaluated within each age group at the different sampling time points, observations showed that values decreased immediately after castration by one or two incisions in the C1I5 and C2I5 piglets, but no alterations at 24 and 48 h post-castration, compared to the RV ($p<0.05$). The C2I13 piglets, in contrast, showed a marked decrease in their temperature values immediately after castration that were maintained up to 24 h ($p<0.05$).

Glucose

Table 4 presents the plasma glucose values of the piglets in both age groups castrated by one or two incisions. The study found significant differences between the baseline values of the 5- and 13-day-old piglets, with the latter registering higher plasma glucose values ($p<0.05$). Other observations showed that immediately after surgery, the C2I13 piglets presented higher plasma glucose values than the 5-day-old piglets castrated by one or two incisions ($p<0.05$).

Lactate

Figure 2 shows the plasma lactate values for the piglets in both age groups castrated by one or two incisions. These results indicate that immediately after surgery, C1I13 animals had higher plasma lactate levels than the C1I5 piglets castrated by the same technique and the piglets in the simulation group. In other results, at 24 h, the study found that the piglets C2I5 had higher plasma lactate values than the 13-day-old animals in the simulated castration group and the piglets C1I13 ($p<0.05$). Regarding evaluation time, results show that, regardless of age and type of castration, plasma lactate values increased immediately after surgery and in the piglets with simulated castration ($p=0.0001$).

Table 3: Temperature assessment (°C) of the scrotal surface in castrated piglets by scrotal surgery with one or two incisions at 5 and 13 days of age

TIME	Piglets 5d			Piglets 13d			P-Value
	SC5 Mean ± SEM	C1I5 Mean ± SEM	C2I5 Mean ± SEM	SC13 Mean ± SEM	C1I13 Mean ± SEM	C2I13 Mean ± SEM	
RV	37.75±0.62 ^{a1}	37.33±0.44 ^{a1}	36.64±0.41 ^{a1}	36.94±0.56 ^{a1}	36.07±0.37 ^{a1}	36.58±0.36 ^{a1}	0.18
PC	36.55±0.65 ^{a1}	35.38±0.34 ^{ab2}	35.33±0.53 ^{abc2}	36.08±0.41 ^{a1}	34.13±0.32 ^{bc1}	33.64±0.27 ^{c3}	0.0001
24 h	36.47±0.67 ^{ab1}	36.97±0.42 ^{a1}	36.80±0.47 ^{a1}	35.25±0.67 ^{ab1}	34.65±0.42 ^{b1}	34.66±0.40 ^{b23}	0.0005
48 h	37.65±0.59 ^{a1}	36.96±0.37 ^{a1}	35.90±0.84 ^{ab12}	35.86±0.48 ^{ab1}	35.48±0.28 ^{b1}	35.30±0.24 ^{b12}	0.029
P-Value	0.2	0.0005	0.02	0.07	0.05	0.0001	

SC5, simulated castration 5-day old piglets; C1I5, castration with one horizontal incision in both testicles in 5-day old piglets; C2I5, castration with two vertical scrotal incisions 5-day old piglets; SC13, simulated castration 13-day old piglets; C1I13, castration with one horizontal incision in both testicles in 13-day old piglets; C2I13, castration with two vertical scrotal incisions 13-day old piglets. SEM, standard error of the mean, RV, reference values (24 hours prior to castration); PC, post castration (immediately); 24 h, 24 hours before castration; 48 h, 48 hours post-surgery.

^{a, b, c} Different letters in the same row indicate statistically significant differences among groups at the same time. ^{1,2} Different numbers in the same column indicate statistically significant differences among times in the same group, Tukey ($p<0.05$)

Table 4: Plasma glucose concentration (mg/dL) in piglets castrated by scrotal surgery with one or two incisions at 5 and 13 days of age during a period of 48h post-surgery

	Piglets 5d			Piglets 13d			
	SC5	C1I5	C2I5	SC13	C1I13	C2I13	
TIME	Mean $\pm$ SEM	Mean $\pm$ SEM	Mean $\pm$ SEM	Mean $\pm$ SEM	Mean $\pm$ SEM	Mean $\pm$ SEM	P-Value
RV	89.00 $\pm$ 5.38 ^{d1}	94.81 $\pm$ 3.63 ^{cd1}	97.27 $\pm$ 3.63 ^{cd1}	117.80 $\pm$ 5.38 ^{a1}	111.27 $\pm$ 3.63 ^{ab1}	109.63 $\pm$ 3.63 ^{abc1}	0.0002
PC	102.20 $\pm$ 8.20 ^{ab1}	99.90 $\pm$ 5.53 ^{b1}	94.90 $\pm$ 5.80 ^{b1}	100 $\pm$ 60 $\pm$ 8.20 ^{ab1}	118.63 $\pm$ 5.53 ^{ab1}	124.45 $\pm$ 5.53 ^{a1}	0.003
24 h	104.20 $\pm$ 6.72 ^{a1}	101.12 $\pm$ 5.31 ^{a1}	99.55 $\pm$ 5.01 ^{a1}	107.00 $\pm$ 6.72 ^{a1}	105.72 $\pm$ 4.53 ^{a1}	106.18 $\pm$ 4.53 ^{a1}	0.89
48 h	109.75 $\pm$ 7.21 ^{a1}	98.63 $\pm$ 4.35 ^{a1}	107.33 $\pm$ 4.80 ^{a1}	120.75 $\pm$ 7.21 ^{a1}	109.72 $\pm$ 4.35 ^{a1}	102.50 $\pm$ 4.56 ^{a1}	0.14
P-Value	0.33	0.65	0.17	0.29	0.27	0.06	

SC5, simulated castration 5-day old piglets; C1I5, castration with one horizontal incision in both testicles in 5-day old piglets; C2I5, castration with two vertical scrotal incisions 5-day old piglets; SC13, simulated castration 13-day old piglets; C1I13, castration with one horizontal incision in both testicles in 13-day old piglets; C2I13, castration with two vertical scrotal incisions 13-day old piglets. SEM, standard error of the mean, RV, reference values (24 h prior to castration); PC, post castration (immediately); 24 h, 24 h before castration; 48 h, 48 hours post-surgery.

^{a, b, c} Different letters in the same row indicate statistically significant differences among groups at the same time. ^{1,2} Different numbers in the same column indicate statistically significant differences among times in the same group, Tukey (p<0.05)

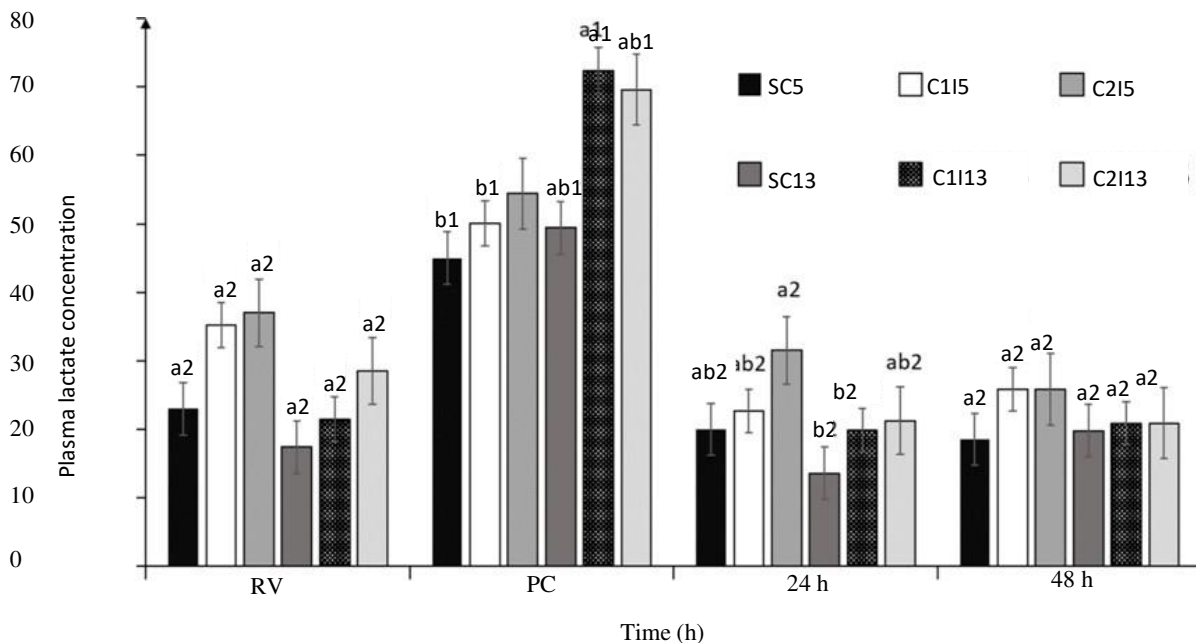


Fig. 2: Plasma lactate concentration (mg/dL) in piglets castrated by scrotal surgery with one or two incisions at 5 and 13 days of age during a period of 48h post-surgery. SC5 = simulated castration 5-day old piglets, C1I5 = castration with one horizontal incision in both testicles in 5-day old piglets, C2I5 = castration with two vertical scrotal incisions 5-day old piglets, SC13 = simulated castration 13-day old piglets, C1I13 = castration with one horizontal incision in both testicles in 13-day old piglets, C2I13 = castration with two vertical scrotal incisions 13-day old piglets

^{a, b, c} Different letters indicate statistically significant differences among groups at the same time. ^{1,2} Different numbers indicate statistically significant differences among times in the same group, Tukey (p<0.05)

Discussion

The results of this study include the observation that the age at which castration was performed added to the number of incisions made in the scrotum generated changes in the infrared thermographic temperatures in different areas of the body, as well as modifications of plasma glucose and lactate levels. These alterations can be interpreted as indirect indicators of stress.

Our results indicate that castrating piglets at 13 days of age provoked changes in infrared temperatures when compared to the piglets that had surgery at 5 days of age. In this regard, Guatteo *et al.* (2012) reported that the age of animals plays a role in pain responses to castration, as these are less pronounced in younger subjects than older ones. Likewise, Janczak *et al.* (2012) observed that 14-day-old piglets had a higher mechanical nociceptive pain

threshold, which may be related to their higher age and weight compared to younger, 7-day-old, piglets and could produce a lower capacity for responding to pain in younger piglets. McGlone and Hellman (1988), meanwhile, compared castration in piglets at 2 vs. 7 weeks of age. They found that using local anesthesia eliminated pain-induced behaviors in the younger subjects, but appeared to be ineffective in the older ones (White *et al.*, 1995; Von Borell *et al.*, 2009). Findings of this nature may help explain the results of our study with respect to the alterations in infrared temperatures and energy metabolism that the younger piglets manifested, despite the application of local anesthesia. The results presented here in could be interpreted as suggesting that it is more advisable to perform castration under anesthesia when animals are younger. Also, Taylor *et al.* (2001) indicate that piglets experience no less pain when castrated at less than 1 week of age vs. 2 or 3 weeks.

In other findings, the responses to castration observed in our study include decreased temperatures in the eye, thorax and scrotal wound. In this regard, changes in skin temperature have been shown to be associated with both clinical and emotional responses in humans and other animal species, while rapid changes in blood flow can be associated with stress responses (Yarnell *et al.*, 2013). When an animal becomes stressed, the HPA axis is activated and the generation of heat, due to increases in catecholamine and cortisol levels and blood flow responses, produces changes in temperature and heat loss (Schaefer *et al.*, 2012; Mota-Rojas *et al.*, 2011). Stress-induced hyperthermia occurs in numerous species, characterized by an increase in core body temperature but a decrease in surface temperature of 0.5-to-1.5°C within 10-15 min of the onset of “emotional stress” (Edgar *et al.*, 2013; Mota-Rojas *et al.*, 2011, 2012b; 2016). This coincides with the results of our study, where the surface temperature of the piglets decreased immediately after castration, regardless of the number of incisions made. In this respect, studies of castrated piglets by Lonardi *et al.* (2015) reported an increase in the temperature of the eye 20 minutes after surgery, or a simulation of this, which differs from the findings of our study, where the temperature reduction in the 13-day-old piglets continued up to 24 h post-surgery. It is important to note that decreases in eye temperature have also been reported in other species faced with different stressor stimuli; for example, eye temperatures in birds decreased with handling (Herborn *et al.*, 2015) and it has been suggested that the drop in eye temperature seen in dehorned bovines following disbudding without local anesthetic may be caused by sympathetic vasoconstriction (Stewart *et al.*, 2008). The decrease in eye temperature may also be due to the presence of a network of venous blood from the nasal cavity that is cooler and whose function is to lower the temperature of

the blood that irrigates the brain. Hence, this blood may also decrease the temperature of the eye and the small areas around the posterior border of the eyelid and the *caruncula lacrimalis* (Loughmiller *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2007). We should point out that in addition to the decrease in eye temperature, the 13-day-old piglets also had lower thorax temperatures. This phenomenon may be explained by the activation of SNS, which produces pupillary dilatation, higher blood pressure and heart rate, peripheral vasoconstriction and, consequently, a decrease in skin surface temperatures, while activation of the sympathetic branch induces an increase in core temperature (brain and upper organs), but decreases in the temperatures of more peripheral body areas, such as the nose, face and ears. This is caused by vasoconstriction, which controls the conduction of heat to the skin by the blood in the arterioles and arteriovenous anastomoses that supply it to the venous plexus of the skin (Guyton and Hall, 1996; McCafferty *et al.*, 2011; Yarnell *et al.*, 2013; Bonastre *et al.*, 2016; Travain *et al.*, 2016). Soerensen and Pedersen (2015) evaluated the surface temperature of piglets after removal of their incisors. They found that this practice causes increased levels of noradrenaline, whose vasoconstrictor effect can reduce blood flow to the skin and, as a result, decrease temperatures. Menzel *et al.* (2014) presented the hypothesis that reduced thorax temperatures could be caused by physiological ventilation of lung tissue with cool air. Thus, with regard to the temperature changes in the wound caused by castration, our study found an evident decrease in all groups that underwent surgery, but that this was more pronounced in the 13-day-old piglets. This result may be due to the fact that vasoconstriction in the skin in response to a stressful stimulus is a specific regional response (Herpin *et al.*, 2004); that is, an initial acute response to stress that, presumably, acts to increase perfusion pressure and redirect blood flow to organs and the skeletal musculature, areas that have more urgent metabolic requirements. Vasoconstriction of the blood vessels that supply the skin also protects against excessive loss of blood in the event of damage to external tissue (Stewart *et al.*, 2007). This mechanism for preventing excessive blood loss could explain the more marked temperature reduction in the C2I13 piglets. It is important to note that the first response to wounds is hemostasis, which occurs within a matter of minutes to stop bleeding and seal off the wound through the action of three mechanisms: the aggregation of platelet clumps, vasoconstriction and the formation of a fibrin clot (Clark *et al.*, 1996; Kimani, 2013). It is probable that when a reduction of blood flow to the wound occurs, white blood cells are trapped at the capillary level. This results in the plugging of capillary loops that produce areas of localized ischemia. Finally, in the inflammatory phase, platelets aggregate and form clots to minimize blood and fluid loss at the wound site (Paz and West, 2013).

With regards to the increase in plasma glucose levels in the 13-day-old piglets immediately after castration, it is well-known that this index is considered an indirect indicator of stress in pigs, because in response to that condition glucose levels rise due to catecholamine and glucocorticoid secretion (Pollard *et al.*, 2002; Mota-Rojas *et al.*, 2011; 2012b). In addition, Von Borell *et al.* (2009) mention that castration induces physiological and behavioral reactions that are indicative of pain, while also generating stress and discomfort before and after surgery. These reactions are of great magnitude during surgery and in the initial hours following it. Other studies point out that increases in plasma glucose concentrations may occur due to the breakdown of glycogen from the liver, or the depletion of glycogen reserves from skeletal muscles (Tadich *et al.*, 2005; Averós *et al.*, 2008; Martínez-Rodríguez *et al.*, 2015; Mota-Rojas *et al.*, 2011; 2012b). These findings suggest that castration is more stressful for piglets when performed at higher ages. However, it is important to remember that assessing pain requires an integrated, multi-disciplinary approach that includes both behavioral and physiological approaches, because of the different ways in which individual animals respond to stressors (Gottardo *et al.*, 2016).

Turning now to plasma lactate levels, all the castrated piglets –regardless of age– presented an increase in this metabolite immediately after castration. In this regard, several studies of adult (Becerril-Herrera *et al.*, 2010; Mota-Rojas *et al.*, 2012a) and neonate (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2011) pigs have demonstrated that increases in plasma lactate concentrations can result from exposure to different stressors. Lactate is a metabolite that causes muscular glycogenolysis due to a lack of glucose phosphatase 6, which is necessary for glycogen synthesis (Mota-Rojas *et al.*, 2012b). The lactate that forms in the muscle is transported through the bloodstream to the liver, where it is transformed into glucose (Moberg, 2000; Pollard *et al.*, 2002). Prunier *et al.* (2005) found higher concentrations of blood lactate in piglets following castration compared to non-castrated animals, since a significant proportion of the stress/discomfort that they experience results from handling procedures (Leidig *et al.*, 2009). In light of this evidence, we can conclude that the physiological changes seen in the piglets in the present study could be associated with the pain generated by castration when this surgery is performed at a younger age, regardless of the number of incisions.

Conclusion

In conclusion, the castration of piglets at 13 days of age with one incision generates more metabolic imbalances associated with stress and pain, the lower infrared temperature values in the *caruncula lacrimalis* and thorax. Likewise, piglets castrated by two incisions at 5 and 13 days of age have adverse effects to a lesser

degree. Although castrations by one incision in piglets of 5 days have less adverse effects, it is necessary to continue investigating other clinical indicators.

Therefore, our recommendation is that castration should be done in piglets during the first 5 days postpartum to prevent imbalances in their energy metabolism and changes in surface temperature.

Acknowledgements

Efraín Pérez Pedraza is enrolled in the Doctoral Program in Biological and Health Sciences at the Universidad Autónoma Metropolitana.

Author's Contributions

Daniel Mota-Rojas: Participated in the conception and project design.

Efraín Pérez Pedraza: Collected field samples, generated the data and statistically analysed the data.

Isabel Guerrero-Legarreta, Julio Martínez Burnes, Ramiro Ramírez-Necoechea, Miguel González-Lozano, Patricia Mora-Medina, Daniel Mota-Rojas, Efraín Pérez Pedraza and Rosy Cruz-

Monterrosa: Interpreted the data and wrote the draft paper. DMR, JMB, IGL, RRN and MGL: Provided substantial intellectual input and edited the manuscript.

DMR, IGL, RRN, MGL and PMM: Financed the project. All authors gave final approval for publication.

Ethics

This article is original and contains unpublished material. The corresponding author confirms that all of the other authors have read and approved the manuscript and there are no ethical issues involved.

References

- Averós, X., S. Martin, M. Riu, J. Serratosa and L. Gosálvez, 2008. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing- finishing farms under Spanish summer commercial conditions. *Livest. Sci.*, 119: 174-182. DOI: 10.1016/j.livsci.2008.04.002
- Becerril-Herrera, M., M. Alonso-Spilsbury, M.T. Ortega, I. Guerrero-Legarreta and R. Ramírez-Necoechea *et al.*, 2010. Changes in blood constituents of swine transported for 8 or 16h to an Abattoir. *Meat Sci.*, 86: 945-948. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.07.021
- Bonastre, C., O. Mitjana, M. Tejedor, M. Calavia and A. Yuste *et al.*, 2016. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: The effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *Animal*, 10: 1474-1481. DOI: 10.1017/S1751731116000586

- Carroll, J., E. Berg, T. Strauch, M. Roberts and H. 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.
DOI: 10.2527/2006.8451271x
- Clark, R., M.G Tonnesen, J. Gailit and D.A Cheresch, 1996. Transient functional expression of alphaVbeta 3 on vascular cells during wound repair. *Am. J. Pathol.*, 148: 1407.
- Edgar, J., C. Nicol, C. Pugh and E. Paul, 2013. Surface temperature changes in response to handling in domestic chickens. *Physiol. Behav.*, 119: 195-200. DOI: 10.1016/j.physbeh.2013.06.020
- Fredriksen, B., M.F.I. Furnols, K. Lundstrom, W. Migdal and A. Prunier *et al.*, 2009. Practice on castration of piglets in Europe. *Animal*, 3: 1480-1487.
DOI: 10.1017/S1751731109004674
- Godyn, D., E. Herbut and J. Walczak, 2013. Infrared thermography as a method for evaluating the welfare of animals subjected to invasive procedures- A review. *Ann. Anim. Sci.*, 13: 423-434.
DOI: 10.2478/aoas-2013-0027
- Gottardo, F., A. Scollo, B. Contiero, A. Ravagnani and G. Tavella *et al.*, 2016. Pain alleviation during castration of piglets: A comparative study of different farm options. *J. Animal Sci.*, 94: 5077-5088.
DOI: 10.2527/jas.2016-0843
- Guatteo, R., O. Levionnois, D. Fournier, D. Guemene and K. Latouche *et al.*, 2012. Minimising pain in farm animals: The 3S approach-‘Suppress, Substitute, Soothe’. *Animal*, 6: 1261-1274.
DOI: 10.1017/S1751731112000262
- Guyton, A. and J. Hall, 1996. *Metabolism and Temperature Regulation: Textbook of Medical Physiology*, 9th Edn., Philadelphia: WB Saunders Co, pp: 914-915.
- Haga, H.A. and B. Ranheim, 2005. Castration of piglets: The analgesic effects of intratesticular and intrafunicular lidocaine injection. *Vet. Anaesth. Anal.*, 32: 1-9.
DOI: 10.1111/j.1467-2995.2004.00225.x
- Hansson, M., N. Lundeheim, G. Nyman and G. Johansson, 2011. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet. Scand.*, 53: 34.
DOI: 10.1186/1751-0147-53-34
- Herborn, K.A., J.L Graves, P. Jerem, N.P. Evans and R. Nager *et al.*, 2015. Skin temperature reveals the intensity of acute stress. *Physiol. Behav.*, 152: 225-230. DOI: 10.1016/j.physbeh.2015.09.032
- Herpin, P., A. Vincent and M. Damon, 2004. Effect of breed and body weight on thermoregulatory abilities of European (Pietrainx(Landracex Large White)) and Chinese (Meishan) piglets at birth. *Livest. Prod. Sci.*, 88: 17-26.
DOI: 10.1016/j.livprodsci.2003.11.006
- Janczak, A.M., B. Ranheim, T.K. Fosse, S. Hild and J. Nordgreen *et al.*, 2012. Factors affecting mechanical (nociceptive) thresholds in piglets. *Vet. Anaesth. Anal.*, 39: 628-635.
DOI: 10.1111/j.1467-2995.2012.00737.x
- Kastberger, G. and R. Stachl, 2003: Infrared imaging technology and biological applications. *Behav. Res. Meth. Ins.*, 35: 429-439.
- Kimani, J.M., 2013. Comparative skin morphology and wound healing in Kenyan African mole rat (*tachyoryctes ibeanus*) and naked mole rat (*heterocephalus glaber*). PhD Thesis University of Nairobi.
- Kluivers-Poodt, M., B. Houx, S. Robben, G. Koop and E. Lambooij *et al.*, 2012. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *Animal*, 6: 1469-1475.
DOI: 10.1017/S1751731112000547
- Kluivers-Poodt, M., J.J. Zonderland, J. Verbraak, E. Lambooij and L.J. Hellebrekers, 2013. Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal*, 7: 1158-1162. DOI: 10.1017/S1751731113000086
- Leidig, M.S., B. Hertrampf, K. Failing, A. Schumann and G. Reiner, 2009. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *App. Anim. Behav., Sci.*, 116: 174-178. DOI: 10.1016/j.applanim.2008.10.004
- Lonardi, C., A. Scollo, S. Normando, M. Brscic and F. Gottardo, 2015. Can novel methods be useful for pain assessment of castrated piglets? *Animal*, 9: 871-877. DOI: 10.1017/S1751731114003176
- Loughmiller, J.A., M.F. Spire, S.S. Dritz, B.W. Fenwick and M.H. Hosni *et al.*, 2001. Relationship between mean body surface temperature measured by use of infrared thermography and ambient temperature in clinically normal pigs and pigs inoculated with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Am. J. Vet. Res.*, 62: 676-681. DOI: 10.2460/ajvr.2001.62.676
- Marchant-Forde, J., D. Lay, K. McMunn H.W. Cheng and E. Pajor *et al.*, 2009. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: The effects of alternative techniques delivered separately. *J. Anim. Sci.*, 87: 1479-1492. DOI: 10.2527/jas.2008-1080
- Marsalek, P., M. Svoboda, J. Bernardy and V. Vecerek, 2015. Concentrations of neopterin, bipterin and cortisol associated with surgical castration of piglets with lidocaine. *Czech J. Anim. Sci.*, 60: 473-478. DOI: 10.17221/8555-CJAS
- Martínez-Rodríguez, R., D. Mota-Rojas, M.E. Trujillo-Ortega, H. Orozco-Gregorio and R. Hernández- González *et al.*, 2011. Physiological response to hypoxia in piglets of different birth weight. *Ital. J. Anim. Sci.*, 10: e56. DOI: 10.4081/ijas.2011.e56

- Martínez-Rodríguez, R., P. Roldan-Santiago, H. Orozco-Gregorio, M. Trujillo-Ortega and P. Mora-Medina *et al.*, 2015. Physiological responses and blood gas exchange following long-distance transport of piglets weaned at different ages over unpaved or paved roads. *Livest. Sci.*, 172: 69-78.
DOI: 10.1016/j.livsci.2014.12.013
- McCafferty, D., C. Gilbert, W. Paterson, P. Pomeroy and D. Thompson *et al.*, 2011. Estimating metabolic heat loss in birds and mammals by combining infrared thermography with biophysical modelling. *Comp. Biochim. Phys.*, 158: 337-345.
DOI: 10.1016/j.cbpa.2010.09.012
- McGlone, J.J. and J. 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.
DOI: 10.2527/jas1988.66123049x
- Menzel, A., M. Beyerbach, C. Siewert, M. Gundlach and D. Hoeltig *et al.*, 2014. *Actinobacillus pleuropneumoniae* challenge in swine: Diagnostic of lung alterations by infrared thermography. *BMC Vet. Res.*, 10: 1. DOI: 10.1186/s12917-014-0199-2
- Moberg, G., 2000. Biological response to stress: Implications for animal welfare: The biology of animal stress. *Basic Principles and Implications for Animal Welfare*, pp: 1-21.
- Mota-Rojas, D., H. Orozco-Gregorio, D. Villanueva-Garcia, H. Bonilla-Jaime and X. Suarez-Bonilla *et al.*, 2011. Foetal and neonatal energy metabolism in pigs and humans: A review. *Vet. Med.*, 56: 215-225.
- Mota-Rojas, D., M. Becerril-Herrera, P. Roldan- Santiago, M. Alonso-Spilsbury and S. Flores- Peinado *et al.*, 2012a. Effects of long distance transportation and CO₂ stunning on critical blood values in pigs. *Meat Sci.*, 90: 893-898.
DOI: 10.1016/j.meatsci.2011.11.027
- Mota-Rojas, D., J. Martinez-Burnes, D. Villanueva-Garcia, P. Roldan-Santiago and M. Trujillo-Ortega *et al.*, 2012b. Animal welfare in the newborn piglet: A review. *Vet. Med.*, 57: 338-349.
- Mota-Rojas, D., M.A. Ceballos, A. Orihuela, M.A. Corredor and E. Pérez *et al.*, 2016. Chapter 11. Painful practices in farm animals. In: *Bienestar Animal, Una Vision Global en Iberoamérica [Animal welfare, a global vision in Ibero-America]*, Mota- Rojas, D., A. Velarde, S.M. Huertas-Canén and M.N. Cajiao (Eds.), Elsevier, Barcelona, pp: 137-4.
- Nickell, J., L.S. Barter and J.E. Dechant, 2015. Effects of Intratesticular and Incisional Local Anesthetic Administration for Castration of Alpacas Anesthetized with Intramuscular Ketamine– Xylazine–Butorphanol. *Vet. Surg.*, 44: 168-173. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2014.12285.x
- NOM, 1999. 062-ZOO-1999: Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los animales de Laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos, AFIA 6.
- Nord, A., M. Lehmann, R. MacLeod, D.J. McCafferty and R.G. Nager *et al.*, 2016. Evaluation of two methods for minimally invasive peripheral body temperature measurement in birds. *J. Avian Biol.*, 47: 417-427. DOI: 10.1111/jav.00845
- O'Connor, A., R. Anthony, L. Bergamasco, J. Coetzee and S. Gould *et al.*, 2014. Pain management in the neonatal piglet during routine management procedures. Part 2: Grading the quality of evidence and the strength of recommendations. *Anim. Health. Res. Rev.*, 15: 39-62.
DOI: 10.1017/S1466252314000073
- Paz, J.C. and M.P. West, 2013. *Acute Care Handbook for Physical Therapists*. 4th Edn., Elsevier Health Sciences, United States.
- Pollard, J., R. Littlejohn, G. Asher, A. Pearse and J. Stevenson-Barry *et al.*, 2002. A comparison of biochemical and meat quality variables in red deer (*Cervus elaphus*) following either slaughter at pasture or killing at a deer slaughter plant. *Meat Sci.*, 60: 85-94.
DOI: 10.1016/S0309-1740(01)00110-3
- Prunier, A., A. 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.
DOI: 10.2527/2005.831216x
- Rault, J.L., D.C. Lay and J.N. Marchant-Forde, 2011. Castration induced pain in pigs and other livestock. *App. Anim. Behav. Sci.*, 135: 214-225.
DOI: 10.1016/j.applanim.2011.10.017
- Schaefer, A., N. Cook, C. Bench, J. Chabot and J. Colyn *et al.*, 2012. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Res. Vet. Sci.*, 93: 928-935.
DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.09.021
- Sherwin, C.M., S.B. Christiansen, I.J. Duncan, H.W. Erhard and D.C. Lay *et al.*, 2003. Guidelines for the ethical use of animals in applied ethology studies. *App. Anim. Behav. Sci.*, 81: 291-305.
DOI: 10.1016/S0168-1591(02)00288-5
- Soerensen, D.D. and L.J. Pedersen, 2015. Infrared skin temperature measurements for monitoring health in pigs: A review. *Acta Vet. Scand.*, 57: 5.
DOI: 10.1186/s13028-015-0094-2
- Stewart, M., J. Webster, G. Verkerk, A. Schaefer and J. Colyn *et al.*, 2007. Non-invasive measurement of stress in dairy cows using infrared thermography. *Physiol. Behav.*, 92: 520-525.
DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.04.034

Stewart, M., K. Stafford, S. Dowling, A. Schaefer and J. Webster, 2008. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiol. Behav.*, 93: 789-797.

DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.11.044

Stubsjøen, S.M., A.S. Flø, R.O. Moe, A.M. Janczak and

E. Skjerve *et al.*, 2009. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep. *Physiol. Behav.*, 98: 640-648. DOI:

10.1016/j.physbeh.2009.09.019

Sturlini Barticciotto, L., S.P. Loureiro Luna, S.E.F. Rodolfo de Sá Lorena and D.A., Garcia Telles Berto, 2016. Weight gain, behavioral and cortisol changes after orchiectomy with or without local anaesthesia in piglets. *Semina: Ciências Agrárias*. DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n3p1307

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

DOI: 10.1016/S0168-1591(01)00123-X

Travain, T., E.S. Colombo, L.C. Grandi, E. Heinzl and

A. Pelosi *et al.*, 2016. How good is this food? A study on dogs' emotional responses to a potentially pleasant event using infrared thermography. *Physiol. Behav.*, 159: 80-87.

DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.03.019

Von Borell, E., J. Baumgartner, M. Giersing, N. Jägglin and A. Prunier *et al.*, 2009. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal*, 3: 1488-1496.

DOI: 10.1017/S1751731109004728

Weschenfelder, A.V., L. Saucier, X. Maldague, L.M. Rocha and A.L. Schaefer *et al.*, 2013. Use of infrared ocular thermography to assess physiological conditions of pigs prior to slaughter and predict pork quality variation. *Meat Sci.*, 95: 616-620.

DOI: 10.1016/j.meatsci.2013.06.003

White, R., J. DeShazer, C. Tressler, G. Borchert and S. Davey *et al.*, 1995. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *J. Animal Sci.*, 73: 381-386. DOI: 10.2527/1995.732381x

Yarnell, K., C. Hall and E. Billett, 2013. An assessment of the aversive nature of an animal management procedure (clipping) using behavioral and physiological measures. *Physiol. Behav.*, 118: 32-39. DOI:

10.1016/j.physbeh.2013.05.013

Suriano, R., V. Varasano, D. Robbe, A. Carluccio and P. Straticò *et al.*, 2014. Intraoperative analgesic effect of intrafunicular lidocaine injection during orchiectomy in isoflurane-anesthetized martina franca donkeys. *J. Equine Vet. Sci.*, 34: 793-798. DOI: 10.1016/j.jevs.2014.02.002

Sutherland, M., B. Davis, T. Brooks and J. McGlone, 2010. Physiology and behavior of pigs before and after castration: Effects of two topical anesthetics. *Animal*, 4: 2071-2079.

DOI: 10.1017/S1751731110001291

Tadich, N., C. Gallo, H. Bustamante, M. Schwerter and

G. Van Schaik, 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian- cross steers in Chile. *Livest. Prod. Sci.*, 93: 223-233. DOI:

10.1016/j.livprodsci.2004.10.004



Artículo 3

“Infrared thermography during and post castration in piglets: Facial and scrotal temperatures and evolution of the healing process by two incision methods”

**Enviado a la revista: Computers and electronics in agriculture
(Estados Unidos de América)**



Efraín Pérez-Pedraza, Daniel Mota-Rojas et al., (2018): Infrared thermography during and post castration in piglets: Facial and scrotal temperatures and evolution of the healing process by two incision methods

Abstract

With the aim to determine if the number of incisions used during orchiectomy in piglets has an effect on the superficial body and scrotal temperature and the wound healing process, thirty 5-day-old male piglets were divided into two groups, C1 castrated by a single horizontal incision and C2 by two vertical incisions. Infiltration of lidocaine was used as local anesthetic. Body temperature was evaluated by means of infrared thermographic images of both lacrimal caruncles, and of the scrotum. Temperatures and wound healing were evaluated immediately after castration (IAC), and at 24, 48, 72, 96 and 120 hr after surgery. The wounds were scored from 1 to 5, with one still showing evidence of fresh blood and five completely healed. The temperature of the lacrimal caruncle did not show statistically significant differences within the groups and between groups for any of the times evaluated. The scrotal temperature in C1 was higher at different postsurgical times, compared to immediately after castration (IAC) ($P \leq 0.0292$). Group C2 did not show scrotal temperature changes ($P = 0.6913$). Regarding the wound healing, lower scores statistically significant ($P = 0.0198$ and $P = 0.0261$ respectively) at 96 and 120 hr post-surgery were found in group C2 compared to C1. In conclusion, after castration by a single incision, the scrotal temperature was higher compared to the immediately after castration, possibly associated with the inflammatory response. Orchiectomy by two incisions did not show temperature variations, however, a healing process slower compared to the castration by a single incision.

Key Words: *Castration, incisions, piglet welfare, infrared thermal imaging, temperature, wound.*

1. Introduction

The castration of male animals reared for meat production has been widely practiced for centuries for the higher propensity of castrates to deposit fat and for the easier control of their behavior (Prunier et al., 2006). Surgical castration is the most common technique used in farm animals to prevent the occurrence of boar taint, however, it causes pain and this can be measured physiologically or through behavioral changes (Sutherland et al., 2012).

Once the surgical procedure is performed, complications such as edema, hemorrhage or infection can occur. These complications can affect health or in some cases cause death (Morales et al., 2017). There are no published recommendations as to how many scrotal incisions should be made, but the most common technique uses two incisions rather than one (Fredriksen et al., 2009). When two incisions are made, each testicle is usually cut longitudinally (Marsalek et al., 2015), while the single-incision method requires a transverse section through both testicles and into the scrotum and tunica vaginalis (Kluivers-poodt et al., 2013). However, to date, there is a lack of published studies comparing the benefits or disadvantages of both castration techniques in the process of wound healing with a scientific approach.

The piglets are castrated commonly between their third to sixth day of age, and this surgery is carried out under unsuitable conditions of hygiene and it results in open wounds (Morales et al., 2017). Nevertheless, it has been shown that castrating at a younger age allows better wound healing (Von Borell et al., 2009).

On the other hand, the temperature of the skin usually results from the increase of cutaneous cell metabolism and cutaneous blood flow (Celeste et al., 2013). In this regard, infrared thermal imaging has been used to document and quantify tissue inflammation associated with a number of medical conditions, such as neoplasia, blood flow disorders, and tissue damage (Yang and Yang, 1992). Infrared thermography (IRT) is currently used to detect the effects of painful, stressful, and emotionally-upsetting stimuli on temperature changes in several species (Stubsjøen et al., 2009) that are believed to reflect the body's internal temperature (Kastberger and Stachl, 2003). The aim of the study was to determine

if the number of incisions commonly used in scrotal castration in piglets has an effect on the surface temperature of the skin and the process of wound healing in field conditions.

2. Material and Methods

Ethical note. All animals were handled humanely throughout the study. All procedures related to the use and care of the animals strictly followed the Mexican regulation norm, NOM-062-ZOO-1999 of Mexico's Department of Agriculture, Ranching, Rural Development, Fishing and Alimentation for animal-based experimentation. This study was conducted at a commercial pig farm located in central Mexico, after obtaining approval from the Doctoral Commission of Biological Sciences of the Universidad Autonoma Metropolitana Iztapalapa-Xochimilco in Mexico City in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki). All procedures were conducted in accordance with the guidelines for the ethical use of animals in applied ethological studies, described previously (Sherwin et al., 2003).

Animals. Data were collected from 30, 5-day-old male piglets (Yorkshire x Landrace) with an average body weight of 1.68 ± 0.40 kg. Piglets were obtained from twelve different litters delivered by third-parity sows. Neonates with abnormalities in the position of the testicles (unilateral or bilateral cryptorchidism, scrotal hernias, etc.) or signs of systemic disease were excluded. Following the regular handling practices at the host farm, on day 3 post-farrowing all piglets received a subcutaneous injection of 1 ml (100 mg) of Fe^{3+} in the form of iron dextran, then they were returned to the farrowing pen. The neonates were not subjected to tooth or tail resection before the experiment. The sows and their litters were held in 1.9-2.5 m² farrowing pens. Ventilation and temperature were controlled automatically by fans and air heating (27°C and 60% relative humidity in the maternity room). Sows and piglets had *ad libitum* access to water in separate nipple drinkers. From day one of post-partum life, all piglets were weighed and identified individually by marking a number on their back. Different colours were used to distinguish the experimental groups. All these procedures were conducted by the same person.

Surgical procedure. In the present study, surgical procedures were conducted under farm conditions and before performing castration, the scrotal area was superficially cleaned with chlorhexidine surgical scrub and isopropyl alcohol. Lidocaine at 20 mg/ml (Pisacaina 2%, Pisa® Laboratorios, S.A. de C.V., Mexico) was used as the local anesthetic, with 0.5 ml being injected into each testicle with the expectation that it would spread from there into the spermatic cord. Those piglets were then returned to the crate with the other ones awaiting castration. Lidocaine was administered at least 15 min before castration in accordance with the methodology employed by Kluivers-Poodt et al. (2012).

All surgical procedures were performed by an experienced surgeon on the same day with the piglets restrained in the supine position by an assistant. The skin over the scrotum was tautened with one hand to help expose the testicles and incision site. Depending on the treatment group, castration was performed by making one or two incisions (10 mm) on the skin of the scrotum with a scalpel to expose the testicles. Next, the vaginal tunic and spermatic cords were cut, and the testicles removed. Immediately after each castration, a healing agent was applied to the wound (Negasunt Powder 20 Gm®: Coumaphos: 3%, Propoxur: 2%, Prontalbin: 5%). It is important to mention that no other post-operative treatment was applied.

Experimental design. Piglets were randomly assigned in two experimental groups. Group C1 with piglets castrated by a single horizontal incision (n=15); and group C2 with those piglets castrated by two vertical incisions (n=15) (one incision per testicle).

Infrared thermography (IRT). Evaluation of the piglets' body temperature was performed with a portable infrared thermal camera (ThermaCam E45; Flir Systems, Boston, MA, USA). Before beginning the study, the camera was calibrated for the temperature and relative humidity of the room where measurements were to be taken. The emissivity value used was 0.98, as recommended by Soerensen and Pedersen (2015).

While the piglets were restrained by the assistant, a second assistant –who was blind to the treatments– took two infrared thermal images, as follows: the piglets' faces, to allow evaluation of both eyes (the area of the medial posterior palpebral border of the lower

eyelid and the *caruncula lacrimalis*) and the scrotal area. Usually, only one infrared thermal image of each area was taken, but if the first image was not sufficiently clear, a second was taken quickly. The infrared thermal images were captured at a distance of 50 cm from the piglets at the following intervals: immediately after the castration (IAC), and at 24, 48, 72, 96 and 120 hr post-surgery. A total of 288 infrared thermal images were recorded as JPEG files using ThermoCam Researcher Basic image analysis software (Flir Systems) to obtain minimum, average and maximum temperatures of the skin areas sampled. One clear infrared thermal image (precise location and perfect focus) was chosen for each animal (Fig. 1).

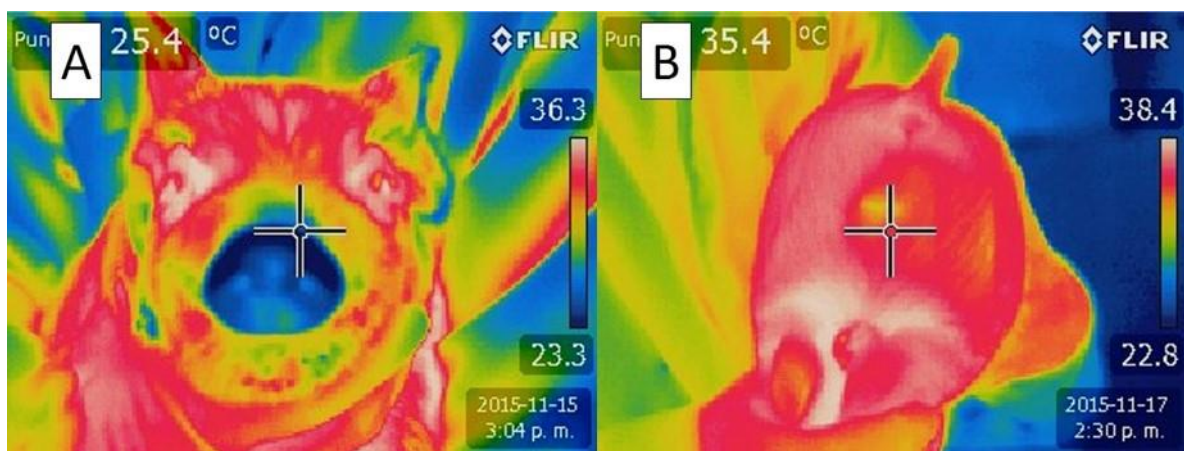


Fig. 1. Infrared thermal images obtained from castrated piglets (emissivity 0.98). A) The image of the piglet's face allows evaluation of both eyes through the measurement of the temperature in the lacrimal caruncles, B) The posterior image of the piglet allows evaluation of the temperature at the area of the wound caused by the castration.

Wound healing scale. All piglets were observed daily for the 5 days after castration and wound healing scored to assess any detrimental effects (ex. abscesses) caused by any of the castration methods evaluated.

Wounds were scored from 1 to 5 (Fig. 2) with one still showing evidence of fresh blood and five being completely healed (no scab), based on the methodology proposed by Sutherland et al. (2010). Surgical wounds were always evaluated by the same observer.

Statistical analysis. An analysis of repeated measurements over time was performed, with a regressive covariance structure using the methodology of mixed linear models, through the use of Proc Mixed SAS (Inc, 2004).

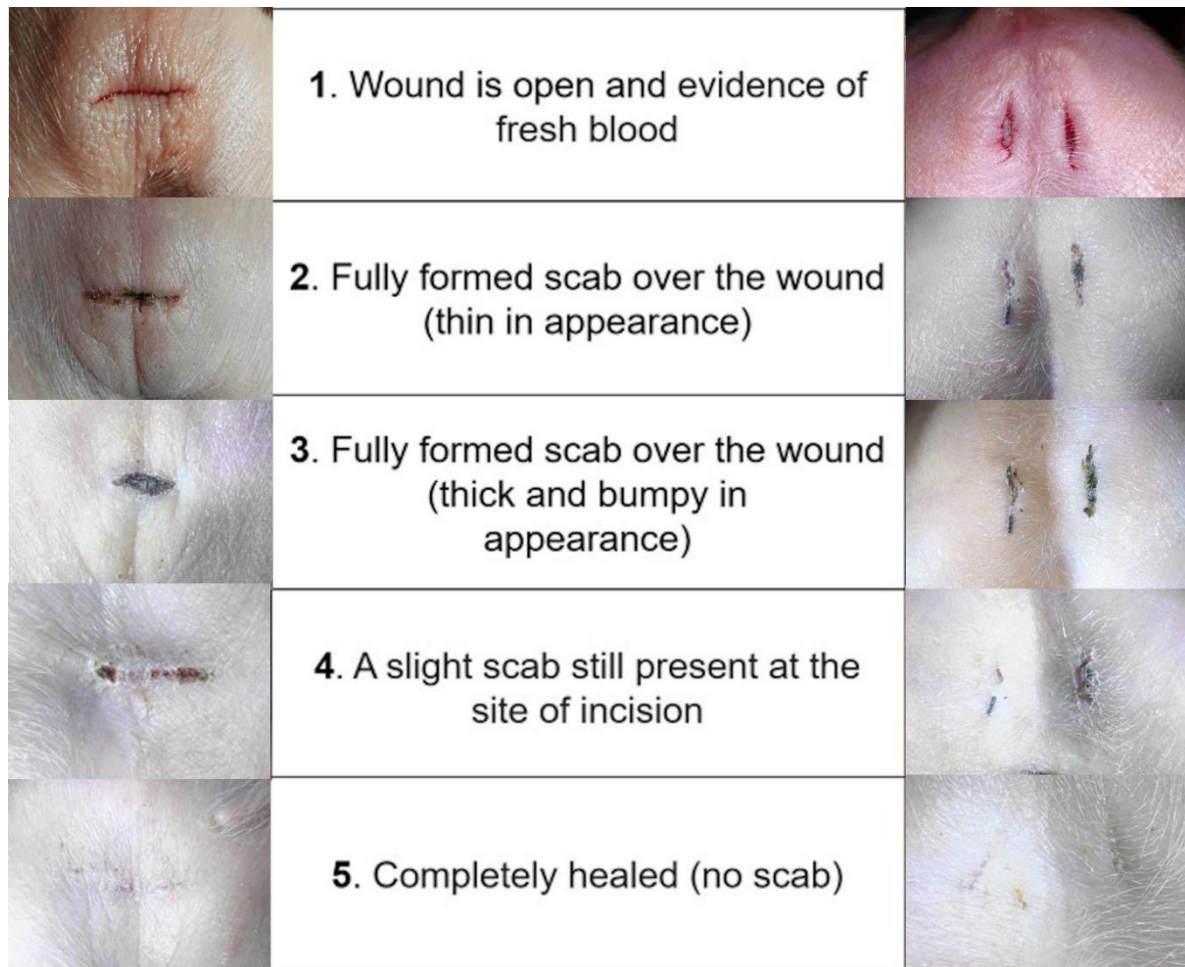


Fig. 2. Wound healing scale in castrated piglets, modified of Sutherland *et al.* (2010). Left column: piglets with one single horizontal incision, Right column: piglets with two vertical incisions.

3. Results

Thermal alterations in castrated piglets. The temperature of the lacrimal caruncle of the infrared thermal images did not show statistically significant differences between groups C1 vs C2 of piglets for any of the times under evaluation. Similarly, non-significant differences were observed in infrared thermal images within the groups C1 and C2 ($P = 0.7424$, $P = 0.4928$, respectively) when comparing different postsurgical times (Fig. 3).

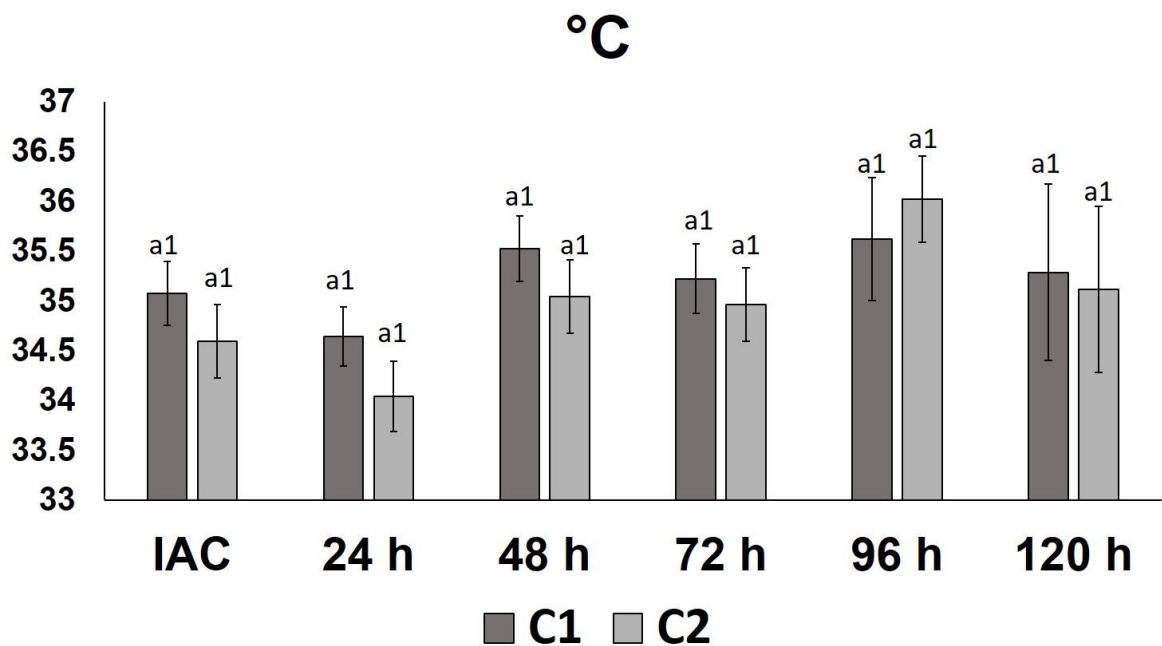


Fig. 3. Temperatures of the *lacrimal caruncle* (°C) obtained by infrared thermal images from castrated piglets by a single horizontal scrotal incision (C1) and by two vertical incisions (C2).

Different letters (a,b,c) indicate statistically significant differences of temperatures at different postsurgical times within the same group (IAC, 24, 48, 72, 96 and 120 hr).

Different numbers after the letters (1,2,3) indicate statistically significant differences of the temperatures between the groups (C1 vs C2) for each postsurgical time (IAC, 24, 48, 72, 96 and 120 hr).

IAC: Immediately time after castration in both groups; **C1:** piglets castrated by a single horizontal scrotal incision; **C2:** piglets castrated by two vertical incisions.

With respect to infrared temperature at the castration incision site, the C1 group showed an increase of 1.12, 1.38, 1.27, 1.02 and 1.28°C at 24, 48, 72, 96 and 120 hours respectively, compared to the temperature obtained immediately after castration (IAC)($P \leq 0.0292$).

Conversely, scrotal temperatures in piglets of group C2 did not change significantly at the different times evaluated ($P=0.6913$) (Fig. 4).

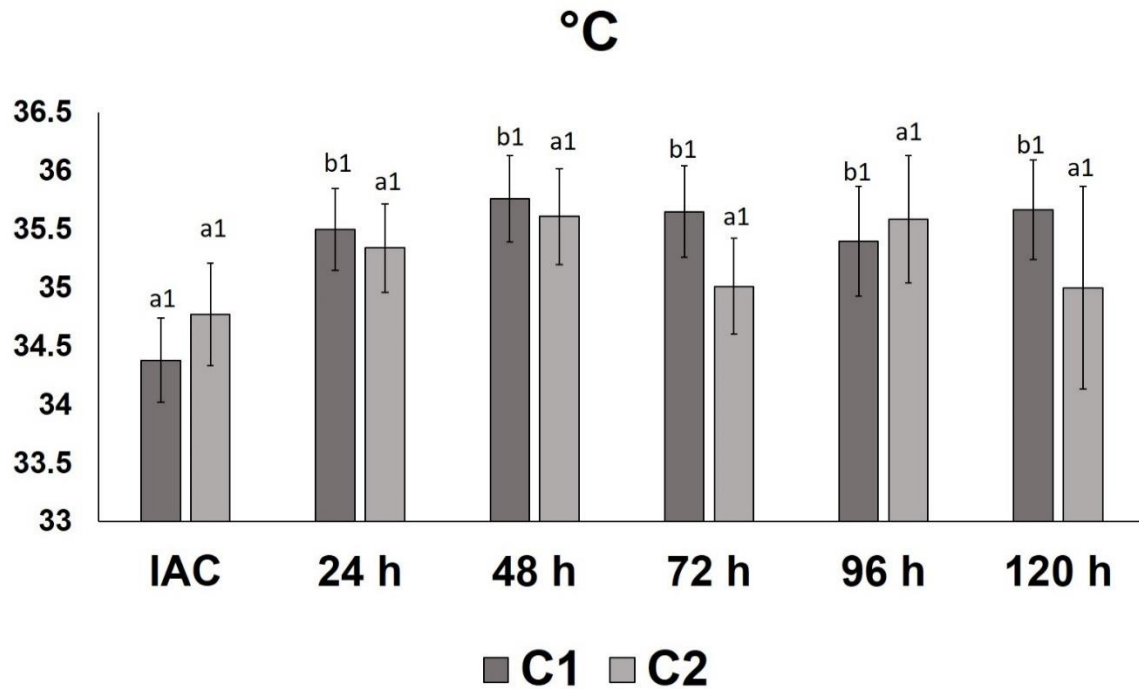


Fig. 4. Infrared scrotal temperature (°C) at incision site in piglets castrated by a single or two incisions.

Different letters (a,b,c) indicate statistically significant differences of temperatures at different postsurgical times within the same group (IAC, 24, 48, 72, 96 and 120 hr).

Different numbers after the letters (1,2,3) indicate statistically significant differences of the temperatures between the groups (C1 vs C2) for each postsurgical time (IAC, 24, 48, 72, 96 and 120 hr.).

IAC: Immediately time after castration in both groups; **C1:** piglets castrated by a single horizontal scrotal incision; **C2:** piglets castrated by two vertical incisions.

Wound healing process. The wound healing evolution evaluated by mean of the scale from 1 to 5, did not show statistically significant differences at the different postsurgical times until 72 hours between groups ($P \geq 0.2262$). However, statistically significant differences were found at 96 hr after surgery ($P = 0.0198$) between the group C1 of piglets castrated by a single horizontal incision (Scale: 3.16 ± 0.11) vs the piglets of C2 castrated by two incisions (one vertical incision in each testicle) (Scale: 2.78 ± 0.11). (Fig. 5).

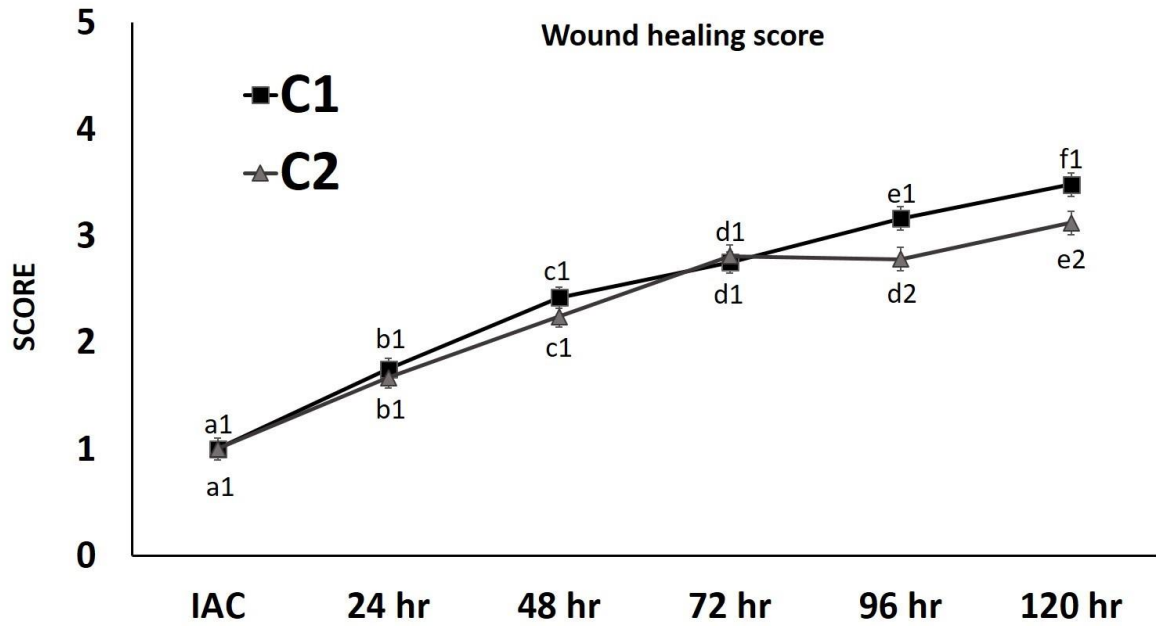


Fig. 5. Evolution of the wound healing process (score) induced by the scrotal castration in 5-day-old piglets with one (horizontal) or two (vertical) incisions.

Different letters (a,b,c) indicate statistically significant differences on the score of the wound healing scale in castrated piglets versus the different postsurgical times within the same group (IAC, 24, 48, 72, 96 and 120 hr).

Different numbers after the letters (1,2,3) indicate statistically significant differences of the score of wound healing scale between the groups (C1 vs C2) for each postsurgical time (IAC, 24, 48, 72, 96 and 120 hr).

IAC: Immediately time after castration in both groups; **C1:** piglets castrated by a single horizontal scrotal incision; **C2:** piglets castrated by two vertical incisions.

In the same way, the wound healing evolution at 120 hr post-surgery, revealed a higher scale in the piglets from group C1 vs C2 (Scale: 3.48 ± 0.11 vs $3.122.52 \pm 0.11$ respectively), suggesting a longer healing process in the piglets of group C2.

On the other hand, the comparison of the evolution of the healing process at different times within the group C1, revealed a constant and significant increase ($P < 0.0001$) at the healing scale at the different times evaluated.

Comparatively, the scale of wound healing in castrated piglets of Group C2 progressively increased until 72 hours after surgery. However, no significant differences were found between 72 h and 96 h ($P = 0.9811$) as well as between 96 and 120 h ($P=0.0434$). These results could be interpreted as a delay in the healing process in piglets castrated by two incisions.

4. Discussion

Thermal Responses. The number of incisions during castration in the evaluated piglets influenced the surface temperature of the skin at the incision site obtained by infrared thermal images. The temperature of the incision site in group C1 (with on single incision) significantly increased from 24 to 120 hr after surgery compared with the initial temperature immediately after the surgical castration. Piglets of Group C2 castrated by two vertical incisions did not show those temperature changes of the incision site at any postsurgical times. Changes in skin temperature have been shown to be associated with clinical and emotional responses in many animal species, while rapid changes in blood flow can be associated with stress responses (Yarnell et al., 2013).

The thermal changes in the body surface can be examined aloof, through an infrared thermal camera that can detect hot and cold areas that indicate changes in blood flow (Hurley-Sanders et al., 2015).

In the castrated piglets of the present study, as expected, the increase in the skin temperature after the surgical castration could be associated with the inflammatory process induced by the surgery.

The wound healing process can be divided into three phases: (i) inflammation, (ii) tissue proliferation/formation and (iii) remodeling (Gawronska-Kozak et al., 2014). In this sense, each phase of the wound healing process may influence the temperature at the incision site.

However, alterations on the skin temperature of the piglets castrated by two vertical incisions were not observed.

It has been demonstrated that the first response to wounds is hemostasis, to stop bleeding and seal off the wound through the action of three mechanisms: the aggregation of platelet

clumps, vasoconstriction, and the formation of a fibrin clot (Celeste et al., 2013, Clark et al., 1996); the blood flow in the lesion is decreased, in the capillaries the white blood cells are trapped, leading to ischemia in the specific areas near the wound (Paz and West, 2013). In this sense, the process of ischemia in the wound may cause that at the time of evaluation immediately after surgery (IAC) the temperature of the scrotal wound was the lowest.

The increase in temperature at the incision site at different times after surgery by mean of the infrared thermal images was evident in both groups. The expect rise could be related with the inflammatory response characterized by increase in the permeability of the blood vessels which results in augmented blood flow that alters the heat pattern (Alsaad et al., 2015). Comparatively, cutaneous wounds in horses also have the highest surface temperature partway through the healing process (Celeste et al., 2013), the initial increased emissivity of wounds could be due to the increased blood flow during inflammation, when the region is no longer inflamed, the blood flow should return to normal and emissivity should approach that of intact skin (Keenan et al., 2017).

After injury, the chronological events in inflammation are characterized by the recruitment of polymorphonuclear neutrophils (PMNs) at the wound site and become the predominant cells in the wound for the first two days after the injury (Martin, 1997, Stramer et al., 2007).

Although in this study no significant differences in lacrimal temperature were found in piglets after surgery in any of the groups, comparatively, previous studies have shown decreases in eye temperature in other species that face different stressful stimuli; for example, eye temperatures in birds decreased with handling (HERBORN et al., 2015), and it has been suggested that the drop in eye temperature seen in dehorned bovines following disbudding without local anesthetic may be caused by sympathetic vasoconstriction (Stewart et al., 2008).

The hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis plays a key role in adaptation to environmental stresses. When an animal is stressed, produces changes in temperature and heat loss due to increases in catecholamine and cortisol levels and blood flow responses (Schaefer et al., 2012).

Wound healing process. In the present study, the results of the evaluation with the healing scale indicate that castration by two incisions causes a slower healing process, which may be influenced by several factors. The speed of the re-epithelialization of cutaneous wounds depends on several factors: Control of the aseptic processing environment, wound shape and size and the age of the patient, among others (Gawronska-Kozak et al., 2014).

Regarding the duration of the healing or repair process, studies in 6-to 12-month old minipigs describe that after 72 hr of full-thickness cutaneous wounds made with an 8-mm punch on their backs, the wounds exhibited blood clots without apparent presence of granulation tissue. On day 5, the wound space was covered by 50% granulation tissue and on day 10 the contraction of the wound was present (Clark et al., 1996). Other studies in 25-days-old calves surgically castrated indicate that complete healing took between 28 and 63 days (Mintline et al., 2014).

Regarding castration age, one study revealed that the castration wound in 4-day-old piglets healed faster and with fewer complications than castrated piglets at 28 days (Heinritzi et al., 2006).

It is important to note that wound healing after castration not only involves the skin but also healing of the spermatic cords (Marti et al., 2017). The localized release of chemical mediators including substance P and bradykinin, are the result of tissue damage involved in the inflammatory response (Lomax et al., 2017). Healing is a complex event involving multiple interactions of different tissue structures, a large number of biochemical substances and infiltrating cell types (Marti et al., 2017). Wound repair is a multi-tissue process that involves epithelia, dermal and mesenchymal tissues, blood vessels, and immune cells that integrally respond to a complex network of biochemical signals to resolve the injury or damage (Murawala et al., 2012).

The slower wound healing process in piglets castrated by two incisions found in the present study and evaluated by the wound healing scale, could be explained by the greater stressful effect of two-incision surgery versus the single incision procedure.

It is known that stress affects immune function in farm animals, which may include an altered inflammatory response and delayed wound healing (Merlot, 2004). For example, it has been shown that surgically castrated calves spend more time standing after surgery due to pain and stress caused by the procedure (White et al., 2008).

It has been documented that other possible complications of the castration procedure include hemorrhage and excessive swelling, mainly if the spermatic cords are cut, but do not collapse (Taylor et al., 2001). In this sense, it could be suggested that the castration by two incisions, in some way, is more traumatic and, therefore, delays the healing process of the wound.

Other factors that could influence the evolution of the healing process could perhaps include the application of local anesthetic; however, published information on the benefits of pain management during castration in pigs is controversial. Recently, the studies conducted by Sutherland et al. (2017) report that castration of pigs with and without pain relief did not affect the wound healing. However, in a previous study, Sutherland et al. (2010) to assess the effect of anesthesia on the wound healing process in piglets, found that wound healing scores were similar among piglets castrated and piglets castrated and then given a long-acting topical anesthetic; however, wound healing appeared to be slightly delayed in piglets receiving a short-acting topical anesthetic.

In this concern, in the present study, the local anesthetic was infiltrated in each testicle, therefore, it is possible that the blocking effect of the spermatic cord was not totally achieved.

It is important to denote that the application of lidocaine was prior to the surgical removal of the testicle in both groups of piglets. Some studies suggest that local anesthetics have several effects on wound healing, in experimental studies in guinea pigs, it has been shown that procaine at high concentrations delays healing in surgical wounds by decreasing the synthesis of mucopolysaccharides and, therefore, probably collagen (Drucker et al., 1998), in addition, possibly due to the alteration of the mechanisms involved in the production of collagen and also to the tissue necrosis at the site at the injection site (Sutherland et al., 2010).

Therefore, it is possible that the surgical wound in the same place of the blocking infiltration (in group C2 of piglets with two vertical incisions, one in each testicle) could interfere in an important way in the evolution of the wound healing process compared to group C1 of piglets with a single horizontal incision, performed at a site different from the blocking site.

5. Conclusions

In conclusion, the temperature of the lacrimal caruncle did not show statistically significant differences between castrated groups for any of the times evaluated. However, after 24 hours and up to 120 hours after castration by a single incision in piglets, the temperature in the wound caused by surgery was higher compared to the temperature recorded immediately after castration, and this process is related to the inflammatory response.

On the other hand, the orchiectomy by two incisions did not show temperature variations in the area of the surgery, however, it presents a healing process apparently slower compared to the castration by a single incision. Nevertheless, the possible interaction of the surgical incision in the same site of the infiltration with a local anesthetic, on the healing process, is not ruled out, so it is a topic that requires further investigation.

References

- Alsaad, M., Schaefer, A.L., Büscher, W., Steiner, A., 2015. The role of infrared thermography as a non-invasive tool for the detection of lameness in cattle. *Sensors*. 15, 14513-14525.
- Celeste, C.J., Deschesne, K., Riley, C.B. and Theoret, C.L., 2013. Skin temperature during cutaneous wound healing in an equine model of cutaneous fibroproliferative disorder: kinetics and anatomic-site differences. *Vet. Surg.* 42, 147-153.
- Clark, R., Tonnesen, M.G., Gailit, J., Cheres, D.A., 1996., Transient functional expression of α 3 on vascular cells during wound repair. *Am. J. Pathol.* 148, 1407.
- Drucker, M., Cardenas, E., Arizti, P., Valenzuela, A., Gamboa, A., 1998. Experimental studies on the effect of lidocaine on wound healing. *World J. Surg.* 22, 394-398.
- Fredriksen, B., Furnols, M.F.I., Lundstrom, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F. A.M., Bonneau, M., 2009. Practice on castration of piglets in europe. *Animal*. 3, 1480-1487.
- Gawronska-Kozak, B., Bukowska, J., 2017. Animal models of skin regeneration. *Animal models for the study of human disease (second edition)*. Elsevier.
- Heinritzi, K., Ritzmann, M., Otten, W., 2006. Alternatives for castration of suckling piglets, determination of catecholamines and wound healing after castration of suckling piglets at different points of time. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 113, 94-97.
- Herborn, K.A., Graves, J. L., Jerem, P., Evans, N.P., Nager, R., Mc Cafferty, D.J., McKeegan, D. E., 2015. Skin temperature reveals the intensity of acute stress. *Physiol. Behav.* 152, 225-230.
- Hurley-Sanders, J.L., Sladky, K.K., Nolan, E.C., Loomis, M.R., 2015. Use of cortical bone fenestration, autogenous free skin graft, and thermography for wound treatment and monitoring in a red wolf (*canis rufus gregoryi*). *J. Zoo Wildlife. Med.* 46, 617-620.
- Kastberger, Stachl, R., 2003. Infrared imaging technology and biological applications. *Behav. Res. Meth. Instrum. Comput.* 35: 429-439.
- Keenan, E., Gethin, G., Flynn, L., Watterson, D., O'connor, G.M., 2017. Enhanced thermal imaging of wound tissue for better clinical decision making. *Physiol. Meas.* 38, 1104.
- Kluijvers-Poodt, M., Houx, B., Robben, S., Koop, G., Lambooij, E., Hellebrekers, L., 2012. Effects of a local anaesthetic and nsaid in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *Animal*, 6: 1469-1475.

- Kluiwers-Poodt, M., Zonderland, J. J., Verbraak, J., Lambooij, E., Hellebrekers, L.J., 2013. Pain behaviour after castration of piglets; effect of pain relief with lidocaine and/or meloxicam. *Animal.* 7, 1158-1162.
- Lomax, S., Harris, C., Windsor, P. A., White, P.J., 2017. Topical anaesthesia reduces sensitivity of castration wounds in neonatal piglets. *PLOS ONE* 12, e0187988.
- Marsalek, P., Svoboda, M., Bernardy, J., Vecerek, V., 2015. Concentrations of neopterin, biopterin, and cortisol associated with surgical castration of piglets with lidocaine. *Czech. J. Anim. Sci.* 60, 473-478.
- Marti, S., Schwartzkopf-Genswein, K. S., Janzen, E.D., Meléndez, D.M., Gellatly, D., Pajor, E.A., 2017. Use of topical healing agents on scrotal wounds after surgical castration in weaned beef calves. *Canadian Vet. J.* 58, 1081.
- Martin, P., 1997. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276, 75-81.
- Merlot E., 2004. Consequences of stress on immune function in farm animals. *INRA.* 4, 255-264.
- Mintline, E.M., Varga, A., Banuelos, J., Walker, K.A., Hoar, B., Drake, D., Weary, D., Coetzee, J., Stock, M., Tucker, C., 2014. Healing of surgical castration wounds: a description and an evaluation of flunixin. *J. Anim. Sci.* 92, 5659-5665.
- Morales, J., Dereu, A., Manso, A., Frutos, L., Piñeiro, C., Manzanilla, E. G., Wuyts, N., 2017. Surgical castration with pain relief affects the health and productive performance of pigs in the suckling period. *Porcine health Manag.* 3, 18.
- Murawala, P., Tanaka, E. M., Currie, J.D., 2012. Regeneration: The ultimate example of wound healing. seminars in cell & developmental biology. Elsevier: 954-962.
- Paz, J. C., West, M.P., 2013. *acute care handbook for physical therapists*. Elsevier Health Sciences.
- Prunier, A., Bonneau, M., Von Borell, E., Cinotti, S., Gunn, M., Fredriksen, B., Giersing, M., Morton, D., Tuytens, F., Velarde, A., 2006. a review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Animal Welfare-Potters Bar then Wheathampstead.* 15, 277.
- Riches, D.W.H., 1996. Macrophage involvement in wound repair, remodeling and fibrosis in the molecular biology of wound repair. Clark .R. A. F. 2nd Edition Plenum Press, New York. 95-141.
- SAS Institute Inc. Version 9.2. Cary, N., U.S.A: SAS Institute, in (2004).
- Schaefer, A., Cook, N., Bench, C., Chabot, J., Colyn, J., Liu, T., Okine, E., Stewart, M., Webster, J., 2012. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Res. Vet. Sci.* 93, 928-935.
- Sherwin, C.M., Christiansen, S.B., Duncan, I.J., Erhard, H.W., Lay, D.C., Mench, J.A., O'connor, C.E., Petherick, J.C., 2003. Guidelines for the ethical use of animals in applied ethology studies. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 81: 291-305.
- Soerensen, D.D., Pedersen, L. J., 2015. Infrared skin temperature measurements for monitoring health in pigs: a review. *Acta Vet. Scand.* 57, 5.
- Stewart, M., Stafford, K., Dowling, S., Schaefer, A., Webster, J., 2008. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiol. Behav.* 93, 789-797.
- Stramer, B.M., Mori, R., Martin, P., 2007. The inflammation-fibrosis link? a jekyll and hyde role for blood cells during wound repair. *J. Invest. Dermatol.* 127, 1009-1017.
- Stubsjøen, S. M., Flø, A.S., Moe, R. O., Janczak, A.M., Skjerve, E., Valle, P.S., Zanella, A. J., 2009. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep. *Physiol. Behav.* 98, 640-648.
- Sutherland, M.A., Backus, B.L., Brooks, T. A., Mcglone J. J., 2017. The effect of needle-free administration of local anesthetic on the behavior and physiology of castrated pigs. *J. Vet. Behav.* 21, 71-76.
- Sutherland, M., Davis, B., Brooks, T., Coetzee, J., 2012. The physiological and behavioral response of pigs castrated with and without anesthesia or analgesia. *J. Anim Sci.* 90, 2211-2221.

- Sutherland, M., Davis, B., Brooks, T., Mcglone, J., 2010. Physiology and behavior of pigs before and after castration: effects of two topical anesthetics. *Animal*. 4, 2071-2079.
- Taylor, A.A., Weary, D.M., Lessard, M., Braithwaite, L. 2001. behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 73, 35-43.
- Von Borell, E., Baumgartner, J., Giersing, M., Jäggin, N., Prunier, A., Tuytens, F., Edwards, S., 2009. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal*. 3, 1488-1496.
- White B. J, Coetzee J. F., Renter D. G, Babcock A. H, Thomson D. U, Andresen D., 2008. Evaluation of two-dimensional accelerometers to monitor behavior of beef calves after castration. *Am. J. Vet. Res.* 69, 1005-1012
- Yang, W. J., Yang, P.T., 1992. Literature survey of biomedical applications of thermography. *Biomed. Mat. Eng.* 2, 7-18.
- Yarnell, K., Hall, C., Billett, E., 2013. An assessment of the aversive nature of an animal management procedure (clipping) using behavioral and physiological measures. *Physiol. Behav.* 118: 32-39.

13. REFERENCIAS DE LA TESIS

- Alsaad, M., Schaefer, A. L., Büscher, W. & Steiner, A. 2015. The role of infrared thermography as a non-invasive tool for the detection of lameness in cattle. *Sensors*, 15, 14513-14525.
- Aluwé, M., Tuytens, F. & Millet, S. 2015. Field experience with surgical castration with anaesthesia, analgesia, immunocastration and production of entire male pigs: performance, carcass traits and boar taint prevalence. *animal*, 9, 500-508.
- Averós, X., Martin, S., Riu, M., Serratosa, J. & Gosálvez, L. 2008. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. *Livestock Science*, 119, 174-182.
- Barticciotto, L. S., Luna, S. P. L., De Sá Lorena, S. E. R., Telles, F. G. & Berto, D. A. 2016. Weight gain, behavioral and cortisol changes after orchietomy with or without local anaesthesia in piglets. *Semina: Ciências Agrárias*, 37, 1307-1315.
- Becerril-Herrera, M., Alonso-Spilsbury, M., Ortega, M. T., Guerrero-Legarreta, I., Ramírez-Necoechea, R., Roldan-Santiago, P., Pérez-Sato, M., Soní-Guillermo, E. & Mota-Rojas, D. 2010. Changes in blood constituents of swine transported for 8 or 16h to an Abattoir. *Meat science*, 86, 945-948.

- Bernau, M., Schwanitz, S., Kremer-Rücker, P., Kreuzer, L. & Scholz, A. 2018. Size matters: Boar taint in relationship with body composition and testis volume measured by magnetic resonance imaging. *Livestock Science*, 213, 7-13.
- Bolaños-López, D., Mota-Rojas, D., Guerrero-Legarreta, I., Flores-Peinado, S., Mora-Medina, P., Roldan-Santiago, P., Borderas-Tordesillas, F., García-Herrera, R., Trujillo-Ortega, M. & Ramírez-Necoechea, R. 2014a. Recovery of consciousness in hogs stunned with CO₂: Physiological responses. *Meat science*, 98, 193-197.
- Bonastre, C., Mltjana, O., Tejedor, M., Calavia, M., Yuste, A., Úbeda, J. & Falceto, M. 2016. Acute physiological responses to castration-related pain in piglets: the effect of two local anesthetics with or without meloxicam. *animal*, 10, 1474-1481.
- Borrisser-Pairó, F., Kallas, Z., Panella-Riera, N., Avena, M., Ibáñez, M., Olivares, A., Gil, J. & Oliver, M. A. 2016. Towards entire male pigs in Europe: A perspective from the Spanish supply chain. *Research in veterinary science*, 107, 20-29.
- Briones, G. A. 2006. *Anatomía del equino, canino, porcino, y aves*, Universidad Mayor.
- Carranza, R. R. (2005). VAM vademécum académico de medicamentos. McGraw-Hill.
- Carroll, J., Berg, E., Strauch, T., Roberts, M. & Kattesh, H. 2006. Hormonal profiles, behavioral responses, and short-term growth performance after castration of pigs at three, six, nine, or twelve days of age. *Journal of Animal Science*, 84, 1271-1278.

- Celeste, C. J., Deschesne, K., Riley, C. B. & TheoreT, C. L. 2013. Skin temperature during cutaneous wound healing in an equine model of cutaneous fibroproliferative disorder: kinetics and anatomic-site differences. *Veterinary Surgery*, 42, 147-153.
- Clark, R., Tonnesen, M. G., Gailit, J. & Cheresch, D. A. 1996. Transient functional expression of alphaVbeta 3 on vascular cells during wound repair. *The American journal of pathology*, 148, 1407.
- Cook, N., Chabot, B., Lui, T., Bench, C. & Schaefer, A. 2015. Infrared thermography detects febrile and behavioural responses to vaccination of weaned piglets. *animal*, 9, 339-346.
- Corrales-Hernández, A., Mota-Rojas, D., Guerrero-Legarreta, I., Roldan-Santiago, P., Rodríguez-Salinas, S., Yáñez-Pizaña, A., De La Cruz, L., González-Lozano, M. & Mora-Medina, P. 2018. Physiological responses in horses, donkeys and mules sold at livestock markets. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6, 97-102.
- Davis, K., Seddon, Y., Creutzinger, K., Bouvier, M. & Brown, J. 2017. An investigation into the use of sucrose to reduce castration pain in piglets. *Canadian Journal of Animal Science*, 97, 439-447.
- Drucker, M., Cardenas, E., Arizti, P., Valenzuela, A. & Gamboa, A. 1998. Experimental studies on the effect of lidocaine on wound healing. *World journal of surgery*, 22, 394-398.
- Edgar, J., Nicol, C., Pugh, C. & Paul, E. 2013. Surface temperature changes in response to handling in domestic chickens. *Physiology & behavior*, 119, 195-200.

- Fàbrega, E., Soler, J., Cros, J., Gispert, M., Tibau, J. & Velarde, A. 2009. Result of different alternatives to surgical castration of pigs. *Suis*, 26-34.
- Fitzgerald, M. & Beggs, S. 2001. Book Review: The neurobiology of pain: Developmental aspects. *The Neuroscientist*, 7, 246-257.
- Font I Furnols, M., Gispert, M., Batallé, J. & Diestre, A. Evolution of on-line classification systems of pork carcasses. 1. Congreso Nacional de la Carne, Madrid (España), 15-16 Feb 2001, 2001. Estrategias Alimentarias.
- Font I Furnols, M. & OLIVER, M. Á. 2002. Revisión: presencia de escatol en la carne de cerdo y sus factores de variación. *Eurocarne*, 12, 97-104.
- Frandsen, R., Fuentes Hernandez, V. O., Herrera, S. Y., Ignacio, T. & Spurgeon, T. 1995. *Anatomía y fisiología de los animales domésticos*, Interamericana-McGraw-Hill.
- Fredriksen, B., I Furnols, M. F., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F. A. & Bonneau, M. 2009. Practice on castration of piglets in Europe. *animal*, 3, 1480-1487.
- Fredriksen, B. & Nafstad, O. 2006. Surveyed attitudes, perceptions and practices in Norway regarding the use of local anaesthesia in piglet castration. *Research in veterinary science*, 81, 293-295.
- Gawronska-Kozak, B. & Bukowska, J. 2017. Animal models of skin regeneration. *Animal Models for the Study of Human Disease (Second Edition)*. Elsevier.
- Godyń, D., Herbut, E. & Walczak, J. 2013. Infrared Thermography as a Method for Evaluating the Welfare of Animals Subjected to Invasive Procedures—A Review/Termografia jako metoda oceny dobrostanu zwierząt poddanych

- inwazyjnym zabiegom—artykuł przeglądowy. *Annals of Animal Science*, 13, 423-434.
- Gottardo, F., Scollo, A., Contiero, B., Ravagnani, A., Tavella, G., Bernardini, D., De Benedictis, G. & Edwards, S. 2016. Pain alleviation during castration of piglets: a comparative study of different farm options. *Journal of Animal science*, 94, 5077-5088.
- Grossman, J. D. & Sisson, S. 2000. *Anatomía de los animales domésticos*, Salvat.
- Guatteo, R., Levionnois, O., Fournier, D., Guemene, D., Latouche, K., Leterrier, C., Mormède, P., Prunier, A., Serviere, J. & Terlouw, C. 2012. Minimising pain in farm animals: the 3S approach—‘Suppress, Substitute, Soothe’. *Animal*, 6, 1261-1274.
- Guyton, A. & Hall, J. 1996. Metabolism and temperature regulation. *Textbook of medical physiology*, 9th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 914-5.
- Haga, H. A. & Ranheim, B. 2005. Castration of piglets: the analgesic effects of intratesticular and intrafunicular lidocaine injection. *Veterinary anaesthesia and analgesia*, 32, 1-9.
- Hansson, M., Lundeheim, N., Nyman, G., Johansson, G., 2011. Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Vet. Scand.* 53, 34.
- Hansson, M. & Lundeheim, N. 2012. Facial lesions in piglets with intact or grinded teeth. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 54, 23.
- 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.
- Heid, A. & Hamm, U. 2013. Animal welfare versus food quality: Factors influencing organic consumers' preferences for alternatives to piglet castration without anaesthesia. *Meat science*, 95, 203-211.
- Heinritz, K., Ritzmann, M. & Otten, W. 2006. Alternatives for castration of suckling piglets, determination of catecholamines and wound healing after castration of suckling piglets at different points of time. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 113, 94-97.
- Herborn, K. A., Graves, J. L., Jerem, P., Evans, N. P., Nager, R., Mccafferty, D. J. & McKeegan, D. E. 2015. Skin temperature reveals the intensity of acute stress. *Physiology & behavior*, 152, 225-230.
- Herpin, P., Vincent, A. & Damon, M. 2004. Effect of breed and body weight on thermoregulatory abilities of European (Pietrain×(Landrace× Large White)) and Chinese (Meishan) piglets at birth. *Livestock Production Science*, 88, 17-26.
- Hunter, E. J., Jones, T., Guise, H., Penny, R. & Hoste, S. 2001. The relationship between tail biting in pigs, docking procedure and other management practices. *The Veterinary Journal*, 161, 72-79.
- Hurley-Sanders, J. L., Sladky, K. K., Nolan, E. C. & Loomis, M. R. 2015. Use of cortical bone fenestration, autogenous free skin graft, and thermography for wound treatment and monitoring in a red wolf (*Canis rufus gregoryi*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 46, 617-620.

- Janczak, A. M., Ranheim, B., Fosse, T. K., Hild, S., Nordgreen, J., Moe, R. O. & Zanella, A. J. 2012. Factors affecting mechanical (nociceptive) thresholds in piglets. *Veterinary anaesthesia and analgesia*, 39, 628-635.
- Kattesh, H., Brown, M., Masincup, F. & Schneider, J. 1996. Protein-bound and unbound forms of plasma cortisol in piglets after castration at seven or 14 days of age. *Research in veterinary science*, 61, 22-25.
- Keenan, E., Gethin, G., Flynn, L., Watterson, D. & O'Connor, G. M. 2017. Enhanced thermal imaging of wound tissue for better clinical decision making. *Physiological measurement*, 38, 1104.
- Kimani, J. M. 2013. Comparative skin morphology and wound healing in kenyan african mole rat (*tachyoryctes ibeanus*) and naked mole rat (HETEROCEPHALUS GLABER). University of Nairobi.
- Kiwull-Schöne, H., Kiwull, P., Frede, S. & Wiemann, M. 2007. Role of brainstem sodium/proton exchanger 3 for breathing control during chronic acid–base imbalance. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 176, 513-519.
- Kluyvers-Poodt, M., Houx, B., Robben, S., Koop, G., Lambooi, E. & Hellebrekers, L. 2012. Effects of a local anaesthetic and NSAID in castration of piglets, on the acute pain responses, growth and mortality. *animal*, 6, 1469-1475.
- Knížková, I., Kunc, P., Gürdil, G. A. K., Pinar, Y. & Selvi, K. 2007. Applications of infrared thermography in animal production. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 22, 329-336.

- Knox, R. V. 2003. The anatomy and physiology of sperm production in boars. Published in the website: www.ansci.uiuc.edu/extension/swinerepronet/Ext-Pub/BoarA&P.pdf.
- Lahiri, B., Bagavathiappan, S., Jayakumar, T. & Philip, J. 2012. Medical applications of infrared thermography: a review. *Infrared Physics & Technology*, 55, 221-235.
- Le Bars, D., Gozariu, M. & Cadden, S. W. 2001. Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*, 53, 597-652.
- Leidig, M. S., Hertrampf, B., Failing, K., Schumann, A. & Reiner, G. 2009. Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 116, 174-178.
- Lervik, S., Oskam, I., Krogenæs, A., Andresen, Ø., Dahl, E., Haga, H. A., Tajet, H., Olsaker, I. & Ropstad, E. 2013. Androstenone and testosterone levels and testicular morphology of Duroc boars related to estimated breeding value for androstenone. *Theriogenology*, 79, 986-994.
- Lewis, E., Boyle, L., Lynch, P., Brophy, P. & O'Doherty, J. 2005. The effect of two teeth resection procedures on the welfare of piglets in farrowing crates. Part 1. *Applied Animal Behaviour Science*, 90, 233-249.
- Lomax, S., Harris, C., Windsor, P. A. & White, P. J. 2017. Topical anaesthesia reduces sensitivity of castration wounds in neonatal piglets. *PloS one*, 12, e0187988.
- Loughmiller, J. A., Spire, M. F., Dritz, S. S., Fenwick, B. W., Hosni, M. H. & Hogge, S. B. 2001. Relationship between mean body surface temperature

- measured by use of infrared thermography and ambient temperature in clinically normal pigs and pigs inoculated with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *American journal of veterinary research*, 62, 676-681.
- Marchant-Forde, J., Lay JR, D., Mcmunn, K., Cheng, H. W., Pajor, E. & Marchant-Forde, R. 2014. Postnatal piglet husbandry practices and well-being: the effects of alternative techniques delivered in combination. *Journal of Animal Science*, 92, 1150-1160.
- Marchant-Forde, J. N. & Marchant-Forde, R. M. 2009. Welfare of pigs during transport and slaughter. *The Welfare of Pigs*. Springer.
- Marsalek, P., Svoboda, M., Bernardy, J. & Vecerek, V. 2015. Concentrations of neopterin, biopterin, and cortisol associated with surgical castration of piglets with lidocaine. *Czech Journal of Animal Science*, 60, 473-478.
- Maršálek, P., Svoboda, M., Smutná, M., Blahová, J. & Večerek, V. 2011. Neopterin and biopterin as biomarkers of immune system activation associated with castration in piglets. *Journal of Animal Science*, 89, 1758-1762.
- Marti, S., Schwartzkopf-Genswein, K. S., Janzen, E. D., Meléndez, D. M., Gellatly, D. & Pajor, E. A. 2017. Use of topical healing agents on scrotal wounds after surgical castration in weaned beef calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 58, 1081.
- Martin, P. 1997. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276, 75-81.
- Martínez-Rodríguez, R., Mota-Rojas, D., Trujillo-Ortega, M. E., Orozco-Gregorio, H., Hernández-González, R., Roldan-Santiago, P., Mora-Medina, P., Alonso-Spilsbury, M., Rosales-Torres, A. & Ramírez-Necoechea, R. 2011.

- Physiological response to hypoxia in piglets of different birth weight. *Italian Journal of Animal Science*, 10, e56.
- Martínez-Rodríguez, R., Roldan-Santiago, P., Orozco-Gregorio, H., Trujillo-Ortega, M., Mora-Medina, P., González-Lozano, M., Sánchez-Hernández, M., Bonilla-Jaime, H., García-Herrera, R. & Hernández-Trujillo, E. 2015. Physiological responses and blood gas exchange following long-distance transport of piglets weaned at different ages over unpaved or paved roads. *Livestock Science*, 172, 69-78.
- Mccafferty, D., Gilbert, C., Paterson, W., Pomeroy, P., Thompson, D., Currie, J. & Ancel, A. 2011. Estimating metabolic heat loss in birds and mammals by combining infrared thermography with biophysical modelling. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 158, 337-345.
- Mcglone, J. J. & Hellman, J. 1988. Local and general anesthetic effects on behavior and performance of two-and seven-week-old castrated and uncastrated piglets. *Journal of Animal Science*, 66, 3049-3058.
- Mcglone, J. J., Salak, J. L., Lumpkin, E. A., Nicholson, R. I., Gibson, M. & Norman, R. L. 1993. Shipping stress and social status effects on pig performance, plasma cortisol, natural killer cell activity, and leukocyte numbers. *Journal of Animal Science*, 71, 888-896.
- Medina-Vara, M., Guerrero-Legarreta, I., Roldan-Santiago, P., Castañeda-Serrano, P., González-Lozano, M. & Mota-Rojas, D. 2016. Animal welfare in broilers: physiological profiles in response to transport to abattoir, lairage and exsanguination. *Revista Científica*, 26.

- Mendoza-Lara, M., Orozco-Gregorio, H., Ramírez-Necoechea, R., Caballero-Chacón, S., Hernández-González, R., Becerril-Herrera, M., Mora-Medina, P. & Mota-Rojas, D. 2012. Perfil fisiometabólico de perros Pastor Belga Malinois y Pastor Holandés de alto rendimiento en respuesta a una sesión de entrenamiento para Ring Francés. *Archivos de medicina veterinaria*, 44, 137-144.
- Menegassi, S. R. O., Pereira, G. R., Dias, E. A., Koetz, C., Lopes, F. G., Bremm, C., Pimentel, C., Lopes, R. B., Da Rocha, M. K. & Carvalho, H. R. 2016. The uses of infrared thermography to evaluate the effects of climatic variables in bull's reproduction. *International journal of biometeorology*, 60, 151-157.
- Menzel, A., Beyerbach, M., Siewert, C., Gundlach, M., Hoeltig, D., Graage, R., Seifert, H., Waldmann, K.-H., Verspohl, J. & Hennig-Pauka, I. 2014. Actinobacillus pleuropneumoniae challenge in swine: diagnostic of lung alterations by infrared thermography. *BMC veterinary research*, 10, 1.
- Merlot, E. 2004. Consequences of stress on immune function in farm animals. *INRA Prod. Anim*, 17, 255-264.
- Mintline, E. M., Varga, A., Banuelos, J., Walker, K. A., Hoar, B., Drake, D., Weary, D., Coetzee, J., Stock, M. & Tucker, C. 2014. Healing of surgical castration wounds: A description and an evaluation of flunixin. *Journal of Animal Science*, 92, 5659-5665.
- Moberg, G. 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, 1-21.

- Moe, R. et al. 2018. Effects of subclinical footpad dermatitis and emotional arousal on surface foot temperature recorded with infrared thermography in turkey toms (*Meleagris gallopavo*). *Poultry science*.
- Mora-Medina, P., Orihuela-Trujillo, A., Roldan-Santiago, P., Arch-Tirado, E., Vázquez-Cruz, C. & Mota-Rojas, D. 2018. Metabolic changes during brief periods of ewe–lamb separation at different ages. *Animal Production Science*, 58, 1297-1306.
- Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P. & Van Reenen, C. G. 2007. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & behavior*, 92, 317-339.
- Mota-Rojas, D., Becerril-Herrera, M., Roldan-Santiago, P., Alonso-Spilsbury, M., Flores-Peinado, S., Ramírez-Necoechea, R., Ramírez-Telles, J., Mora-Medina, P., Pérez, M. & Molina, E. 2012a. Effects of long distance transportation and CO₂ stunning on critical blood values in pigs. *Meat science*, 90, 893-898.
- Mota-Rojas, D., Guerrero-Legarreta, & Trujillo-Ortega, M. E. 2010. Animal welfare and meat quality: Chemical and experimental approaches. (in Spanish). México: BM Editores 978-607-00-1506-9 Mexico City. Mexico
- Mota-Rojas, D., Martinez-Burnes, J., Villanueva-Garcia, D., Roldan-Santiago, P., Trujillo-Ortega, M., Orozco-Gregorio, H., Bonilla-Jaime, H. & Lopez-Mayagoitia, A. 2012b. Animal welfare in the newborn piglet: a review. *veterinarni medicina*, 57, 338-349.

- Mota-Rojas, D., Orozco-Gregorio, H., Gonzalez-Lozano, M., Roldan-Santiago, P., Martinez-Rodriguez, R., Sanchez-Hernandez, M. & Trujillo-Ortega, M. E. 2011. Therapeutic approaches in animals to reduce the impact of stress during transport to the slaughterhouse: A review. *International Journal of Pharmacology*, 7, 568-78.
- Mota-Rojas, D., Villanueva-García, D., Hernández-González, R., Roldan-Santiago, P., Martínez-Rodríguez, R., Mora-Medina, P., González-Meneses, B., Sánchez-Hernández, M. & Trujillo-Ortega, M. 2012d. Assessment of the vitality of the newborn: an overview. *Scientific Research and Essays*, 7, 712-718.
- Murawala, P., Tanaka, E. M. & Currie, J. D. Regeneration: the ultimate example of wound healing. *Seminars in cell & developmental biology*, 2012. Elsevier, 954-962.
- Nautrup, B. P., Van Vlaenderen, I., Aldaz, A. & Mah, C. 2018. The effect of immunization against gonadotropin-releasing factor on growth performance, carcass characteristics and boar taint relevant to pig producers and the pork packing industry: A meta-analysis. *Research in veterinary science*.
- Nord, A., Lehmann, M., Macleod, R., Mccafferty, D. J., Nager, R. G., Nilsson, J. Å. & Helm, B. 2016. Evaluation of two methods for minimally invasive peripheral body temperature measurement in birds. *Journal of Avian Biology*, 47, 417-427.
- Okada, K., Takemura, K. & Sato, S. 2013. Investigation of various essential factors for optimum infrared thermography. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75, 1349-1353.

- Orozco-Gregorio, H., Mota-Rojas, D., Alonso-Spilsbury, M., Olmos-Hernández, A., Ramirez-Necoechea, R., Velazquez-Armenta, E., Nava-Ocampo, A., Hernandez-Gonzalez, R., Trujillo-Ortega, M. & Villanueva-Garcia, D. 2008. Short-term neurophysiologic consequences of intrapartum asphyxia in piglets born by spontaneous parturition. *International Journal of Neuroscience*, 118, 1299-1315.
- Paz, J. C. & West, M. P. 2013. *Acute care handbook for physical therapists*, Elsevier Health Sciences.
- Pérez-Pedraza, E. 2018. Resultados exitosos de investigación en animales de granja mediante el uso de la termografía infrarroja. 5ta Jornada de Bienestar Animal y Calidad de la Carne. Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán (FES-C) UNAM.
- Polat, B. et al. 2010. Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subclinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93: 3525-3532.
- Pollard, J., Littlejohn, R., Asher, G., Pearse, A., Stevenson-Barry, J., McGregor, S., Manley, T., Duncan, S., Sutton, C. & Pollock, K. 2002. A comparison of biochemical and meat quality variables in red deer (*Cervus elaphus*) following either slaughter at pasture or killing at a deer slaughter plant. *Meat science*, 60, 85-94.
- Prunier, A., Bonneau, M., Von Borell, E., Ciniotti, S., Gunn, M., Fredriksen, B., Giersing, M., Morton, D., Tuytens, F. & Velarde, A. 2006. A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of

- non-surgical methods. animal welfare-potters bar then wheathampstead-, 15, 277.
- Prunier, A., Mounier, A. & Hay, M. 2005. Effects of castration, tooth resection, or tail docking on plasma metabolites and stress hormones in young pigs. *Journal of Animal Science*, 83, 216-222.
- Puppe, B., Schön, P. C., Tuchscherer, A. & Manteuffel, G. 2005. Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: complex and specific alterations of the vocal quality. *Applied Animal Behaviour Science*, 95, 67-78.
- Quiles, A. 2009. Castración de lechones: Ventajas e inconvenientes. *Cría y salud porcina*, 24, 54-63.
- Rainwater-Lovett, K., J. M. Pacheco, C. Packer, and L. L. Rodriguez. 2009. Detection of foot-and-mouth disease virus infected cattle using infrared thermography. *The Veterinary Journal* 180: 317-324
- Ranheim, B. & Haga, H. 2006. Local anaesthesia for pigs subject to castration. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48, S13.
- Rault, J.-L., Lay JR, D. C. & MarchantT-Forde, J. N. 2011. Castration induced pain in pigs and other livestock. *Applied Animal Behaviour Science*, 135, 214-225.
- Redaelli, V., Bergero, D., Zucca, E., Ferrucci, F., Costa, L. N., Crosta, L. & Luzi, F. 2014. Use of thermography techniques in equines: principles and applications. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34, 345-350.
- Reséndiz-Cruz, V., Ramírez-Briebesca, J., Mota-Rojas, D., Guerrero-LEGARRETA, I., Cruz-Monterrosa, R. & Hernandez-Sanchez, D. 2018. The effect of stress

- on haematologic response and physicochemical parameters of muscle meat in rabbits. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102, e403-e412.
- Ritter, M., Ellis, M., Anderson, D., Curtis, S., Keffaber, K., Killefer, J., McKeith, F., Murphy, C. & Peterson, B. 2009. Effects of multiple concurrent stressors on rectal temperature, blood acid-base status, and longissimus muscle glycolytic potential in market-weight pigs. *Journal of Animal Science*, 87, 351-362.
- Roldan-Santiago, P., Mota-Rojas, D., Orozco-Gregorio, H., Borderas-Tordesillas, F., Martínez-Rodríguez, R., Mora-Medina, P., Flores-Peinado, S., Sánchez-Hernández, M. & Trujillo-Ortega, M. 2015. Welfare of recently weaned piglets transported on unpaved roads: the effect of age and the use of straw bedding. *Animal Production Science*, 55, 648-653.
- Sabogal, C. E. L., Rivera, A. F. C. & Higuera, A. Y. J. 2014. Lactato y déficit de bases en trauma: valor pronóstico. *Revista Colombiana de Anestesiología*, 42, 60-64.
- Schaefer, A., Cook, N., Bench, C., Chabot, J., Colyn, J., Liu, T., Okine, E., Stewart, M. & Webster, J. 2012. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Research in veterinary science*, 93, 928-935.
- Schwartzkopf-Genswein, K. & Stookey, J. 1997. The use of infrared thermography to assess inflammation associated with hot-iron and freeze branding in cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 77, 577-583.

- Sherwin, C., Christiansen, S., Duncan, I., erhard, H., Lay, D., Mench, J., O'Connor, C. & Petherick, C. 2003. Guidelines for the ethical use of animals in applied animal behaviour research. *Applied Animal Behaviour Science*, 81, 291-305.
- Shi, X., Li, C., Cao, M., Xu, X., Zhou, G. & Xiong, Y. L. 2016. Comparative proteomic analysis of longissimus dorsi muscle in immuno-and surgically castrated male pigs. *Food chemistry*, 199, 885-892.
- Soerensen, D. D., Clausen, S., Mercer, J. B. & Pedersen, L. J. 2014. Determining the emissivity of pig skin for accurate infrared thermography. *Computers and Electronics in Agriculture*, 109, 52-58.
- Soerensen, D. D. & Pedersen, L. J. 2015. Infrared skin temperature measurements for monitoring health in pigs: a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57, 5.
- Stevens, B., Posner, L., Jones, C. & Lascelles, B. 2013. Comparison of the effect of intratesticular lidocaine/bupivacaine vs. saline placebo on pain scores and incision site reactions in dogs undergoing routine castration. *The Veterinary Journal*, 196, 499-503.
- Stewart, M., Stafford, K., Dowling, S., Schaefer, A. & Webster, J. 2008a. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & behavior*, 93, 789-797.
- Stewart, M., Stafford, K., Dowling, S., Schaefer, A. & Webster, J. 2008b. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & behavior*, 93, 789-797.
- Stewart, M., Webster, J., Verkerk, G., Schaefer, A., Colyn, J. & Stafford, K. 2007. Non-invasive measurement of stress in dairy cows using infrared thermography. *Physiology & behavior*, 92, 520-525.

- Stramer, B. M., Mori, R. & Martin, P. 2007. The inflammation–fibrosis link? A Jekyll and Hyde role for blood cells during wound repair. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, 1009-1017.
- Sutherland, M., Davis, B., Brooks, T. & Coetzee, J. 2012. The physiological and behavioral response of pigs castrated with and without anesthesia or analgesia. *Journal of Animal Science*, 90, 2211-2221.
- Sutherland, M., Davis, B., Brooks, T. & Mcglone, J. 2010. Physiology and behavior of pigs before and after castration: effects of two topical anesthetics. *animal*, 4, 2071-2079.
- Sutherland, M. A., Backus, B. L., Brooks, T. A. & Mcglone, J. J. 2017. The effect of needle-free administration of local anesthetic on the behavior and physiology of castrated pigs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 21, 71-76.
- Tadich, N., Gallo, C., Bustamante, H., Schwerter, M. & Van Schaik, G. 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livestock Production Science*, 93, 223-233.
- Taylor, A. A. & Weary, D. M. 2000. Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. *Applied Animal Behaviour Science*, 70, 17-26.
- Taylor, A. A., Weary, D. M., Lessard, M. & Braithwaite, L. 2001. Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. *Applied Animal Behaviour Science*, 73, 35-43.

- Thun, R., Gajewski, Z. & Janett, F. 2006. Castration in male pigs: techniques and animal welfare issues. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 57, 189-194.
- Travain, T., Colombo, E. S., Grandi, L. C., Heinzl, E., Pelosi, A., Previde, E. P. & Valsecchi, P. 2016. How good is this food? A study on dogs' emotional responses to a potentially pleasant event using infrared thermography. *Physiology & behavior*, 159, 80-87.
- Tuytens, F., Sonck, B., Staes, M., Van Gansbeke, S., Van Den Bogaert, T. & Ampe, B. 2011. Survey of egg producers on the introduction of alternative housing systems for laying hens in Flanders, Belgium. *Poultry science*, 90, 941-950.
- Valencia Basto, C. 2010. Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas.
- Vazquez-Galindo, G., De Aluja, A. S., Guerrero-Legarreta, I., Orozco-Gregorio, H., Borderas-Tordesillas, F., Mora-Medina, P., Roldan-Santiago, P., Flores-Peinado, S. & Mota-Rojas, D. 2013. Adaptation of ostriches to transport-induced stress: Physiometabolic response. *Animal Science Journal*, 84, 350-358.
- Von Borell, E., Baumgartner, J., Giersing, M., Jägglin, N., Prunier, A., Tuytens, F. & Edwards, S. 2009. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *animal*, 3, 1488-1496.
- Wemelsfelder, F. & Van Putten, G. 1985. Behaviour as a possible indicator for pain in piglets. IVO.

- White, B. J., Coetzee, J. F., Renter, D. G., Babcock, A. H., Thomson, D. U. & Andresen, D. 2008. Evaluation of two-dimensional accelerometers to monitor behavior of beef calves after castration. *American journal of veterinary research*, 69, 1005-1012.
- White, R., Deshazer, J., Tressler, C., Borchert, G., Davey, S., Waninge, A., Parkhurst, A., Milanuk, M. & Clemens, E. 1995. Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *Journal of Animal Science*, 73, 381-386.
- Yarnell, K., Hall, C. & Billett, E. 2013. An assessment of the aversive nature of an animal management procedure (clipping) using behavioral and physiological measures. *Physiology & behavior*, 118, 32-39.