



Effekt av lokalanestetika vid placering av perifer venkateter hos häst

Elin Sandgren

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2024

Effekt av lokalanestetika vid placering av perifer venkateter hos häst

Effects of local anaesthetics during intravenous catheter placement in horses

Elin Sandgren

Handledare:	Carl Ekstrand, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Bitr. handledare:	Minerva Löwgren, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Bitr. handledare:	Eva Sandberg, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi
Examinator:	Erika Roman, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Omfattning:	30 hp
Nivå och fördjupning:	Avancerad nivå, A2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod:	EX1003
Program/utbildning:	Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.:	Institutionen för kliniska vetenskaper
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2024

Nyckelord:	Beteende, EMLA, etogram, lokalanestetika, smärta, von Frey-filament
-------------------	---

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Placering av perifer intravenös venkateter är en rutinprocedur inom veterinärmedicin både inom klinisk verksamhet och inom försöksdjursverksamhet. Placering av perifer venkateter är ett invasivt och potentiellt smärtsamt ingrepp. Förekomsten av användning av analgesi inför proceduren varierar och evidensen för användning är hos flera djurslag inte klarlagd. Att identifiera väl fungerande metoder gällande analgesi inför ingreppet skulle medföra minimerat lidande och därmed förbättrad djurvälstånd och förbättrat djurskydd.

Eutectic Mixture of Local Anesthetics, EMLA-krem, är en topikal lokalbedövningskrem innehållande lidokain och prilokain. EMLA används frekvent inom humanmedicinen inför mindre invasiva ingrepp så som nålstick och har visat god analgetisk effekt både hos barn och vuxna. EMLA har också visats ge god analgetisk effekt vid placering av venkateter på hund, katt och kanin. På rått och get har EMLA dock inte gett tillräcklig analgesi inför kanylering. Det finns i nuläget inga studier som utvärderar effekten av EMLA vid placering av venkateter hos häst. Syftet med studien var att undersöka om EMLA eller EMLA i kombination med subkutan lidokaininjektion minskar smärta och obehag hos häst vid placering av perifer venkateter i jugularvenen.

Studien utfördes på åtta hästar ägda av Sveriges lantbruksuniversitet. Hästarna randomiserades till en ordning av följande behandlingar: sham (I), EMLA + lidokain (II), EMLA (III) och placebo (IV). Perifer venkateter placerades i jugularvenen vid samtliga behandlingar förutom sham. Effekten av de olika behandlingarna utvärderades genom mätning av hudsensibilitet med von Frey-filament, subjektiv bedömning av beteenden under ingreppet och beteendeobservationer från videoinspelning med etogram.

Studien indikerar att en kombination av EMLA och subkutan lidokaininjektion ger mest adekvat analgesi inför placering av venkateter jämfört med övriga behandlingar, men skillnaden är inte signifikant i jämförelse med placebo. Studien indikerar dock att EMLA applicerad i 30 minuter inte ger uppenbart förbättrad analgesi jämfört med placebo. Det är därmed möjligt att verkningstiden som användes inte var tillräckligt lång för att uppnå önskad effekt och att det är därför EMLA och lidokain tycks ha gett upphov till mer adekvat analgesi. Resultaten från studien stödjer att det förekommer stora individuella variationer i hur djur upplever och uppvisar smärta vilket ställer stora krav på hur vi mest optimalt bör bedöma smärta hos häst. Användning av von Frey-filament för mätning av hudsensibilitet fungerade inte optimalt i denna studie. En annan metod där tröskelvärden genereras skulle kunna ge en mer tillförlitlig mätning av hudsensibilitet. Studien har utförts på en liten studiepopulation vilket ska beaktas vid tolkning av resultaten. Resultaten motiverar vidare studier på området med en större och mer heterogen studiepopulation.

Nyckelord: Beteende, EMLA, etogram, lokalanestetika, smärta, von Frey-filament

Abstract

Peripheral intravenous catheter placement is a routine procedure in veterinary medicine both in clinical practice and in laboratory animal practice. Placement of the intravenous catheter is an invasive and potentially painful procedure. The prevalence of the use of analgesia prior to the procedure varies and the evidence for its use is still to be determined in several animal species. Identifying well-functioning methods of analgesia prior to the procedure would minimize suffering and improve animal welfare.

Eutectic Mixture of Local Anaesthetics, EMLA cream, is a topical local anaesthetic cream containing lidocaine and prilocaine. EMLA is frequently used in human medicine prior to less invasive procedures such as cannulation and has shown good analgesic effect in both children and adults. EMLA has also been shown to provide a good analgesic effect when placing intravenous catheter in dogs, cats, and rabbits. However, EMLA did not provide sufficient analgesia before cannulation in rats and goats. There are currently no studies that evaluate the effect of EMLA when placing peripheral intravenous catheter in horses. The purpose of the study was to investigate whether EMLA or EMLA in combination with subcutaneous lidocaine injection reduces pain and discomfort in horses when placing a peripheral venous catheter in the jugular vein.

The study included eight horses owned by the Swedish University of Agriculture. The horses were randomized to an order of the following treatments: *sham* (I), EMLA + lidocaine (II), EMLA (III) and placebo (IV). Intravenous catheters were placed in the jugular vein in all treatments except *sham*. The effect of the different treatments was evaluated by measuring skin sensitivity with von Frey filaments, by subjective assessment of behaviours during the intervention and by behavioural observations from video recording using ethograms.

The study indicates that a combination of EMLA and subcutaneous lidocaine injection provides the most adequate analgesia prior to placement of venous catheters compared to other treatments, but the difference is not significant compared to placebo. However, the study indicates that EMLA applied for 30 minutes does not clearly improve analgesia compared to placebo. It is possible that the duration of action used was too short to achieve the desired effect, and that is why EMLA and lidocaine seem to have provided more adequate analgesia. The results from the studies support that there are large individual variations in how animals experience and exhibit pain, which places great demands on how we should assess pain in horses. Use of von Frey filaments for measuring skin sensitivity did not work optimally in this study. Another method where threshold values are obtained could provide a more reliable measurement of skin sensitivity. The study was conducted on a small study population, which should be considered when interpreting results. The results motivate further studies in the area with a larger and more heterogeneous study population.

Keywords: Behaviour, EMLA, ethogram, local anaesthetic, pain, von Frey filament

Innehållsförteckning

1.	Inledning	9
2.	Litteraturöversikt.....	10
2.1	Smärta och stress	10
2.1.1	Definition smärta och smärtfysiologi	10
2.1.2	Definition stress och stressfysiologi.....	11
2.2	Smärtbedömning hos häst	13
2.2.1	Fysiologiska metoder	13
2.2.2	Smärtbedömning baserat på beteende	14
2.3	Lokalanestetika	16
2.3.1	Infiltrationsanestesi	17
2.3.2	Eutectic Mixture of Local Anaesthetics - EMLA.....	17
2.4	von Frey-filament	19
3.	Material och metod	21
3.1	Hästar i studien	21
3.2	Försöksprotokoll.....	21
3.3	Utformning av etogram och registrering av beteenden.....	25
3.4	Bearbetning av data.....	28
4.	Resultat	29
4.1	Subjektiv bedömning av beteende	29
4.2	Etogram.....	33
4.2.1	Kontinuerlig beteenderegistrering under kanylläggning	33
4.2.2	Kontinuerlig registrering av beteende efter kanylläggning	38
4.2.3	Huvudposition	44
4.3	von Frey-filament	45
4.3.1	von Frey-filament 4,56 (soft).....	45
4.3.2	von Frey-filament 5,46 (medium).....	47
4.3.3	von Frey-filament 6,65 (stiff)	48
5.	Diskussion	53
6.	Konklusion.....	61

Referenser.....	62
Populärvetenskaplig sammanfattning	69
Tack	72
Bilaga 1.....	73
Bilaga 2.....	76

1. Inledning

Placering av intravenös venkateter är en rutinprocedur inom veterinärmedicinen. Proceduren utförs på sjuka djur inom klinisk verksamhet lik väl som på friska djur inom försöksdjursverksamhet för att möjliggöra upprepad provtagning, intravenös administrering av läkemedel samt vätsketerapi. Placering av intravenös venkateter är ett invasivt och potentiellt smärtsamt ingrepp. Smärta associerad med venpunktion har länge accepterats som en oundviklig följd till möjliggörandet av intravenös åtkomst hos djur (Flecknell *et al.* 1990). Proceduren genomförs idag i regel utan föregående analgesi i klinisk verksamhet. Inom försöksdjursverksamhet varierar det om analgesi ges inför placering av intravenös venkateter eller inte. Evidensen för användandet av analgetiska preparat inför proceduren är heller inte klarlagd för alla djurslag. Av djurskyddslagen framgår att ”Djur skall behandlas väl och skyddas mot onödigt lidande” (§ 1 Djurskyddslagen [SFS 2018:1192]). Att identifiera väl fungerande metoder för analgesi inför placering av venkateter skulle medföra minimerat lidande och därmed förbättrat djurskydd.

Inom humanmedicinen används topikal lokalanestetika i form av kräm eller plåster för att förhindra smärta vid mindre invasiva ingrepp (Halimaa 2003). *Eutectic Mixture of Local Anesthetics*, EMLA-kräm, är ett exempel på topikal lokalbedövningskräm. EMLA innehåller 2,5 % lidokain och 2,5 % prilokain och är registrerat för humant bruk (FASS 2023). EMLA har visats ha god analgetisk effekt hos barn inför placering av venkateter och vid venpunktion (Hopkins *et al.* 1988; Arts *et al.* 1994; Young *et al.* 1996). EMLA har även påvisats ha god analgetisk effekt vid placering av venkateter på hund, katt och kanin (Flecknell *et al.* 1990; Gibbon *et al.* 2003; Wagner *et al.* 2006; van Oostrom & Knowles 2018). På rått och get har EMLA inte gett upphov till adekvat analgesi vid placering av venkateter (Flecknell *et al.* 1990; Bergman 2021). Detta indikerar att det förekommer djur-slagsskillnader rörande effekt av EMLA. Det finns i nuläget inga studier som utvärderar effekten av EMLA vid placering av venkateter hos häst.

Syftet med studien är att undersöka om EMLA eller EMLA i kombination med subkutan lidokaininjektion minskar smärta och obehag hos häst vid placering av perifer venkateter i jugularvenen. Hypotesen är att hästar uppvisar färre beteenden relaterade till smärta eller stress när de behandlats med EMLA eller EMLA och lidokain före ingreppet.

2. Litteraturöversikt

2.1 Smärta och stress

2.1.1 Definition smärta och smärtfysiologi

Smärta definieras av International Association for the Study of Pain (IASP) som en *“obehaglig sensorisk och känslomässig upplevelse förknippad med faktisk eller potentiell vävnadsskada, eller beskriven i termer av sådan skada”* (Raja *et al.* 2020). Att smärta har en känslomässig komponent gör att det är en subjektiv upplevelse (van Loon & Van Dierendonck 2018). Den subjektiva upplevelsen av smärta påverkas av individens tidigare erfarenheter (Sjaastad *et al.* 2010).

Smärtfysiologi involverar transmission av smärtrelaterad information från perifera nerver till cerebrala cortex (Sjaastad *et al.* 2010). Nervimpulser initieras av nociceptorer i änden av sensoriska nervfibrer. Under fysiologiska förhållanden har nociceptorer hög aktiveringströskel och enbart skadliga stimuli kan generera aktionspotential (Kuner 2010). Nervimpulser från nociceptorer förmedlas via A δ - och C- nervfibrer (Sjaastad *et al.* 2010; Dinakar & Stillman 2016). A δ - fibrer är snabba myeliniserade nervfibrer av liten grovlek som ger upphov till en skarp smärtupplevelse. C-fibrer är långsamma omyeliniserade nervfibrer av liten grovlek som ger upphov till en brännande smärtupplevelse. A δ -fibrer är involverade i akut smärta medan C-fibrer är mer involverade i kronisk smärta. Nociceptorer aktiveras av mekaniskt stimuli (t.ex. trauma), kemiskt stimuli (t.ex. ischemi eller inflammation) eller termiskt stimuli (extrem värme eller kyla) (Sjaastad *et al.* 2010).

Transmission av smärtrelaterad information från periferin till centrala nervsystemet sker beroende av ryggmärg, hjärnstam och storhjärna (Aguggia 2003). Neuronerna är organiserade i tre nivåer (Sjaastad *et al.* 2010). Första ordningens neuroner utgörs av perifera sensoriska fibrer, A δ - och C-fibrer, som sträcker sig till nivå för dorsalrotens ganglier. Dess synapser är lokaliserade i ryggmärgens dorsalthorn. I dorsalthornet kopplas A δ - och C- fiber samman med excitatoriska eller inhibitoriska interneuroner som modulerar den sensoriska signalen innan omkoppling till andra ordningens neuroner sker (Guedes 2017). Andra ordningens neuroner utgår från

motsatt kroppssidas ventralhorn och löper i ascenderande riktning till talamus (Sjaastad *et al.* 2010). I talamus sker omkoppling till tredje ordningens neuroner som leder impulserna till hjärnans cortex. Det finns nervbanor skilda från ovan nämnda som involverar strukturer i bland annat amygdala och talamus (Aguggia 2003). Dessa medierar tillsammans med cerebrala cortex de känslomässiga upplevelserna av smärta. Det finns ett descenderande smärtmodulerande system som påverkar den fortsatta utvecklingen av smärtan (Butler & Finn 2009; Guedes 2017). Systemet utgår från neuroner i hjärnstam, hypotalamus och amygdala och sträcker sig till ryggmärgens dorsalthorn. Effekt fås genom frisättning av neurotransmittorer såsom dopamin, serotonin, noradrenalin, endogena opioider, glutamat, cannabinoider etc. Vilken neurotransmittor som frisätts och receptor-subtypen avgör pronociceptiv eller antinociceptiv effekt. Det vill säga främjande eller inhibering av vidare nociception (Butler & Finn 2009; Guedes 2017).

Det finns tre olika typer av smärta: inflammatorisk, neuropatisk och nociceptiv smärta (Guedes 2017). Inflammatorisk smärta orsakas av aktivering av låg- och högröskel nociceptorer på A δ - och C-fiber genom frisättning kemiska mediatorer från skadade eller inflammatoriska celler. Kemiska mediatorer kan direkt aktivera nociceptorer och orsaka smärta alternativt verka för att sänka aktiveringströsklarna perifert och/eller centralt. Vid en sänkt aktiveringströskel aktiveras det sensoriska nervsystemet lättare. Det medför minskad rörelse för att gynna läkning men kan också medföra spontan och överdriven smärta (Scholz & Woolf 2002). Neuropatisk smärta orsakas av dysfunktion eller skada på perifera eller centrala nervsystemet (Guedes 2017). Neuropatisk smärta kan initieras av till exempel kirurgiska trauman eller sjukdomar som artrit och fång. Nociceptiv smärta initieras enbart av potentiellt skadligt stimuli. Initiering sker genom aktivering av högröskel nociceptorer på A δ - och C-fibrer. Nociceptiv smärta är vanligen akut och ger upphov till en stark motivation för att undvika vidare skada (Guedes 2017).

2.1.2 Definition stress och stressfysiologi

Stress är ett begrepp som används brett och det finns flera definitioner av begreppet. Mench & Moberg (2000) definierade stress som den biologiska respons framkallad av hot mot individens homeostas. Blood *et al.* (2000) presenterade definitionen av stress som *"alla stimuli, internt eller externt, kemiskt eller fysiskt eller känslomässigt, som stimulerar neuroner i hypothalamus till att frisätta Corticotropin-Releasing Hormone i högre mängder än som skulle förekommit vid den tiden på dagen utan stimuli"*. Sammantaget representerar stressresponsen individens försök att återupprätta homeostas efter skada, fysisk aktivitet eller psykologisk påfrestning (Wagner 2010).

För att återfå homeostas sker flera beteendemässiga och fysiologiska förändringar i syfte att anpassa individen till situationen (Johnson *et al.* 1992). Huvuddelen i stressresponsen anses vara medierad av hypotalamus-hypofys-binjurebarksaxeln (HPA-axeln) och sympatiko-adrenomedullära systemet (Amat *et al.* 2016). Aktivering av HPA-axeln medför ökad frisättning av stresshormonet kortisol från binjurebarken (Sjaastad *et al.* 2010). Kortisol verkar på alla kärnförande celler i kroppen och utövar flertalet essentiella effekter. Kortisolf frisättning kan ge förändring i fysiologiska parametrar och generera ökad hjärtfrekvens, ökat blodtryck, ökad andningsfrekvens och beteendeförändringar (Wagner 2010). Kortisol stimulerar också glukoneogenes, verkar antiinflammatoriskt och immunosupprimerande (Sjaastad *et al.* 2010). Kortisolnivåer kan mätas bland annat i plasma eller saliv och är en utbredd metod för att mäta aktivitet av HPA-axeln (Molony & Kent 1997). Stressreaktioner kan också bevisas genom de fysiologiska förändringar och beteendeförändringar som kortisolf frisättning och aktivering av sympatiska nervsystemet ger upphov till (Wagner 2010).

Både smärta och stress medför aktivering av sympatiska delen av autonoma nervsystemet (Sjaastad *et al.* 2010). Två neuroner, preganglionära och postganglionära, kopplar samman centrala nervsystemet med effektorceller i det sympatiska nervsystemet. Cellkroppen på preganglionära neuroner är lokaliserade i centrala nervsystemet medan cellkroppen på postganglionära neuroner är lokaliserade utanför centrala nervsystemet. Neuronerna kopplas samman i sympatiska ganglier på vardera sida av ryggmärgen. Axoner från postganglionära neuroner sträcker sig från sympatiska ganglier till effektorceller i målorgan. Undantag är binjuremärgen som nås av preganglionära neuroner direkt från ryggmärgen, vilket utgör det sympatiko-adrenomedullära systemet. Axoner från ryggmärgen skapar synapser direkt till sekretoriska celler i binjuremärgen där adrenalin och noradrenalin agerar transmittorsubstanser och frisätts systematiskt. Vid aktivering av sympatiska nervsystemet påverkas målorgan som ögon, hjärta, lungor, mag-tarmkanal och salivkörtlar. Effekter ses i form av mydriasis, takykardi, ökad kontraktionskraft i hjärtmuskulatur, bronkodilatation, nedsatt gastrointestinal motilitet och ökad salivering. Katekolaminerna adrenalin och noradrenalin utövar effekt systemiskt genom bindning till alfa- eller betareceptorer i målorgan. De viktigaste effekterna av adrenalin och noradrenalin inkluderar ökad glukoneogenes, ökad glykogenedbrytning, takykardi, ökad kontraktionskraft i hjärtmuskulaturen, ökat blodtryck och redistribution av blod från bukorgan till skelettmuskulatur (Sjaastad *et al.* 2010).

Flera studier har genomförts på hur stress kan påverka upplevelse av smärta (Butler & Finn 2009; Jennings *et al.* 2014). Studierna är utförda på gnagare och människa med olika modeller för initiering av stressrespons. Man har sett att akut stress kan medföra lindrad smärtupplevelse, så kallad stressinducerad analgesi (SIA). SIA

medieras av att stressrespons kan stimulera det descenderande smärtmodulerande systemet i hjärnan, sammanfattat av Butler & Finn (2009). Stress av en mer kronisk form eller upprepade stress kan i stället orsaka förstärkt smärtupplevelse, så kallad stressinducerad hyperalgesi (SIH), sammanfattat av Jennings *et al.* (2014).

2.2 Smärtbedömning hos häst

Smärtbedömning hos djur är komplicerat då smärta är en subjektiv upplevelse som hos djur, till skillnad från hos människa, inte kan kommuniceras verbalt (Taylor *et al.* 2002). Att häst är ett flyktdjur försvårar smärtbedömningen ytterligare eftersom hästar är utvecklade att inte uttrycka smärta öppet i syfte att undvika predation. Inom humanmedicinen kan patienten genomföra självskattning av smärta (Bufalari *et al.* 2007; Wagner 2010). Inom veterinärmedicinen är bedömning av smärta mer komplext och kräver ofta utvärdering av fysiologiska och beteendemässiga förändringar. Bedömningen kompliceras ytterligare av det faktum att studier på häst visat att ett och samma smärtbedömningsverktyg inte är lika tillförlitligt vid olika typer av smärta (de Grauw & van Loon 2016). Olika bedömningssystem är olika sensitiva för att identifiera somatisk vs. visceral smärta, kronisk vs. akut smärta, och inflammatorisk vs. neuropatisk smärta, då olika smärttillstånd ger upphov till olika beteendeförändringar. Olika lokalisering av smärta ger också olika klinisk bild vilket kan kräva specifika verktyg för specifika åkommor, sammanfattat av Ashley *et al.* (2005) och de Grauw & van Loon (2016).

2.2.1 Fysiologiska metoder

Endokrina mätmetoder för bedömning av smärta inkluderar mätning av endogent kortisol, katekolaminer och beta-endorfiner (Raekallio *et al.* 1997; Pritchett *et al.* 2003; Rietmann *et al.* 2004). Serumkortisol har visats ha en korrelation till smärta. Pritchett *et al.* (2003) såg en signifikant förhöjning i serumkortisol hos kolikhästar som genomgått kirurgi. Raekallio *et al.* (1997) rapporterade liknade förhöjning hos hästar som genomgått artroskopi där kortisolnivåerna var lägre i den smärtlindrande gruppen jämfört med den icke smärtlindrande gruppen. Även Bussi res *et al.* (2008) noterade signifikant högre kortisolnivåer hos hästar med synovit jämfört med kontroll. Till skillnad från detta sågs ingen korrelation mellan förhöjt kortisol och viktfr skjutningsbeteende hos fånghästar i studien av Rietmann *et al.* (2004). Avsaknaden av korrelation skulle dock kunna förklaras av att hästarna passerat tidpunkten 16 timmar från insjuknande vid provtagning, vilket är tidpunkten där kortisol setts uppnå maximala nivåer i studier med experimentell inducering av fång (Clarke *et al.* 1982; Hood 1999). Raekallio *et al.* (1997) visade på en positiv korrelation mellan beta-endorfiner och smärta efter artroskopi. I studien noterades ingen korrelation mellan smärta och förhöjda nivåer av katekolaminer. Rietmann *et al.*

(2004) däremot rapporterade att katekolaminerna adrenalin och noradrenalin korrelerade med viktförskjutningsbeteende hos hästar med fång.

De endokrina markörerna kan påverkas av stress från olika typer av situationer, inte bara den härledd från smärta (Erber *et al.* 2012). Beta-endorfiner har exempelvis visats öka i koncentration vid stress, chock, träning och smärta (McCarthy *et al.* 1993). Kortisol och katekolaminer frisätts som ovan nämnt vid aktivering av HPA-axeln respektive sympatikoadrenomedullära systemet (Amat *et al.* 2016). Aktivering kan initieras av skada, intensiv fysisk aktivitet eller av psykisk påfrestning (Wagner 2010). De endokrina nivåerna påverkas alltså av flera möjliga stressorer vilket gör att de ensamma är ospecifika markörer på smärta som bör tolkas noggrant (McCarthy *et al.* 1993; Erber *et al.* 2012). Användbarheten för endokrina markörer i klinisk verksamhet begränsas av att sjukdom kan ge upphov till endotoxemi, kardiovaskulär påverkan och dehydrering som i sig kan påverka nivåer av kortisol och katekolaminer (Gleerup & Lindegaard 2016). Markörerna kan dock vara mer användbara i experimentella studier där det finns många fasta parametrar och där upprepade mätning är möjlig (Gleerup & Lindegaard 2016).

Fysiologiska variabler som hjärt- och andningsfrekvens är lättillgängliga och frekvent använda för indikation på smärta hos häst (Price *et al.* 2003). Hjärt- och andningsfrekvens är snabba och autonoma indikationer på smärta, men de har liksom endokrina mätningar begränsningar. Isolerat är ökad hjärt- och andningsfrekvens ospecifika indikationer på smärta eftersom de också kan påverkas av andra faktorer såsom värme, dehydrering och fysisk aktivitet (Molony & Kent 1997; de Grauw & van Loon 2016). I studien av Raekallio *et al.* (1997) rapporterades ingen direkt koppling mellan hjärtfrekvens och smärta efter artroskopi. Inte heller Dzikiti *et al.* (2003) kunde påvisa någon signifikant skillnad i hjärtfrekvens vid utvärdering av postoperativ smärta. Hjärtfrekvens kan dock vara en användbar indikator på smärta om den används tillsammans med andra parametrar så som bedömning av beteende (Rietmann *et al.* 2004; de Grauw & van Loon 2016).

2.2.2 Smärtbedömning baserat på beteende

Beteendeförändringar till följd av smärta har rapporterats kunna vara den känsligaste indikationen på smärtans närvaro, svårighetsgrad och lokalisation (de Grauw & van Loon 2016). Ashley *et al.* (2005) sammanfattar litteraturen för generella beteendeförändringar som indikerar smärta hos häst. Beteenden som tas upp är rastlöshet, oro, stel hållning, sänkt huvudhållning, dilaterade näsborrar, spänd käkmuskulatur, spänd blick och aggression mot hästar, objekt eller hanterare. Andra generella beteenden som kan indikera smärta är tandgnissling, svettningar, ovilja att bli hanterad och flyktbeteenden (Wagner 2010). Gleerup *et al.* (2015) genomförde en studie på ansiktsuttryck hos hästar med inducerad smärta. Studien

visade att hästar som upplever akut smärta har låg eller asymmetrisk öronposition, spänd blick, vidgade näsborrar och spänningar i läpp, haka och mimetisk muskulatur.

Det finns specifika smärtbeteenden korrelerade till särskilda åkommor såsom kolik (Sutton *et al.* 2013), fång (Obel 1948; Wagner 2010) och synovit (Bussi res *et al.* 2008). Det förekommer dock individuell variation i hur djur uppvisar tecken på smärta (Bufalari *et al.* 2007; Wagner 2010). Oroliga eller temperamentsfulla djur tenderar att uppvisa mer intensiv smärta jämfört med en lugnare individ som utsätts för samma procedur.  lder, hanteringsvana och tidigare upplevelser påverkar också uppvisat smärtbeteende (Ashley *et al.* 2005).

För att möjliggöra systematisk smärtbedömning av hästar har olika sm rtbed mningssystem baserade på beteende utvecklats (Gleerup & Lindegaard 2016). Sm rtbed mningssystem som undersökts  r bland annat *numerical rating scale* (NRS), *simple descriptive scale* (SDS), *composite pain scale* (CPS), sm rtskalor baserade på ansiktsuttryck, tid-/aktivitetsbudgetanalys och etogram (Obel 1948; Price *et al.* 2003; Pritchett *et al.* 2003; Bussi res *et al.* 2008; Sutton *et al.* 2013; Dalla Costa *et al.* 2014). Bed mningsskalorna har visats ha varierande validitet, reproducerbarhet och tillförlitlighet mellan observ t rer, sammanfattat av de Grauw & van Loon (2016) och Gleerup & Lindegaard (2016).

Etogram

Tillämpad etologi  r grundläggande inom ekvin vetenskap och syftar till att tolka och m ta hästars beteende (McGreevy 2007). Ett etogram  r en förteckning över artspecifika beteenden som används för att studera en specifik djurarts beteenden i en viss situation (Spagnuolo *et al.* 2021). Ett etogram innehåller en uppsättning av väldefinierade beteenden (Lehner 1998). Uppsättningen består antingen av en komplett beteenderepertoar eller av en förteckning över beteenden som används i en viss studie. Beteenden väljs ut med hjälp av information från befintlig litteratur eller genom information från beteendeobservationer (Spagnuolo *et al.* 2021).

Etologins mätinstrument inkluderar mätning av tillstånd och beteendeh ndelser (Drummond 1981). Exempel på beteendetillst nd  r kroppshållning eller position i förhållande till föremål i sin omgivning (Spagnuolo *et al.* 2021). Beteendeh ndelser  r en omedelbar handling, till exempel en kroppsrörelse eller vokalisering. Både tillstånd och händelser kan inkluderas i ett etogram. Beteendena i ett etogram bör vara noga beskrivna och väldefinierade för att undvika felklassning och överlappning. När beteenden valts ut och definierats antecknas varje gång djuret utför ett definierat beteende under en bestämd observationstid (Spagnuolo *et al.* 2021).

Eftersom smärta leder till förändringar i djurets beteende och aktivitetsmönster kan sådana förändringar analyseras för att upptäcka tecken på smärta (de Grauw & van Loon 2016). Etogrambaserad mätning av beteenden associerade med smärta har exempelvis beskrivits på lamm och kalv efter kastrering (Molony & Kent 1997). Etogram har även använts för bedömning av smärtbeteenden även hos häst. Price *et al.* (2003) genomförde en studie på postoperativ smärta hos hästar som genomgått artroskopi. I studien användes etogram för smärtbedömning vid direkt observation och aktivitetsbudgetanalys användes för kontinuerlig smärtbedömning från videoinspelning. Studien indikerade att båda metoderna fungerade väl. Det noterades dock att vissa beteenden, framför allt rastlöshet, lättare observerades vid kontinuerlig smärtbedömning utifrån aktivitetsbudgetanalys än vid intervallstudier genom direkt observation. Glerup *et al.* (2015) utformade ett etogram över hästens ansiktsuttryck. Etogrammet användes för bedömning av ansiktsuttryck hos hästar med inducerad smärta jämfört med kontroller. Utifrån etogrammet drogs slutsatsen att hästar uppvisar specifika ansiktsuttryck vid inducerad akut smärta. Studien av Glerup *et al.* (2015) är en av delarna i utvecklandet av *The Equine Pain Scale* där förändringar i ansiktsuttryck används som indikation på smärta (Glerup & Lindegaard 2016). Etogram har också utvecklats för bedömning av muskuloskeletal smärta hos häst i samband med ridning och visat lovande resultat (Dyson *et al.* 2018; Dyson & Pollard 2021, 2022).

2.3 Lokalanestetika

Lokalanestetikum verkar genom att reversibelt förhindra fortledning av aktionspotentialen i nervfibrer (Riviere & Papich 2018). Verkningsmekanismen involverar direkt bindning av läkemedel till spänningsstyrda natriumjonkanaler i nervcellens membran (Yanagitate & Strichartz 2007). Bindningen ger en reversibel blockering av natriumjonkanalerna och förhindrar natriumjoner att tränga in i nervcellen under membrandepolariseringen. Det resulterar i förhindrad fortledning och/eller initiering av aktionspotential och därmed förhindrad överföring av nervimpulser (Barletta & Reed 2019). Konsekvensen blir en reversibel dämpning av smärtkänsl och sensoriska stimuli i påverkade områden utan förändring i medvetandenivå (Riviere & Papich 2018). Olika egenskaper hos nervfibrer medför att de påverkas olika av lokalanestetika. Omyeliniserade neuron av liten grovlek är känsligast för lokalanestetika. Känsligheten minskar med ökande diameter. Omyeliniserade C-fibrer och små myeliniserade A-fibrer som förmedlar smärta och temperatur blockeras först. Större myeliniserade fibrer som förmedlar motorisk information, tryck och beröring blockeras senare. Efter administrering ses först effekt på minskad smärtkänsl och temperaturkänsl. Sedan effekt genom minskad motorisk funktion och proprioception (Riviere & Papich 2018).

Lokalanestetika är antingen ester- eller amidbaserade (Ing *et al.* 2019). Lokalbedövningsmedel av ester-form används främst inom oftalmologi. Exempel är tetrakain och proparakain. Lokalanestetika av amid-form används främst i injektionspreparat. Exempel är lidokain, prilokain, bupivakain och mepivakain (Ing *et al.* 2019).

2.3.1 Infiltrationsanestesi

Infiltrationsanestesi är en typ av lokalanestesi som ger upphov till anestesi av hud och mjukdelar i området för injektion (Saul *et al.* 2020). Injektion kan ske intradermalt, subkutant eller intramuskulärt. Vid infiltrationsanestesi injiceras läkemedel in i vävnaden utan hänsyn till den exakta anatomiska placeringen av nerver i området (Riviere & Papich 2018). En relativt stor mängd läkemedel behöver administreras för att uppnå önskad effekt. Indikationer för användning av infiltrationsanestesi är mindre kirurgi i hud eller som postoperativ analgesi (Saul *et al.* 2020). Vid injektion av lokalanestetika kan själva injektionen orsaka smärta genom kanylstick, tryck från läkemedlet i vävnaden och lågt pH i lösningen (Ing *et al.* 2019).

2.3.2 Eutectic Mixture of Local Anaesthetics - EMLA

Eutectic Mixture of Local Anaesthetics, EMLA-kräm, är ett lokalanestetikum för topikal administrering registrerat för ytanestesi av hud och slemhinna hos människa (FASS 2023). EMLA innehåller två aktiva substanser, lidokain (25 mg/g) och prilokain (25 mg/g). Hjälpmännen är karbomer, makrogol-glycerol-hydroxi-stearat, natrium-hydroxid och renat vatten (FASS 2023).

Lidokain och prilokain är lokalanestetika av amidtyp (Riviere & Papich 2018). Lokalanestetika av typen amid kan förekomma i två olika former: som vattenlösligt salt i joniserad form eller som oljelösning i icke-joniserad form (Dutta 1999). Det är enbart den icke-joniserade formen som kan penetrera hud. EMLA är en oljevattenemulsion där icke-joniserad form av lidokain och prilokain blandats med ett emulgeringsmedel. Den specifika mixturen skapar en lägre smältpunkt än vad de aktiva substanserna har separat. Mixturen ger upphov till en hög koncentration av lokalanestetika i emulsionens mikrodroppar medan krämens totala koncentration förblir låg. Den låga smältpunkten och höga koncentrationen i emulsionens mikrodroppar syftar till att skapa så optimala förutsättningar för läkemedlet att penetrera hud som möjligt (Dutta 1999).

Ytanestesi av huden uppnås genom frisättning av lidokain och prilokain från krämen in i hudens två yttersta lager, dermis och epidermis (FASS 2023). De kliniska effekterna förklaras av en reversibel hämning av jonflödet genom spänningsberoende natriumkanaler i perifera nerver (Dutta 1999). Det hämmade

jonflödet förhindrar initiering och överföring av nervimpulser, varav lokalanestesi uppstår. För mindre åtgärder i huden, såsom nålstick, anger tillverkaren en appliceringstid på 60 minuter hos barn och vuxna (FASS 2023). Appliceringstid, blodflöde, hudens tjocklek och eventuell hudpatologi påverkar effekt och varaktighet av ytanestesin (Dutta 1999).

EMLA används frekvent inom humanmedicinen och där främst på barn som analgesi vid mindre invasiva ingrepp, såsom venpunktion (Halimaa 2003). Rogers och Ostrow (2004) genomförde en litteraturstudie med syfte att undersöka evidens för att EMLA-krämm minskar smärta som barn upplever i samband med venpunktion. Man tittade på flera studier genomförda på barn där EMLA jämförts med placebo. Av dessa indikerade sex av sju studier att EMLA var effektivt för att minska smärta i samband med venpunktion. I en av sju studier rapporterades ingen signifikant skillnad mellan EMLA och placebo. I denna studie var dock antalet inkluderade fall relativt lågt och alla barn fick även distraktionsterapi i samband med ingreppet. Sammantaget menar Rogers och Ostrow (2004) att resultaten visar att EMLA är ett effektivt lokalanestetikum för att minska smärta vid venpunktion hos barn.

Flera studier har undersökt om EMLA minskar smärta associerad med mindre invasiva ingrepp även hos djur. Flecknell *et al.* (1990) undersökte om EMLA applicerad i 60 minuter minskade smärtan vid blodprovstagning på försöksdjur av djurslagen hund, katt, kanin och råtta. Blodprov togs i *vena cephalica* på hund och katt, i laterala öronvenen på kanin och i svansvenen på råtta. Smärta bedömdes genom ett poängsystem baserat på grad av reaktion. Resultaten visade att hund, katt och kanin behandlade med EMLA uppvisade signifikant färre smärtuttryck än djur behandlade med placebo. För råtta sågs ingen signifikant skillnad mellan individer behandlade med EMLA jämfört med individer behandlade med placebo. EMLA har visats vara en effektiv bedövning vid örontatuering av kanin (Keating *et al.* (2012). EMLA applicerades på in- och utsida av öronlappen i 20 minuter innan örontatuering utfördes. Resultaten visade på signifikant färre smärtuttryck i gruppen behandlad med EMLA. Smärta bedömdes på djurets grad av motstånd, hjärtfrekvens, blodtryck, serumkortisolkoncentration, ansiktsuttryck och beteende i buren efter ingreppet.

Van Oostrom och Knowles (2018) undersökte om EMLA med appliceringstid på 30 respektive 60 minuter jämfört med placebo minskade smärtan hos klientägda hundar vid kanylering. I studien inkluderades 202 friska hundar. Samtliga fick en intravenös kateter placerad i *vena cephalica*. I studien kunde en trend i minskat smärtuttryck noteras hos hundar där EMLA applicerades 60 minuter innan ingreppet, men ingen statistiskt signifikant skillnad uppmättes mellan grupperna. Applicering 30 minuter före ingreppet minskade inte smärtuttryck hos hundarna.

Wagner *et al.* (2006) undersökte hur kateterisering av *vena jugularis* tolererades hos sjuka katter efter applicering av EMLA i 60 minuter jämfört med placebo. Katternas smärta bedöms utifrån aggression, vokalisering och motstånd. I studien kunde en ökad tendens till lyckad kateterisering ses hos behandlade katter jämfört med obehandlade, 60 % respektive 38 %. Resultaten uppnådde dock ej statistisk signifikans.

På häst har topikal applicering av lidokain-prilokain mix (EMLA) och lidokain-tetrakain mix (PLIAGLIS) visats vara effektiv för desensitisering av huden (Pagliara *et al.* 2021). I studien mättes mekanisk nociceptiv tröskel (MNT) med hjälp av tryckalgometer innan respektive efter applicering av EMLA och PLIAGLIS. Lokalanestetika applicerades över områden för nervblockad av *n. palmaris* och *n. digitalis*. Resultaten visade på signifikant högre MNT efter applicering av EMLA och PLIAGLIS jämfört med placebo. Ingen signifikant skillnad kunde ses mellan EMLA och PLIAGLIS. Söbbeler och Kästner (2018) genomförde en studie på 5 vuxna hästar där områden i kraniala och kaudala sadelläget rakades och behandlades med lidokain-plåster, lidokain-prilokain kräm respektive lidokain-tetrakain kräm. Känsl bedömdes med von Frey-filament och termisk nociceptiv tröskeltest. Studien visade på minskad mekanisk känsl och minskad termisk nociception efter applicering av mixturer med lidokain-prilokain eller lidokain-tetrakain. Erkert *et al.* (2005) jämförde effekt av EMLA-kräm med effekt av infiltrationsanestesi med lidokain vid episoplastik hos ston. Studien visade att EMLA gav likvärdig analgetisk effekt som infiltrationsanestesi vid ingreppet.

2.4 von Frey-filament

von Frey-filament är en icke-invasiv metod som används för att bedöma hudsensibilitet hos människa och djur (Rédua *et al.* 2002). Filamenten består av ett plasthandtag kopplad till en nylontråd (Gueguen *et al.* 2022). Nylontrådens tjocklek, och därmed styvhet, varierar mellan olika filament. När ett filament, med en bestämd tjocklek och längd, trycks mot huden kommer trycket på huden att öka tills filamentet böjs. När filamentet är böjt kommer ökat tryck från utövaren enbart resultera i att filamentet böjs mer. Inget ytterligare tryck kommer appliceras på huden. Metoden ger upphov till en reproducerbar, mätbar och känd kraft som kan appliceras på en hudyta. Detta möjliggör objektiv mätning av hudsensibilitet. Uppsättningen består av 20 filament med ökande tjocklek vilket ger krafter mellan 0,008-300 g vid applicering av tryck på huden (Machin *et al.* 2019).

von Frey-filament används frekvent inom humanmedicinen inom flera områden (Gueguen *et al.* 2022). För bedömning och kvantifiering av hyperalgesi och

allodyni (Machin *et al.* 2019), i preklinisk neurovetenskap (Le Bars *et al.* 2001) och för att utvärdera smärta (Mogil 2009). Filamenten har använts på flera djurslag i olika typer av studier. På råtta för att bedöma smärtkänslighet (Jiménez-García *et al.* 2016). På katt inom kvantitativa sensoriska tester (Machin *et al.* 2019) och på får för att bedöma hypersensitivitet efter inducerad nervskada (Reddy *et al.* 2018). Filamenten har använts framgångsrikt på häst för bedömning av hudsensibilitet efter applicering av topikal lokalanestetikum (Söbbeler & Kästner 2018) och efter epiduralanestesi (Rédua *et al.* 2002).

3. Material och metod

Försöket är godkänt av Uppsala djurförsöksetiska nämnd och genomfördes enligt etiskt tillstånd 5.8.18-01485/2023.

3.1 Hästar i studien

Åtta hästar ägda av Sveriges lantbruksuniversitet deltog i studien. Hästarna var av raserna svensk varmblodig travare och svenskt varmblod. Hästarnas ålder varierade mellan 12 och 22 år. Sex ston och två valacker deltog i studien. Ålder, ras och kön för respektive häst i studien finns redovisade i tabell 1. För att delta i försöket krävdes en allmäklinisk undersökning utan anmärkning på vardera försöksdag.

Tabell 1: Kön, ras och ålder deltagande hästar.

	Födelseår	Ras	Kön
Häst A	2011	Varmblodig travare	Sto
Häst B	2005	Varmblodig travare	Valack
Häst C	2001	Varmblodig travare	Sto
Häst D	2008	Varmblodig travare	Valack
Häst E	2004	Varmblodig travare	Sto
Häst F	2009	Varmblodig travare	Sto
Häst G	2007	Varmblodig travare	Sto
Häst H	2010	Svenskt varmblod	Sto

3.2 Försöksprotokoll

Studien genomfördes i två omgångar där en omgång bestod av fyra behandlingsomgångar i en *Latin Square* design. Tre av behandlingsomgångarna inkluderade placering av venkateter i jugularvenen med olika behandling inför varje omgång (tabell 2). En av behandlingsomgångarna var en så kallad *sham*-behandling, alltså att samtliga moment simulerades utan att hästen vidrördes. Det gick minst två dagar mellan omgångarna. Fyra hästar deltog i varje omgång där samtliga hästar genomgick samtliga behandlingar men i olika ordning. Behandlingsordningen randomiserades genom latin square design.

Tabell 2: Beskrivning av behandlingar.

Behandling I	<i>Sham</i>
Behandling II	4 gram EMLA-kräm topikalt + 1 ml lidokain injicerat subkutant
Behandling III	4 gram EMLA-kräm + 1 ml natriumklorid injicerat subkutant
Behandling IV	4 gram placebo-kräm + 1 ml natriumklorid injicerat subkutant

Inför varje behandlingsomgång preparerades en förpackning kräm och en förfylld spruta med injektionsvätska per häst. Innehåll i kräm och spruta baserades på den randomiserade behandlingsordningen. Studien genomfördes blindat så att ingen som var inblandad i de praktiska försöken var medveten om huruvida kräm och spruta innehöll aktiv substans eller placebo. Placebobehandling för topikal administration bestod av Miniderm-salva (ACO Hud Nordic AB, Stockholm, Sverige). Som placebo för subkutan injektion användes koksaltlösning.

Försöket genomfördes i hästarnas hemmiljö. Förberedelserna utfördes i enskilda hästars boxar. Placering av venkateter utfördes i stallgången utanför hästens box med minst en boxgranne som sällskap. Förberedelserna inkluderade rakning över *vena jugularis* bilateralt. Detta utfördes en till två dagar innan försöksstart. På försöksdagen inkluderade förberedelserna allmänklinisk undersökning och uppmärkning av en 5x5 cm stor ruta centralt över *vena jugularis* med märkningspenna och tejp. Vilken sida av halsen som venkateter placerades på och därmed vilken sida som märktes upp varierades mellan behandlingsomgångarna. Varannan sida användes varannan gång.

Försöket genomfördes under förutbestämt tidsschema (tabell 3). Innan försöksstart fotograferades huden och den första hudsensibilitetsmätningen med von Frey-filament utfördes (von Frey I). Vid försöksstart applicerades 4 gram EMLA eller placebo-kräm topikalt över markerat område enligt randomiserad behandlingsordning. Tjugofem minuter efter applicering togs hästen ut på stallgången där videoinspelning startades. Samtliga omgångar och sessioner filmades ur tre vinklar för att möjliggöra bedömning av beteenden i efterhand. 30 minuter efter applicering av kräm torkades överflödigt kräm av från huden. Lidokain eller natriumklorid administrerades subkutant centralt i utmarkerat område över *vena jugularis*. Efter injektion anlades tryck över området för att pressa ut injektionsvätskan. 45 minuter efter applicering av EMLA/placebo-kräm och 15 minuter efter injektion av lidokain eller natriumklorid utfördes hudsensibilitetsmätning två (von Frey II). Jugularområdet steriltvättades med tvål och klorhexidinsprit. Kanylläggaren tog på sterila handskar och venkateter (Intranule 14G/105 mm - Ø2.0 mm, Écouen, Frankrike) placerades i *vena jugularis* enligt gängse metod. Efter placering av venkateter suturerades katetern fast med tre stygn i huden med hjälp av kanyl (Servomed, 0.8x200 mm) och suturtråd (Supramid 0). Vid misslyckat försök att placera

venkateter genomfördes inga ytterligare försök. Stygnen i huden suturerades även vid misslyckad placering av venkateter.

Tabell 3: Tidsschema.

Tid	Händelse
Innan EMLA	Fotografering hud von Frey I
Försöksstart: 0 min	Applicering EMLA- kräm/placebo-kräm
25 min	Hästen tas ut på stallgången Start av videoinspelning
30 min	Överflöd av kräm avlägsnas Injektion lidokain/natriumklorid subkutant
45 min	von Frey II Fotografering hud
50 min	Steriltvätt jugularområde
55 min	Venkateter penetrerar hud
57 min	Stygn penetrerar hud
1 h 10 min (15 min e. kanyl)	Fotografering hud von Frey III Blodprovstagnning I
1h 15 min (20 min e. kanyl)	Hästen släpps in i box
1h 25 min (30 min e. kanyl)	Fotografering hud von Frey IV Blodprovstagnning II
1h 55 min (60 min e. kanyl)	Fotografering hud von Frey V Blodprovstagnning III Kanyl tas
24 h 55 min (24h e. kanyl)	Fotografering hud von Frey VI Blodprovstagnning IV

Mätning av hudsensibilitet utfördes med von Frey-filament. Filament med krafterna 4g (4.56 - softest), 26g (5.46 - medium) och 300g (6.65 - stiffest) applicerades tre gånger vardera vid samtliga mätningar av hudsensibilitet. Totalt nio applikationer

per hudsensibilitetsmätning. Mätning av hudsensibilitet utfördes vid sex tidpunkter per behandlingsomgång (tabell 3). Hästarnas reaktioner på von Frey-filamenten graderades mellan 0–3 enligt förutbestämda kriterier (tabell 4). Ett medelvärde per styvhet och tidpunkt beräknades utifrån de tre appliceringarna där medelvärden av appliceringarna användes i resultatanalysen.

Tabell 4: Kriterier för bedömning av reaktion av von Frey-filament.

	0	1	2	3
Beskrivning kriterier	Ingen reaktion	Viss reaktion. Ögonrörelser, sneglar etc.	Tydlig reaktion. Rycker i huden, försöker flytta sig, vänder huvud etc.	Mycket tydlig reaktion. Försöker fly/ta sig därifrån, irritation etc.

Vid *sham*-behandlingen var hästen obehandlad men momenten i tidsschemat simulerades. Huden steriltvättades och närmanden med von Frey-filament, tom spruta och venkateter gjordes men huden vidrördes aldrig med föremålen. Stas anlades och huden rördes vid simulering av stygnsättning, men huden penetrerades aldrig. Inga blodprov togs på hästarna i samband med *sham*-behandlingen.

Efter placering av venkateter och suturering av kanyl bedömde kanylläggaren hästens reaktioner utifrån egendesignad skala. Upplevd stress, smärta, rädsla, irritation och hur kanylläggningen gick graderades mellan 0–4 (tabell 5). Utrymme för eventuella kommentarer fanns. Ingen reaktion bedömdes som 0, lindrig reaktion som 1 och mycket stor reaktion som 4. Därefter följde fotografering av hud, mätning av hudsensibilitet och blodprovstagning 15 min, 30 min, 60 min och 24 h efter placering av venkateter (tabell 2). Mätning av hudsensibilitet utfördes innan blodprovstagning. På försöksdagen togs blodprov ur venkateter med spruta och fördes över till EDTA-rör som omedelbart placerades i kyla. Katetern spolades med 20 ml natriumklorid. Efter blodprovstagning vid 60 minuter avlägsnades kanylen. På efterföljande dag togs blodprov på samma sida som venkateter varit placerad föregående dag. Blodprov togs då med kanyl (Servomed, 0.8x40 mm) och 20 ml spruta (Omnifix). Blodproverna togs för monitorering av lidokain- och prilokain-koncentrationer i blodet. Huden fotograferades för bedömning av eventuella hudreaktioner. Dessa mätningar kommer att analyseras i ett annat forskningsprojekt.

Tabell 5: Beteenden som bedömdes vid placering av venkateter och kriterier för gradering.

	0	1	2	3	4
Upplevd grad av stress	Ej stressad	Lite stressad	Märkbart stressad	Påtagligt stressad	Mycket stressad
Upplevd grad av smärta	Ingen smärta	Liten smärta	Märkbar smärta	Påtaglig smärta	Mycket stor smärta
Upplevd grad av irritation	Ingen irritation	Lite irritation	Märkbar irritation	Påtaglig irritation	Mycket stor irritation
Upplevd grad av rädsla	Ingen rädsla	Lite rädd	Märkbart rädd	Påtagligt rädd	Mycket stor rädsla
Kanylsättningen	Gick snabbt och enkelt	Gick någorlunda snabbt och enkelt	Tog tid och krånglade något	Tog lång tid och krånglade mycket men gick att få i till slut	Gick ej att sätta
Eventuell kommentar					

3.3 Utformning av etogram och registrering av beteenden

Samtliga omgångar och sessioner filmades ur tre vinklar för att möjliggöra bedömning av beteenden i efterhand. I detta arbete avgränsas beteendebedömning till momentet med placering av venkateter och 5 minuter efter sista hudstygnet är satt. Enbart inspelningar som filmats rakt framifrån där hela hästens kropp är inkluderad används i detta arbete.

Efter första försöksomgången studerades alla filmer en gång och beteenden som hästarna uppvisade antecknades. Utifrån uppvisade beteenden skapades ett grund-etogram. Samma procedur genomfördes efter andra försöksomgången och grund-etogrammet kompletterades med eventuella nya beteenden som uppvisats. Efter utformning av ett grundetogram provregistrerades fyra filmer för att upptäcka eventuella brister i etogrammet. Utifrån provregistreringen reviderades etogrammet. Överlappande kategorier togs bort och andra kategorier förtydligades. Den använda filmvinkeln gav inte tillräckligt precis bild över hästarnas ansikten för att möjliggöra bedömning av ansiktsuttryck varav detta inte togs med i etogrammet.

Inte heller öronpositionering kunde bedömas tillräckligt precist i den använda filmvinkeln, varav det också exkluderades. Positionering av huvud beslutades ska registreras var 15:e sekund för att tydligare se trender i huvudposition. Övriga beteenden beslutades att registreras kontinuerligt för att inte missa kortare beteenden. Detta gav upphov till två slutgiltiga etogram: etogram över beteenden som registreras kontinuerligt (tabell 6) och etogram över beteenden som registreras var 15:e sekund (tabell 7). Beskrivningar av beteenden i etogrammen har sin utgångspunkt i etogram skapade av McDonnell (2003), Gleerup *et al.* (2015), Pierard *et al.* (2019) och Torcivia & McDonnell (2021).

Tabell 6: Etogram över beteenden som registreras kontinuerligt

Beteendekategori	Beskrivning av beteende
1. Rörelse	Innefattar all typ av rörelse med förflyttning av ett eller flera ben. Hästen kan bli stående på samma plats som tidigare efter utförd rörelse. a. Framåtrörelse Hästen rör sig framåt. b. Backar Hästen rör sig bakåt. Kan vara en fyrtaktsrörelse där varje ben rör sig separat eller en tvåtaktsrörelse där diagonala benpar rör sig samtidigt. c. Sidledsrörelse Hästen rör sig i sidled. d. Viktändring Skiftning av primärt vikt bärande ben. e. Lyfter ett ben Flexion i flera leder i ett fram- eller bakben. Benet lyfts upp från marken. f. Skrapar Sträcker frambenet kranialt och drar hoven längs eller ovanför golvet samtidigt som benet sveps kaudalt.
2. Stegring	Hästen lyfter båda frambenen från marken samtidigt utan framåtrörelse. Kan vara kombinerad med förflyttning av bakbenen samtidigt som frambenen är i luften.
3. Skakning	Hästen roterar flera grader åt höger och vänster runt sin längdaxel. Rörelsen kan inkludera enbart huvud och hals eller förlängas kaudalt och inkludera upp till hela kroppslängden.
4. Höjer huvud	Dorsoventral extension av halskotpelaren. Huvudet är lokaliserat över mankens nivå. Kan utföras i stående eller i rörelse.
5. Sänker huvud	Dorsoventral flexion av halskotpelare. Huvudet är lokaliserat under mankens nivå. Kan utföras i stående eller i rörelse.

6. Nickar	Uppåt- och nedåtrörelse av huvud och hals i vertikal riktning. Nosen hålls under pannans nivå under hela rörelsen. Uppåt- och nedåtrörelsen ska utföras inom 1 sekund för att klassificeras som en nickning.
7. Slår med huvud	Uppåt- och nedåtrörelse av huvud och hals i vertikal riktning med snärtning av nosen i dorsal riktning genom extension av huvud och hals. Kan utföras med eller utan rotation i längdaxel i halskotpelaren.
8. Tittar mot kanylläggare	Lateralflexion av halskotpelaren mot sidan som kanylläggaren är lokaliserad på. Kan ske med eller utan lateralflexion/extension av ryggkotpelaren.
9. Tittar från kanylläggare	Lateralflexion av halskotpelaren bort från sidan som kanylläggaren är lokaliserad på. Kan ske med eller utan lateralflexion/extension av ryggkotpelaren.
10. Liten ospecificerad huvudrörelse	Små rörelser av huvud och/eller hals i valfri riktning där rörelsen är för liten eller otydlig för att klassificeras som någon av ovan beskrivna huvudrörelser.
11. Öron bakåt	Båda öronen riktas kaudalt och/eller läggs dikt an mot nacken.
12. Vokalisering	a. Frustar Hästen avger en hörbar plötslig utandning genom näsborrarna. b. Gnäggjar En hög långvarig vokalisering som varar 1 till 3 sekunder. Kan vara monotont eller börja i en hög ton och övergå till en lägre ton eller vice versa. c. Skrik En kort vokalisering i hög ton med variabel ljudstyrka som varar i mindre än 1 sekund. d. Suckar En hörbar långvarig utandning efter snabb djup inandning som varar i 1 till 3 sekunder.
13. Flemar	Hästen lyfter huvudet, sträcker halsen och drar överläppen upp över framtänderna samtidigt som luft dras in mellan tänderna
14. Gäspar	Djup och lång inandning med munnen vidöppen. Käkarna kan vara direkt motstående varandra eller röra sig från sida till sida.
15. Tuggar och/eller slickar	Hästen rör käkarna, tuggar, sväljer och/eller sträcker ut tungan. Ej i samband med att hästen äter.
16. Bett	Hästen rör sitt huvud mot kanylläggaren med öppen mun och stänger munnen på vägen mot individen eller medan hästen vidrör individen med munnen. Hästen kan också bita ett objekt.

Tabell 7: Etogram över beteenden som registreras var 15:e sekund.

Beteendekategori	Beskrivning av beteende
1. Står med högt placerat huvud	Hästen står på alla fyra benen med huvudet placerat över mankens nivå.
2. Står med neutralt placerat huvud	Hästen står på alla fyra benen med huvudet placerat i höjd med mankens nivå.
3. Står med lågt placerat huvud	Hästen står på alla fyra benen med huvudet placerat under mankens nivå.

Efter utformning av slutgiltigt etogram studerades samtliga filmer två gånger. En gång för kontinuerlig beteenderegistrering (tabell 6) och en gång för registrering av beteenden var 15:e sekund (tabell 7). Hästarna kunde uppvisa mer än ett beteende åt gången. Frekvensen utförda beteenden antecknades separat för tiden under kanyllläggning respektive tiden fem minuter efter sista hudstygnen. Filmerna varierade i längd beroende på hur fort kanyllläggningsmomentet genomförts. Den kortaste filmsekvensen var 5 min och 50 sekunder och den längsta filmsekvensen var 10 minuter och 7 sekunder. I medelvärde var filmsekvenserna 6 minuter och 37 sekunder långa. Då tiden för kanyllläggning varierade beräknades beteendefrekvensen om till antal beteenden/ minut.

3.4 Bearbetning av data

Bearbetning av data utfördes i Microsoft Excel och redovisas i figurer, tabeller och i löpande text. För statistisk analys användes programmet Jamovi version 2.3.28. För jämförelse mellan behandlingsgrupper användes Kruskal-Wallis-test. Vid signifikant Kruskal-Wallis-test utfördes Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test för parvis jämförelse mellan behandlingsgrupper. P-värde $<0,05$ har använts som nivå för statistisk signifikans. Subjektiv bedömning av beteende, huvudposition och von Frey-mätningar analyserades statistiskt. Beteendebedömning utifrån etogram analyserades deskriptivt.

4. Resultat

Av de åtta hästarna som deltog i försöket togs två hästar, häst A och häst C, ur försöket efter tredje behandlingsomgången. De två hästarna deltog därmed inte i sin fjärde behandlingsomgång varav deras resultat är icke fullständiga. Häst A togs ur försöket på grund av kraftigt beteende som bedömdes som uppnådd avbrytningspunkt i det etiska tillståndet. Kraftigt beteende uppvisades till viss del under kanyl-läggning men främst efteråt då blodprov skulle tas ur venkateter, varav försöket avbröts. Häst C togs ur försöket på grund av hematombildning efter avlägsnande av kanyl och togs ur försök inför nästa behandlingsomgång. Båda hästarnas genomförda behandlingsomgångar finns redovisade men en omgång saknas på vardera häst.

Randomiserad behandlingsordning för varje häst redovisas i tabell 8.

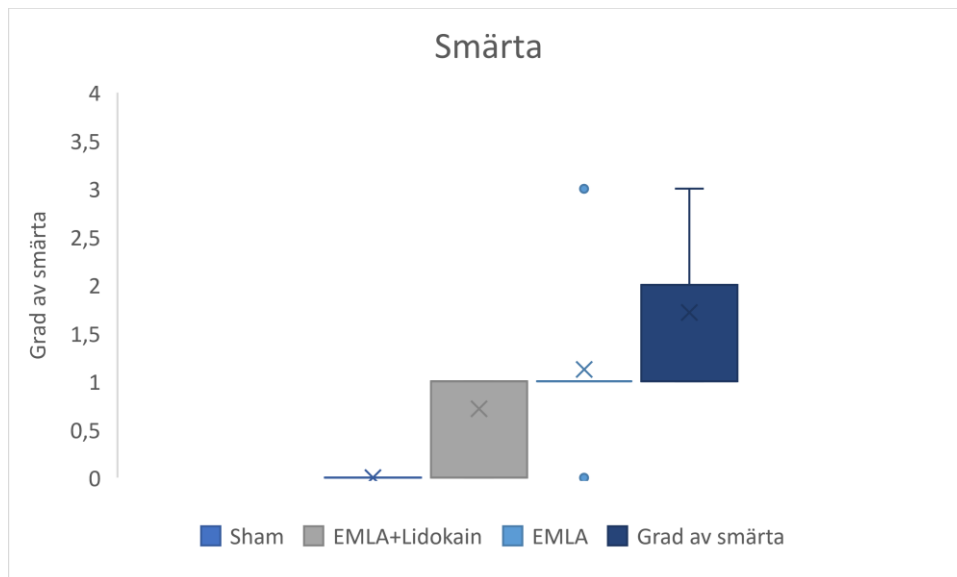
Tabell 8: Randomiserad behandlingsordning för deltagande hästar.

	1:a behandling	2:a behandling	3:e behandling	4:e behandling
Häst A	<i>Sham</i>	Placebo	EMLA	Utesluten
Häst B	Placebo	EMLA	EMLA+Lido	<i>Sham</i>
Häst C	EMLA	EMLA+Lido	<i>Sham</i>	Utesluten
Häst D	EMLA+Lido	<i>Sham</i>	Placebo	EMLA
Häst E	<i>Sham</i>	Placebo	EMLA	EMLA+Lido
Häst F	Placebo	EMLA	EMLA+Lido	<i>Sham</i>
Häst G	EMLA	EMLA+Lido	<i>Sham</i>	Placebo
Häst H	EMLA+Lido	<i>Sham</i>	Placebo	EMLA

4.1 Subjektiv bedömning av beteende

I figur 1 till figur 5 redovisas resultat för subjektiv bedömning av beteende. Resultat redovisas separat för grad av smärta (figur 1), grad av stress (figur 2), grad av irritation (figur 3), grad av rädsla (figur 4) och grad av svårighet vid kanyl-läggning (figur 5). Individuella kurvor för subjektiv bedömning av beteende finns redovisade i bilaga 1.

Det finns signifikant skillnad i grad av smärta mellan behandlingsgrupperna (figur 1). Signifikans ses mellan sham och EMLA+lidokain, sham och EMLA samt mellan sham och placebo där grad av smärta bedömts lägre vid sham-behandling jämfört med övriga behandlingsomgångar. Grad av smärta bedömdes lägre i EMLA+lidokain jämfört med placebo men skillnaden var inte signifikant ($p = 0,073$). Parvisa analyser mellan behandlingsomgångar finns redovisade i tabell 9.

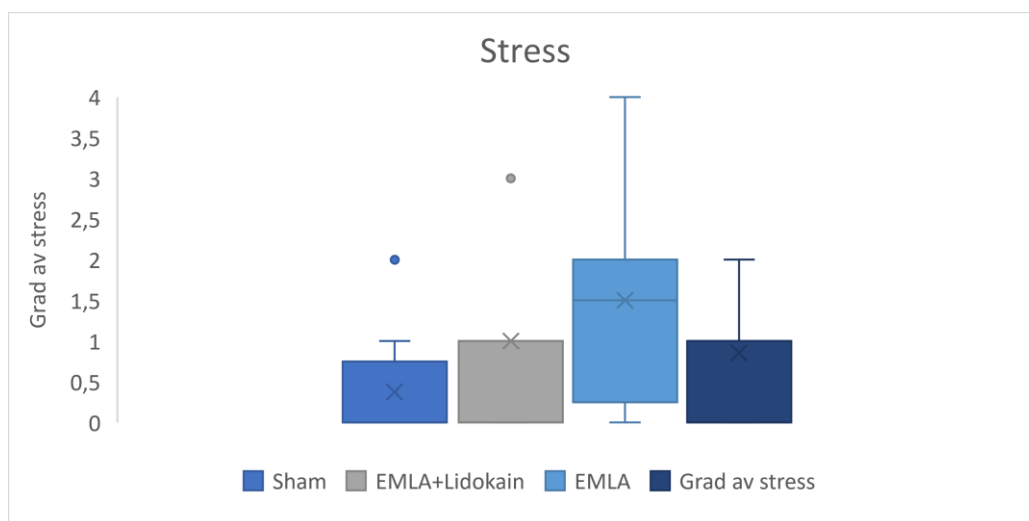


Figur 1: Boxplot av resultat för grad av smärta under kanylläggning utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Gradering mellan noll till fyra där grad 0 motsvarar ingen smärta och grad 4 motsvarar mycket stor smärta. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Tabell 9: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser mellan behandlingsomgångar för grad av smärta utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende. P-värden $<0,05$ är markerade.

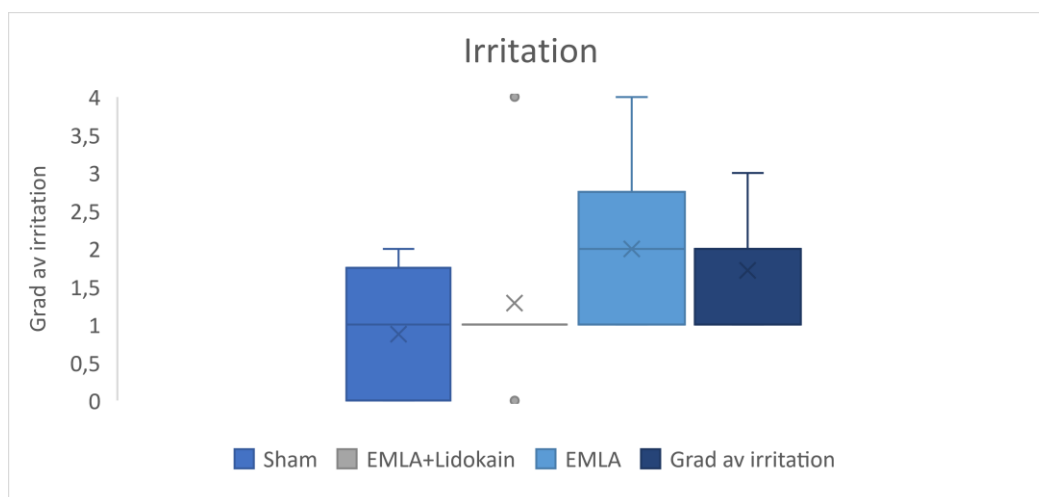
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	4.00	0,024
Sham	EMLA	4.73	0,005
Sham	Placebo	5.01	0,002
EMLA+lidokain	EMLA	1.48	0,723
EMLA+lidokain	Placebo	3.43	0,073
EMLA	Placebo	2.32	0,356

Ingen signifikant skillnad i grad av stress föreligger mellan de olika behandlingsgrupperna (figur 2).



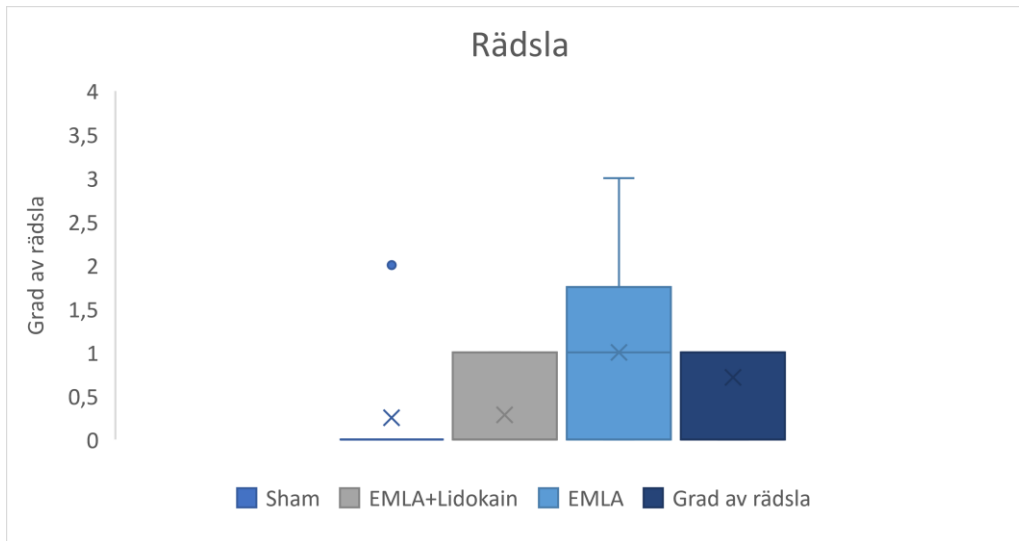
Figur 2: Boxplot av resultat för grad av stress under kanylläggning utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ej stressad och grad 4 motsvarar mycket stressad. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Ingen signifikant skillnad i grad av irritation föreligger mellan de olika behandlingsgrupperna (figur 3).



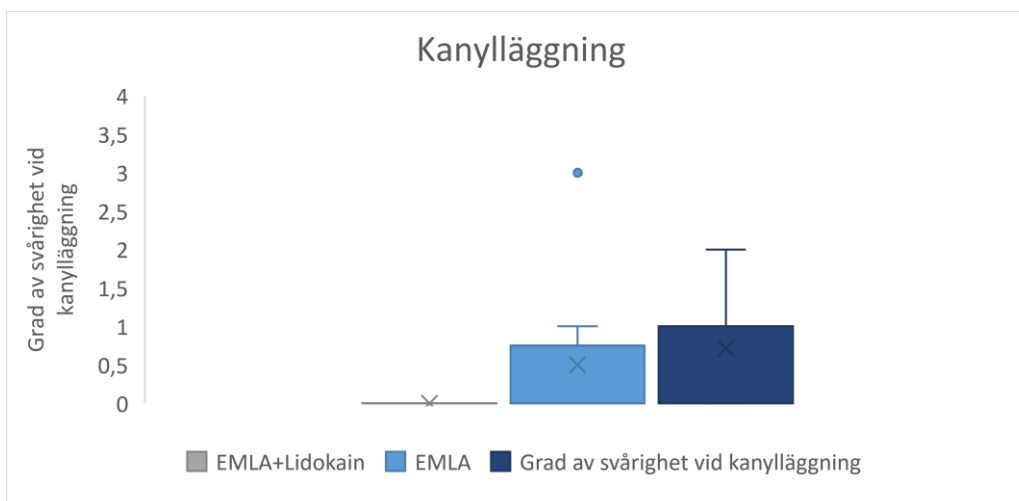
Figur 3: Boxplot av resultat för grad av irritation under kanylläggning utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ingen irritation och grad 4 motsvarar mycket stor irritation. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Ingen signifikant skillnad i grad av rädsla föreligger mellan de olika behandlingsgrupperna (figur 4).



Figur 4: Boxplot av resultat för grad av rädsla under kanylläggning utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ingen rädsla och grad 4 motsvarar mycket stor rädsla. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Ingen signifikant skillnad i grad av svårighet vid kanylläggning föreligger mellan de olika behandlingsgrupperna (figur 5).



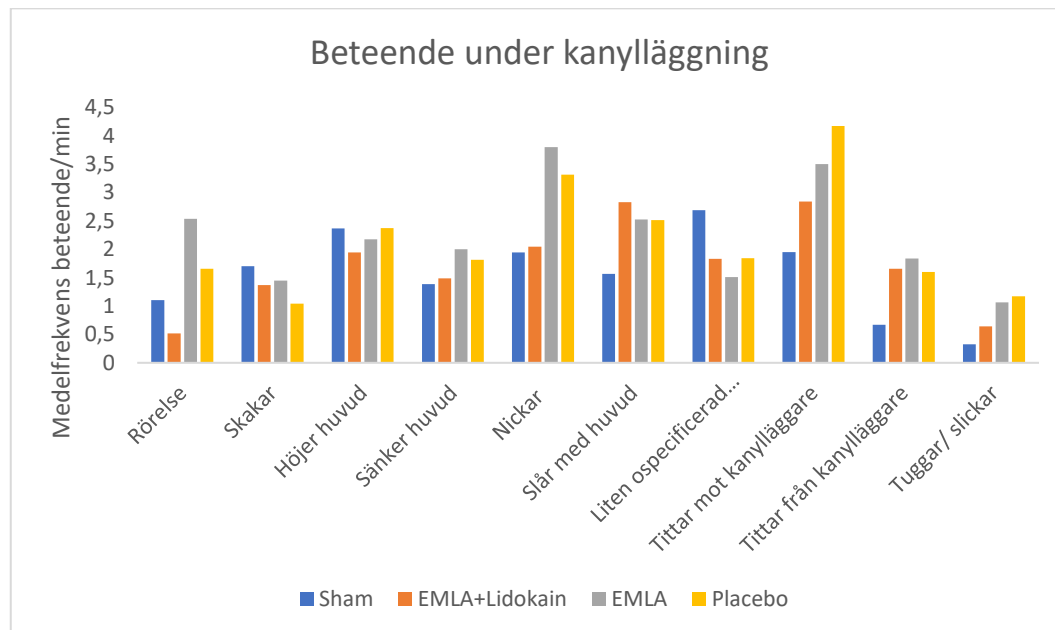
Figur 5: Boxplot av resultat för grad av svårighet vid kanylläggning utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar att kanylläggningen gick snabbt och enkelt och grad 4 att kanyl ej gick att sätta. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

4.2 Etogram

4.2.1 Kontinuerlig beteenderegistrering under kanylläggning

Medelfrekvens av antal beteenden/minut under kanylläggning redovisas i figur 6. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer exkluderades i denna resultatredovisning och redovisas separat. Även undergrupper i kategorierna rörelse och vokalisering redovisas separat.

Beteendena tittar mot kanylläggare, tittar från kanylläggare, liten ospecificerad rörelse, höjer/sänker huvud, slår med huvudet och nickning var de mest frekvent förekommande beteendena under kanylläggning (figur 6). Störst skillnad i medelfrekvens mellan behandlingsgrupper observeras för beteendet rörelse som förekommer i fem gånger så hög frekvens i EMLA jämfört med EMLA+lidokain och tre gånger så hög frekvens i placebo jämfört med EMLA+lidokain.

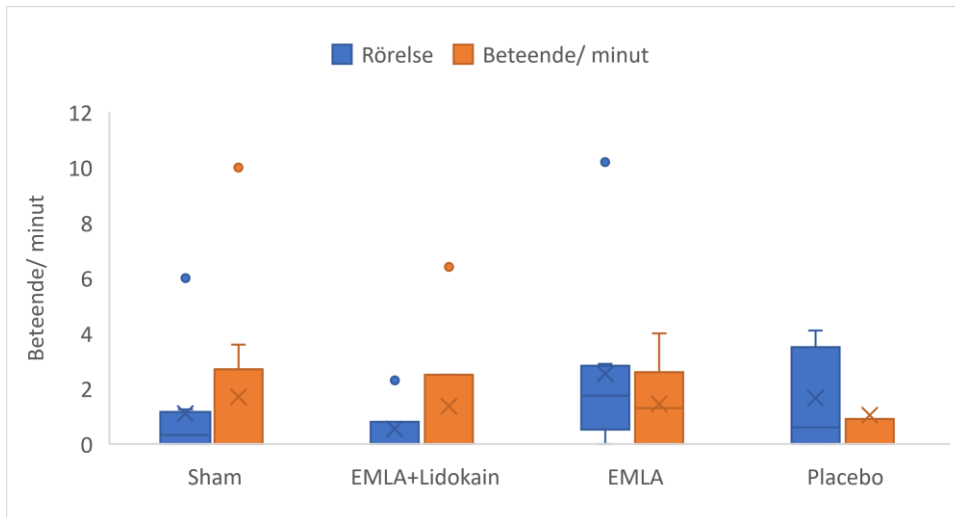


Figur 6: Medelfrekvens av antal beteende/minut under kanylläggning utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Jämförelser mellan behandlingsomgångar. Beteenden som utförts av två eller färre individer samt underkategorier redovisas inte i figuren. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat.

I figur 7 till figur 11 redovisas beteenden under kanylläggning separat med spridningsmått. I bilaga 2 redovisas individuella kurvor över beteenden under kanylläggning. Beteendekategorier utgår från etogram för kontinuerlig registrering av beteende.

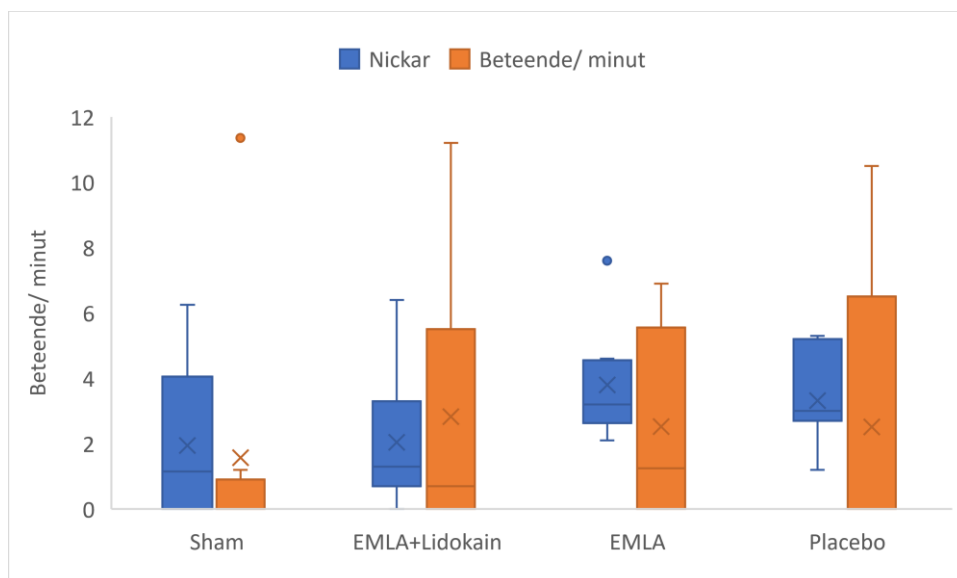
Rörelse förekom i högre frekvens i EMLA och placebo jämfört med EMLA+lidokain och sham under kanylläggning (figur 7). Det finns tydliga outlier-värden

för rörelse i samtliga behandlingsgrupper utom placebo. Beteendet skakar förekom i likvärdig frekvens mellan behandlingsgrupperna (figur 7). *Outlier*-värden observeras även för beteendet skakar i behandlingsgrupperna sham och EMLA+lidokain.



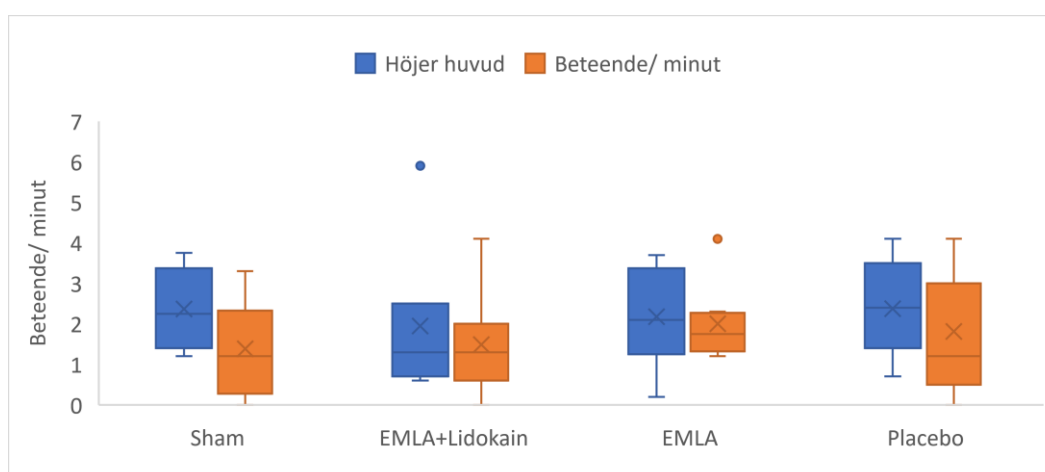
Figur 7: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna rörelse och skakar under kanyllläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Nickning förekom i högre medelfrekvens i EMLA och placebo jämfört med sham och EMLA+lidokain (figur 8). Slår med huvudet förekom i likvärdig frekvens mellan EMLA+lidokain, EMLA och placebo men i tydligt lägre frekvens för sham (figur 8). Enstaka *outlier*-värden observeras för båda beteendekategorierna.



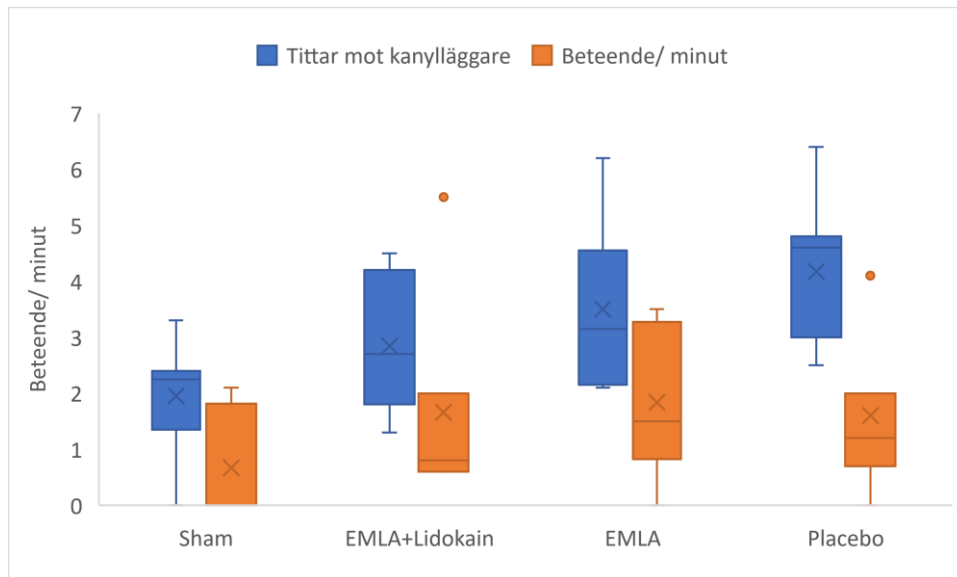
Figur 8: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna nickar och slår med huvudet under kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsgrupper. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Höjer huvud förekom i något högre frekvens i EMLA+lidokain jämfört med andra behandlingsgrupper (figur 9). Sänker huvud förekom i likvärdig frekvens mellan behandlingsgrupper (figur 9). Enstaka outlier-värden observeras för båda beteendekategorierna.



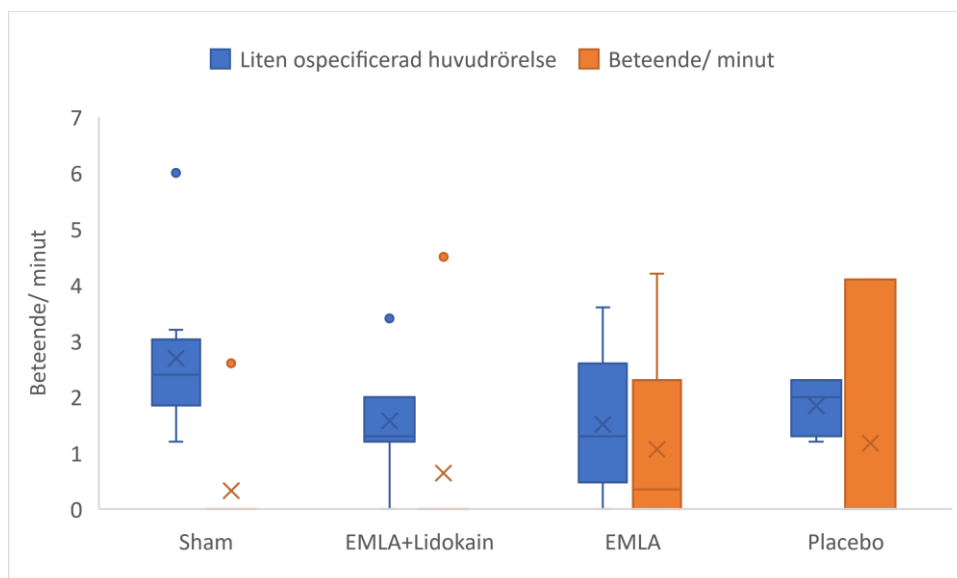
Figur 9: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna höjer huvud och sänker huvud under kanylläggning med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Beteendet tittar mot kanylläggare uppvisades i högre frekvens än tittar från kanylläggare (figur 10). Högst frekvens av tittar mot kanylläggare observerades i placebo. Tittar från kanylläggare observerades i likvärdig frekvens mellan EMLA+lidokain, EMLA och placebo men frekvensen var lägre för *sham*.



Figur 10: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna tittar mot och tittar från kanylläggare under kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Liten ospecificerad rörelse förekom i högst frekvens i *sham* men var likvärdig mellan övriga grupper (figur 11). Frekvensen av tuggar/slickar var högst för EMLA och placebo (figur 11). Enstaka *outlier*-värden observeras i grupperna *sham* och EMLA+lidokain.



Figur 11: Boxplot över antal beteende per minut av beteendekategorierna liten ospecificerad huvudrörelse och tuggar/ slickar under kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

I tabell 10 redovisas förekomsten av beteenden under kanylläggning uttryckt i procent av deltagande hästar som uppvisat beteendet i de olika behandlingsomgångarna.

Beteenden som uppvisades av störst antal individer under samtliga behandlingsomgångar var: höjer huvud, sänker huvud, liten ospecificerad huvudrörelse, tittar mot kanylläggare, tittar från kanylläggare och nickning. Beteenden som uppvisades sällan var stegring, öron bakåt, vokalisering, bett, flemar och gäspar. Enbart en individ uppvisade stegring, då vid EMLA-behandling. Öron bakåt uppvisades också enbart under EMLA-behandling. Vokalisering uppvisades av en individ under kanylläggning, då enligt underkategorin suck vid sham-behandling. Bett förekom enbart i EMLA och placebo. Ingen individ uppvisade beteendet flemar eller gäspar under kanylläggning. För underkategorier av rörelse så uppvisades rörelse framåt, bakåt och lyft av flest antal individer under samtliga behandlingsomgångar. Sidledsrörelse uppvisades enbart i EMLA och placebo. Enbart en individ uppvisade stegring, då vid EMLA-behandling. Ingen individ uppvisade skrap under kanylläggning.

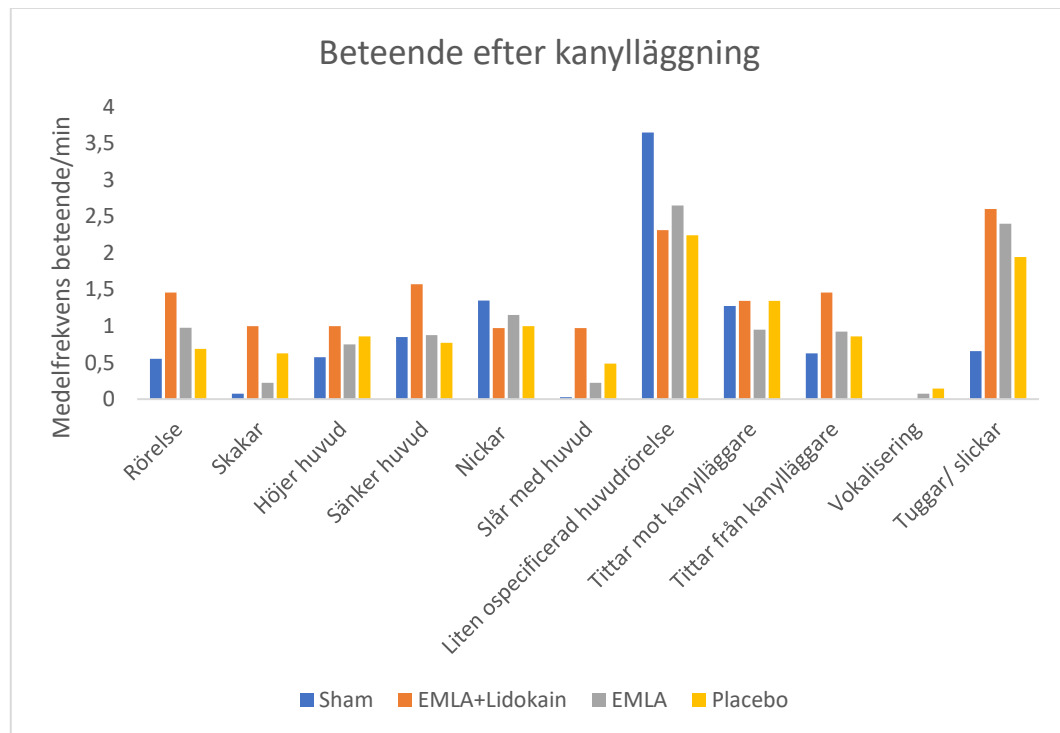
Tabell 10: Förekomst av beteende under kanylläggning uttryckt i procent av deltagande hästar. Utgående från beteendekategorier i etogram för beteenden som registreras kontinuerligt. Jämförelser mellan behandlingsomgångar.

Beteende	% av individer som uppvisar beteendet under kanylläggning			
	Sham (n=8)	EMLA lidokain (n = 7)	+ EMLA (n=8)	Placebo (n=7)
1. Rörelse	50	42,9	87,5	71,4
a. Framåt	25	14,3	37,5	28,5
b. Backar	37,5	28,6	62,5	71,4
c. Sidled	0	0	37,5	42,9
d. Viktändring	12,5	28,5	12,5	0
e. Lyft	25	28,5	50	14,3
f. Skrap	0	0	0	0
2. Stegring	0	0	12,5	0
3. Skakar	25	42,9	62,5	28,6
4. Höjer huvud	100	100	100	100
5. Sänker huvud	75	85,7	100	85,7
6. Nickar	62,5	85,7	100	100
7. Slår med huvud	25	71,4	62,5	42,9
8. Liten ospec. huvudrörelse	100	100	87,5	100
9. Tittar mot	87,5	100	100	100
10. Tittar från	37,5	100	87,5	85,7
11. Öron bakåt	0	0	25	0
12. Vokalisering	12,5	0	0	0
a. Frustar	0	0	0	0
b. Gnäggjar	0	0	0	0
c. Skrik	0	0	0	0
d. Suckar	12,5	0	0	0
13. Flemar	0	0	0	0
14. Gäspar	0	0	0	0
15. Tuggar/ slickar	12,5	0	50	28,6
16. Bett	0	0	12,5	14,3

4.2.2 Kontinuerlig registrering av beteende efter kanylläggning

Medelfrekvens av antal beteenden/minut efter kanylläggning redovisas i figur 12. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer exkluderades i denna resultat-redovisning och redovisas separat. Även undergrupper i kategorierna rörelse och vokalisering redovisas separat.

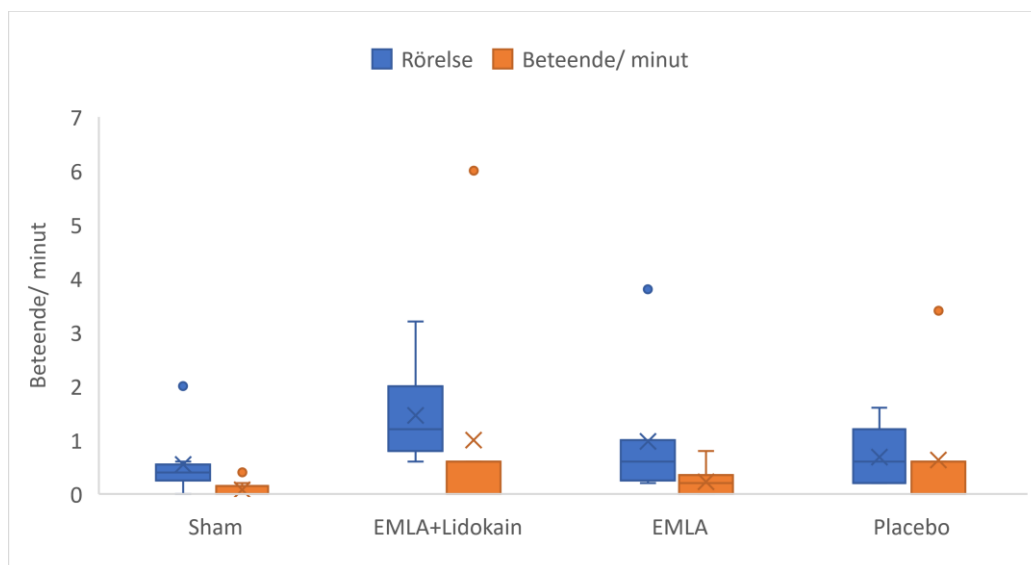
Beteendena liten ospecificerad rörelse och tuggar/slickar var de mest frekvent förekommande beteendena efter kanylläggning (figur 12). Störst skillnad i medelfrekvens mellan behandlingsgrupper observeras för beteendet tuggar/slickar där beteendet förekom i mellan tre och fyra gånger högre frekvens för EMLA+lidokain, EMLA och placebo jämfört med sham.



Figur 12 Medelfrekvens av antal beteende/minut efter kanylläggning utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Beteenden som utförts av två eller färre individer samt underkategorier redovisas inte i figuren. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat.

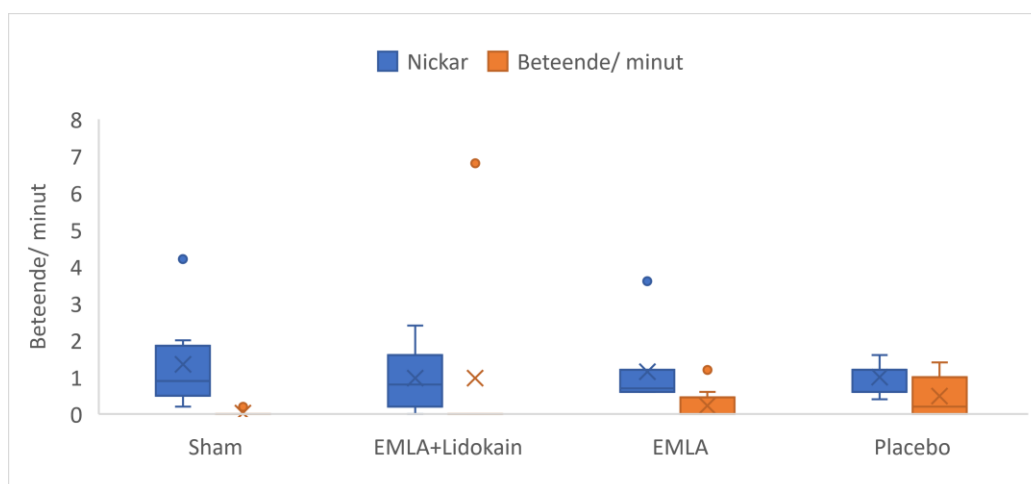
I figur 13 till figur 17 redovisas beteenden efter kanylläggning separat med spridningsmått. I bilaga 2 redovisas individuella kurvor över beteenden efter kanylläggning. Beteendekategorier utgår från etogram för kontinuerlig registrering av beteende.

Beteendena rörelse och skakar förekom i högst frekvens i behandlingsgruppen EMLA+lidokain efter kanylläggning (figur 13). Outlier-värden observeras för båda beteendekategorierna men under olika behandlingsomgångar.



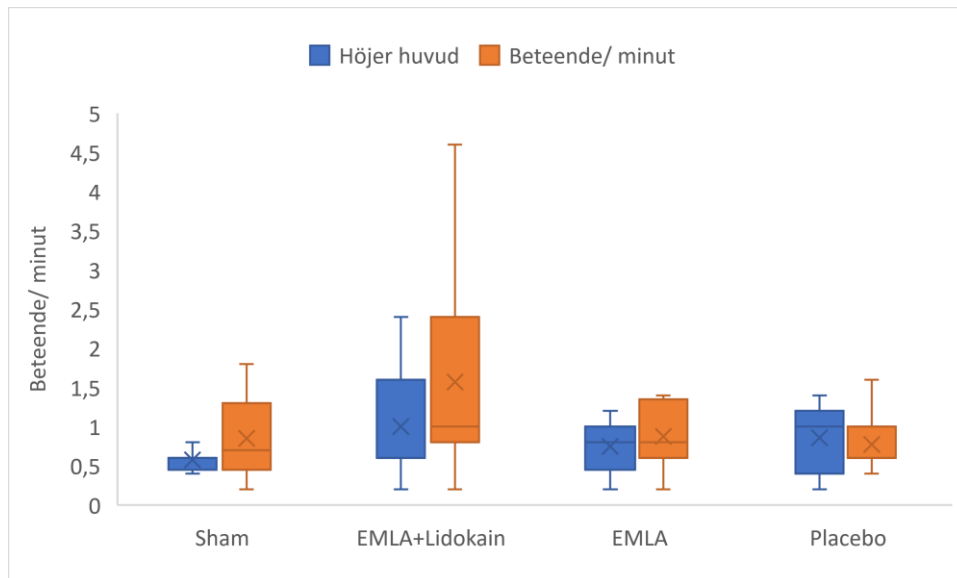
Figur 13: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna rörelse och skakar efter kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Nickar förekom i likvärdig frekvens mellan behandlingsgrupperna efter kanylläggning (figur 14). Slår med huvudet förekom i högst frekvens i EMLA+lidokain men var likvärdig mellan övriga behandlingsgrupper. *Outlier*-värden observeras för båda beteendekategorierna under flera av behandlingsomgångarna.



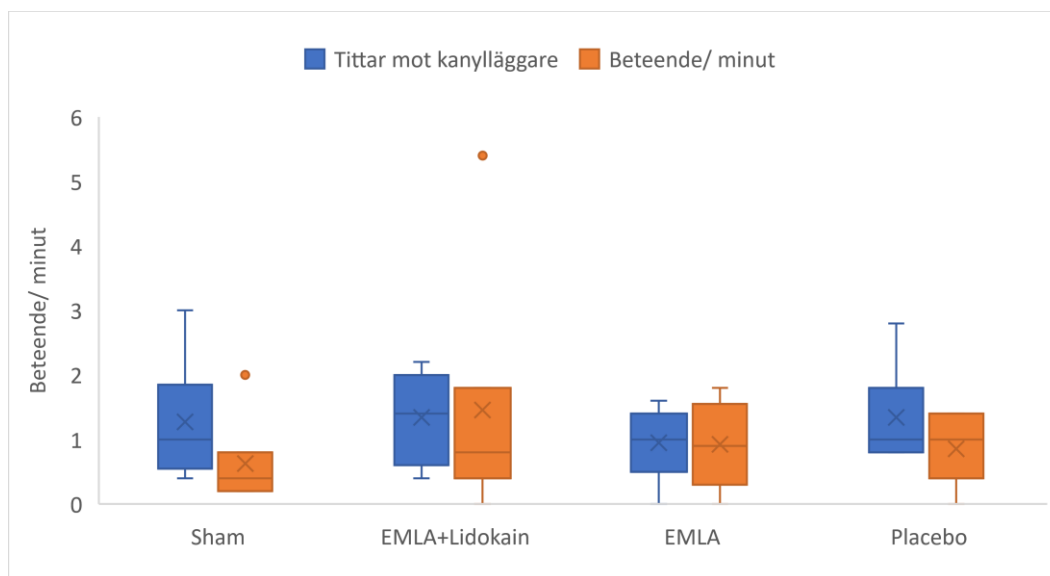
Figur 14: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna nickar och slår med huvudet efter kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Kategorierna höjer huvud och sänker huvud förekom i högst frekvens i EMLA+lidokain efter kanylläggning (figur 15). Inga *outlier*-värden kan observeras för dessa beteendekategorier.



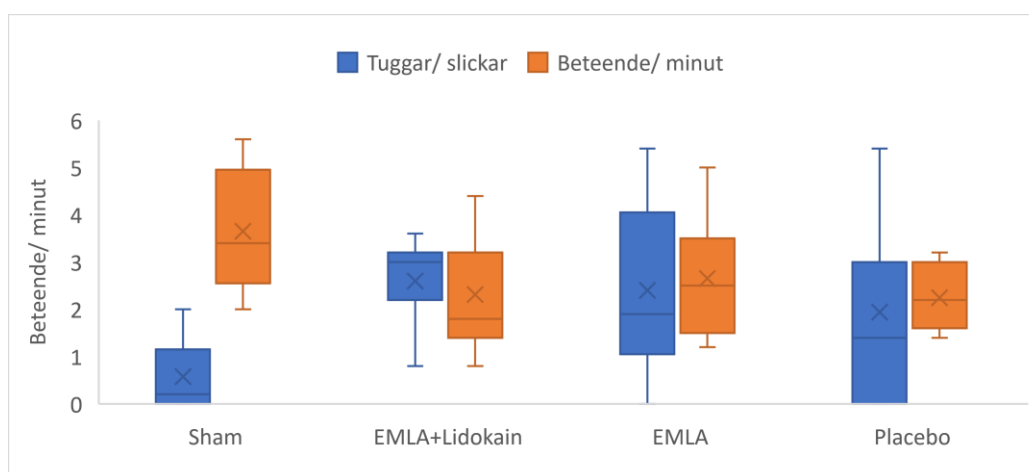
Figur 15: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna höjer huvud och sänker huvud efter kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Beteendet tittar mot kanylläggare förekom i likvärdig frekvens mellan behandlingsgrupper (figur 16). Tittar från kanylläggare förekom i högst frekvens i EMLA+lidokain och i lägst frekvens för sham (figur 16). *Outlier*-värden observeras för tittar mot kanylläggare i sham och EMLA+lidokain.



Figur 16: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna tittar mot och tittar från kanylläggare efter kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Liten ospecificerad rörelse observerades i högst frekvens i sham men var likvärdig mellan övriga behandlingsgrupper (figur 17). Beteende tuggar/slickar förekom i betydligt högre frekvens för EMLA+lidokain, EMLA och placebo jämfört med sham. Inga outlier-värden observeras för någon av beteendekategorierna.



Figur 17: Boxplot över antal beteende per minut för beteendekategorierna tuggar/ slickar och liten ospecificerad huvudrörelse efter kanylläggning med jämförelse mellan behandlingsomgångar. Beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Inga statistiska analyser är utförda på dessa resultat. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

I tabell 11 redovisas förekomsten av beteenden fem minuter efter kanylläggning uttryckt i procent av deltagande hästar som uppvisat beteendet inom de olika behandlingsomgångarna.

Beteenden som uppvisades av störst antal individer efter kanylläggning var rörelse, höjer huvud, sänker huvud, nickar, tittar mot, tittar från och tuggar/ slickar. Beteenden som uppvisades sällan var stegring, öron bakåt, vokalisering, flemar, gäspar och bett. Stegring observerades enbart hos en individ, då vid EMLA-behandling. Öron bakåt observerades också enbart i EMLA. Vokalisering sågs enbart i EMLA och placebo där samtliga underkategorier uppvisades, men där frustar var mest förekommande. Flemning uppvisades enbart i EMLA+lidokain. Gäspar observerades i samtliga behandlingsomgångar utom *sham*. För underkategorier av rörelse så uppvisades rörelse framåt, bakåt och lyft av flest individer under samtliga behandlingsomgångar. Sidledsrörelse uppvisades enbart i EMLA+lidokain och EMLA. En individ uppvisade beteendet skrapar efter kanylläggning, då i EMLA+lidokain.

Tabell 11: Förekomst av beteende efter kanylläggning uttryckt i procent av deltagande hästar. Utgående från beteendekategorier i etogram för beteenden som registreras kontinuerligt. Jämförelser mellan behandlingsomgångar.

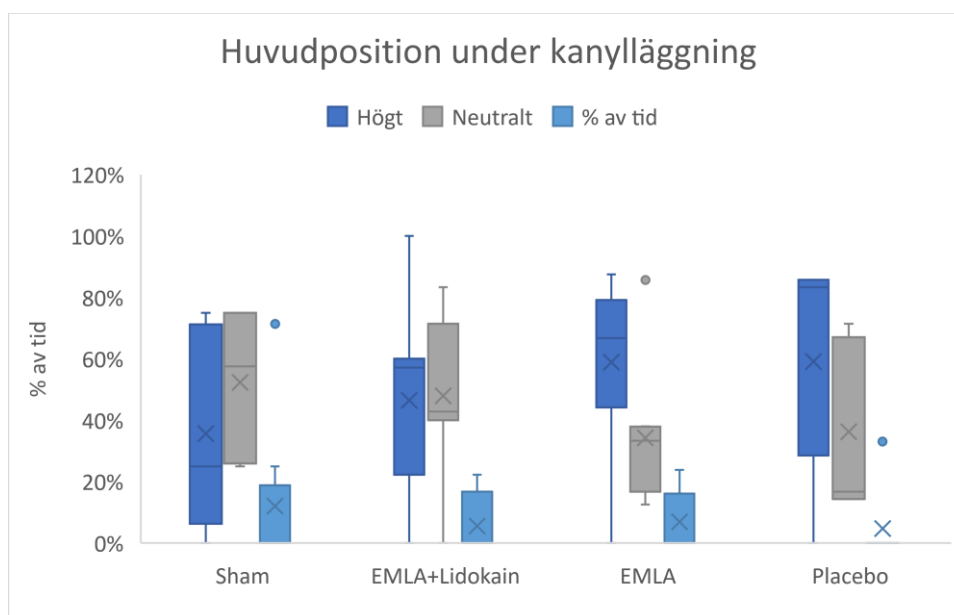
Beteende	% av individer som uppvisar beteendet efter kanylläggning			
	Sham (n=8)	EMLA + lidokain (n = 7)	EMLA (n=8)	Placebo (n=7)
1. Rörelse	87,5	100	100	100
g. Framåt	12,5	57,1	12,5	28,5
h. Backar	12,5	57,1	37,5	42,8
i. Sidled	0	28,6	12,5	0
j. Viktändring	75	71,4	50	42,8
k. Lyft	37,5	71,4	50	57,1
l. Skrap	0	14,3	0	0
2. Stegring	0	0	12,5	0
3. Skakar	25	42,9	62,5	42,9
4. Höjer huvud	100	100	100	100
5. Sänker huvud	100	100	100	100
6. Nickar	100	75	100	100
7. Slår med huvud	12,5	14,3	25	57,1
8. Liten ospec. huvudrörelse	100	100	100	100
9. Tittar mot	100	100	87,5	100
10. Tittar från	100	85,7	87,5	85,7

11. Öron bakåt	0	0	25	0
12. Vokalisering	0	0	37,5	42,8
a. Frustar	0	0	25	28,6
b. Gnäggar	0	0	0	14,3
c. Skrik	0	0	0	14,3
d. Suckar	0	0	12,5	14,3
13. Flemar	0	14,3	0	0
14. Gäspar	0	28,6	12,5	14,3
15. Tuggar/ slickar	62,5	100	87,5	71,4
16. Bett	0	14,3	0	14,3

4.2.3 Huvudposition

Resultat för huvudposition under kanylläggning redovisas i figur 18 med jämförelse mellan behandlingsomgångar.

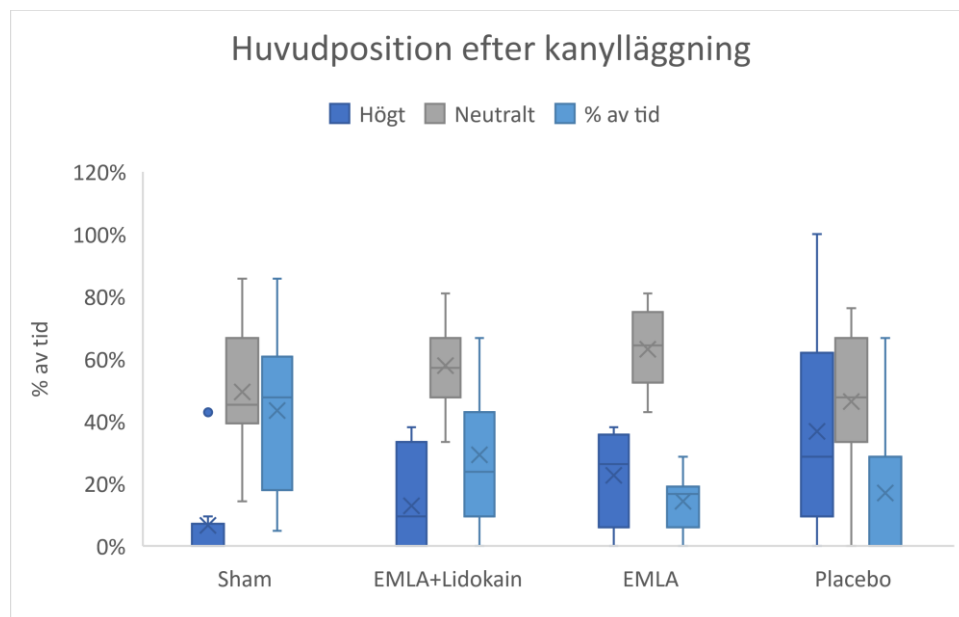
Ingen signifikant skillnad i huvudposition föreligger mellan de olika behandlingsgrupperna under kanylläggning.



Figur 18: Boxplot med sammanställning av procent av tid som hästarna spenderar i olika de huvudpositionerna hög, neutral och låg utgående under kanylläggningmomentet. Utgående från etogram över beteenden som registreras av 15:e sekund med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum respektive minimum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Resultat för huvudposition efter kanylläggning redovisas i figur 19 med jämförelse mellan behandlingsomgångar. (figur 18).

Ingen signifikant skillnad i huvudposition föreligger mellan de olika behandlingsgrupperna efter kanylläggning (figur 19).



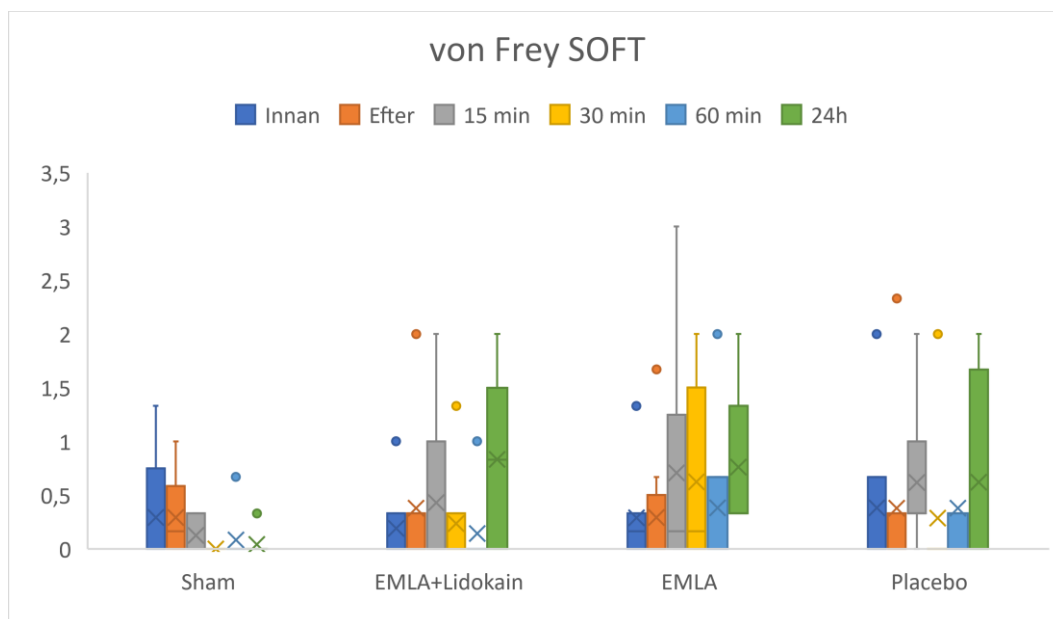
Figur 19: Boxplot med sammanställning av procent av tid som hästarna spenderar i olika de huvudpositionerna hög, neutral och låg efter kanyläggningmomentet. Utgående från etogram över beteenden som registreras av 15:e sekund med jämförelser mellan behandlingsomgångar. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum respektive minimum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

4.3 von Frey-filament

4.3.1 von Frey-filament 4,56 (soft)

Resultat från hudsensibilitetsmätning med von Frey-filamentstyvhet soft (4,56) redovisas i figur 20.

Det fanns en signifikant skillnad i hudsensibilitet mellan behandlingsgrupperna vid tidpunkten 24 timmar för styvhet soft (figur 20). För övriga tidpunkter var p-värdet > 0,05 varav noll-hypotesen inte kunde förkastas för dessa tidpunkter. Resultat från parvis analys vid 24 timmar redovisas i tabell 12.



Figur 20: Boxplot över hudsensibilitetsmätningar med von Frey-filamentstyvhet soft (4,56) med jämförelse mellan behandlingsomgångar och förändring över tid. Mätning med von Frey-filament utfördes vid tidpunkterna innan EMLA, efter EMLA, 15 min, 30 min, 60 min och 24 timmar. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

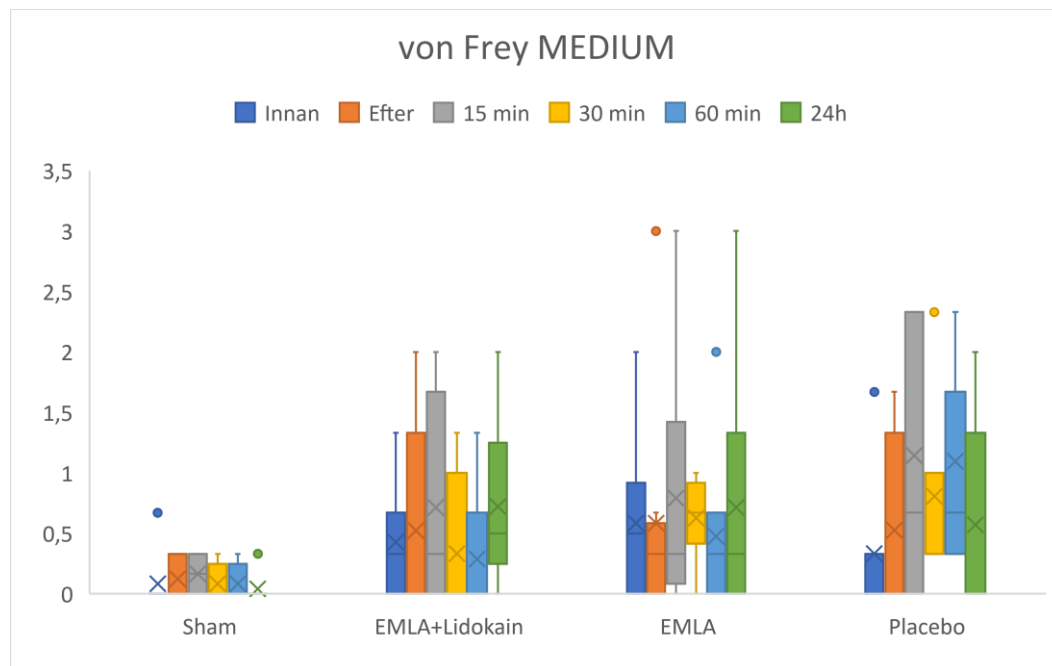
Tabell 12: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt 24 timmar med von Frey-filament soft (4,56). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 24 timmar			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	3,095	0,126
Sham	EMLA	4,577	0,007
Sham	Placebo	2,100	0,447
EMLA+lidokain	EMLA	0,314	0,996
EMLA+lidokain	Placebo	-0,746	0,953
EMLA	Placebo	-1,389	0,760

4.3.2 von Frey-filament 5,46 (medium)

Resultat från hudsensibilitetsmätning med von Frey-filamentstyvhet medium (5,46) redovisas i figur 21.

Det fanns signifikant skillnad i hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkterna 30 min och 60 min för styvhet medium (figur 21). För övriga tidpunkter var p-värdet $> 0,05$ vid jämförelse mellan behandlingsgrupper varav nollhypotesen inte kunde förkastas för dessa tidpunkter. Resultat från parvis analys vid 30 min redovisas i tabell 13 och resultat för 60 min redovisas i tabell 14.



Figur 21: Boxplot över hudsensibilitetsmätningar med von Frey-filament styvhet medium (5,46) med jämförelse mellan behandlingsomgångar och förändring över tid. Mätning med von Frey-filament utfördes vid tidpunkterna innan EMLA, efter EMLA, 15 min, 30 min, 60 min och 24 timmar. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Tabell 13: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsomgångar vid tidpunkt 30 minuter med von Frey-filament medium (5,46). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 30 min			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	0,631	0,970
Sham	EMLA	4,080	0,020
Sham	Placebo	4,203	0,016
EMLA+lidokain	EMLA	1,799	0,581
EMLA+lidokain	Placebo	2,536	0,277
EMLA	Placebo	0,000	1,000

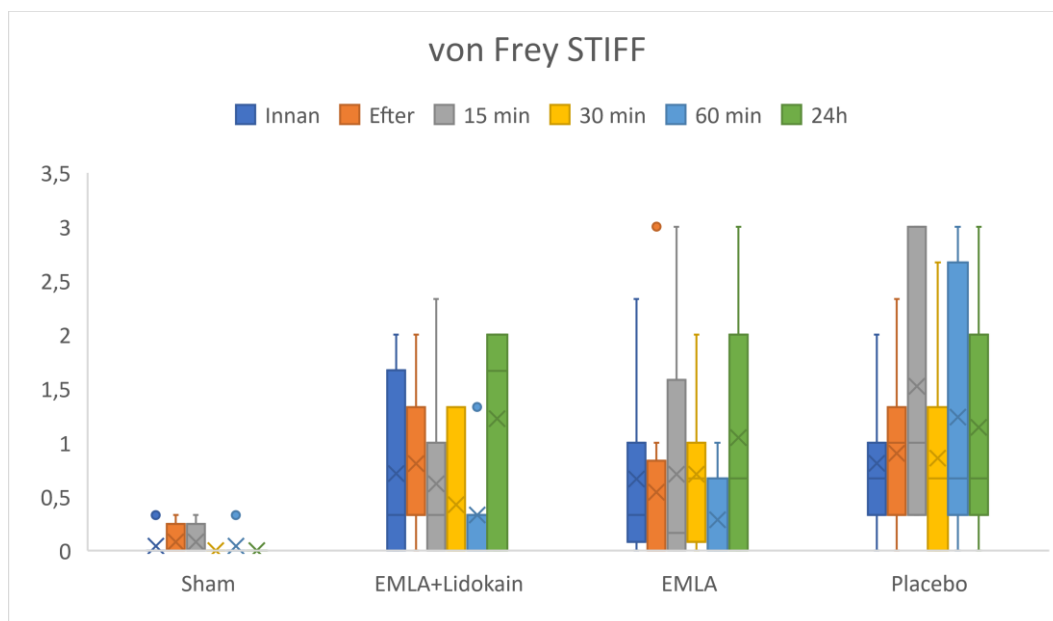
Tabell 14: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsomgångar vid tidpunkt 60 minuter med von Frey-filament medium (5,46). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 60 minuter			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	0,631	0,970
Sham	EMLA	2,054	0,467
Sham	Placebo	4,446	0,009
EMLA+lidokain	EMLA	1,104	0,863
EMLA+lidokain	Placebo	3,257	0,097
EMLA	Placebo	2,492	0,292

4.3.3 von Frey-filament 6,65 (stiff)

Resultat från hudsensibilitetsmätning med von Frey-filamentstyvhet stiff (6,65) redovisas i figur 22.

Det fanns signifikanta skillnader i hudsensibilitet vid samtliga tidpunkter för styvhet stiff (figur 22). P-värden för varje tidpunkt redovisas i tabell 15. Resultat från parvis analys redovisas separat för var tidpunkt för sig i tabell 16 till tabell 21.



Figur 22: Boxplot över hudsensibilitetsmätningar med von Frey-filament styvhet stiff (6,65) med jämförelse mellan behandlingsomgångar och förändring över tid. Mätning med von Frey-filament utfördes vid tidpunkterna innan EMLA, efter EMLA, 15 min, 30 min, 60 min och 24 timmar. Box visar interkvartilintervall med första kvartil i nedre begränsning och tredje kvartil i övre begränsning. Lodräta staplar visar maximum. Punkter visar outlier-värden. Kryss visar medelvärde. Vågrät linje visar medianvärde. Då medianvärdet ej är synligt överlappar det med linje för första eller tredje kvartil.

Tabell 15: Resultat från Kruskal-Wallis-test för mätning av hudsensibilitet med von Frey-filament styvhet stiff (6,65) vid tidpunkterna innan EMLA, efter EMLA, 15 min, 30 min, 60 min och 24 timmar. P-värde <0,05 är markerade.

Tidpunkt	χ^2	df	p-värde
Innan EMLA	9.88	3	0,020
Efter EMLA	8.99	3	0,029
15 min	10.38	3	0,016
30 min	9.49	3	0,023
60 min	9.66	3	0,022
24 h	10.53	3	0,015

Tabell 16: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt "innan EMLA" med von Frey-filament stiff (6,65). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: "Innan EMLA"			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	3,339	0,085
Sham	EMLA	3,554	0,058
Sham	Placebo	4,096	0,020
EMLA+lidokain	EMLA	0,000	1,000
EMLA+lidokain	Placebo	0,918	0,916
EMLA	Placebo	0,921	0,915

Tabell 17: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt "efter EMLA" med von Frey-filament stiff (6,65). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: "Efter EMLA"			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W - värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	3,525	0,061
Sham	EMLA	1,088	0,868
Sham	Placebo	3,663	0,047
EMLA+lidokain	EMLA	-2,050	0,469
EMLA+lidokain	Placebo	0,186	0,999
EMLA	Placebo	2,129	0,434

Tabell 18: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt 15 minuter med von Frey-filament stiff (6,65). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 15 minuter			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	2,226	0,394
Sham	EMLA	1,723	0,615
Sham	Placebo	4,442	0,009
EMLA+lidokain	EMLA	-0,346	0,995
EMLA+lidokain	Placebo	2,381	0,333
EMLA	Placebo	2,677	0,231

Tabell 19: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt 30 minuter med von Frey-filament stiff (6,65). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 30 minuter			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	2,813	0,192
Sham	EMLA	4,104	0,019
Sham	Placebo	3,897	0,030
EMLA+lidokain	EMLA	1,273	0,805
EMLA+lidokain	Placebo	1,324	0,786
EMLA	Placebo	0,250	0,998

Tabell 20: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt 60 minuter med von Frey-filament stiff (6,65). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 60 minuter			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	2,566	0,267
Sham	EMLA	1,998	0,491
Sham	Placebo	4,011	0,024
EMLA+lidokain	EMLA	-0,391	0,993
EMLA+lidokain	Placebo	2,431	0,314
EMLA	Placebo	2,416	0,319

Tabell 21.: Dwass-Steel-Critchlow-Fligner-test med parvisa jämförelser av hudsensibilitet mellan behandlingsgrupper vid tidpunkt 24 timmar med von Frey-filament stiff (6,65). P-värde <0,05 är markerade.

Tid: 24 timmar			
Behandlingsgrupp	Behandlingsgrupp	W-värde	p-värde
Sham	EMLA+lidokain	3,685	0,045
Sham	EMLA	3,897	0,030
Sham	Placebo	4,436	0,009
EMLA+lidokain	EMLA	-0,416	0,991
EMLA+lidokain	Placebo	-0,103	1,000
EMLA	Placebo	0,366	0,994

5. Diskussion

Resultat från subjektiv bedömning av beteende visar på en signifikant skillnad i grad av smärta mellan *sham* och EMLA, *sham* och placebo, och *sham* och EMLA+lidokain. Att det fanns signifikant skillnad mellan *sham*-omgång och omgångar med placering av venkateter var väntat med tanke på att *sham*-omgången inte innebar någon vidröring av hud med kanyl. Statistisk signifikans förelåg inte mellan placebo och EMLA eller mellan EMLA och EMLA+lidokain. Vid jämförelse mellan placebo och EMLA+lidokain noterades inte heller någon signifikans men det finns en tendens till skillnad mellan dessa behandlingsomgångar ($p=0,073$) vilket skulle kunna innebära att det i en större studiepopulation möjligen hade varit signifikant. Medelpoängen för grad av smärta skiljer mellan behandlingsomgångarna där EMLA+lidokain-behandlingen har en tydligt lägre medelpoäng än både EMLA-behandlingen och placebo-behandlingen. Det fanns därmed en tendens till lägre smärtpoäng i gruppen EMLA+lidokain jämfört med EMLA och placebo, men den är inte signifikant. Detta indikerar dock att behandling med EMLA+lidokain kan ha gett upphov till mer adekvat analgesi jämfört med övriga behandlingar. Att EMLA har en lägre medelpoäng av grad av smärta jämfört med placebo indikerar att EMLA gav upphov till viss analgesi, men inte i samma grad som EMLA+lidokain. För grad av stress, grad av irritation, grad av rädsla och grad av svårighet vid kanylläggning noterades ingen signifikant skillnad mellan behandlingsomgångar. Medelpoängen för grad av irritation, grad av rädsla och grad av svårighet vid kanylläggning var högre för EMLA och placebo jämfört med EMLA+lidokain. Detta ger ytterligare stöd till indikationen att EMLA+lidokain gav upphov till mest adekvat analgesi, men skillnaderna är inte heller här signifikanta. Grad av stress bedömdes högst i behandlingsomgången med EMLA jämfört med EMLA+lidokain och placebo som fått likvärdig medelpoäng av stress. Medelpoängen för *sham* är lägst i samtliga bedömningskategorier. Att skillnaderna mellan *sham* och behandlingsomgång som inkluderar kanylläggning inte var signifikanta för alla kategorier ger viss indikation att hästar kan uppleva stress, irritation och rädsla även när kanyl ej vidrör huden. Avsaknaden av signifikans kan också bero på den lilla studiepopulationen i kombination med den relativt stora individuella variation som hästarna uppvisade.

Bedömningsprotokollet som användes för subjektiv bedömning av beteende i studien är exempel på en *numeric rating scale* (NRS). Inga beskrivningar fanns för

de olika graderingarna av smärta, stress, irritation och rädsla utan protokollet baserades på observatörens subjektiva bedömning. Ett sådant system för smärtbedömning är extremt beroende av observatörens egen uppfattning av beteende och tidigare erfarenhet av smärtbedömning (Gleerup & Lindegaard 2016). Att inga beskrivningar erhålls i poängsystemet gör att det har en dålig inter-observatörsöverensstämmelse vilket påverkar reproducerbarheten. NRS har dock visats ha god intra-observatörsöverensstämmelse, det vill säga när samma person utför bedömningarna (Hielm-Björkman *et al.* 2011; Sutton *et al.* 2013). I den här presenterade studien utfördes den subjektiva beteendebedömningen av samma blindade person vid samtliga tillfällen vilket ökar tillförlitligheten. Hur smärtintensitet bedöms påverkas dock fortfarande av observatörens uppfattning och erfarenhet. Studien skulle kunna stärkas ytterligare genom att två personer utför de subjektiva bedömningarna. Ett sätt att öka inter-observatörsöverensstämmelsen och reproducerbarheten i studien är att använda en *simple descriptive scale* (SDS) där graderingarna beskrivs (Fjordbakk & Haga 2011; Gleerup & Lindegaard 2016). I detta fall när observatören var densamma skulle det dock sannolikt inte förändrat resultaten märkbart. En annan möjlighet att öka tillförlitligheten är att kombinera ett SDS med fler bedömningssystem, till exempel fysiologiska förändringar, och därmed konstruerat en *composite pain scale* (CPS). CPS har använts i flera studier vid smärtbedömning på häst och visat goda resultat (Pritchett *et al.* 2003; Bussi res *et al.* 2008; van Loon & Van Dierendonck 2018). En viktig felkälla vid den subjektiva beteendebed mningen  r att *sham*-omgången inte var möjlig att genomföra blindat. Detta kan ha påverkat hur beteenden bedömdes i denna behandlingsomgång. Observatören var medveten om att nålen aldrig vidrörde huden på hästarna och att de därmed inte bör ha upplevt något smärta. Därmed sjunker tillförlitligheten något för den signifikans som observerats mellan *sham*-behandlingen och övriga behandlingsomgångar vid subjektiv bedömning av beteende.

Under kanylläggning observerades högst medelfrekvens av rörelse vid EMLA-behandlingen. Lägst medelfrekvens av rörelse sågs vid EMLA+lidokain-behandlingen. Resultat från tidigare studier har visat att akut smärta ger upphov till stress och rastlöshet hos häst vilket resulterar i att de utför fler beteenden, där bland att de kan röra sig mer (Price *et al.* 2003; Ashley *et al.* 2005; Graubner *et al.* 2011). Utifrån detta  r det möjligt att den högre r relsefrekvensen beror på att hästarna upplevde mer smärta. Utifrån det finns indikatorer på att EMLA+lidokain-behandlingen gav upphov till mest adekvat smärtlindring. F r huvudh jning/huvuds nkning ses likvärdig frekvens mellan alla grupper inklusive *sham*, varav det  r svårt att dra någon slutsats om detta. Beteendet nickar observerades i nästan dubbel så hög i frekvens vid EMLA jämfört med *sham* och EMLA+lidokain. Beteendet tittar mot kanylläggare förekom i högst medelfrekvens i EMLA och placebo. Bussi res *et al.* (2008) klassificerar ”*intermittent och snabb huvudrörelse i lateral eller vertikal riktning*” som ett onormalt beteende som kan indikera smärta där en

högre frekvens av beteendet skulle indikera högre grad av smärta. Detta stödjer teorin att hästarna upplevde större smärta under EMLA-behandling och placebo-behandling, men ingen tydlig skillnad ses mellan de två behandlingarna. Skakning förekom i högst frekvens i *sham*-behandlingen och behandling med EMLA och EMLA+lidokain. Skakning kan förekomma efter perioder av obehag (Torcivia & McDonnell 2021). Detta skulle indikera att hästarna upplevde obehag även när de ej vidrördes och när de var bedövade. En möjlig förklaring till att tecken på obehag uppvisades även under *sham* när hästarna inte berördes är att hästarna hade förväntningar på vad som skulle ske alternativt att det var ovana med en sådan situation vilket gav obehag. I motsats till andra tendenser i förändrat beteende så observerades högst medelfrekvens av slår med huvud i EMLA+lidokain-behandlingen. Torcivia & McDonnell (2021) anger att beteendet ”slår med huvudet” verkar återspegla en frustration med ihållande obehag.

Efter kanylläggning utmärker sig att i motsats till vad som sågs under kanylläggning ses dubbelt så hög medelfrekvens av rörelse i EMLA+lidokain jämfört med EMLA och placebo. Att smärta ger upphov till stress och rastlöshet som kan medföra att hästarna rör sig mer skulle indikera högre smärta hos EMLA+lidokain efter kanyl (Ashley *et al.* 2005), en observation som ter sig något ologiskt då den gruppen borde vara bäst smärtlindrad. Att nickning förekommer i likvärdig frekvens mellan behandlingsomgångarna skulle indikera en likvärdig smärtupplevelse mellan behandlingarna efter kanylläggning (Bussi res *et al.* 2008). Slår med huvudet förekommer i högst frekvens i EMLA+lidokain-behandlingen vilket skulle indikera frustration (Torcivia & McDonnell 2021). Då ett tydligt outlier-värde ses i denna grupp  r det dock sannolikt att den högre medelfrekvensen beror på det och ingen slutsats b r dras utifrån detta. Beteendet tuggar/slickar förekommer i en tydligt högre frekvens i samtliga behandlingsomgångar efter kanyl jämfört med under kanylläggning. Tuggar och slickar  r tillsammans med gäspning så kallade *sympathetic surge resolution signs* och indikerar förändring i sympatisk tonus (Torcivia & McDonnell 2021). Detta indikerar att samtliga behandlingar gav upphov till ett sympatikuspåslag under kanylläggning. Högst frekvens av beteendet s gs i EMLA+lidokain och EMLA. Om en högre frekvens av beteendet innebär högre sympatikuspåslag framgår inte av Torcivia & McDonnell (2021) varav det inte g r att dra någon slutsats om skillnaden i frekvens mellan behandlingsomgångarna. Skakning förekom likt under kanylläggning i hög frekvens i EMLA+lidokain även efter kanyl, vilket skulle indikera obehag (Torcivia & McDonnell 2021). Övriga beteendekategorier förekom i likvärdig frekvens under perioden efter kanylläggning. En möjlig förklaring till detta  r att kanylläggning ger upphov till en kortvarig och akut smärta men som sedan har en minimal påverkan på individerna efteråt.

Beteenden som bett, drar öronen bakåt och skrapar är typiska indikatorer på smärta (Ashley *et al.* 2005). Förvånande nog förekom dessa beteende i låg frekvens både under och efter kanyllläggning och uppvisades enbart av enstaka individer. En möjlig orsak till detta är som tidigare nämnt att intravenös kateterisering ger upphov till en kortvarig, akut och sannolikt relativt mild smärta varav de typerna av beteenden inte observeras. Värt att notera är dock att bett förekom i EMLA och placebo under kanyllläggning men inte i andra grupper vilket är ytterligare en indikation på att smärtupplevelsen var störst i de behandlingsgrupperna. Dock förekom bett och skrap i EMLA+lidokain-behandlingen efter kanyl vilket indikerar smärtupplevelse även i denna grupp. Vokalisering uppvisades enbart av en individ under kanyllläggning men förekom i högre frekvens efter kanyllläggning, då i EMLA och placebo. Vokalisering i form av djupt grymtande är en tydlig indikation på smärta (Casey 2006). Denna typ av vokalisering förekom ej under försöket. Vokaliseringen som sågs under försöket upplevdes mer ospecifik och i vissa fall som ett resultat av att studieobjekten interagerade med en individ i intilliggande box vilket gav upphov till skrik och gnäggning snarare att de vokaliserade på grund av smärta eller stress.

Det förekommer tydliga *outlier*-värden både i resultat från subjektiv bedömning av beteende och från kontinuerlig registrering av beteende. Det finns alltså enstaka individer som agerat utmärkande jämfört med övriga individer. Dessa skillnader ses även tydligt i de individuella kurvorna i bilaga 1 och 2 där variation i hur olika individer hanterar och uppvisar smärta observeras. Vissa individer tenderade att röra sig mycket under samtliga behandlingsomgångar medan andra var stillastående. Frekvensen av avvikande huvudrörelser så som nickning och slår med huvudet varierar också märkbart mellan individer där vissa individer aldrig uppvisar beteendet medan andra uppvisar beteendet vid samtliga behandlingsomgångar. Samma variation ses för beteendet skakning. Häst F uppvisar beteendet bett vid två av fyra behandlingsomgångar vilket inte observerats hos någon av övriga individer i försöket. Häst A uppvisar stegring vid en försöksomgång, något som inte heller observeras hos någon annan individ. Att det förekommer individuella variationer i hur hästarna uppvisade tecken på smärta är i enlighet med vad som observerats i tidigare studier (Price *et al.* 2003; Bufalari *et al.* 2007; Wagner 2010). Den individuella variation som ses bekräftar därmed de svårigheter i att bedöma smärta hos häst som lyfts av bland annat Wagner (2010) och de Grauw & van Loon (2016) då det även här finns indikationer på att olika hästar uppvisar smärta eller obehag olika uttrycksfullt. Huruvida variationerna i hur hästarna uppvisade beteende har någon korrelation med ras, ålder eller kön går inte att utvärdera i denna studie på grund av den homogena studiepopulationen. Sådana variationer har dock setts i tidigare studier (Bufalari *et al.* 2007).

Resultat från registrering av huvudposition visade inte på någon signifikant skillnad i huvudposition mellan behandlingsomgångarna vare sig under eller efter kanyl-läggning. Sänkt huvudhållning är en generell beteendeförändring som kan indikera smärta (Ashley *et al.* 2005). Studier utförda med smärt- och kontrollgrupper har visat att kontrollhästar spenderar mer tid med huvudet ovanför manken jämfört med hästar med inducerad smärta (Price *et al.* 2003; Pritchett *et al.* 2003). I denna studie noterades i stället att placebo-behandlingen gav mest tid spenderad i hög huvudposition både under och efter kanyl-läggning. Mest tid spenderad med låg huvudposition sågs vid *sham*-behandlingen. Resultaten visar därmed motsatt vad som förväntats utifrån tidigare studier. *Sham*-gruppen som ej bör upplevt någon smärta spenderade mest tid med huvudet positionerat under mankens nivå, vilket generellt sett ses som en indikator på smärta (Ashley *et al.* 2005). En möjlig förklaring till resultaten kan vara att smärtan som hästarna upplever under och efter kanyl-läggning är så pass kortvarig att en förändring till låg huvudposition inte ses. Det förklarar dock inte varför *sham*-behandlingen gav upphov till mest tid spenderad i låg huvudposition, vilket skulle vara en smärtindikation. Studierna av Price *et al.* (2003) och Pritchett *et al.* (2003) är utförda på hästar som genomgått artroskopi respektive kolik-kirurgi. Det kan antas att smärtan från dessa ingrepp är betydligt större och mer långvarig än den som uppstår från nålstick, varav det ger upphov till ökad tid spenderad med låg huvudposition vilket den akuta smärtan inte gör. En möjlig förklaring till att de icke-bedövade hästarna spenderade mest tid i hög huvudposition är att de försökte undvika situationen genom att placera sitt huvud högt. Fler studier på en större studiepopulation krävs för att dra slutsatser om hur hästar tenderar att placera sitt huvud vid akut smärta.

Vid bedömning av beteende utifrån etogram ska definitioner av beteendekategorier vara noga och objektivt beskrivna för att möjliggöra så objektiv bedömning som möjligt. Konsekvent klassificering försvåras i sekvenser med mycket aktivitet och den mänskliga faktorn är därmed en felkälla i resultaten från beteendebedömning med etogram. Faktumet att *sham*-behandlingen inte var blindad spelar en roll även här och kan ha påverkat resultaten. En annan begränsning med etogrammet i denna studie är att filmvinkeln som användes inte möjliggjorde bedömning av hästarnas ansiktsuttryck och öronposition, vilket kan vara en känslig indikator på smärta hos häst (Gleerup *et al.* 2015).

Resultat från mätning av hudsensibilitet med von Frey-filament visar på signifikant skillnad mellan behandlingsgrupper vid flera tidpunkter. Signifikans ses dock enbart mellan *sham*-behandlingen och övriga behandlingar. Ingen signifikant skillnad sågs mellan placebo-behandlingen och EMLA eller EMLA+lidokain. Med tanke på att *sham*-behandlingen innebar att filamentet aldrig vidrörde hästarnas hud är skillnaden förväntad. Utifrån detta så har *sham*-behandlingen sannolikt inte en given plats i den statistiska analysen. En möjlig förändring av studieupplägget är

att utvärdera den farmakologiska effekten av EMLA eller EMLA+lidokain statistiskt genom jämförelse med placebo, men att enbart använda *sham*-behandlingen som en kvalitetskontroll och inte för statistisk analys. Utöver detta så är en svaghet i den statistiska analysen är att hänsyn ej togs till upprepad mätning av samma individ utan att jämförelser enbart gjordes mellan olika behandlingar vid olika tidpunkter. De statistiska skillnaderna som ses i arbetet ska därmed tolkas därefter. Vid deskriptiv jämförelse av hudsensibilitet över tid ses ingen tydligt sänkt hudsensibilitet vid jämförelse med nollvärdet ("innan EMLA") jämfört med 30 minuter efter applicering ("Efter EMLA") för någon av styvheter. En möjlig förklaring till detta är att det mellan tidpunkterna innan respektive efter EMLA utfördes en subkutan injektion av lidokain eller natriumklorid, vilket skulle kunna medfört en ökad sensibilisering. Lägst hudsensibilitetspoäng ses vid tidpunkten 60 minuter för både EMLA och EMLA+lidokain vid mätning med styvhet medium och stiff. Skillnaden ses ej med filament soft. Generellt ses inga uppenbara skillnader i hudsensibilitet mellan de olika behandlingsomgångarna som inkluderade placering av venkateter.

von Frey-filament har i andra studier visats vara en väl fungerande metod för utvärdering av hudsensibilitet hos häst (Rédua *et al.* 2002; Söbbeler & Kästner 2018). I denna studie verkar metoden inte presterat lika bra. Det kan bero på den lilla studiepopulationen där individuella variationer får större effekt. Det är anmärkningsvärt att *sham*-behandlingen som inte innebar någon vidröring av huden inte gav signifikant skillnad jämfört med placebo vid samtliga tidpunkter med soft och medium filament likt det gör för stiff. Detta gör att tillförlitligheten av von Frey-filament på häst kan ifrågasättas. Det finns utifrån detta indikationer på att det inte enbart är hudsensibiliteten som mäts utan att bara närmandet med filamentet också har en effekt. Vid försökstillfällena upplevdes vissa hästar relativt opåverkade av applicering med filamenten medan andra reagerade betydligt mer. Vissa individer reagerade alltså även av att närmanden med filamenten skedde utan att huden vidrördes, vilket resultaten från *sham*-omgången illustrerar. En annan felkälla är att en viss tillvänjning upplevdes. Då alla styvheter applicerades tre gånger vardera per mätning innebar detta totalt nio appliceringar vid varje tidpunkt där tiden mellan appliceringarna inte var reglerad. Det upplevdes i många fall att hästarna reagerade på den första appliceringen med varje styvhet men att reaktionen sedan avtog för de två resterande appliceringarna. Då ett medelvärde togs från appliceringarna kan värdet vara falskt lågt på grund av tillvänjningsfaktorn. Även reaktionerna vid ökad styvhet kan vara falskt låga på grund av tillvänjningsfaktorn. Ett annat problem med mätningarna av hudsensibilitet är att personen som utförde mätningarna för häst A-D inte var samma person som utförde mätningarna för häst E-G, liksom att personen som utförde 24-timmars mätningarna inte var densamma som de två personerna som utförde mätningarna under försöksdagarna. Trots

beskrivningar på de olika klassificeringarna av reaktion så är det en subjektiv bedömning och byte av observatör kan ha påverkat resultaten.

I studien användes tre förutbestämda styvheter av von Frey-filament som applicerades vid sex tidpunkter. Genom att använda förutbestämda styvheter fanns ingen möjlighet att testa exakt vid vilken kraft på huden som hästarna reagerade. I studien av Söbbeler & Kästner (2018) användes en uppsättning av 20 filament vilket genererade krafter från 0,008g–300g. Man började med det minsta filament och arbetade sig uppåt i styvhet tills en reaktion erhöles eller tills att det styvaste filamentet använts. Samma metod användes av Rédua *et al.* (2002) och Reddy *et al.* (2018) vid användning av von Frey-filament. Genom att använda denna metod fås ett tröskelvärde av hudsensibilitet. Att använda en sådan metod är en möjlig förbättring på studien då det ger ett mer exakt tröskelvärde på hudsensibiliteten.

I studien användes en verkningstid på 30 minuter för EMLA innan läkemedlet avlägsnades för att möjliggöra subkutan injektion av lidokain. Inget täckförband användes över området. För människa rekommenderar tillverkaren av EMLA en verkningstid på minst 60 minuter för anestesi av hud inför nålstick samt att ett täckförband anläggs. En studie på barn har dock visat att verkningstiden kan förkortas ner till 30 minuter och fortsatt ge upphov till god analgesi (Hopkins *et al.* 1988). Verkningstiden för EMLA på djur har undersökts i flera studier. God analgetisk effekt har setts vid applicering över *vena cephalica* i 60 minuter inför venpunktion hos hund, katt och kanin (Flecknell *et al.* 1990). I studien av van Oostrom & Knowles (2018) jämfördes EMLA med en verkningstid på 30 respektive 60 minuter hos hund inför placering av venkateter. Verkningstid på 30 minuter minskade inte frekvensen observerade smärtuttryck hos hundarna jämfört med placebo. Verkningstid på 60 minuter resulterade i en minskad trend av smärtuttryck, men signifikans uppnåddes ej. Crisi *et al.* (2021) visade att 30 minuter verkningstid av EMLA inför venpunktion i *vena jugularis* på katt var tillräckligt för att minska stress hos katter. I motstridighet till detta såg Wagner *et al.* (2006) ingen statistisk signifikans gällande minskade smärtuttryck hos katt vid kateterisering av *vena jugularis* efter EMLA med verkningstid 60 minuter jämfört med placebo.

Ett fåtal studier har utförts gällande EMLA på häst. I studien av Söbbeler & Kästner (2018) tilläts EMLA ha en verkningstid på 120 minuter vid applicering på huden i sadelläget vilket gav upphov till minskad känsel och minskad termisk nociception. Pagliara *et al.* (2021) använde en verkningstid av EMLA på 60 minuter på distala benet. Detta gav signifikant högre MNT jämfört med placebo. 30 minuters verkningstid har använts av Erkert *et al.* (2005) vid epistoplastik på ston och visade på likvärdig effekt som infiltrationsanestesi. Huden på vulva är dock betydligt tunnare än övriga delar på kroppen vilket kan vara orsaken till den goda effekt med relativt

kort verkningstid som sågs. Utifrån att 30 minuters verkningstid inte visats vara tillräcklig för att uppnå fullgod ytanestesi inför venkateterisering hos hund, samt att tidigare studier på EMLA hos häst har använt en längre verkningstid än 30 minuter, är det möjligt att en verkningstid på 30 minuter inte var tillräcklig lång för att ge fullgod ytanestesi hos häst. Fler studier behövs för att utvärdera om effekten av EMLA vid placering av venkateter hos häst kan förbättras med en förlängd verkningstid. En längre verkningstid skulle dock kunna påverka användbarheten av metoden i klinisk verksamhet där tiden ofta är begränsad (van Oostrom & Knowles 2018).

Hästarna i studien ägs av Sveriges lantbruksuniversitet och används i utbildning och forskning. Detta innebär att hästarna är vana vid, och tränade för, att genomgå olika former av provtagning där placering av venkateter ingår. Det upplevdes under försöksomgångarna att hästarna hade förväntningar på proceduren. Flera individer uppvisade tecken på stress redan vid tvätt av jugularområdet eller vid anläggande av stas. Det vill säga innan huden vidrörts med kanyl. Det är möjligt att hästarnas förväntningar på proceduren utifrån deras tidigare upplevelser påverkat resultaten. Om stress upplevdes redan innan ingreppet påbörjats kan det ha gett upphov till stressinducerad hyperalgesi (SIH) eller stressinducerad analgesi (SIA) vilket kan ge ökad eller minskad smärtupplevelse på grund av stresspåslag (Butler & Finn 2009; Jennings *et al.* 2014). Ytterligare en aspekt gällande studiepopulationen är att det oklart om hästarna använts till undervisning under samma dag eller inte. Om så är fallet kan det ha lett till trötthet vilket skulle kunna påverkat resultaten. Att genomföra liknande studier på en större studiepopulation eller på klientägda hästar som inte har vana av ingreppet skulle kunna ge mer information om hur försöks-hästarnas vana och förväntningar på ingreppet är en faktor att ta hänsyn till eller inte. En styrka med att studien utfördes på utbildnings- och försökshästar är att försöksomgångarna genomfördes i hästarnas hemmiljö. Miljön var alltså standardiserad och hästarna var vana vid miljön. Därmed bedöms påverkan från yttre faktorer varit mer kontrollerad i studien.

Det förelåg problem med bortfall av två hästar den sista försöksomgången. Att häst A fick uteslutas ur studien på grund av en kraftig beteendereaktion som ansågs vara i enlighet med avbrytningspunkten i det etiska tillståndet är anmärkningsvärt. Detta skedde under försöksomgången som ägde rum enbart två dagar efter föregående omgång. Det är möjligt att det korta tidsschemat bidragit till stress och senare till kraftigt aversivt beteende. I framtida studier är det önskvärt att standardisera tiden mellan försöksomgångar för att utesluta att tiden mellan omgångarna är en faktor. Häst D uteslöts på grund av hematombildning efter kanyltagning. Blodprov för koagulationsfaktorer togs av ansvarig veterinär för att utesluta koagulaopatier, och var inom referensintervall.

6. Konklusion

Syftet med studien var att undersöka om EMLA eller EMLA i kombination med subkutan lidokaininjektion minskar smärta och obehag hos häst vid placering av perifer venkateter i jugularvenen. Utifrån grad av smärta från subjektiv bedömning av beteende och utförda beteenden finns vissa indikationer på att EMLA i kombination med subkutan lidokain ger mer adekvat analgesi inför kanyllläggning än EMLA och placebo. Skillnaderna är dock inte signifikanta i jämförelse med placebo. Det finns också indikationer på att EMLA med en verkningstid på 30 minuter inte ger uppenbart bättre analgesi än placebo. Utifrån resultaten och tidigare studier på området är det sannolikt att en verkningstid på 30 minuter var för kort för att ge tillräcklig analgesi. Fler studier angående verkningstid krävs för att avgöra om en längre verkningstid av EMLA kan förbättra analgesin. Studien visar på stora individuella variationer i hur djur upplever och uppvisar tecken på smärta, vilket ställer stora krav på hur vi mest optimalt bör bedöma smärta hos häst.

Metoden som användes i försöket har flera möjliga förbättringsområden. Avsaknaden av blindning av *sham*-omgång kan ha påverkat resultatet. Använd metod för mätning med von Frey verkar inte ha fungerat optimalt. Tidsvariation mellan försöksomgångar kan också ha påverkat resultaten. Men viktigast av allt så har studien utförts på en mycket liten studiepopulation och alla delar har inte analyserats avseende signifikans. Resultaten behöver därmed bekräftas i en studie med en större, mer heterogen studiepopulation.

Referenser

- Aguggia, M. (2003). Neurophysiology of pain. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 24 Suppl 2, S57-60. <https://doi.org/10.1007/s100720300042>
- Amat, M., Camps, T. & Manteca, X. (2016). Stress in owned cats: behavioural changes and welfare implications. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18 (8), 577–586. <https://doi.org/10.1177/1098612X15590867>
- Arts, S.E., Abu-Saad, H.H., Champion, G.D., Crawford, M.R., Fisher, R.J., Juniper, K.H. & Ziegler, J.B. (1994). Age-related response to lidocaine-prilocaine (EMLA) emulsion and effect of music distraction on the pain of intravenous cannulation. *Pediatrics*, 93 (5), 797–801
- Ashley, F.H., Waterman-Pearson, A.E. & Whay, H.R. (2005). Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: Application to clinical practice and future studies. *Equine Veterinary Journal*, 37 (6), 565–575. <https://doi.org/10.2746/042516405775314826>
- Barletta, M. & Reed, R. (2019). Local anesthetics: Pharmacology and special preparations. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49 (6), 1109–1125. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.07.004>
- Bergman, F. (2021). *Effekter av topikal lokalanestetika*. [Avancerad nivå, A2E]. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-17108> [2023-09-27]
- Blood, D.C., Gay, C.C., Radostits, O.M. & Hinchcliff, K.W. (2000). *Veterinary Medicine: a Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 9. uppl. Saunders Ltd.
- Bufalari, A., Adami, C., Angeli, G. & Short, C.E. (2007). Pain assessment in animals. *Veterinary Research Communications*, 31 (1), 55–58. <https://doi.org/10.1007/s11259-007-0084-6>
- Bussi res, G., Jacques, C., Lainay, O., Beauchamp, G., Leblond, A., Cador , J.-L., Desmaizi res, L.-M., Cuvelliez, S.G. & Troncy, E. (2008). Development of a composite orthopaedic pain scale in horses. *Research in Veterinary Science*, 85 (2), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.10.011>
- Butler, R.K. & Finn, D.P. (2009). Stress-induced analgesia. *Progress in Neurobiology*, 88 (3), 184–202. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.04.003>
- Casey, R. (2006). Chapter 2 - Clinical problems associated with the intensive management of performance horses. In: Waran, N. (ed.) *The Welfare of Horses*. Springer Dordrecht. 19–44. https://www.researchgate.net/publication/226615424_Clinical_Problems_Associated_with_the_Intensive_Management_of_Performance_Horses

- Clarke, L., Garner, H. & Hatfield, D. (1982). Plasma-volume, electrolyte, and endocrine changes during onset of laminitis hypertension in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 43 (9), 1551–1555
- Crisi, P.E., De Santis, F., Giordano, M.V., Cerasoli, I., Colucci, F., Di Tommaso, M. & Luciani, A. (2021). Evaluation of eutectic lidocaine/prilocaine cream for jugular blood sampling in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23 (2), 185–189. <https://doi.org/10.1177/1098612X20917309>
- Dalla Costa, E., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E. & Leach, M.C. (2014). Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS ONE*, 9 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092281>
- Dinakar, P. & Stillman, A.M. (2016). Pathogenesis of pain. *Seminars in Pediatric Neurology*, 23 (3), 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2016.10.003>
- Dutta, S. (1999). Use of eutectic mixture of local anesthetics in children. *The Indian Journal of Pediatrics*, 66 (5), 707–715. <https://doi.org/10.1007/BF02726260>
- Dyson, S., Berger, J., Ellis, A.D. & Mullard, J. (2018). Development of an ethogram for a pain scoring system in ridden horses and its application to determine the presence of musculoskeletal pain. *Journal of Veterinary Behavior*, 23, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2017.10.008>
- Dyson, S. & Pollard, D. (2021). Application of the ridden horse pain ethogram to elite dressage horses competing in world cup grand prix competitions. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11 (5), 1187. <https://doi.org/10.3390/ani11051187>
- Dyson, S. & Pollard, D. (2022). Application of the ridden horse pain ethogram to horses competing in British eventing 90, 100 and novice one-day events and comparison with performance. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 12 (5), 590. <https://doi.org/10.3390/ani12050590>
- Dzikiti, T.B., Hellebrekers, L.J. & Van Dijk, P. (2003). Effects of intravenous lidocaine on isoflurane concentration, physiological parameters, metabolic parameters and stress-related hormones in horses undergoing surgery. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, 50 (4), 190–195. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2003.00523.x>
- Erber, R., Wulf, M., Becker-Birck, M., Kaps, S., Aurich, J.E., Möstl, E. & Aurich, C. (2012). Physiological and behavioural responses of young horses to hot iron branding and microchip implantation. *The Veterinary Journal*, 191 (2), 171–175. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.08.008>
- Erkert, R.S., Macallister, C.G., Campbell, G., Payton, M.E., Shawley, R. & Clarke, C.R. (2005). Comparison of topical lidocaine/prilocaine anesthetic cream and local infiltration of 2% lidocaine for episiotomy in mares. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28 (3), 299–304. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2005.00657.x>
- FASS (2023). *EMLA®*. Farmaceutiska specialiteter i Sverige. <https://www.fass.se/LIF/product?userType=0&nplId=19841101000029#dosage> [2023-09-22]

- Fjordbakk, C.T. & Haga, H.A. (2011). Effect of topical vapocoolant spray on response to arthrocentesis and intravenous catheterization in unsedated horses. *American Journal of Veterinary Research*, 72 (6), 746–750. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.6.746>
- Flecknell, P.A., Liles, J.H. & Williamson, H.A. (1990). The use of lignocaine-prilocaine local anaesthetic cream for pain-free venepuncture in laboratory animals. *Laboratory Animals*, 24 (2), 142–146. <https://doi.org/10.1258/002367790780890121>
- Gibbon, K.J., Cyborski, J.M., Guzinski, M.V., Viviano, K.R. & Trepanier, L.A. (2003). Evaluation of adverse effects of EMLA (lidocaine/prilocaine) cream for the placement of jugular catheters in healthy cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26 (6), 439–441. <https://doi.org/10.1046/j.0140-7783.2003.00536.x>
- Gleerup, K.B., Forkman, B., Lindegaard, C. & Andersen, P.H. (2015). An equine pain face. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 42 (1), 103–114. <https://doi.org/10.1111/vaa.12212>
- Gleerup, K.B. & Lindegaard, C. (2016). Recognition and quantification of pain in horses: A tutorial review. *Equine Veterinary Education*, 28 (1), 47–57. <https://doi.org/10.1111/eve.12383>
- Graubner, C., Gerber, V., Doherr, M. & Spadavecchia, C. (2011). Clinical application and reliability of a post abdominal surgery pain assessment scale (PASPAS) in horses. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 188 (2), 178–183. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.029>
- de Grauw, J.C. & van Loon, J.P.A.M. (2016). Systematic pain assessment in horses. *The Veterinary Journal*, 209, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.07.030>
- Guedes, A. (2017). Pain management in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 33 (1), 181–211. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.11.006>
- Gueguen, L., Lerch, N., Grandgeorge, M. & Hausberger, M. (2022). Testing individual variations of horses' tactile reactivity: when, where, how? *The Science of Nature*, 109 (5), 41. <https://doi.org/10.1007/s00114-022-01811-y>
- Halimaa, S.-L. (2003). Pain management in nursing procedures on premature babies. *Journal of Advanced Nursing*, 42 (6), 587–597. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2648.2003.02662.x>
- Hjelm-Björkman, A.K., Kapatkin, A.S. & Rita, H.J. (2011). Reliability and validity of a visual analogue scale used by owners to measure chronic pain attributable to osteoarthritis in their dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 72 (5), 601–607. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.5.601>
- Hood, D.M. (1999). Laminitis as a systemic disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 15 (2), 481–494. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30156-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30156-6)
- Hopkins, C.S., Buckley, C.J. & Bush, G.H. (1988). Pain-free injection in infants: Use of a lignocaine-prilocaine cream to prevent pain at intravenous induction of general anaesthesia in 1–5-year-old children. *Anaesthesia*, 43 (3), 198–201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1988.tb05539.x>

- Ing, E.B., Philteos, J., Sholohov, G., Kim, D.T., Nijhawan, N., Mark, P.W. & Gilbert, J. (2019). Local anesthesia and anxiolytic techniques for oculoplastic surgery. *Clinical Ophthalmology* (Auckland, N.Z.), 13, 153–160. <https://doi.org/10.2147/OPTH.S188790>
- Jennings, E.M., Okine, B.N., Roche, M. & Finn, D.P. (2014). Stress-induced hyperalgesia. *Progress in Neurobiology*, 121, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2014.06.003>
- Jiménez-García, A.M., Ruíz-Leyva, L., Cendán, C.M., Torres, C., Papini, M.R. & Morón, I. (2016). Hypoalgesia induced by reward devaluation in rats. *PLoS ONE*, 11 (10), e0164331. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164331>
- Johnson, E.O., Kamilaris, T.C., Chrousos, G.P. & Gold, P.W. (1992). Mechanisms of stress: A dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 16 (2), 115–130. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80175-7](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80175-7)
- Kuner, R. (2010). Central mechanisms of pathological pain. *Nature Medicine*, 16 (11), 1258–1266. <https://doi.org/10.1038/nm.2231>
- Le Bars, D., Gozariu, M. & Cadden, S.W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, 53 (4), 597–652
- Lehner, P.N. (1998). *Handbook of Ethological Methods*. Cambridge University Press.
- van Loon, J.P.A.M. & Van Dierendonck, M.C. (2018). Objective pain assessment in horses (2014–2018). *The Veterinary Journal*, 242, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.10.001>
- Machin, H., Kato, E. & Adami, C. (2019). Quantitative sensory testing with electronic von Frey anesthesiometer and von Frey filaments in nonpainful cats: a pilot study. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 46 (2), 251–254. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.09.00>
- McCarthy, R.N., Jeffcott, L.B. & Clarke, I.J. (1993). Preliminary studies on the use of plasma β -endorphin in horses as an indicator of stress and pain. *Journal of Equine Veterinary Science*, 13 (4), 216–219. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)81015-4](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)81015-4)
- McDonnell, S.M. (2003). *The Equid Ethogram: A Practical Field Guide to Horse Behavior*. USA: Eclipse Press.
- McGreevy, P.D. (2007). The advent of equitation science. *Veterinary Journal*, 174 (3), 492–500. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.09.008>
- Mogil, J.S. (2009). Animal models of pain: progress and challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 10 (4), 283–294. <https://doi.org/10.1038/nrn2606>
- Molony, V. & Kent, J.E. (1997). Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *Journal of Animal Science*, 75 (1), 266–272. <https://doi.org/10.2527/1997.751266x>
- Obel, N. (1948). *Studies on the Histopathology of Acute Laminitis*. Sverige: Almqvist & Wiksells Boktryckeri. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19522200184> [2023-09-18]

- van Oostrom, H. & Knowles, T.G. (2018). The clinical efficacy of EMLA cream for intravenous catheter placement in client-owned dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 45 (5), 604–608. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.03.009>
- Pagliara, E., Nicolo, A., Rossi, C., Cammaresi, C., Donadio, G. & Bertuglia, A. (2021). Transdermal application of anesthetic preparations is effective in increasing mechanical nociceptive threshold at perineural injection sites in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 103, 103689. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103689>
- Pierard, M., McGreevy, P. & Geers, R. (2019). Reliability of a descriptive reference ethogram for equitation science. *Journal of Veterinary Behavior*, 29, 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2018.10.001>
- Price, J., Catriona, S., Welsh, E.M. & Waran, N.K. (2003). Preliminary evaluation of a behaviour-based system for assessment of post-operative pain in horses following arthroscopic surgery. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 30 (3), 124–137. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2995.2003.00139.x>
- Pritchett, L.C., Ulibarri, C., Roberts, M.C., Schneider, R.K. & Sellon, D.C. (2003). Identification of potential physiological and behavioral indicators of postoperative pain in horses after exploratory celiotomy for colic. *Applied Animal Behaviour Science*, 80 (1), 31–43. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00205-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00205-8)
- Raekallio, M., Taylor, P.M. & Bennett, R.C. (1997). Preliminary investigations of pain and analgesia assessment in horses administered phenylbutazone or placebo after arthroscopic surgery. *Veterinary Surgery*, 26 (2), 150–155. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.1997.tb01478.x>
- Raja, S.N., Carr, D.B., Cohen, M., Finnerup, N.B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F., Mogil, J.S., Ringkamp, M., Sluka, K.A., Song, X.-J., Stevens, B., Sullivan, M., Tutelman, P., Ushida, T. & Vader, K. (2020). The revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161 (9), 1976–1982. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Reddy, C.G., Miller, J.W., Abode-Iyamah, K.O., Safayi, S., Wilson, S., Dalm, B.D., Fredericks, D.C., Gillies, G.T., Howard, M.A. & Brennan, T.J. (2018). Ovine model of neuropathic pain for assessing mechanisms of spinal cord stimulation therapy via dorsal horn recordings, von Frey filaments, and gait analysis. *Journal of Pain Research*, 11, 1147–1162. <https://doi.org/10.2147/JPR.S139843>
- Rédua, M.A., Valadão, C.A., Duque, J.C. & Balestrero, L.T. (2002). The pre-emptive effect of epidural ketamine on wound sensitivity in horses tested by using von Frey filaments. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 29 (4), 200–206. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2995.2002.00083.x>
- Rietmann, T.R., Stauffacher, M., Bernasconi, P., Auer, J.A. & Weishaupt, M.A. (2004). The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, 51 (5), 218–225. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2004.00627.x>

- Riviere, J.E. & Papich, M.G. (2018). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 10. uppl., John Wiley and Sons, Inc. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=5167239> [2020- 11-04]
- Rogers, T.L. & Ostrow, C.L. (2004). The use of EMLA cream to decrease venipuncture pain in children. *Journal of Pediatric Nursing*, 19 (1), 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.pedn.2003.09.005>
- Saul, D., Roch, J., Lehmann, W. & Dresing, K. (2020). Infiltrationsanästhesie. *Operative Orthopädie und Traumatologie*, 32 (1), 4–12. <https://doi.org/10.1007/s00064-019-00630-1>
- Scholz, J. & Woolf, C.J. (2002). Can we conquer pain? *Nature Neuroscience*, 5 (11s), 1062–1067. <https://doi.org/10.1038/nn942>
- SFS 2018:1192. *Djurskyddslagen*. Stockholm: Näringsdepartementet. https://www.riksdagen.se/sv/dokument-och-lagar/dokument/svensk-forfattningssamling/djurskyddslag-20181192_sfs-2018-1192/ [2023-12-18]
- Sjaastad, O.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2. uppl., Scandinavian Veterinary Press.
- Spagnuolo, O.S.B., Incorvaia, D.C., Johnson, E.T. & Roberts, E.K. (2021). Chapter 1 - A question of behaviors: how to design, test, and use an ethogram. I: Zimbler-DeLorenzo, H. & Margulis, S.W. (red.) *Exploring Animal Behavior in Laboratory and Field*. 2. uppl., Academic Press. 3–17. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821410-7.00023-6>
- Sutton, G.A., Dahan, R., Turner, D. & Paltiel, O. (2013). A behaviour-based pain scale for horses with acute colic: Scale construction. *The Veterinary Journal*, 196 (3), 394–401. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.10.008>
- Söbbeler, F.J. & Kästner, S.B. (2018). Effects of transdermal lidocaine or lidocaine with prilocaine or tetracaine on mechanical superficial sensation and nociceptive thermal thresholds in horses. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 45 (2), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2017.10.003>
- Taylor, P.M., Pascoe, P.J. & Mama, K.R. (2002). Diagnosing and treating pain in the horse: Where are we today? *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 18 (1), 1–19. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(02\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(02)00009-3)
- Torcivia, C. & McDonnell, S. (2021). Equine discomfort ethogram. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11 (2), 580. <https://doi.org/10.3390/ani11020580>
- Wagner, A.E. (2010). Effects of stress on pain in horses and incorporating pain scales for equine practice. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 26 (3), 481–492. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.07.001>
- Wagner, K.A., Gibbon, K.J., Strom, T.L., Kurian, J.R. & Trepanier, L.A. (2006). Adverse effects of EMLA (lidocaine/prilocaine) cream and efficacy for the placement of jugular catheters in hospitalized cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8 (2), 141–144. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2005.10.002>
- Yanagitate, F. & Strichartz, G.R. (2007). Local anesthetics. *Handbook of Experimental Pharmacology*, (177), 95–127. https://doi.org/10.1007/978-3-540-33823-9_4

Young, S.S., Schwartz, R. & Sheridan, M.J. (1996). EMLA cream as a topical anesthetic before office phlebotomy in children. *Southern Medical Journal*, 89 (12), 1184–1187.
<https://doi.org/10.1097/00007611-199612000-00010>

Populärvetenskaplig sammanfattning

När ett djur blir sjukt eller när ett djur behöver provtas i forskning och undervisning är det vanligt att en nål placeras in i djurets blodkärl. Anledningen till att en nål, eller så kallad kanyl, placeras kan vara att flera blodprover ska tas eller att mediciner eller vätska ska ges direkt in i blodet. Ibland används kanylen under längre tid, då används ofta en så kallad permanent venkateter. En sådan kanyl är gjord för att kunna sitta i blodkärl under längre tid och är grövre än en kanyl som tas bort direkt. Att bli stucken med en kanyl gör ont. Det finns idag olika sätt för att bedöva huden inför placering av kanyl in i blodkärl för att göra att det känns mindre. En metod för bedövning är att sticka med en mindre nål under huden och spruta in bedövningsmedel. En annan metod är bedövning med hjälp av så kallad EMLA-kräm vilket är en lokalbedövningskräm som läggs på huden innan nålstick. EMLA-kräm används ofta på människa, framför allt på barn, inför nålstick och fungerar bra. Hur bra EMLA-kräm fungerar vid nålstick på djur har undersökts på flera olika djurslag, bland annat hund, katt, kanin, get och råtta. EMLA har visats ge bra bedövning på hund, katt och kanin, men mindre bra på råtta och get. Det finns idag ingen som undersökt hur bra EMLA-kräm fungerar som bedövning på häst inför placering av permanent venkateter. Syftet med detta arbete var därför att undersöka om EMLA-kräm eller EMLA-kräm i kombination med att spruta in bedövningsmedel under huden gör att hästarna upplever mindre smärta när venkateter sticks in i halsvenen.

Vi undersökte frågan med hjälp av åtta hästar där varje häst var med i fyra försöksomgångar. Av de fyra försöksomgångarna så placerades kanyl i halsvenen tre av gångerna. En av gångerna låtsades vi lägga en kanyl men nålen rörde aldrig hästens hud. Anledningen att vi gjorde detta var för att se hur hästarna betedde sig bara av att en nål kom nära huden. Innan kanylen skulle placeras så fick hästarna olika behandling. En gång fick de EMLA-kräm över blodkärl i 30 minuter och koksalt sprutades in under huden. En gång fick de EMLA-kräm över blodkärl i 30 minuter och bedövningsmedel sprutades in under huden. En gång fick de så kallad placebo-kräm, alltså kräm som såg ut som EMLA-kräm men som inte innehöll bedövningsmedel, över blodkärl i 30 minuter och koksalt sprutades in under huden. Anledningen att koksalt och placebo-kräm användes var att personerna som var med på försöket inte skulle veta vilka hästar som fått bedövning och inte. Alla hästarna fick alltså en kräm över kärlet och genomskinlig vätska sprutades in under

huden utan att personer som närvarade visste om kräm och/ eller vätska som sprutats in innehöll bedövningsmedel eller inte. Efter att 55 minuter gått från att kräm lades på huden så placerades venkateter i halsvenen på hästarna. Sedan försökte vi bedöma om de olika behandlingarna gett hästarna någon grad av bedövning eller inte, utan att veta vilken häst som fått vilken bedövning vilken gång.

För att bedöma om bedövningen fungerade bedömdes hästarnas beteende och hudkänslighet. Bedömning av hästarnas beteende under placering av kanyl utfördes på två olika sätt. Först genom att personen som placerade kanylen bedömde hästarnas grad av smärta, grad av stress, grad av irritation, grad av rädsla och grad av svårighet att placera kanyl subjektivt på en skala mellan 0–4. Sedan genom att titta på filmer i efterhand från när kanyl placerades. För att studera filmerna skapades och användes beteendeprotokoll, eller så kallat etogram. Det ena etogrammet innehöll 16 olika beteenden som var noga beskrivna. När man tittade på filmerna antecknades varje gång hästen utförde något av de 16 beteendena. Det andra etogrammet innehöll beskrivningar av hästarnas huvudposition. Hudkänsligheten bedömdes med hjälp av så kallade von Frey-filament. von Frey-filament orsakar ett specifikt tryck på huden och användes för att kunna jämföra hur hästarna reagerade vid beröring med och utan bedövning. Resultaten sammanställdes och de olika behandlingsomgångarna jämfördes med varandra med avseende på de tre olika bedömningskategorierna.

Resultaten pekade på att EMLA-kräm tillsammans med bedövningsmedel som sprutas in under huden gav bäst bedövning inför att kanyl placerades i halsvenen, men resultaten var inte helt tydliga. Det som sågs var att den subjektiva bedömningen av grad av smärta, irritation, rädsla och svårighet vid placering av kanyl bedömdes lägst i behandlingsomgången med EMLA och bedövningsmedel under huden. Vid bedömning av beteende med hjälp av etogram var resultaten inte lika tydliga. Det som sågs var att hästarna som fått bara EMLA-kräm eller placebo-kräm tenderade att röra sig mer, att titta mer mot kanylläggaren och att nicka med huvudet. Ökad rörelse och onormal rörelse av huvud och hals är beteenden som kan indikera att hästarna har ont. Men andra beteendekategorier skiljde inte mellan behandlingsgrupperna, vilket gör att det inte heller här är helt tydligt vilken behandling som gav bäst bedövning. Huvudpositioneringen skiljde inte heller mellan behandlingsgrupperna. Gällande mätning av hudkänslighet sågs inte heller några tydliga skillnader i resultat. Resultaten visade dock på stora individuella skillnader i hur hästar uppvisar tecken på smärta. Vissa individer var betydligt mer uttrycksfulla än andra och uppvisade många beteenden under samtliga omgångar medan andra var med stillastående. Det bekräftade därmed att den svårighet som finns med att bedöma smärta på häst.

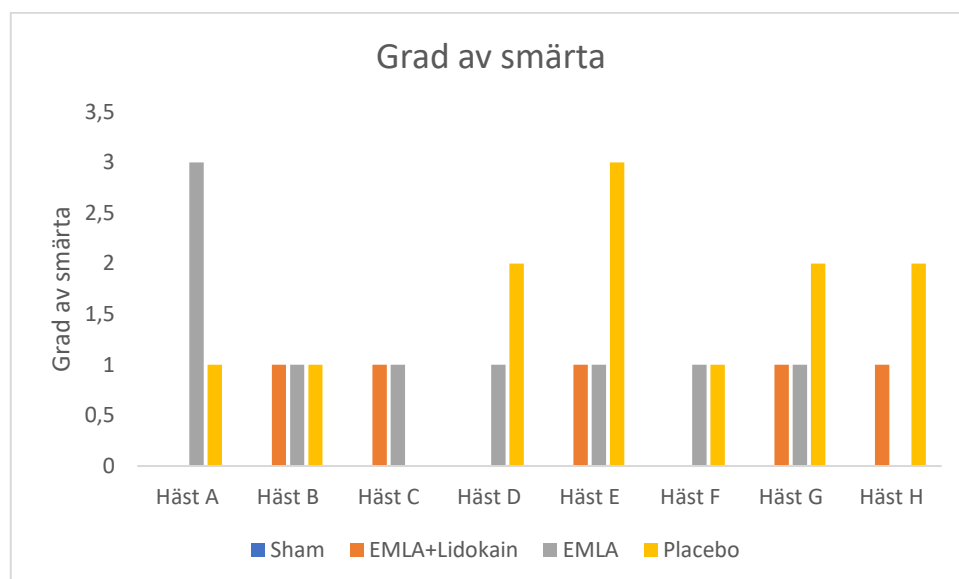
Att hitta sätt att bedöva hästar och andra djur inför placering av kanyl skulle minska smärtan hos djuren och därmed ge upphov till bättre djurskydd och djurvälstånd. Att det finns indikationer på att EMLA-krem tillsammans med lokalbedövningsmedel under huden gör att hästarna upplevde mindre smärta motiverar att fler undersökningar gällande bedövning med fler hästar utförs. Det fanns också vissa indikationer på att verkningstiden som användes av EMLA-krem kan ha varit för kort för att ge tillräcklig bedövning. Det skulle därmed även behöva utföras undersökningar med en annan verkningstid för att se om det kan ge hästarna bättre bedövning inför placering av kanyl.

Tack

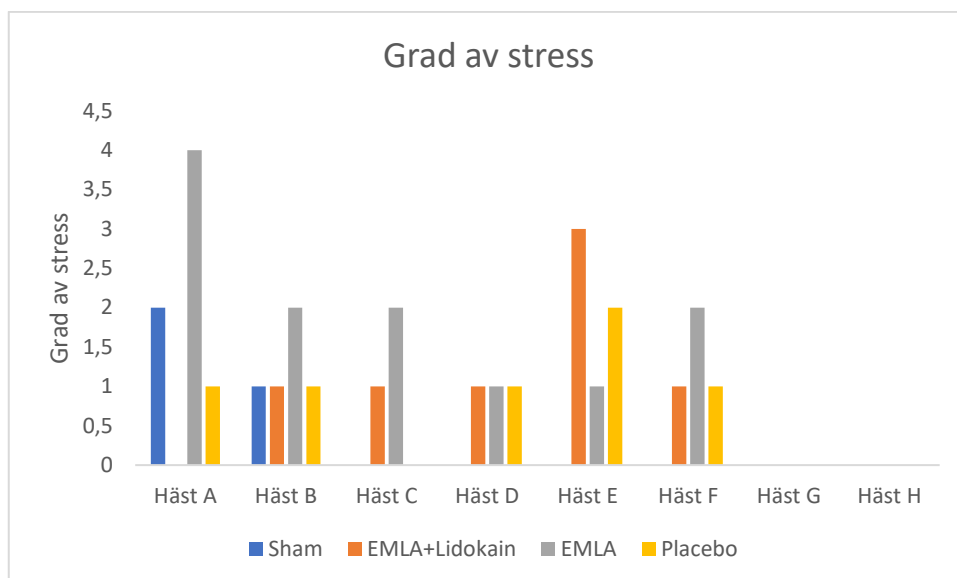
Jag vill tacka mina handledare Carl Ekstrand, Eva Sandberg och Minerva Löwgren för hjälp och stöttning i både skriftligt arbete och praktiskt försök. Jag vill också passa på att tacka Katrina Ask för all handledning, stöttning och outhärlig hjälp vid de praktiska momenten. Tack till Malin Erkas som på kort varsel kunde hoppa in vid de praktiska momenten och gav värdefull handräddning som möjliggjorde att försöken kunde genomföras i tid. Extra stort tack till er som närvarade under försökskvällarna och förutom att göra försöket möjligt också gav många skratt och roliga diskussioner som gjorde att tiden i stallarna gick lite fortare. Inte minst tack till alla hästarna som med sina egenheter också gav många skratt. Det har varit roligt att genomföra det här examensarbetet som jag hoppas ska kunna bidra till ökad djurvälstånd i framtiden.

Bilaga 1

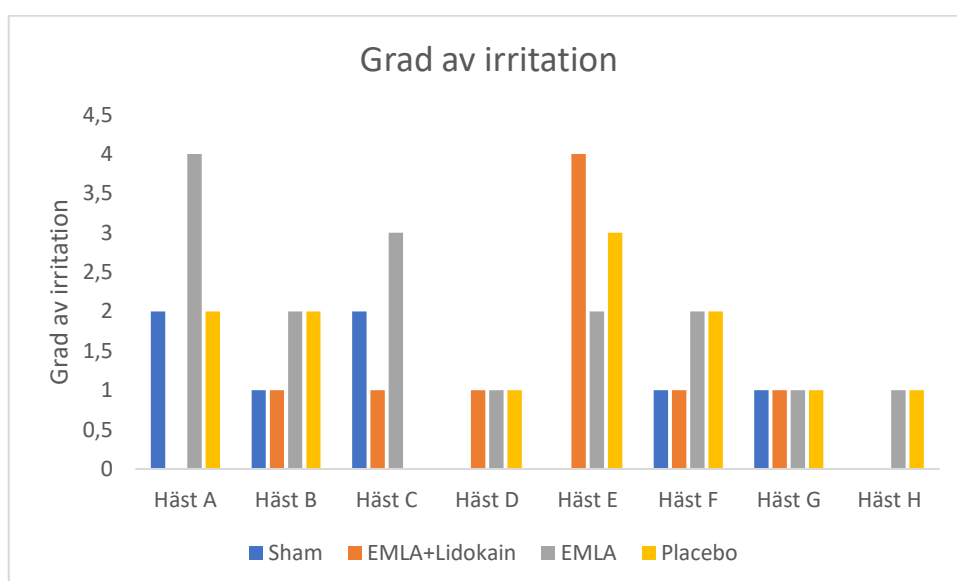
Figurer med individuella jämförelser för kategorierna grad av smärta (figur 23), grad av stress (figur 24), grad av irritation (figur 25), grad av rädsla (figur 26) och grad av svårighet vid kanylläggning (figur 27). Utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende.



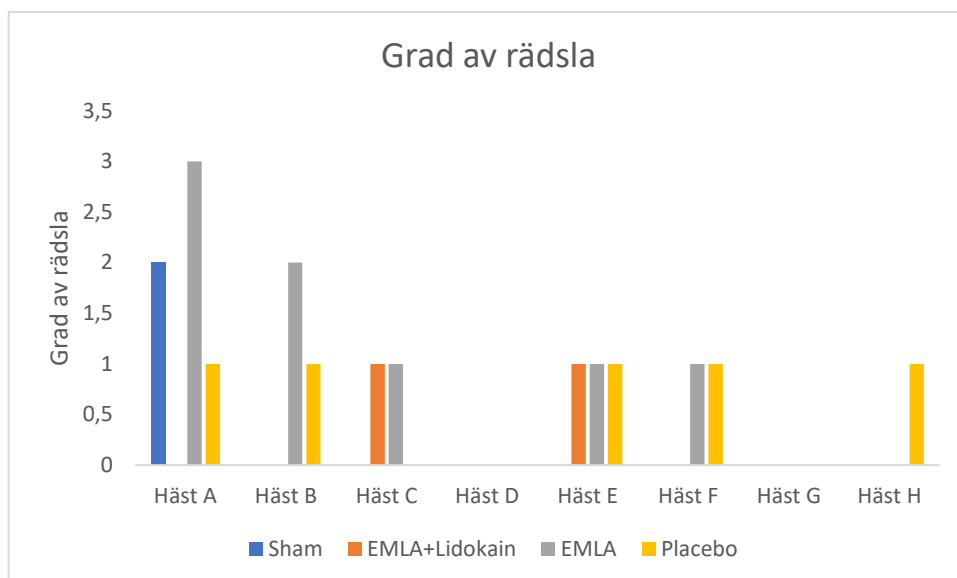
Figur 23: Resultat med individuella jämförelser för grad av smärta utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende under kanylläggning. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ingen smärta och grad 4 motsvara mycket stor smärta. Häst A och häst C exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende respektive hematombildning varav behandlingsomgång EMLA+lidokain saknas för häst A och behandlingsomgång med placebo saknas för häst C.



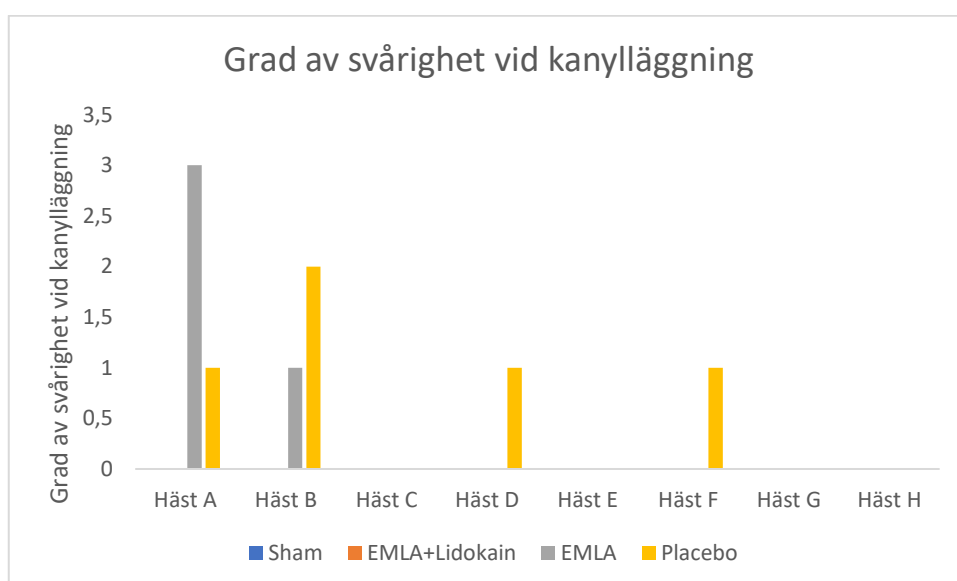
Figur 24: Resultat med individuella jämförelser för grad av stress utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende under kanylläggning. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ej stressad och grad 4 motsvara mycket stressad. Häst A och häst C exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende respektive hematombildning varav behandlingsomgång EMLA+lidokain saknas för häst A och behandlingsomgång med placebo saknas för häst C.



Figur 25: Resultat med individuella jämförelser för grad av irritation utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende under kanylläggning. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ingen irritation och grad 4 motsvara mycket stor irritation. Häst A och häst C exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende respektive hematombildning varav behandlingsomgång EMLA+lidokain saknas för häst A och behandlingsomgång med placebo saknas för häst C.



Figur 26: Resultat med individuella jämförelser för grad av rädsla utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende under kanyllläggning. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar ingen rädsla och grad 4 motsvara mycket stor rädsla. Häst A och häst C exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende respektive hematombildning varav behandlingsomgång EMLA+lidokain saknas för häst A och behandlingsomgång med placebo saknas för häst C.

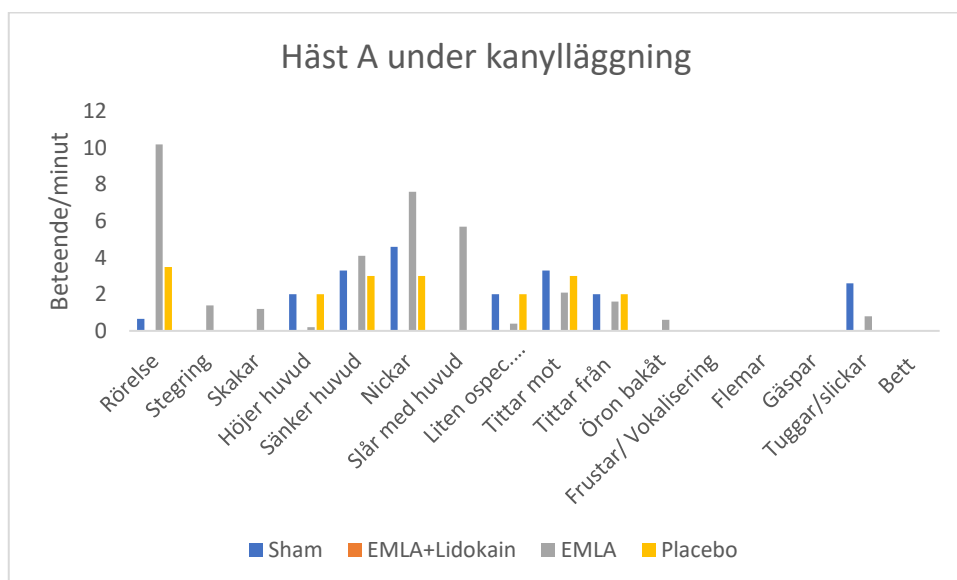


Figur 27: Resultat med individuella jämförelser för grad av svårighet vid kanyllläggning utgående från protokoll för subjektiv bedömning av beteende under kanyllläggning. Gradering mellan noll och fyra där grad 0 motsvarar att kanyllläggningen gick snabbt och enkelt och grad 4 motsvarar att kanyl ej gick att sätta. Häst A och häst C exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende respektive hematombildning varav behandlingsomgång EMLA+lidokain saknas för häst A och behandlingsomgång med placebo saknas för häst C.

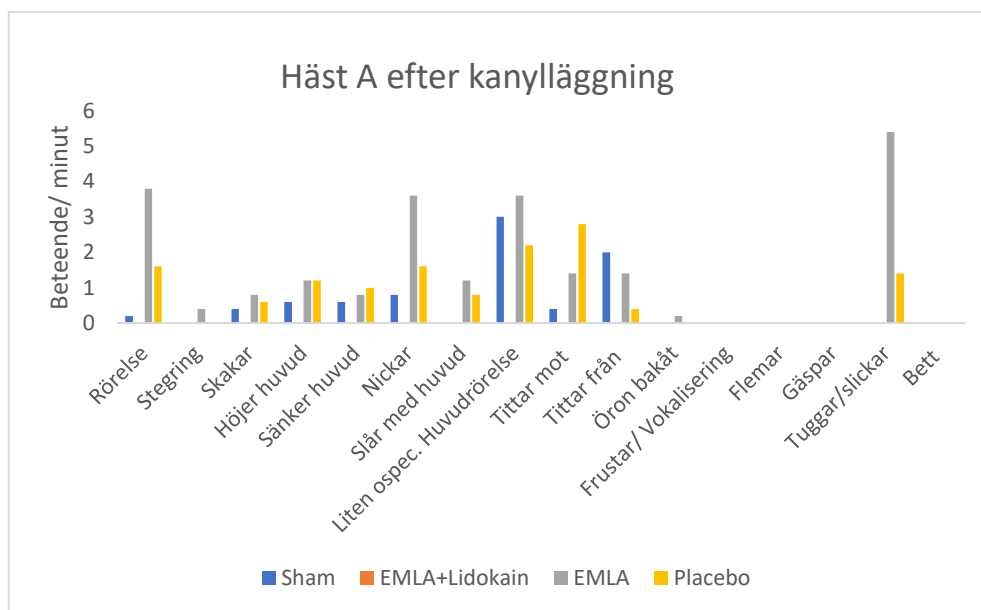
Bilaga 2

Individkurvor över beteenden utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende under och efter kanyllläggning. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Häst A redovisas i figur 28 och 29 för beteende/min under respektive efter kanyllläggning.

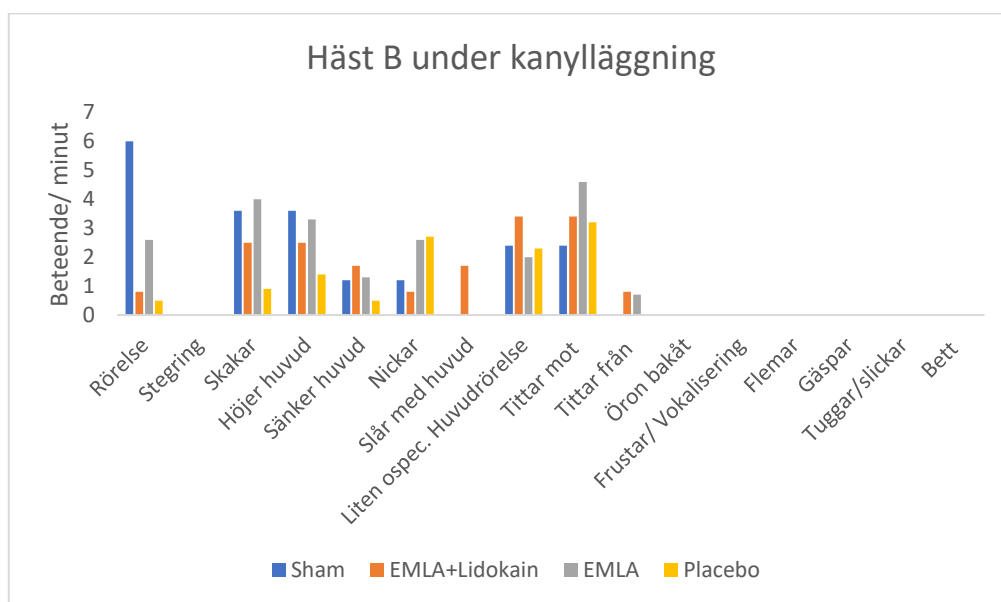


Figur 28: Stapeldiagram häst A med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna. Häst A exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende som var i enlighet med brytpunkt i det etiska tillståndet varav behandlingsomgång med EMLA+lidokain saknas.

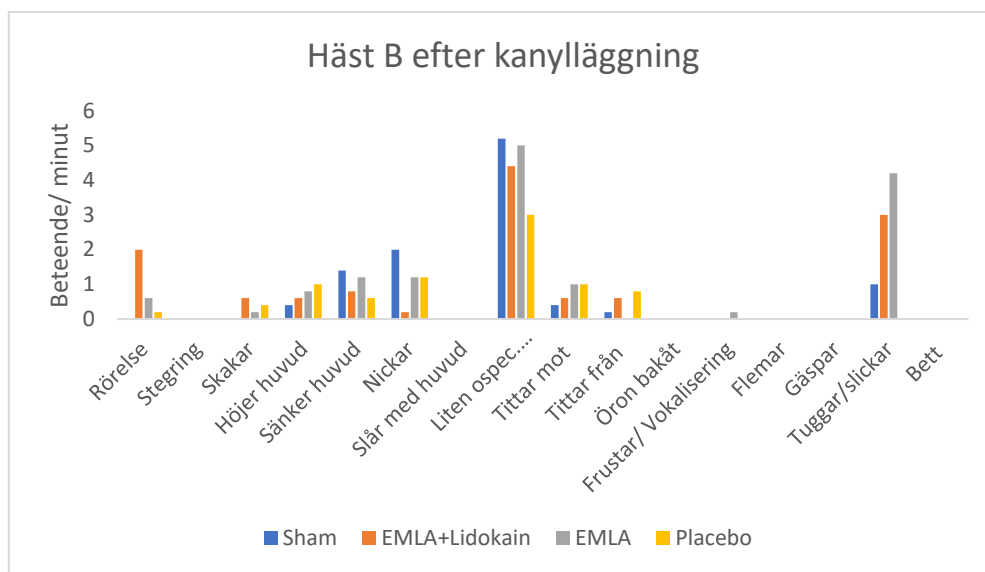


Figur 29: Stapeldiagram häst A med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanylläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna. Häst A exkluderades ur försöket inför sista försöksomgången på grund av kraftigt beteende som var i enlighet med brytpunkt i det etiska tillståndet varav behandlingsomgång med EMLA+lidokain saknas

Häst B redovisas i figur 30 och 31 för beteende/min under respektive efter kanylläggning.

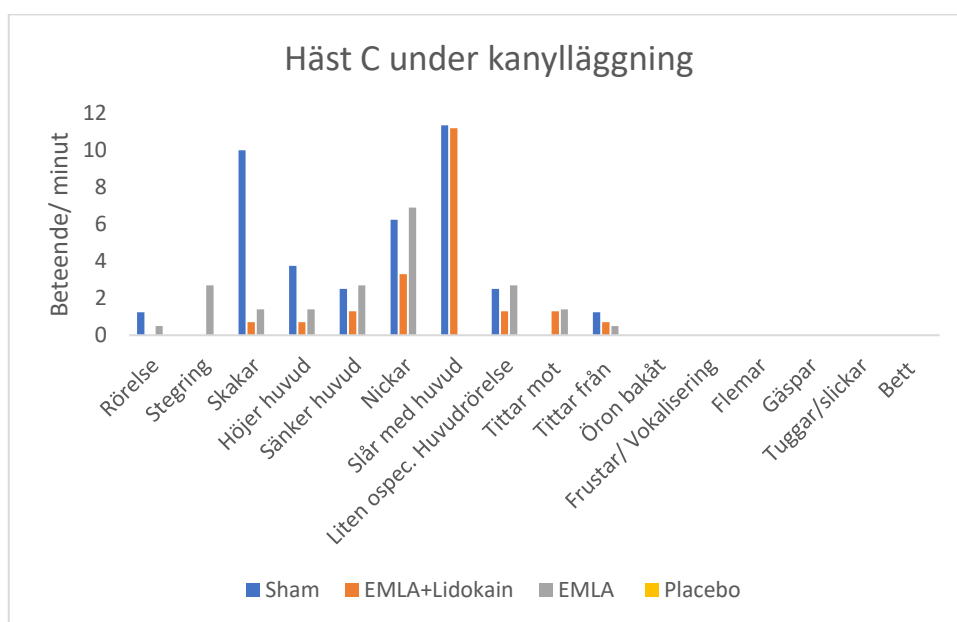


Figur 30: Stapeldiagram häst B med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanylläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

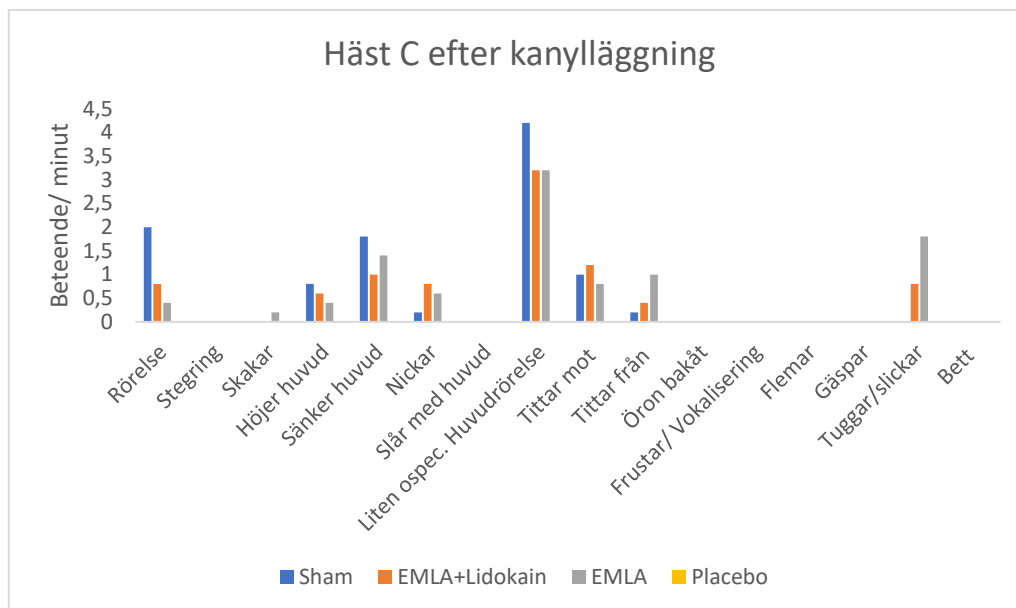


Figur 31: Stapeldiagram häst B med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanylläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Häst C redovisas i figur 32 och 33 för beteende/min under respektive efter kanylläggning.

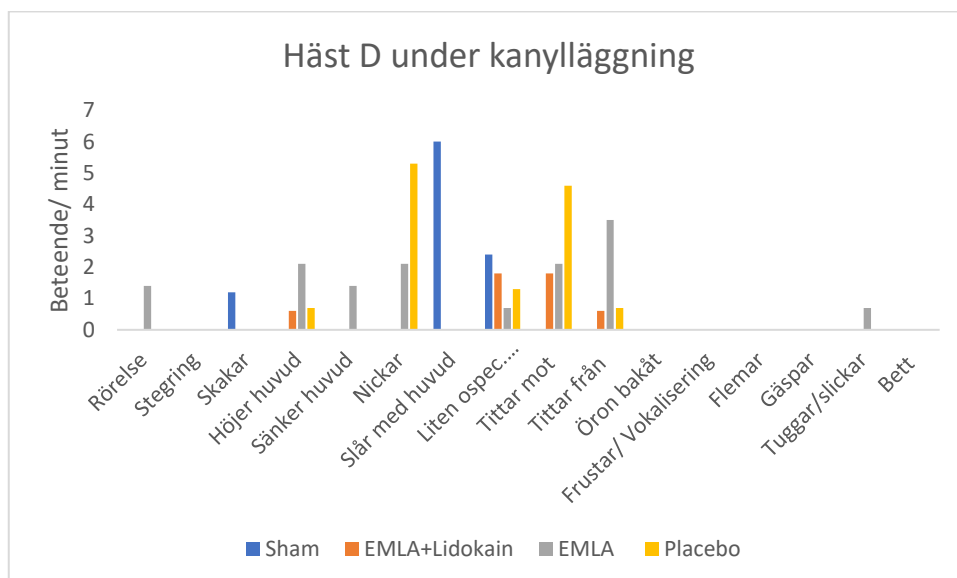


Figur 32: Stapeldiagram häst C med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanylläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurer. Häst C exkluderas ur försöket inför sista behandlingsomgången på grund av hematombildning varav behandling med placebo saknas.

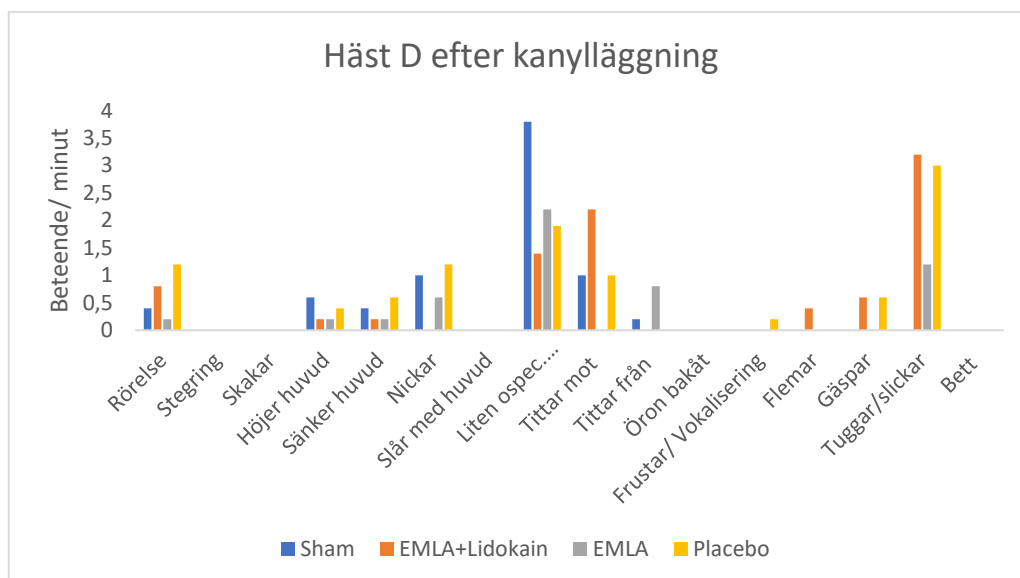


Figur 33: Stapeldiagram häst C med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurer. Häst C exkluderades ur försöket inför sista behandlingsomgången på grund av hematombildning varav behandling med placebo saknas.

Häst D redovisas i figur 34 och 35 för beteende/min under respektive efter kanyllläggning.

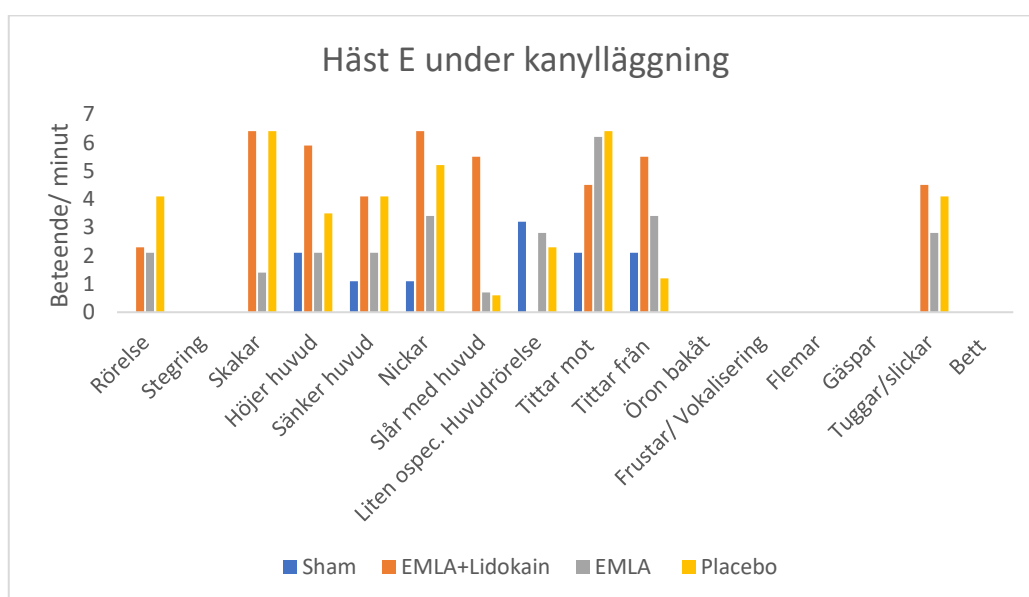


Figur 34: Stapeldiagram häst D med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

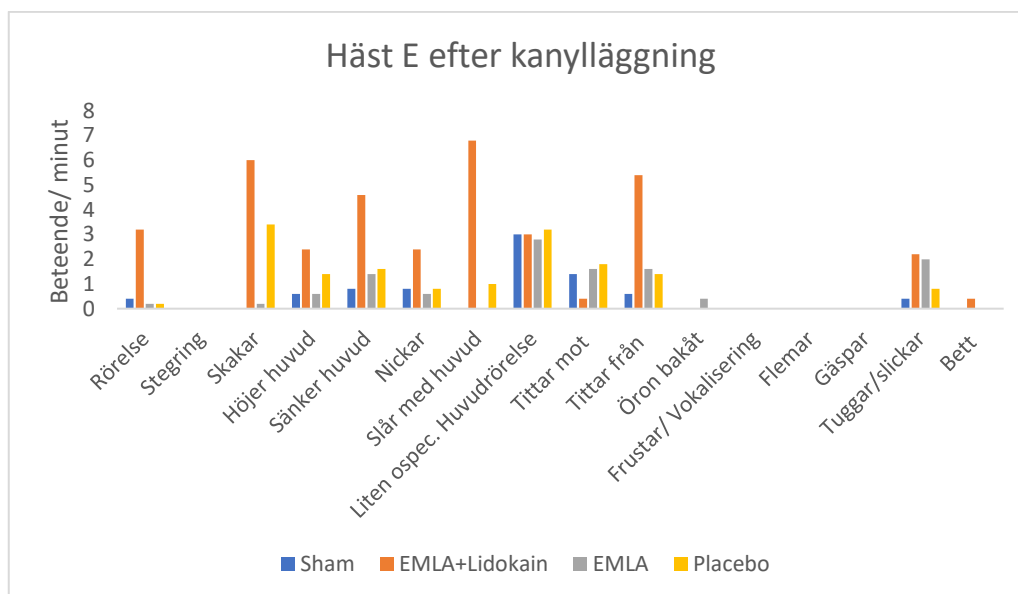


Figur 35: Stapeldiagram häst D med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Häst E redovisas i figur 36 och 37 för beteende/min under respektive efter kanyllläggning.

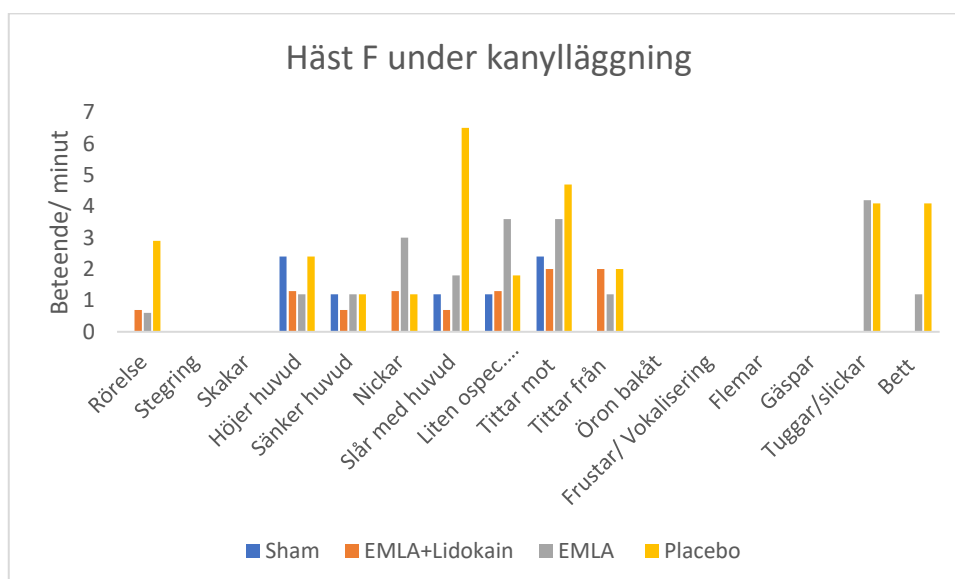


Figur 36: Stapeldiagram häst E med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

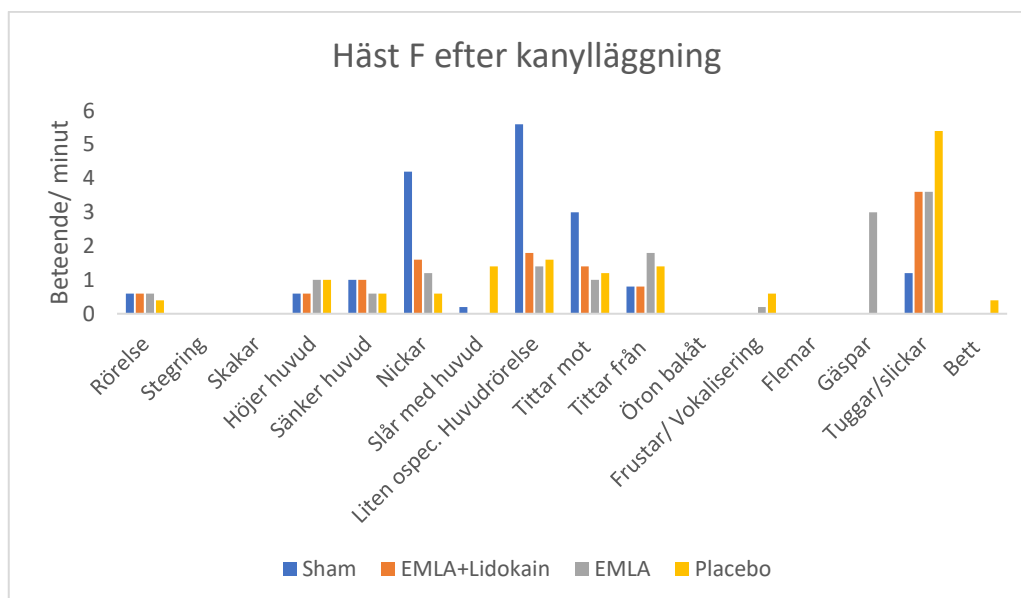


Figur 37: Stapeldiagram häst E med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanylläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Häst F redovisas i figur 38 och 39 för beteende/min under respektive efter kanylläggning.

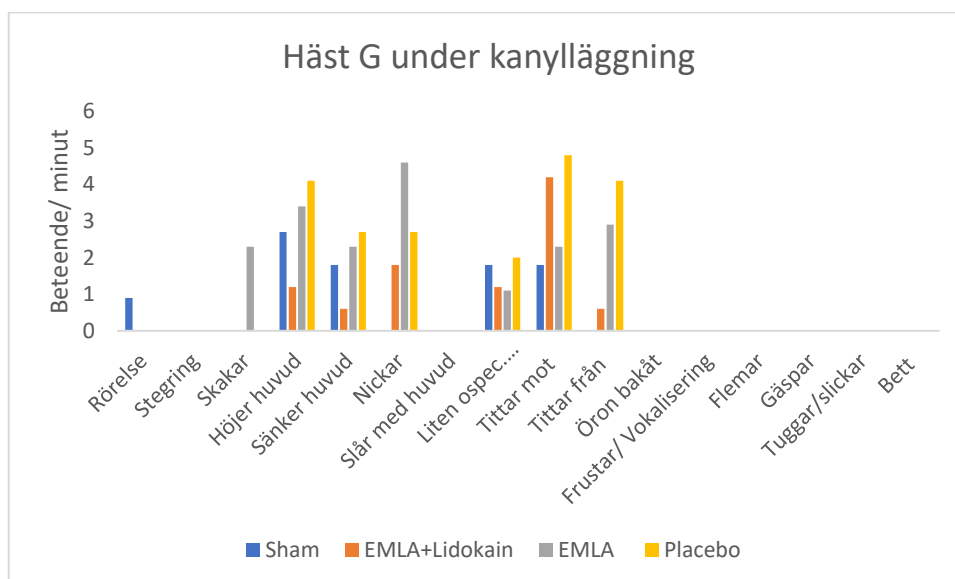


Figur 38: Stapeldiagram häst F med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanylläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

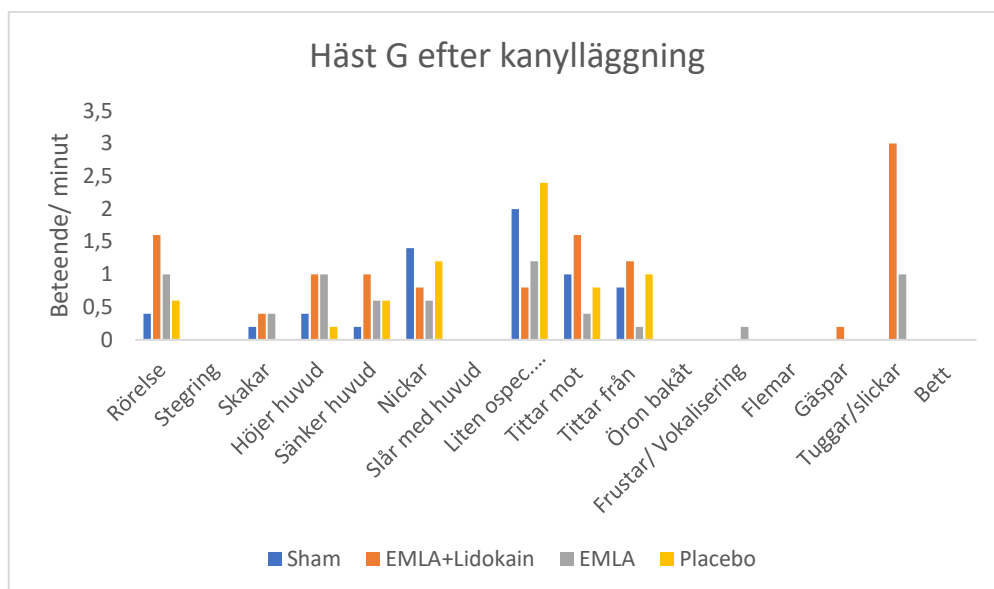


Figur 39: Stapeldiagram häst F med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Häst G redovisas i figur 40 och 41 för beteende/min under respektive efter kanyllläggning.

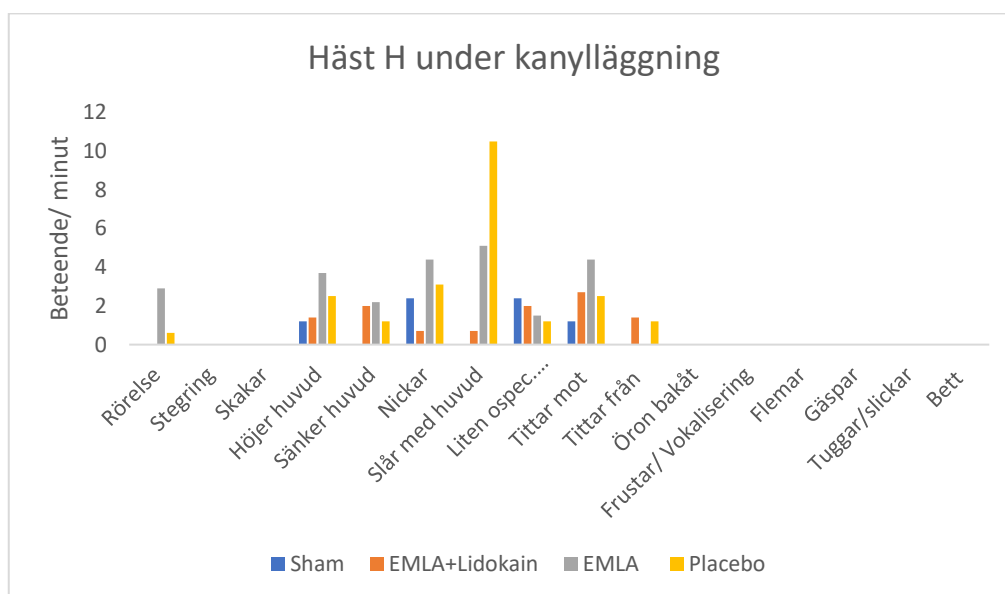


Figur 40: Stapeldiagram häst G med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

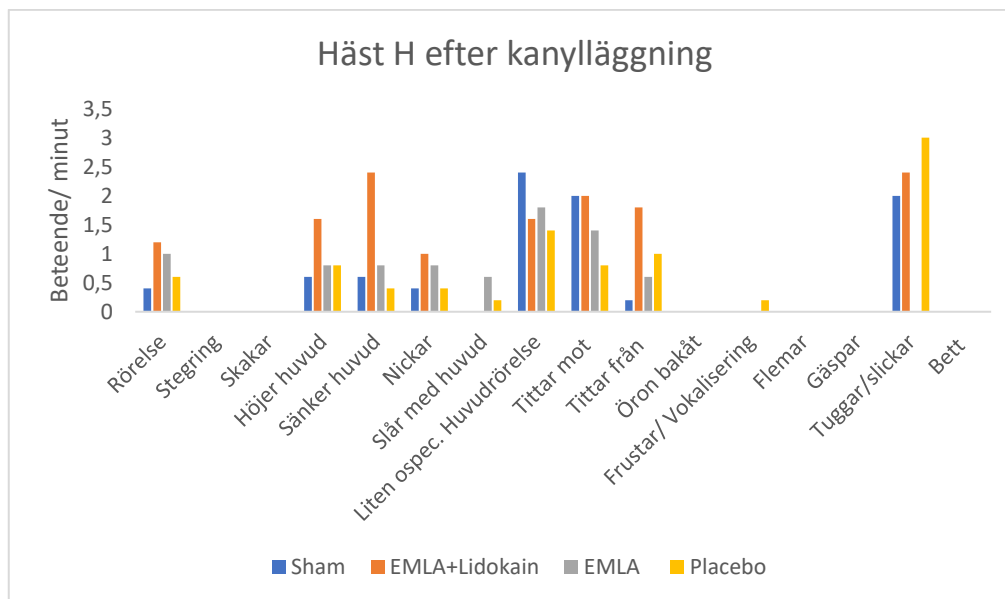


Figur 41: Stapeldiagram häst G med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Häst H redovisas i figur 42 och 43 för beteende/min under respektive efter kanyllläggning.



Figur 42: Stapeldiagram häst H med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar under kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.



Figur 43: Stapeldiagram häst H med jämförelse av beteende mellan behandlingsomgångar efter kanyllläggning med beteendekategorier utgående från etogram för kontinuerlig registrering av beteende. Beteenden som uppvisats av två eller färre individer och underkategorier av kategorierna rörelse och vokalisering redovisas ej i figurerna.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.