

# Animal Sciences Group

Kennispartner voor de toekomst



process for progress

Rapport 201

Verdoven van slachtvarkens met CO<sub>2</sub>.  
Een pilot-onderzoek naar het effect van het  
toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> concentratie op  
dierenwelzijn.

Februari 2009



ANIMAL SCIENCES GROUP  
WAGENINGEN UR

## Colofon

### Uitgever

Animal Sciences Group van Wageningen UR  
Postbus 65, 8200 AB Lelystad  
Telefoon 0320 - 238238  
Fax 0320 - 238050  
E-mail [Info.veehouderij.ASG@wur.nl](mailto:Info.veehouderij.ASG@wur.nl)  
Internet <http://www.asg.wur.nl>

### Redactie

Communication Services

### Aansprakelijkheid

Animal Sciences Group aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

### Liability

Animal Sciences Group does not accept any liability for damages, if any, arising from the use of the results of this study or the application of the recommendations.

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

## Abstract

A pilot experiment has been carried out to investigate the influence of adding O<sub>2</sub> to a CO<sub>2</sub> stunning concentration on animal welfare of slaughter pigs. Animal welfare was judged based on EEG, an ECG measurements, behavior, and vocalization. This research showed no clear indication that adding O<sub>2</sub> to a CO<sub>2</sub> concentration improves animal welfare.

**Keywords** CO<sub>2</sub> stunning, animal welfare, hart rhythm, slaughter pigs, EEG, ECG.

## Referaat

ISSN 1570 - 8616

## Auteur(s)

M. Mul  
M. Gerritzen  
V. Hindle  
H. Reimert

**Titel:** Verdoven van slachtvarkens met CO<sub>2</sub>.

Een pilot-onderzoek naar het effect van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> concentratie op dierenwelzijn.

Rapport 201

## Samenvatting

Een pilot experiment is uitgevoerd naar de effecten van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan gasmengsels met CO<sub>2</sub> op het dierenwelzijn tijdens het verdoven van slachtvarkens. Uit ECG-, EEG metingen en gedragsobservaties lijken geen duidelijke aanwijzingen van verbetering in dierenwelzijn door het toevoegen van O<sub>2</sub>.



Rapport 201

Verdoven van slachtvarkens met CO<sub>2</sub>.  
Een pilot-onderzoek naar het effect van het  
toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> concentratie op  
dierenwelzijn.

Stunning of slaughter pigs with CO<sub>2</sub>. A pilot  
research to the effect of adding O<sub>2</sub> to a CO<sub>2</sub>  
concentration on animal welfare.

M. Mul

M. Gerritzen

V. Hindle

H. Reimert

Februari 2009

**Dit onderzoek is uitgevoerd binnen het Beleidsondersteunend onderzoek in het kader van LNV-programma BO-07-011 Dierenwelzijn, projectnummer BO-07-011-38.**

## Voorwoord

In de samenleving en de Nederlandse politiek is er een brede discussie rond het verdoven van slachtvarkens met koolstofdioxide (CO<sub>2</sub>). Belangrijkste vragen hierbij hebben betrekking op negatieve effecten van koolstofdioxide op het welzijn van varkens tijdens de inductie van bewusteloosheid.

De Animal Sciences Group is gevraagd om te onderzoeken of alternatieve gasmengsels en/of gasconcentraties een verbetering in het dierenwelzijn van varkens kunnen bewerkstellingen tijdens het verdoven van slachtvarkens met CO<sub>2</sub>.

In dit rapport worden de resultaten van een verkennend pilot-onderzoek weergegeven. Conclusies en de daaruit volgende aanbevelingen kunnen een basis zijn voor verdere meningsvorming over het verdoven van slachtvarkens met koolstofdioxide.

Dr. ing. M.A. (Marien) Gerritzen.



## Samenvatting

Wettelijk is vastgelegd dat dieren moeten worden verdoofd voorafgaande aan doden door verbloeding. De belangrijkste eis hierbij is dat de verdovingsmethode een directe bewusteloosheid induceert of, als dit niet het geval is, angst, pijn, stress en onnodig lijden voorkomt. In de tweede plaats dient verdoving voldoende bewegingsloosheid te bewerkstelligen om de verbloedingshandeling adequaat te kunnen verrichten. Een adequate verbloeding is naast een procesmatige ook een vereiste om het welzijn van de dieren te garanderen; hiermee voorkomt men immers dat dieren hun bewustzijn terugkrijgen tijdens het slachten. Bij voldoende verdoving is er sprake van bewusteloosheid (anesthesie) en gevoelloosheid (analgesie) voor pijn en pijnprikkels. Fysiologisch gezien betekent dit dat de organisatie en coöperatie tussen neuronen en binnen neuronen zodanig is veranderd dat prikkels niet meer worden waargenomen. Door het maken van een hersenfilm of elektro-encefalogram (EEG) kan men deze verandering meten. Een acute verandering kan worden geïnduceerd door het opwekken van een algemeen epileptiform insult (elektrische verdoving) of door een trauma (mechanische verdoving). Een langzame of geleidelijke verandering van het EEG kunnen we bereiken door het toedienen van chemische stoffen in gasvorm of door een vloeistofinjectie (anaesthetica).

Voor het verdoven van slachtvarkens worden in principe twee methoden in de huidige praktijk toegepast, ten eerste elektrische bedwelming en ten tweede CO<sub>2</sub> verdoving. Bij CO<sub>2</sub> verdoving worden varkens ondergedompeld in een hoge (>80%) CO<sub>2</sub> concentratie. Internationaal lopen de meningen uiteen over de mate van ongerief die slachtdieren ervaren tijdens de inademing van hoge CO<sub>2</sub> concentraties (Lambooij, 1999; Gerritzen 2000; Raj, 1995; Martoft, 2001). Bekend is dat het inademen van hoge concentraties CO<sub>2</sub> in lucht leidt tot pijn bij de ademhaling hetgeen zich uit in het zwaar ademen, gillen en afwijkend gedrag (Hoenderken, 1983; Troeger en Wolterdorf, 1991; EFSA, 2004). Het toevoegen van O<sub>2</sub> aan het CO<sub>2</sub> mengsel kan de mate van stress reduceren. Dit is aangetoond bij onderzoeken met ratten (Coenen et al., 1995; Danneman et al., 1997) en pluimvee (Lambooij et al., 1999; Coenen et al., 2000; Gerritzen et al., 2000; Barton Gade et al., 2001). Voor pluimvee is om deze reden een twee-fasen verdoving met CO<sub>2</sub> ontwikkeld waarbij in een eerste fase dieren onder narcose worden gebracht met een lage CO<sub>2</sub> en verhoogde O<sub>2</sub> concentratie en daarna in een hoge CO<sub>2</sub> concentratie voldoende worden verdoofd voor het aansnijden van de halsaders.

Uit onderzoek naar lage CO<sub>2</sub> concentraties toegepast bij het verdoven van vleesvarkens is geconcludeerd dat lage CO<sub>2</sub> concentraties de periode van ongerief verlengt (Von Hertrampf and Von Mickwitz (1979 a,b). Ditzelfde is geconcludeerd in het onderzoek naar het verdoofd castreren van biggen met CO<sub>2</sub> (Kluivers-Poodt et al., 2008, ASG rapport 85; Gerritzen et al., 2008). De belangrijkste conclusie was dat de inductie van bewusteloosheid langer wordt naarmate de CO<sub>2</sub> concentratie daalt, en dat deze inductiefase gepaard gaat met zeer zwaar ademen. Bij biggen die zijn blootgesteld aan een mengsel van 30% CO<sub>2</sub> met 30% O<sub>2</sub> kon de periode van ongerief oplopen tot 5 minuten. In de pluimveehouderij worden dergelijke lage CO<sub>2</sub> concentraties toegepast tijdens de eerste fase van het twee-fasen verdovingssysteem. De bovengenoemde welzijnsbezwaren, maar ook de technische bezwaren, zijn meegenomen in de keuze voor de richting van het hier gepresenteerde onderzoek. Het technische bezwaar is dat de toepassing van een twee fase gastunnel voor varkens bij een commerciële slachtsnelheid een zeer grote tunnel vereist. Ontwikkeling, indien haalbaar, van een dergelijk systeem zal een grote inspanning vereisen en is op korte termijn moeilijk of niet realiseerbaar. Op basis van literatuuronderzoek, het onderzoek naar verdoofd castreren van biggen en inventarisatie van de technische mogelijkheden heeft dit onderzoek zich vervolgens niet meer gericht op een twee fasen systeem maar op het welzijnseffect van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan hoge CO<sub>2</sub> concentraties voor het verdoven van varkens vòòr de slacht, waardoor er uitzicht komt op een mogelijke verbetering van de huidige CO<sub>2</sub> verdovingsmethode.

Het doel van deze pilotstudie is te onderzoeken of het toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> gasmengsel leidt tot een verbeterd dierenwelzijn van slachtvarkens in de slachterij.

In een pilotexperiment zijn drie verschillende CO<sub>2</sub> / O<sub>2</sub> mengsels vergeleken met de huidige in de praktijk toegepaste CO<sub>2</sub> concentratie.

87% CO<sub>2</sub> + in lucht (controle groep: huidige praktijksituatie)

80% CO<sub>2</sub> + 20% O<sub>2</sub>

70% CO<sub>2</sub> + 30% O<sub>2</sub>

60% CO<sub>2</sub> + 30% O<sub>2</sub> + 10% N<sub>2</sub>

Per behandeling zijn zes varkens verdoofd. Ieder dier is apart verdoofd in een gondel die één dier per keer door het gasmengsel vervoerde. Aan de hand van ECG en EEG (EEG suppressie, ECG silence en hartslag) en gedragsobservaties (o.a. evenwichtsverlies, vocalisaties, zwaar ademen) is per dier vastgesteld in hoeverre het verdoofd was.

Alle varkens werden verdoofd met een schietmasker op maximaal 90 seconden na het verlaten van de gondel. Kwamen ze eerder bij dan werden ze op dat moment verdoofd.

Op basis van de resultaten van dit pilot-onderzoek kunnen de volgende conclusies getrokken worden:

- De varkens uit de behandelgroepen waarbij O<sub>2</sub> is toegevoegd aan de CO<sub>2</sub> concentratie, vertonen tekenen van terugkerend bewustzijn binnen 40 seconden na het verlaten van de gondel. Deze varkens komen te snel bij om onder praktijk omstandigheden adequate verbloeding te kunnen garanderen voordat bewustzijn terugkeert.
- De varkens uit de behandelgroepen waarbij O<sub>2</sub> is toegevoegd aan de CO<sub>2</sub> concentratie lijken hun bewustzijn later te verliezen dan de controlegroep waaraan geen O<sub>2</sub> is toegevoegd. Alleen in de controle groep treedt ECG silence (dood) op.
- Er is mogelijk een positief effect op de hartslag als gevolg van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan de CO<sub>2</sub> concentratie.
- Er lijkt meer verzet te zijn tegen bewusteloosheid bij de varkens die verdoofd werden met 30% O<sub>2</sub>, 60% CO<sub>2</sub> en 10% N<sub>2</sub> in vergelijking met de andere behandelingen.
- Het welzijnsvoordeel van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan de CO<sub>2</sub> concentratie of een lagere CO<sub>2</sub> concentratie ligt voornamelijk in het minder vaak voorkomen van het tonen van benauwdheid voor het intreden van bewusteloosheid.

Uit de resultaten blijkt dat er geen duidelijke aanwijzingen zijn dat de onderzochte gasmengsels met CO<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> leiden tot een verbetering in dierenwelzijn tijdens het verdoven ten opzichte van het, in de praktijk toegepaste, huidige gasmengsel. Bovendien resulteerden de gasmengsels waaraan O<sub>2</sub> is toegevoegd, in een te korte verdovingsduur. Dit kan leiden tot een sterk verminderd welzijn als het verbloeden niet binnen zeer korte tijd effectief wordt uitgevoerd.

### **Aanbevelingen**

Op basis van dit pilot-onderzoek adviseren we om geen vervolgonderzoek uit te voeren naar de hier onderzochte alternatieve gasmengsels. De verwachte verbetering van het welzijn met de geteste gasmengsels ten opzichte van het huidig toegepaste gasmengsel is, op basis van dit pilot-onderzoek met zes varkens per behandeling, niet duidelijk aanwezig of zeer marginaal. Daarnaast is de tijd die een commerciële slachterij nodig heeft om dieren te kunnen verbloeden, ruim langer dan de duur van bewusteloosheid (gemiddeld maximaal 40 seconden) die is gemeten bij blootstelling aan de experimentele gasmengsels.

Om te komen tot een verdere verbetering in dierenwelzijn tijdens het verdoven van slachtvarkens, zowel elektrisch als met CO<sub>2</sub>, zou het zeer nuttig zijn om door middel van een risico analyse de kritische stappen ten aanzien van dierenwelzijn in het verdovingsproces te identificeren. Verbeteringen van het dierenwelzijn in het verdovingsproces kunnen worden gezocht in het hele traject dat leidt tot een adequate verdoving. Denk hierbij aan wachtruimte, opdrijven, scheiden van de groep, restrainen en het verdoven zelf.



## Summary

In many developed countries, as in The Netherlands, it has been established by law that animals should be treated before and during the slaughter process in an acceptable manner (EU Council Directive, 1993; NL GWvD 1992; besluit doden van dieren 1997). This regulation states that animals should be stunned prior to killing by bleeding. The most important demand is that the stunning method induces direct unconsciousness or, if that is not the case, fear, pain, distress and unnecessary suffering should be avoided. Additionally, the stunning should effectuate enough immobility to allow effective bleeding out. Adequate bleeding is necessary to guarantee animal welfare; this then ensures that the animals do not regain consciousness during bleeding. When adequately stunned, the animal is unconscious (anesthetics) and insensitive (analgesia) to pain. Physiologically this means that the organization and cooperation between and within neurons has changed to such an extent that pain is not felt. An EEG (Electro-encephalogram) is capable of measuring such changes. Acute changes may be induced by a common epileptiform insult (electric stunning) or by trauma (mechanical stunning). A slow or gradually change on an EEG can be achieved by adding a chemical as gas or liquid (anesthetics).

In the case of finishing pigs two methods can be applied; electrical stunning or use of a gas such as CO<sub>2</sub>. Pigs are stunned by submersion in a high CO<sub>2</sub> concentration (> 80%). However it is well-known that pigs stunned with a gaseous mixture containing 86% CO<sub>2</sub> and air display obvious signs of respiratory distress (gasping, vocalizing) and adverse behavior (Hoenderken, 1983; Troeger and Wolterdorf, 1991; EFSA, 2004). This is an indication of a deterioration in the animals' welfare status. In literature expert opinion is divided concerning the amount of distress experienced during inhalation of high concentrations of CO<sub>2</sub> (Lambooj, 1999, Gerritzen 2000; Raj, 1995, Martoft, 2001). Addition of oxygen to the mixture can reduce the amount of distress. This has been confirmed in studies with rats (Coenen et al., 1995) and poultry (Lambooj et al, 1999; Coenen et al., 2000; Gerritzen et al., 2000; Barton Gade et al., 2001). Based on this knowledge a pilot study performed to evaluate the welfare effects of adding O<sub>2</sub> to high CO<sub>2</sub> concentrations in relation to a current method. The two-phase CO<sub>2</sub>-stunning method has been introduced for poultry. During the first phase the bird is brought under narcosis with a low concentration of CO<sub>2</sub> and an increasing amount of O<sub>2</sub>. Thereafter, the increase in carbon dioxide concentration is sufficient to induce a deeper state of unconsciousness during which the arteries in the neck can be severed.

Research into low carbon dioxide concentrations has demonstrated that low CO<sub>2</sub> concentrations can lengthen the period of distress during the stunning of pigs (Von Hertrampf and Von Mickwitz, 1979 a,b). A similar conclusion was reached after research into the castration of pigs under CO<sub>2</sub> anesthesia (Kluivers-Poodt et al., 2008, ASG rapport 85; Gerritzen et al., 2008). Most importantly, it was concluded that induction time to unconsciousness was lengthened by reduction in carbon dioxide concentration and that during the induction phase the pigs breathe very heavily. In pigs that receive a mixture of 30% CO<sub>2</sub> plus 30% O<sub>2</sub> the period of distress can last for up to 5 minutes. Poultry slaughterhouses apply low concentrations of CO<sub>2</sub> as described above during the first phase of the two-phase stunning method. In addition to the above mentioned concerns regarding the risks to animal welfare there are also concerns about the technical performance which have influenced the course taken during the study presented here. Use of a two-phase tunnel system for pigs, would for commercial production throughput, require a very large tunnel. If it were possible, development of such a system would require a huge effort and is in the short term difficult or almost impossible. Based on a review of available literature, research into castration of piglets under CO<sub>2</sub> anesthesia and an inventory of the technical options this study was aimed at determination of the consequences for animal welfare when adding oxygen to high concentrations of CO<sub>2</sub> for stunning pigs prior to slaughter. This study would then provide indicators for improvements to the present CO<sub>2</sub> stunning method.

The objective of this pilot study was to investigate whether addition of O<sub>2</sub> to the CO<sub>2</sub> gas mixture improves pig welfare during slaughter.

In a pilot experiment three different CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> mixtures were compared with the standard CO<sub>2</sub> concentration in air:

1. 87% CO<sub>2</sub> + in air (standard control group)
2. 80% CO<sub>2</sub> + 20% O<sub>2</sub>
3. 70% CO<sub>2</sub> + 30% O<sub>2</sub>
4. 60% CO<sub>2</sub> + 30% O<sub>2</sub> + 10% N<sub>2</sub>

Per treatment six pigs were individually stunned in a CO<sub>2</sub> stunner.

During this phase the effects on animal welfare were monitored and was assessed using EEG, ECG, heart rate measurements, behavioural observations, and recording of vocalizations. Based on these behavioural and electro-physiological measurements it could be assessed whether or not the animals were properly stunned by the different CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> concentrations.

All pigs were stunned with a captive bolt at a maximum of 90 seconds after leaving the gondola. Pigs regaining consciousness within 90 seconds were immediately stunned with captive bolt.

Based on the results of this pilot study it can be concluded that:

- The pigs from the treatment groups wherein O<sub>2</sub> was added to CO<sub>2</sub> regained consciousness on average within 40 seconds after leaving the gondola. These pigs regained consciousness too soon to guarantee death by bleeding while still unconscious.
- The pigs from the treatment groups wherein O<sub>2</sub> was added to CO<sub>2</sub> seemed to lose consciousness later than the control group wherein no O<sub>2</sub> was added. Only pigs from the control group appeared to display ECG silence ('brain death').
- There is possibly an effect on heart beats per minute due to adding O<sub>2</sub> to the CO<sub>2</sub> concentration.
- Pigs stunned with a mixture of 60% CO<sub>2</sub>, 30% O<sub>2</sub> and 10% N<sub>2</sub> displayed an increased resistance to the loss of consciousness.
- The only apparently positive sign in terms of animal welfare related to lowering of the CO<sub>2</sub> concentration or increasing O<sub>2</sub> to a CO<sub>2</sub> concentration is a reduction of difficulty in breathing prior to loss of consciousness.

The results provide no clear improvement on the standard mixture in terms of animal welfare with addition of O<sub>2</sub> to a CO<sub>2</sub>. Additionally, the duration of unconsciousness induced by CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> which is too short to guarantee bleeding without risks for animal welfare.

## **Recommendations**

Based on the results presented in this document we advise that the planned comparison between a selected experimental gas mixture and a commercially available gas mixture should not be performed. The improvement in animal welfare expected after adding oxygen to carbon dioxide was not observed in this pilot test with six pigs per treatment. Additionally, the duration of bleeding out in the slaughterhouse is much longer than the duration of unconsciousness (maximum average of 40 seconds) as a result of exposure to the gas mixtures tested.

In order to provide a substantial improvement in animal welfare during the electrical as well as CO<sub>2</sub> stunning of finishing pigs it is considered useful to perform a risk analysis to identify the critical steps in the stunning procedure. Improvements in animal welfare during the stunning procedure can be sought within the whole process up to the moment of stunning. Consideration should be given to collection areas, forcing up and separation of groups of animals, restraining and the actual stunning.

# Inhoudsopgave

Voorwoord

Samenvatting

Summary

<b>1</b>	<b>Inleiding</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Materiaal en methode</b> .....	<b>3</b>
	2.1 Tijdsduur van bewusteloosheid .....	3
	2.2 EEG Suppressie en ECG silence.....	3
	2.3 Hartslagen per minuut.....	4
	2.4 Gedrag.....	4
<b>3</b>	<b>Resultaten</b> .....	<b>5</b>
	3.1 Tijdsduur van bewusteloosheid .....	5
	3.2 EEG suppressie en ECG silence .....	5
	3.3 Hartslagen per minuut (ECG).....	7
	3.4 Gedrag.....	9
<b>4</b>	<b>Discussie</b> .....	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>Conclusie</b> .....	<b>13</b>
<b>6</b>	<b>Aanbevelingen</b> .....	<b>14</b>
	<b>Literatuur</b> .....	<b>15</b>



## 1 Inleiding

In het grootste deel van de ontwikkelde landen, ook in Nederland, is wettelijk vastgelegd dat dieren op een acceptabele manier moeten worden behandeld voor en tijdens het slachtproces (EU Council Directive, 1993; NL, GWvD 1992; besluit doden van dieren 1997). In deze wetgeving staat ondermeer dat dieren voorafgaande aan doden door verbloeden moeten worden verdoofd. De belangrijkste eis hierbij is dat de verdovingsmethode een directe bewusteloosheid induceert of, als dit niet het geval is, angst, pijn, stress en onnodig lijden voorkomt. In de tweede plaats dient verdoving voldoende bewegingsloosheid te bewerkstelligen om de verbloedinghandeling adequaat te kunnen verrichten. Een adequate verbloeding is naast een procesmatig vereiste ook een vereiste om het welzijn van de dieren te garanderen; hiermee voorkomt men immers dat dieren hun bewustzijn terugkrijgen tijdens het verbloeden.

Onder een adequate verdoving verstaan we een algemene staat van bewusteloosheid (anesthesie) en gevoelloosheid (analgesie) voor pijn en pijnprikkels. Fysiologisch gezien betekent dit dat de organisatie en coöperatie tussen neuronen en binnen neuronen zodanig is veranderd dat prikkels niet meer worden waargenomen. Door het maken van een hersenfilm of elektro-encefalogram (EEG) kan men deze verandering meten. Een acute verandering kan worden geïnduceerd door het opwekken van een algemeen epileptiform insult (elektrische verdoving) of door een trauma (mechanische verdoving). Een langzame of geleidelijke verandering kunnen we bereiken door het toedienen van chemische stoffen in gasvorm of door een vloeistofinjectie (anaesthetica).

Voor het verdoven van slachtvarkens worden in principe 2 methoden in de huidige praktijk toegepast, ten eerste elektrische bedwelming en ten tweede gas of CO<sub>2</sub> verdoving. Varkens die worden verdoofd met CO<sub>2</sub> worden verdoofd door onderdompeling in een hoge (>80%) CO<sub>2</sub> concentratie. Internationaal lopen de meningen uiteen over de mate van ongerief die slachtdieren ervaren tijdens de inademing van hoge CO<sub>2</sub> concentraties (Lambooij, 1999; Gerritzen, 2000, Raj, 1995, Martoft, 2001). Voor pluimvee is om deze reden een twee-fase verdoving met CO<sub>2</sub> ontwikkeld waarbij in een eerste fase dieren onder narcose worden gebracht met een lage CO<sub>2</sub> en verhoogde O<sub>2</sub> concentratie en daarna in een hoge CO<sub>2</sub> concentratie voldoende worden verdoofd voor het aansnijden van de halsaders. Bij slachtvarkens is een tweefase verdoving of het verdoven met lage CO<sub>2</sub> concentraties niet of nauwelijks onderzocht.

Toepassen van een tweefase CO<sub>2</sub> verdovingssysteem voor slachtvarkens lijkt technisch niet mogelijk in de huidige verdovingssystemen. Belangrijkste reden hiervoor is dat er geen duidelijke gradiënt scheiding tussen verschillende gasconcentraties realiseerbaar is. In een tunnelsysteem, zoals bij pluimvee wordt toegepast, is deze scheiding wel realiseerbaar. Toepassing van een twee fase gastunnel voor varkens bij een commerciële slachtsnelheid vereist een zeer grote tunnel. Ontwikkeling, indien haalbaar, van een dergelijk systeem zal een grote inspanning vereisen en is op korte termijn moeilijk of niet realiseerbaar. De hier genoemde beperkingen zijn redenen om in dit onderzoek de focus te leggen op de mogelijkheden die het aanpassen van de gassamenstelling en of verlagen van de CO<sub>2</sub> concentratie bieden.

Varkens die verdoofd worden met 86% CO<sub>2</sub> in lucht vertonen duidelijke tekenen van pijn bij ademhaling (zwaar ademen en gillen) en afwijkend gedrag (Hoenderken, 1983; Troeger and Wolterdorf, 1991; EFSA, 2004). Dit zijn sterke aanwijzingen voor een verminderd dierenwelzijn. Het toevoegen van argon aan het gasmengsel en een stikstofmengsel kunnen het aantasten van het welzijn beperken tijdens het verdoven van slachtvarkens bij verdovingen met gasmengsels (Raj et al, 1997; EFSA, 2004). Echter, in tegenstelling tot CO<sub>2</sub>, leiden argon en stikstof niet tot anesthesie hetgeen een mogelijk nadeel is ten opzichte van een verdoving met een CO<sub>2</sub> mengsel. Dit is te verklaren doordat toename van CO<sub>2</sub> leidt tot een afname van de pH in het bloed en vervolgens een daling van de pH in het cerebrospinale vloeistof. Deze laatste daling leidt tot bewusteloosheid (Eisele et al., 1967; Kohler et al., 1999; Woodbury and Karler, 1960). Het gebruik van argon als verdovingsgas in slachthuizen is een kostbaar en minder beschikbaar alternatief voor CO<sub>2</sub>. Daarnaast is bekend dat gasmengsels met argon en stikstof leiden tot ernstige convulsies vlak na het intreden van bewusteloosheid (Raj, 1999). In slachthuizen kan dit bij dieren die met elkaar in een gondel verdoofd worden, leiden tot meer huid- en spierbeschadigingen. Dit zal mogelijk de acceptatie van de verdovingsmethode in de weg staan.

Het toevoegen van zuurstof aan het CO<sub>2</sub> verdovingsmengsel kan mogelijk leiden tot een reductie van stress die wordt geassocieerd met benauwdheid. Dit is aangetoond in onderzoeken met ratten (Coenen et al., 1995; Danneman et al., 1997) en pluimvee (Lambooij et al, 1999; Coenen et al., 2000; Gerritzen et al., 2000; Barton Gade et al., 2001).

Eerdere studies met verschillende (lagere) CO<sub>2</sub> concentraties in lucht, verschillende blootstellingsduur en tijd tot het verlies van bewustzijn, resulterend in het effect op de duur van bewusteloosheid zijn in een review-artikel vermeldt (Von Hertrampf and Von Mickwitz (1979 a,b). De algemene conclusie was dat lage concentraties CO<sub>2</sub>

leiden tot het lijden bij de dieren. Later is onderzoek uitgevoerd naar het effect van verschillende hoge CO<sub>2</sub> concentraties in lucht op de duur van bewusteloosheid (Forslid, 1987; Martoft, 2001; Holst, 2001; Hartung et al., 2002; Nowak et al., 2007)) of het niveau van gevoeligheid na verdoving. Geen van de onderzoeken hebben gekeken naar de effecten op dierenwelzijn van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan het CO<sub>2</sub>mengsel.

Recent onderzoek naar de mogelijkheden voor het verdoven van biggen met een CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> mengsel (Kluivers-Poodt et al., 2008; Gerritzen et al., 2008) heeft aangetoond dat een mengsel van 70% CO<sub>2</sub> met 30% O<sub>2</sub> leidt tot een effectieve en aanvaardbare verdoving. Blootstelling van jonge biggen aan CO<sub>2</sub> concentraties lager dan 50% in lucht leidde tot lange inductie van bewusteloosheid. Bij blootstelling van jonge biggen aan een mengsel van 30% CO<sub>2</sub> met 30% O<sub>2</sub> duurde de inductie gemiddeld 5 minuten. In de bovengenoemde onderzoeken vertoonden alle biggen tijdens de inductiefase een verzwaarde ademhaling. De lange inductietijd was in het hier gepresenteerde onderzoek een belangrijke reden om in een eerste experiment geen concentraties lager dan 60% CO<sub>2</sub> te onderzoeken en dus geen onderzoek te verrichten naar het twee fase CO<sub>2</sub> systeem. In het onderzoek naar verdoofd castreren van biggen was de doelstelling een goede, aanvaardbare anesthesie met een minimaal risico op sterfte van biggen. Een snelle recovery waardoor negatieve effecten zoals sterke verzuring werden voorkomen was een tweede doelstelling voor verdoofd castreren. Bij het verdoven van slachtvarkens voorafgaand aan verbloeden is het noodzakelijk dat de bewusteloosheid voldoende lang aanhoudt om dieren verdoofd te kunnen verbloeden. Daarnaast is de mogelijkheid tot recovery uit de verdoving niet noodzakelijk. De doelstelling van het verdoven van slachtvarkens met CO<sub>2</sub> is dus duidelijk sterk verschillend van het verdoven van jonge biggen voor castratie. Interpretatie van geschiktheid van een gasmengsel voor een aanvaardbare verdoving is daarom ook wezenlijk anders.

Het welzijn van het varken tijdens de slachtfase wordt beïnvloed door het gehele traject vanaf het vervoer van de slachtvarkens tot en met de gondel. Onderzoek heeft aangetoond dat ook het verblijf in de wachtruimte, het opdrijven, het scheiden van een dier uit de groep het welzijn van het slachtvarken bij de verdoving kan beïnvloeden (Geverink, 1998; Marchant-Forde and Marchant-Forde, 2009). Slachterijen hebben CO<sub>2</sub> verdoving van slachtvarkens verkozen boven elektrische verdoving doordat het welzijn van de dieren tijdens het opdrijven in groepen mogelijk beter is. Bij het elektrisch verdoven worden de dieren achterelkaar gezet omdat de dieren één voor één worden verdoofd. Dit achter elkaar zetten, ook wel opéénzetten genoemd, wordt gezien als minder welzijnsvriendelijk dan het opdrijven in een groep (Grandin, 1987; Hunter et al., 1994; Stoier et al., 2001). Ook het gunstige effect van een verdoving met CO<sub>2</sub> op de vleeskwaliteit heeft waarschijnlijk bijgedragen aan de keuze voor verdoving met CO<sub>2</sub>.

Het doel van deze pilotstudie is te onderzoeken of het toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> gasmengsel leidt tot een verbeterd dierenwelzijn van slachtvarkens tijdens de CO<sub>2</sub> verdovingsfase in de slachterij.

## 2 Materiaal en methode

Het pilot-onderzoek is uitgevoerd bij Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP) in Posieux (Zwitserland) in het najaar van 2008. Dit instituut heeft de gasverdoover die geschikt is voor maximaal twee vleesvarkens voor dit onderzoek beschikbaar gesteld.

In het pilot-onderzoek zijn drie verschillende CO<sub>2</sub> / O<sub>2</sub> mengsels vergeleken met de huidige in de praktijk toegepaste CO<sub>2</sub> concentratie.

Behandeling 1: 87% CO<sub>2</sub> + in lucht (controle groep)

Behandeling 2: 80% CO<sub>2</sub> + 20% O<sub>2</sub>

Behandeling 3: 70% CO<sub>2</sub> + 30% O<sub>2</sub>

Behandeling 4: 60% CO<sub>2</sub> + 30% O<sub>2</sub> + 10% N<sub>2</sub>

Per behandeling zijn zes varkens verdoofd. Ieder dier is apart verdoofd in een gondel die één dier per keer in het gas verdoofde. De vleesvarkens zijn gefokt en grootgebracht bij ALP. De dieren zijn naar gewicht toebedeeld aan de behandelingen voor een goede gewichtsverdeling. Daarnaast zijn de dieren uit dezelfde tomen over de behandelingen verdeeld. De dieren hadden een gemiddeld gewicht van 106 kilogram en waren afkomstig uit vier verschillende tomen.

Op de ochtend van dag 1 van het onderzoek werden alle dieren verdoofd en geslacht met behandeling 1, in de middag van dag 1 werden alle dieren verdoofd en geslacht met behandeling 2. Op de ochtend van dag 2 van het onderzoek werden alle dieren verdoofd en geslacht met behandeling 3 en op de middag van dag 2 werden alle dieren verdoofd en geslacht met behandeling 4. In verband met de lange tijdsduur (meer dan 1,5 uur) die nodig was voor het verwijderen en vullen van de verdoover met gas, was het niet mogelijk om de proef te randomiseren (elk volgnummer een andere behandeling).

De gassen werden met de juiste concentraties aangeleverd in gasflessen. De gasflessen werden aangesloten op de verdovingsinstallatie.

Aan de hand van 1) ECG en EEG en 2) gedragsobservaties is per dier vastgesteld in hoeverre het verdoofd is (EEG Suppressie, ECG Silence en hartslag) en is indirect het welzijn van het dier bepaald (gedrag tot evenwichtsverlies en tijd tot evenwichtsverlies). De EEG en ECG metingen werden opgeslagen op de datalogger die het dier op de rug droeg. De datalogger werd na de verdoving en tijdens het verbloeden van het varken afgehaald en direct aangesloten op de laptop. De gegevens van de datalogger werden overgebracht van de datalogger naar de laptop.

Elk dier is, nadat het uit de gondel kwam, verdoofd met een schietmasker op het moment dat terugkeer van bewustzijn werd vastgesteld of op 90 seconden na het verlaten van de gondel.

### 2.1 Tijdsduur van bewusteloosheid

De tijdsduur tot bewusteloos is vastgesteld met behulp van ooglidreflex, cornea reflex en veranderende stand van de ogen. De tijdsduur werd gerekend vanaf het moment dat het varken uit de gondel kwam tot het moment van schieten met het schietmasker.

### 2.2 EEG Suppressie en ECG silence

De tijdsduur van bewusteloosheid is met behulp van de EEG vastgesteld als aantal seconde waarin een EEG suppressie zichtbaar is. Een EEG suppressie geeft aan dat het dier naar alle waarschijnlijkheid bewusteloos is (Gerritzen et al., 2006). Per behandeling is het gemiddeld aantal seconden EEG suppressie per dier berekend. ECG silence (afwezigheid van hartslag = bijna dood/dood) is met behulp van de ECG metingen vastgesteld per dier. Het gemiddeld aantal seconden ECG silence is berekend per dier per behandeling.

Met de EEG meting kon worden vastgesteld of de varkens bij bewustzijn waren op het moment van schieten met het schietmasker. Hiermee is vastgesteld of het schieten met het schietmasker te laat is uitgevoerd. Per behandeling is het aantal varkens vastgesteld dat vóór het schieten bij bewustzijn was.

### 2.3 Hartslagen per minuut

Ten behoeve van het verkrijgen van informatie over de hartslag, is op verschillende momenten van het verdovingsproces het aantal hartslagen bepaald. Het aantal hartslagen werd geteld per periode van 5 seconden en vermenigvuldigd met 12. Hiermee werd het aantal hartslagen per minuut bepaald. Een verschil van één extra hartslag geeft een verschil van 12 hartslagen per minuut (beats per minute = BPM). In dit onderzoek is aangenomen dat een toename van de hartslag een gevolg is van toenemende activiteit of van stress. Een verschil in aantasting van het welzijn van de varkens als gevolg van de verschillende CO<sub>2</sub> concentraties in lucht of zuurstof, is naar verwachting vooral zichtbaar vanaf het moment dat de gondel naar beneden gaat tot het moment dat dieren het bewustzijn verliezen. Het gas bevindt zich onderin de schacht waarin de gondel zakt.

Per dier is het aantal hartslagen per minuut (beats per minute: bpm) vastgesteld op het moment dat het dier zich in de gondel bevindt (bpm in gondel). De hartslag kan hier verhoogd zijn door het bevestigen van de datalogger op het dier met behulp van tape en/of door het lopen van het dier naar de gondel. Het aantal hartslagen per minuut per dier is ook vastgesteld op het moment dat 1) de gondel naar beneden gaat (bpm dalen), 2) de gondel beneden is (bpm bodem), 3) de gondel 30 seconden op het diepste punt is (bpm +30) en 4) 60 seconden op het diepste punt is (bpm +60). Per behandeling is een gemiddelde hartslag berekend met een standaard deviatie.

### 2.4 Gedrag

Met een camera is het gedrag vastgesteld vanaf het moment dat de gondel naar beneden ging tot het moment dat het varken zijn evenwicht verloor (loss of posture) en tot het moment het varken volledig op één zijde lag. Een aantal dieren bleef tegen de wand van de gondel hangen nadat ze het verlies van evenwicht. Na enkele seconden gleden ze toch op één zijde. Bij andere varkens werd het moment van volledig liggen vastgesteld op het moment dat de varkens hun kop niet meer opheften na het verliezen van hun evenwicht. Het moment van evenwichtverlies kan een indicatie zijn van de inductie van bewusteloosheid (Gerritzen et al., 2006). Per behandeling is het gemiddeld aantal seconden per dier vastgesteld vanaf het moment dat de gondel naar beneden ging tot het moment dat het dier het evenwicht verliest en tot het dier volledig ligt.

In de gondel zijn, vanaf het moment dat de gondel naar beneden ging tot het moment het dier volledig ligt (zie boven), per dier de volgende gedragingen vastgesteld: omdraaien, sprong voorwaarts, achteruitlopen, naar voren vallen, wankelen, zitten, trillen van de hammen, gaspen en zwaar ademen, vallen, glijden, stuiten, spartelen en fors trappen, oprichten van lichaam, overeind komen, gillen, oprichten van kop. Het omdraaien, een sprong voorwaarts en het achteruitlopen vond plaats op het moment dat de gondel enkele seconden op haar laagste stand was. Deze gedragingen zijn samengevat als een paniecreactie. Per behandeling is het aantal dieren met een paniecreactie bepaald. Het naar voren vallen, wankelen en het zitten van het varken zijn samengevat als verlies van evenwicht. Per behandeling is het aantal dieren met verlies van evenwicht vastgesteld. De gedragingen (pogingen) tot overeind komen en het oprichten van de kop is samengevat als verzet tegen bewusteloosheid. Per behandeling is vastgesteld het aantal keer dat deze gedragingen getoond werden. Gaspen en zwaar ademen is samengevat als benauwdheid. Per behandeling is het aantal keer bepaald dat dergelijk gedrag werd vastgesteld. Stuiten, spartelen en fors trappen is samengevat als ongecontroleerde spierspasmen (convulsies). Per behandeling is het aantal dieren bepaald dat deze gedragingen vertoonden. Per behandeling is ook het totaal aantal keer gillen bepaald.



### 3 Resultaten

Hierna bespreken we de effecten van de behandelingen op 1) de tijdsduur van bewusteloosheid, 2) de EEG suppressie en ECG silence, 3) het aantal hartslagen per minuut, 4) het gedrag in de gondel, 5) de tijd tot het verlies van evenwicht, 6) het gedrag op het moment dat de gondel op zijn laagste stand is bij de te testen CO<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> concentratie en 7) het gedrag vanaf het moment dat de gondel op zijn laagste stand is tot het moment van evenwichtsverlies.

#### 3.1 Tijdsduur van bewusteloosheid

Tabel 1 toont de gemiddelde tijd per dier per behandeling in seconden die lag tussen het moment dat het dier uit de gondel kwam tot het moment van schieten. Hiermee wordt de tijd weergegeven die ligt tussen het uit de gondel komen en de recovery (het moment dat het dier weer bij bewustzijn komt).

**Tabel 1.** Lengte van bewusteloosheid per dier per behandelgroep

Behandelgroep	Tijd uit gondel tot schieten (in seconden)
1	Controle groep
2	60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>
3	70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>
4	80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>

Terugkeer van bewustzijn werd geconstateerd op basis van cornea reflex, ooglid reflex en veranderende stand van het oog. Dit was bij de behandelgroepen met een concentratie van 60%, 70% en 80% CO<sub>2</sub> gemiddeld op respectievelijk 15, 25 en 38 seconden na het verlaten van de gondel.

*Conclusie: De dieren uit de behandelgroepen 2 t/m 4 komen sneller bij.*

#### 3.2 EEG suppressie en ECG silence

In tabel 2 is per behandeling het gemiddelde weergegeven van de tijdsduur van de EEG suppressie (waarschijnlijke bewusteloosheid) en de ECG silence (bijna dood/ dood) en het totaal aantal dieren per behandeling dat bij bewustzijn komt voordat het dier geschoten werd.

**Tabel 2.** Gemiddeld aantal seconden en standaard deviatie van de duur van de EEG suppressie en ECG silence per dier per behandeling en het aantal dieren dat bijkomt vòòr het moment van schieten (Recovery).

Behandelgroep	EEG suppressie Gemiddeld aantal seconden ± sd	ECG silence Gemiddeld aantal seconden ± sd	Recovery Aantal dieren voor schieten
1	Controle groep	36.6 ± 8.6	114.7 ± 77.3
2	60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	54.5 ± 10.2	Geen
3	70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	76.2 ± 49.9	Geen
4	80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	53.7 ± 8.4	Geen

<sup>1</sup>: EEG suppressie is dusdanig dat gesproken kan worden van bewusteloosheid. Tijdstippen geven daarom het intreden van bewusteloosheid weer.

De dieren uit de behandelgroepen 2 t/m 4 verliezen later het bewustzijn (EEG suppressie) dan de controle groep. Alleen in de controle groep treedt ECG silence oftewel een iso-electrisch ECG op (dood). Geen van de dieren van de behandelgroepen 2 t/m 4 zijn dood voor het schieten. Twee dieren van de behandelgroepen 3 en 4 vertoonden tekenen van terugkerend bewustzijn voor het schieten (recovery).

*Conclusie: De dieren uit de behandelgroepen 2 t/m 4 verliezen later het bewustzijn (EEG suppressie) dan de controlegroep. Alleen in de controlegroep treedt ECG silence op.*

### 3.3 Hartslagen per minuut (ECG)

In de tabel 3 is het verloop van de hartslag aangegeven gedurende deze periode.

Op het moment dat de gondel op de bodem is, lijken de dieren uit de controlegroep een snellere hartslag te vertonen. De dieren uit de andere behandelgroepen lijken dan een lichte vertraging te vertonen. Dertig seconden nadat de gondel het diepste punt heeft bereikt, zakt de hartslag van bijna alle dieren. Bij de behandelgroep met 70% CO<sub>2</sub> ontbreken veel gegevens dat waarschijnlijk wordt veroorzaakt door heftig bewegen of evenwichtsverlies van het dier waardoor er veel ruis op het ECG signaal ontstaat. Opvallend is de hoge standaarddeviatie van de controlegroep hetgeen duidt op grote verschillen binnen deze groep (één dier vertoont geen hartslag meer, bij twee dieren ontbreken de gegevens). De verschillen binnen de controle groep zijn groter dan die binnen de behandelgroep met 80% CO<sub>2</sub> met zuurstof.

*Conclusie: Er is een zeer zwakke indicatie dat de behandelingen 2 t/m 4 en met name behandeling 4 (80% CO<sub>2</sub> in zuurstof), minder stress veroorzaakt tijdens de verdovingsproces dan de controle behandeling (87% CO<sub>2</sub> in lucht).*

**Tabel 3.** Aantal hartslagen per minuut per dier per behandeling tijdens het dalen van de gondel en tijdens 30 en 60 seconden na het bereiken van de laagste stand van de gondel.

	bpm in gondel <sup>1)</sup>	bpm dalen <sup>2)</sup>	bpm bodem <sup>3)</sup>	bpm +30 <sup>4)</sup>	bpm +60 <sup>5)</sup>
controle	118	96	136	156	136
controle	144		88	0	0
controle	144			60	72
controle	144	120	96	40	30
controle	168	144	156		60
controle	156	108	180		0
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	180	144		88	132
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	180	196	120	72	36
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	184	144		144	144
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	156	168	108	60	48
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	144	156	108	48	20
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>					
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	120	102	84	96	60
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	144	132		60	36
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	120	102			60
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	120			60	48
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>					
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	144	144		48	36
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	120	132	144	96	36
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	168	120	48	36	24
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	132	144	132	92	48
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	144	132	80	96	56
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	180	120		60	48
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	146	120	72	48	36

Gemiddelde per behandeling (±sd)

	bpm in gondel	bpm dalen	bpm bodem	bpm +30	bpm +60
Controle	145.7 ±16.6	117.0 ± 20.5	131.2 ± 39.1	64 ±66.2	49.7 ± 51.7
60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	168.8 ±17.8	161.6 ± 21.7	112 ± 6.9	82.4 ± 37.5	76 ± 57.6
70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	129.6 ±13.2	120 ± 21.4	84 (n=1)	66 ± 20.8	48 ± 12
80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	148.3 ± 22.3	128 ± 9.8	95.2 ± 41	71.3 ± 26.7	41.3 ± 11.5

1) Bpm in gondel = hartslag op het moment dat het varken de gondel instapt

2) Bpm dalen = hartslag op het moment dat de gondel naar beneden gaat

3) Bpm bodem = hartslag op het moment dat de gondel beneden is

4) Bpm +30 = hartslag 30 seconden nadat de gondel de diepste punt heeft bereikt

5) BPM +60 = hartslag op 60 seconden nadat de gondel de diepste punt heeft bereikt

### 3.4 Gedrag

Tijdens het dalen van de gondel vertoonden geen enkel dier veranderend gedrag. De behandelingen leken hierop geen effect te hebben.

In tabel 4 is weergegeven tijdsduur (in seconden) vanaf het moment van dalen van de gondel tot het moment van verlies van evenwicht en de tijdsduur vanaf het moment van dalen van de gondel totdat de dieren volledig op hun zij liggen.

**Tabel 4.** Gemiddelde tijdsduur per dier per behandeling tot het verlies van evenwicht en tot het moment tot volledig liggen (in seconden)

Behandelgroep	Aantal seconden tot verlies van evenwicht	Aantal seconden tot volledig liggen
1 Controle	33.4 ± 9.7	35.6 ± 7.5
2 60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	33.5 ± 3	37.1 ± 7.5
3 70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	33.1 ± 9.2	32 ± 9.4 (n=5)
4 80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	28.4 ± 2.8	30.8 ± 4.9

Er is tussen de behandelgroepen geen verschil in de tijd vanaf het moment van het dalen van de gondel tot 1) verlies van evenwicht en 2) tot volledig liggen. De behandelingen lijken geen effect te hebben op het aantal seconden tot verlies van evenwicht en op het aantal seconden tot volledig liggen.

Op basis van de gegevens in tabel 5 lijkt er een verschil te zijn in het verzet tegen bewusteloosheid tussen de verschillende behandelingen. Behandelgroep 2 lijkt zich meer te verzetten tegen bewusteloosheid.

**Tabel 5.** Gemiddeld aantal dieren per behandeling dat een paniek reactie vertoonde of verlies van evenwicht en het aantal pogingen per behandeling van de dieren als verzet tegen de bewusteloosheid.

Behandelgroep	Paniekreactie (aantal dieren per groep)	Verlies van evenwicht (aantal dieren per groep)	Verzet tegen bewusteloosheid (aantal keer per groep)
1 Controle	4	1	5
2 60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	3	3	8
3 70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	4	0	3
4 80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	5	0	4

*Conclusie: Er lijkt een verschil te zijn in het verzet tegen bewusteloosheid tussen de verschillende behandelingen. De varkens uit behandelgroep 2 lijken zich meer te verzetten tegen de bewusteloosheid.*

In tabel 6 is per groep weergegeven 1) het aantal keer dat benauwdheid werd getoond per groep, 2) het aantal dieren dat ongecontroleerde spierspasmen (convulsies) vertoonden en 3) het aantal keer gillen per groep vanaf het moment dat de gondel naar beneden ging tot het moment dat het dier na het verlies van evenwicht volledig ligt.

**Tabel 6.** Per behandelgroep is weergegeven het aantal keer verzwaard ademen, het aantal dieren met ongecontroleerde spierspasmen en het aantal keer waargenomen gillen.

Behandelgroep	benauwdheid (aantal keer per groep)	Ongecontroleerde spierspasmen (aantal dieren per groep)	Gillen tot volledig liggen (aantal keer per groep)
1 Controle	26	2	18
2 60% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub> + 10% N <sub>2</sub>	0	4	6
3 70% CO <sub>2</sub> + 30% O <sub>2</sub>	8	3	7
4 80% CO <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	25	4	1

Benauwdheid uitte zich in de vorm van het zogenaamde "gaspen" en een zware ademhaling. De verschillende CO<sub>2</sub> gehalten lijken invloed te hebben op de ademhaling. Uit de resultaten blijkt dat het toevoegen van 20% zuurstof geen invloed heeft op de benauwdheid (vergelijk behandelgroep 1 en 4). Wel heeft het toevoegen van 30% O<sub>2</sub> mogelijk een positief effect op de benauwdheid. Ongecontroleerde spierspasmen (convulsies) uitte zich in de vorm van algehele heftige spiersamentrekkingen, spartelen en fors trappen. Er lijkt geen verschil te zijn in het aantal dieren met ongecontroleerde spierspasmen. Het aantal keer gillen tot het moment waarop het varken volledig ligt in de gondel, toont wel enige verschillen.

*Conclusie: Het welzijnsvoordeel van de behandelingen uit zich vooral in de het minder tonen van benauwdheid.*

## 4 Discussie

In deze proef is het effect op dierenwelzijn bepaald van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> concentratie voor het verdoven van slachtvarkens. De lengte van het bewusteloosheid is in deze proef bepaald door de tijd die lag tussen het uit de gondel komen van het varken en het moment waarop de terugkeer van het bewustzijn werd geconstateerd op basis van cornea reflex, ooglid reflex en veranderende stand van het oog. De duur van bewusteloosheid na het verlaten van de gondel was bij de varkens uit de behandelgroepen met een concentratie van 60%, 70% en 80% CO<sub>2</sub> gemiddeld respectievelijk 15, 25 en 38 seconden. Dit is te kort om in een commerciële slachterij de dieren te verbloeden voordat ze bij bewustzijn komen. Een effectiviteitsonderzoek van het verdoven van slachtvarkens met elektriciteit of CO<sub>2</sub> toonde aan dat het tempo van het steken en verbloeden in de praktijk nu al een bottle neck is bij CO<sub>2</sub> verdoving (Velarde et al., 2000).

Het toevoegen van O<sub>2</sub> aan de CO<sub>2</sub> concentraties lijkt op basis van deze proef te leiden tot het verliezen van het bewustzijn op een later tijdstip (EEG suppressie) in vergelijking met de controle groep. Dit wordt veroorzaakt door de lagere CO<sub>2</sub>-concentraties.

ECG-silence of dood door verdoving treedt alleen op in de controle groep. Geen van de varkens uit de behandelgroepen waaraan O<sub>2</sub> is toegevoegd aan de CO<sub>2</sub> concentraties, zijn dood voor het schieten. De zuurstof verzadiging in het bloed blijft hier waarschijnlijk hoog genoeg om de dieren langer in leven te houden.

Twee varkens van de behandelgroep met 70% CO<sub>2</sub>- 30% O<sub>2</sub> en twee varkens van de behandelgroep met 80%CO<sub>2</sub>- 20% O<sub>2</sub> vertoonden tekenen van terugkerend bewustzijn voor het schieten (recovery). Dit kan duiden op het feit dat we deze dieren geschoten hebben op het moment dat ze bij bewustzijn waren. Het schieten heeft daar te laat plaats gevonden.

Er lijkt bij de controlegroep een toename te zijn in het aantal hartslagen per minuut op het moment dat de gondel beneden is. Dit kan duiden op een stresssituatie als gevolg van een gasmengsel met CO<sub>2</sub> in lucht. Echter, zoals eerder is beschreven, zorgt één getelde hartslag op papier voor een toename van 12 hartslagen per minuut. Het is dan ook de vraag of het verschil tussen 117 en 131 hartslagen per minuut een toevalstreffer is omdat er toevallig in het geanalyseerde stukje 1 hartslag extra is geteld. Om de verschillen tussen de deeltrajecten beter tot uiting te laten komen is er gekozen om slechts van een gedeelte van de trajecten de hartslag te bepalen. De hartslag van de varkens van de behandelgroep met 60% CO<sub>2</sub> lijkt hoger dan de varkens van de andere behandelgroepen. De varkens uit deze 60% CO<sub>2</sub> groep werden tijdens de tweede helft van de eerste proefdag verdoofd en gedood. Deze varkens hadden sinds de vorige avond geen voer gehad en waren daardoor waarschijnlijk extreem onrustig en gestrest tijdens het bevestigen van de datalogger van het EEG/ECG apparaat aan de varkens. Dit is waarschijnlijk de reden voor de hogere hartslag in deze groep. De dag erop zijn de dieren verdoofd en gedood van de behandelgroepen met 70% en 80% CO<sub>2</sub>. De dieren die toen tijdens de tweede helft van de dag verdoofd en gedood werden, werden in de vroege ochtend nog gevoerd. Hierdoor was het honger gevoel waarschijnlijk niet aanwezig en waren de dieren rustiger bij het bevestigen van de EEG/ECG datalogger. De hartslag komt daardoor overeen met de andere behandelgroepen (controle en 70%).

Er lijkt een verschil te zijn in het verzet tegen bewusteloosheid tussen de verschillende behandelingen. De varkens uit de behandelgroep met 60% CO<sub>2</sub>-30% CO<sub>2</sub>-10% N<sub>2</sub> lijken zich meer te verzetten tegen de bewusteloosheid dan de varkens uit de andere behandelgroepen. Een langer verzet kan veroorzaakt worden door de lange inductietijd van bewusteloosheid bij de varkens uit die behandelgroep, hetgeen veroorzaakt wordt door lage CO<sub>2</sub> concentraties. Het pH van het bloed daalt hierdoor langzamer waardoor de bewusteloosheid later in zal treden (Eisele et al., 1967; Kohler et al., 1999; Woodbury and Karler, 1960).

Benauwdheid uitte zich in de vorm van het zogenaamde "gaspen" en een zware ademhaling. Er lijkt een effect te zijn van de O<sub>2</sub> gehalten die, invloed heeft op de ademhaling. Uit de resultaten van dit onderhavige onderzoek blijkt dat het toevoegen van 20% O<sub>2</sub> geen invloed heeft op de benauwdheid. Het toevoegen van 30% O<sub>2</sub> heeft mogelijk wel een positief effect op benauwdheid. Uit dit onderhavige onderzoek kan echter niet worden afgeleid of het minder tonen van benauwdheid beïnvloedt wordt door het hogere O<sub>2</sub>% of door het lagere CO<sub>2</sub> %. In de literatuur wordt een reductie van benauwdheid gezien door het toevoegen van O<sub>2</sub> aan CO<sub>2</sub> concentraties in onderzoek met ratten (Coenen et al., 1995; Danneman et al., 1997) en pluimvee (Lambooy et al, 1999; Coenen et al., 2000; Gerritzen et al., 2000; Barton Gade et al., 2001).

Ongecontroleerde spierspasmen of convulsies uitte zich in de vorm van algehele heftige spier samentrekkingen, spartelen en fors trappen. Er lijkt geen verschil te zijn in het aantal dieren met ongecontroleerde spierspasmen of convulsies.

Het aantal keer gillen tot het moment waarop het varken volledig op zijn zij ligt in de gondel, toont wel enige verschillen. In een aantal gevallen viel het gillen samen met het gaspen waardoor de incidentie van het gillen niet goed verklaard kan worden.

In deze proef is het effect van het toevoegen van O<sub>2</sub> aan een CO<sub>2</sub> concentratie voor het verdoven van slachtvarkens op het dierenwelzijn bepaald op een proeflocatie waarbij elk dier individueel werd verdoofd. De mate van stress bij deze dieren werd waarschijnlijk vooral veroorzaakt door het bevestigen van de EEG/ECG datalogger. De varkens werden per stuk uit de groep gehaald zonder de stress die eventueel veroorzaakt zou kunnen worden door het opdrijven. Dit was mogelijk doordat de dieren gewend waren aan mensen. De varkens liepen vanuit zichzelf de gondel binnen. Het is de vraag of de resultaten van deze proef geëxtrapoleerd kunnen worden naar een commerciële slachterij met een CO<sub>2</sub> verdovingsinstallatie. In een commerciële slachterij is het opdrijftempo hoog en worden de dieren in groepen van ongeveer 6 dieren tegelijkertijd verdoofd. Het hoge opdrijftempo kan de stress bij het dier verhogen (Marchant-Forde and Marchant-Forde, 2009). Het verdoven met meerdere dieren tegelijk kan de paniek in de gondel vergroten. Er valt altijd één dier als eerste om. Dit verdoofde dier kan bij de andere nog niet verdoofde varkens een schrikreactie en paniek veroorzaken. Ook de convulsies (het trappen van het varken) van het reeds verdoofd dier kan paniek veroorzaken. Daarnaast kunnen de convulsies mogelijk leiden tot schade aan de groepsgenoten. Tot nog toe is echter niet wetenschappelijk vastgesteld wat de oorzaak is van de paniekreacties in de gondel van een commerciële slachterij; de opdrijfmethode, de CO<sub>2</sub> concentratie, het zakken van de gondel, transport in het donker, de groepsgenoten, etc.



## 5 Conclusie

Op basis van resultaten van dit pilot-onderzoek kunnen de volgende conclusies getrokken worden:

- De varkens uit de behandelgroepen waarbij  $O_2$  is toegevoegd aan de  $CO_2$  concentratie, vertonen gemiddeld tekenen van terugkerend bewustzijn binnen 40 seconden na het verlaten van de gondel. Deze varkens komen te snel bij om onder praktijk omstandigheden adequate verbloeding te kunnen garanderen voordat bewustzijn terugkeert.
- De varkens uit de behandelgroepen waarbij  $O_2$  is toegevoegd aan de  $CO_2$  concentratie lijken hun bewustzijn later te verliezen dan de controlegroep waaraan geen  $O_2$  is toegevoegd. Alleen in de controle groep treedt ECG silence (dood) op.
- Er is mogelijk een positief effect op de hartslag als gevolg van het toevoegen van  $O_2$  aan de  $CO_2$  concentratie.
- Er lijkt meer verzet te zijn tegen bewusteloosheid bij de varkens die verdoofd werden met 30%  $O_2$ -60% $CO_2$ -10%  $N_2$  in vergelijking met de andere behandelingen.
- Het welzijnsvoordeel van het toevoegen van  $O_2$  aan de  $CO_2$  concentratie of een lagere  $CO_2$  concentratie ligt voornamelijk in het minder vaak tonen van benauwdheid voor het intreden van bewusteloosheid.

Uit de resultaten blijkt dat er geen duidelijke aanwijzingen zijn voor een verbeterd dierenwelzijn bij het verdoven van varkens met  $CO_2$  en  $O_2$  ten opzichte van het, in de praktijk toegepaste, huidige gasmengsel zonder  $O_2$ . Bovendien resulteerden de gasmengsels waaraan  $O_2$  is toegevoegd, in een te korte verdovingsduur. Dit kan leiden tot een sterk verminderd welzijn als het verbloeden niet binnen zeer korte tijd effectief wordt uitgevoerd.

## 6 Aanbevelingen

Op basis van de bovengenoemde resultaten adviseren we om geen vervolgonderzoek uit te voeren met meer dieren waarbij één van deze experimentele gasmengsels wordt vergeleken met het commercieel gebruikte gasmengsel. De verwachte verbetering van het welzijn met de geteste gasmengsels ten opzichte van het controle mengsel is niet duidelijk aanwezig of zeer marginaal. Daarnaast is de tijd die in een commerciële slachterij nodig heeft om dieren te kunnen verbloeden ruim langer dan de duur van bewusteloosheid die is gemeten bij blootstelling aan de experimentele gasmengsels.

Om te komen tot een mogelijke verbetering in dierenwelzijn tijdens het verdoven van slachtvarkens, zowel elektrisch als met kooldioxide, zou het zeer nuttig zijn om door middel van een risicoanalyse de kritische stappen in het verdovingsproces te identificeren. Verbeteringen van het dierenwelzijn in het verdovingsproces kunnen worden gezocht in het hele traject dat leidt tot een adequate verdoving. Denk hierbij aan wachtruimte, opdrijven, scheiden van de groep, restrainen en het verdoven zelf.

## Literatuur

- Barton-Gade, P., Von Holleben, K., Von Wenzlawowicz, M., 2001. Animal welfare and controlled atmosphere stunning (CAS) of poultry using mixtures of carbon dioxide and oxygen. *World's Poultry Science Journal*, 57, 188-200.
- Besluit doden van dieren (1997) <http://wetten.overheid.nl/>
- Coenen, A. M. L., W. H. I. M. Drinkenburg, R. Hoenderken and E. L. J. M. van Luijtelaar (1995). Carbon dioxide euthanasia in rats: oxygen supplementation minimizes signs of agitation and asphyxia. *Laboratory Animals*, 29: 262-268.
- Coenen, A.M.L., Smit, A., Zhonghua, L., Van Luijtelaar, G., 2000. Gas mixtures for anaesthesia and euthanasia in broiler chickens. *World Poultry Science*, 56, 225-234.
- Danneman, Peggy J., Susan Stein, and Sally O. Walshaw, 1997. Humane and Practical Implications of Using Carbon Dioxide Mixed with Oxygen for Anesthesia or Euthanasia of Rats. *Laboratory Animal Sciences* 47, 376-385.
- EFSA, 2004. Welfare Aspects of Animal Stunning and Killing methods. AHAW/04-027. 241 pp.
- Eisele, J.H., Eger, E.I., Muallem, M., 1967. Narcotic Properties of Carbon Dioxide in the Dog. *Anesthesiology*, 28, 856-865.
- Forslid, A., 1987. Transient neocortical, hippocampal and amygdaloid EEG silence induced in one minute inhalation of high concentrations CO<sub>2</sub> in swine. *Acta Physiologica Scandinavia*, 130: 1-10.
- Gezondheids en Welzijns Wet voor Dieren, 1992. <http://wetten.overheid.nl/>
- Gerritzen, M. A., Lambooi, E., Hillebrand, S. J. W., Lankhaar, J. A. C., Pieterse, C., 2000. Behavioural responses of broilers to different gaseous atmospheres. *Poultry Science*, 79, 928-933.
- Gerritzen, M.A., Lambooi, E., Reimert, H.G.M., Spruijt, B.M., Stegeman, J.A., 2006. Susceptibility of ducks and turkey to severe hypocapnic hypoxia. *Poultry Science*, 85, 1055-1061.
- Gerritzen, M.A., Kluijvers-Poodt, M., Reimert, H.G.M., Hindle, V., Lambooi, E., 2008. Castration of piglets under CO<sub>2</sub>-gas anaesthesia. *Animal*, 2: 11, 1666-1673.
- Geverink, N., 1998. Preslaughter treatment of pigs. Consequences for welfare and meat quality. *PhD. Thesis Landbouwwuniversiteit Wageningen, The Netherlands*
- Grandin, T., 1987. Animal handling. *Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice*, 3, 323-338.
- Hoenderken, R., J. G. van Logtestijn, W. Sybesma, and W.J.M. Spanjaard, 1983. Kohlendioxid-Betaubung von Schlachtschweinen. *Fleischwirtschaft*, 59:1572-1578.
- Holst, S., 2001. CO<sub>2</sub> stunning of pigs for slaughter – practical guidelines for good animal welfare. In: *Proceedings of the 47<sup>th</sup> international congress of meat science and technology* Krakow, Poland, 48-54. vol.1
- Hunter, E.J., Weeding, C.M., Guise, H.J., Abbott, T.A., Penny, R.H.C., 1994. Pig welfare and carcass quality – a comparison of the influence of slaughter handling systems at 2 abattoirs. *Veterinary Record*, 135, 423-425
- Hartung, J., Nowak, B., Waldmann, K.H., Ellerbrock, S., 2002. CO<sub>2</sub>-Betaubung von Schlachtschweinen: Einfluss auf EEG, Katecholamineausschüttung und klinische reflexe. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 109, 135-139.
- Kluijvers-Poodt, M., Gerritzen, M.A., Hindle, V., Smolders, M., Kuijken, N., 2008. Castratie van biggen met CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>-verdoving. *ASG Rapport* 163.
- Kohler, I., Meier, R., Busato, A., Neiger-Aeschbacher, G., 1999. Is carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) a useful short acting anaesthetic for small laboratory animals? *Laboratory Animals* 37, 241-248.
- Lambooi, E., Gerritzen, M.A., Engel, B., Hillebrand, S.J.W., Lankhaar, J., Pieterse, C., 1999. Behavioural responses during exposure of broilers to different gas mixtures. *Applied Animal Behaviour Science* 62, 255-265
- Marchant-Forde, J.N. and Marchant-Forde, R.M., 2009. Welfare of Pigs During Transport and Slaughter. Chapter 10. In: *The Welfare of Pigs, Animal Welfare* 7. 301-330.
- Martoft, L., 2001. Neurophysiological effects of high concentration CO<sub>2</sub> inhalation in swine. *Ph.D. thesis Department of Anatomy and Physiology, Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Denmark.*
- Nowak, B., Mueffling, T.V., Hartung, J., 2007. Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs: Impact on animal welfare and meat quality. *Meat Science*, 75, 290-298.
- Raj, A.B.M., Gregory, N.G., 1995. Welfare implications of the gas stunning of pigs 1. Determination of aversion to the initial inhalation of carbon dioxide or argon. *Animal welfare* 4, 273-280
- Raj, A.B.M., Johnson, S.P., Wotton, S.B., McKinstry, J.L., 1997. Welfare implications of the gas stunning of pigs 3. Time to loss of somatosensory evoked potentials and spontaneous electrocorticogram of pigs during exposure to gases. *Veterinary Journal*, 153, 329-339.

- Raj, A.B.M., 1999. Behaviour of pigs exposed to mixtures of gases and the time required to stun and kill them. *Veterinary Record* 144, 165-168.
- Stoier, S., Aaslyng, M.D., Olsen, E.V. and Henckel, P., 2001. The effect of stress during lairage and stunning on muscle metabolism and drip loss in Danish pork. *Meat Science*, 59, 127-131.
- Troeger and Woltersdorf, 1991. Gas anaesthesia of slaughter pigs. 1. Stunning experiments under laboratory conditions with fat pigs of known halothane reaction type: Meat quality and animal protection. In German. *Fleischwirtschaft*, 71, 1063-1068.
- Velarde, A., Gispert, M., Faucitano, L., Manteca, X., Diestre, A., 2000. Survey of the effectiveness of stunning procedures used in Spanish pig abattoirs. *Veterinary Record*, 146, 65-68.
- Von Hertrampf, B., Von Mickwitz, G., 1979a. Betäubung von Schlachttieren Teil 1: CO<sub>2</sub>-Betäubung. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 86, 421-456.
- Von Hertrampf, B., Von Mickwitz, G., 1979b. Betäubung von Schlachttieren Teil 1: CO<sub>2</sub>-Betäubung. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 86, 457-512.
- Woodbury, D.M. and Karler, R., 1960. The role of carbon dioxide in the nervous system. *Anesthesiology*, 21, 686-703.