

RUTE PERIQUITO MARTINS VIEIRA

**ESTUDO DA UTILIDADE DA TERMOGRAFIA
INFRAVERMELHA NA MEDIÇÃO DA DOR EM
CAVALOS COM CÓLICA. COMPARAÇÃO COM
ESCALAS DE DOR PADRONIZADAS.**

Orientadores: Professor Doutor Manuel Mário Pequito

Co-Orientadora: Professora Doutora Ester Bartolomé Medina

Júri (Despacho N°86/2018):

Presidente: Professora Doutora Ana Maria Munoz

Arguente: Professora Doutora Sofia van Harten

Orientador: Professor Doutor Manuel Mário Pequito

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2017

RUTE PERIQUITO MARTINS VIEIRA

**ESTUDO DA UTILIDADE DA TERMOGRAFIA
INFRAVEMELHA NA MEDIÇÃO DA DOR EM
CAVALOS COM CÓLICA. COMPARAÇÃO COM
ESCALAS DE DOR PADRONIZADAS.**

Dissertação apresentada para a obtenção
do Grau de Mestre em Medicina
Veterinária no curso de Mestrado
Integrado em Medicina Veterinária
conferido pela Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias

Orientadores: Professor Doutor Manuel
Mário Pequito Co-Orientadora:
Professora Doutora Ester Bartolomé

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2017

Este trabalho dedico-o à minha mãe, Maria do Carmo Vieira, de quem eu sinto tanta falta e que me inculuiu, desde pequena, o amor incondicional pelos animais.

*Enquanto o homem continuar a ser destruidor
impiedoso dos seres animados dos planos
inferiores, não conhecerá a saúde nem a paz.*

*Enquanto os homens massacrarem os
animais, eles matar-se-ão uns aos outros.
Aquele que semeia a morte e o sofrimento
não pode colher a alegria e o amor.*

Pitágoras

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha família, essencialmente. João Luís, o meu marido, o amor da minha vida, o meu melhor amigo, à minha irmã Laura Vieira, a minha companheira, a minha metade. Ambos têm desempenhado um papel essencial, são os meus pilares, sempre bem perto de mim. Ao meu pai, Carlos Vieira, o meu herói, o meu exemplo de vida a quem eu tanto admiro. Aos meus sogros, que não poderia pedir melhores, Almerinda José e Miguel Luís, que me amam e apoiam como meus segundos pais. Todos eles individualmente e em conjunto ajudaram-me a chegar até aqui, uma das etapas mais importantes da minha vida e eu respeito-vos e amo-vos tanto. Que continuem ao meu lado agora e para sempre, não sei viver sem vocês.

Apesar dos contratemplos, espero ter deixado todos orgulhosos.

Obrigada ao Professor José Prazeres pela inspiração e ensinamentos durante o estágio. Um muito obrigada ao Professor Doutor Manuel Pequito por se ter prontamente disponibilizado para me ajudar no meu projeto, como meu orientador. À minha co-orientadora, Professora Doutora Ester Medina, agradeço imensamente pela paciência, pela orientação, pela ajuda, pela disponibilidade, pelo ensino, pela gentileza, por tudo.

Todos eles me orientaram até este momento tão importante.

Agradeço também aos proprietários dos cavalos pela sua colaboração e gentileza, por me permitirem realizar a recolha de dados, essenciais à realização deste trabalho.

Obrigada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias pelas oportunidades que me conferiram e a todos os docentes que me acompanharam ao longo destes anos.

Sem vocês, o meu sonho não teria sido possível,

Muito Obrigado.

RESUMO

A correta avaliação de dor nos animais com patologias viscerais é importante e necessária no exercício da clínica veterinária equina não só para o bem estar animal, mas também para a toma de decisões clínicas adequadas. A cólica é a mais importante e frequente doença diagnosticada no cavalo e por esta razão é o alvo de estudo deste projeto. Para medição da dor, utilizaram-se parâmetros objetivos medindo alterações fisiológicas e para isso recorreu-se a um estetoscópio e termómetro. Também foram usados parâmetros subjetivos para avaliação do comportamento, onde recorreu-se a 3 escalas de dor padronizadas (escala de classificação numérica, escala de dor composta e escala de expressão facial).

A termografia infravermelha é um procedimento imagiológico, não invasivo, de medição da temperatura corporal e que recentemente foi usado apenas em bovinos para avaliação da dor. Assim, o objetivo deste projeto, foi estudar a utilidade da termografia infravermelha como ferramenta de avaliação de dor em cavalos com cólica. Para este efeito recorreu-se a uma câmara de termografia infravermelha com o respetivo software de análise de imagem e também utilizou-se um termohigrómetro para a posterior calibragem das imagens, segundo a temperatura e humidade ambiente.

Neste projeto estudaram-se 9 cavalos internados no hospital de equinos em Santo Estêvão, todos eles com queixa de dor abdominal (cólica).

Encontraram-se diferenças significativas para 10 parâmetros ambientais recolhidos para cada animal: idade; raça; desparasitações prévias; vacinações prévias; tipo das fezes; tipo de alimentação; administração de soro; administração de flunixin meglumina; administração de medicação no geral e administração de outro tipo de medicação. Por outro lado, encontraram-se correlações positivas e estatisticamente significativas com a frequência cardíaca (43%), com a temperatura retal (38%), com a Escala de Dor Composta (56%) e com a Escala de Expressão Facial (62%). Estes resultados indicaram que a temperatura ocular medida com a termografia infravermelha é uma ferramenta adequada para a avaliação da dor da cólica em cavalos.

Palavras-chave: Termografia infravermelha, cólica, equino, escala de dor, stresse.

ABSTRACT

Correct evaluation of pain in animals with visceral disorders is important and necessary in the practice of the equine veterinary clinic, not only for animal welfare, but also for making adequate clinical decisions. Colic is the most important and frequent disease diagnosed in the horse and for this reason is the target of this project. To measure pain, objective parameters were used to evaluate physiological changes, using a stethoscope and a thermometer. Subjective parameters were also used for behavioral assessment, in which three standardized pain scales (numerical rating scale, composite pain scale and facial expression scale) were used.

Infrared thermography is an imaging, non-invasive procedure for measuring body temperature and has been recently used only in cattle for pain assessment. Thus, the focus of this project was to study the usefulness of infrared thermography as a tool to evaluate pain in horses with colic. For this purpose an infrared thermography camera was used with the respective image analysis software and a thermohygrometer was also used for the subsequent calibration of the images according to the ambient humidity and temperature.

In this project were studied 9 horses hospitalized at the hospital of equines in Santo Estêvão, all with complaints of abdominal pain (colic).

Significant differences were found for 10 environmental parameters collected for each animal: age; breed; previous deworming; vaccination status; stool type; type of feed; saline administration; flunixin meglumine administration; administration of medication in general and administration of other type of medication. On the other hand, there were positive and statistically significant correlations with heart rate (43%), rectal temperature (38%), composite pain scale (56%) and facial expression scale (62%). These results indicated that the ocular temperature measured with infrared thermography is a suitable tool for the evaluation of colic pain in horses.

Keywords: Infrared thermography, colic, equine, pain scale, stress.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E **SÍMBOLOS**

ACTH - Hormona Adrenocorticotropa

ADP - Hormona Antidiurética

AIS – Analgesia induzida por stresse

BPM – Batimentos por minuto

ECN - Escala de classificação numérica

EDC – Escala de dor composta

EEF – Escala de expressão facial

FC – Frequência cardíaca

FR – Frequência respiratória

GABA - Ácido g-aminobutírico

GnRH - Hormona do Crescimento

HIS - Hiperalgisia induzida pelo stresse

HPA – Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

RPM – Respirações por minuto

SNA – Sistema Nervoso Autónomo

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Parassimpático

SNS – Sistema Nervoso Simpático

TIV – Termografia infravermelha

ÍNDICE

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	8
1. INTRODUÇÃO	13
1.1 O que é a dor e como se mede?	13
1.2 Porque é importante a medição da dor na clínica veterinária?	15
1.3 Como é que se mede a dor em cavalos?	17
2. A TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA	24
3. OBJETIVOS	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Animais	35
4.2 Termografia Infravermelha.....	36
4.3 Parâmetros fisiológicos.....	37
4.4 Escalas padronizadas da dor	37
4.5 Análise Estatística.....	39
5. RESULTADOS	40
6. DISCUSSÃO	49
7. CONCLUSÕES	55
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
9. ANEXOS	I

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - ESCALA DE CLASSIFICAÇÃO NUMÉRICA (ECN) PROPOSTA POR PRITCHETT <i>ET AL.</i> , (2003)	19
TABELA 2 - ESCALA DE DOR COMPOSTA (EDC) PROPOSTA POR BUSSIÈRES <i>ET AL.</i> , (2008).....	20
TABELA 3 - ESCALA DE EXPRESSÃO FACIAL (EEF) PROPOSTA POR COSTA <i>ET AL.</i> , (2014)	22
TABELA 4 - MÉDIAS, DESVIOS PADRÃO, MÁXIMOS E MÍNIMOS PARA OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS (TIV, FC, FR, TR) E PARA AS ESCALAS PADRONIZADAS DA DOR (EDC, EEF E ECN), SEGUINDO AS HORAS DE REGISTO.	41
TABELA 5 - CORRELAÇÕES DE SPEARMAN RANK (EM PERCENTAGEM) ENTRE A TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E OS PARÂMETROS AVALIADOS: FISIOLÓGICOS (FC, FR, TR) E COMPORTAMENTAIS (EDC, EEF E ECN), PARA CADA HORA DE REGISTO DE DADOS.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG. 1 - DIFERENTES MANIFESTAÇÕES COMPORTAMENTAIS DE DORE/OU STRESSE (A A D). .	16
FIG. 2 - IMAGEM TERMOGRÁFICA DO OLHO ESQUERDO DUM CAVALO.	24
FIG. 3 - CÂMARA DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA.	25
FIG. 4 - IMAGEM TERMOGRÁFICA DOS MEMBROS POSTERIORES DE UM CAVALO ONDE SE OBSERVA AUMENTO DA TEMPERATURA NA EXTREMIDADE DO MEMBRO ESQUERDO (A), DA VISTA CAUDAL DO CAVALO COM LESÃO, VISUALIZAÇÃO DO AUMENTO DA TEMPERATURA, COMPATÍVEL COM MIOSITE NOS GLÚTEOS (B), DA VISTA FRONTAL DAS QUATRO MÃOS DO CAVALO, LESÃO (DIMINUIÇÃO DA TEMPERATURA) COMPATÍVEL COM SÍNDROME DO NAVICULAR NA EXTREMIDADE ANTERIOR ESQUERDA (C), DA VISTA DORSAL DO CAVALO COM AS MARCAS NAS ZONAS DE FRICÇÃO (AUMENTO DE TEMPERATURA) COMPATÍVEL COM USO DUMA SELA INADEQUADA (D).....	27
FIG. 5 - ESQUEMA DA FISIOLOGIA DA RESPOSTA AO STRESSE POR BARTOLOMÉ <i>ET AL.</i> , 2016.	29
FIG. 6 – CONJUNTO DE MATERIAL NECESSÁRIO PARA A REALIZAÇÃO DE MEDIÇÕES DE TEMPERATURA COM TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA.....	36
FIG. 7 – TERMOHIGRÓMETRO.....	37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DO TEMPO (EM HORAS) DO VALOR DA TIV PARA CADA UM DOS ANIMAIS AVALIADOS NO ESTUDO.	40
GRÁFICO 2 - EVOLUÇÃO DAS MÉDIAS DA TIV COM OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DA FC, FR E TR (A) E PARA AS ESCALAS PADRONIZADAS EDC, EEF E ECN DE MEDIÇÃO DA DOR (B), SEGUINDO AS HORAS DE REGISTO DAS DADOS.	43
GRÁFICO 3 - TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA (GLM) (VALOR F^p) E FIGURA DE MÉDIAS MÍNIMO QUADRÁTICAS (MMQ) COM PROVA DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA DE DUNCAN, PARA CADA FATOR ANALISADO QUE SE MOSTROU ESTATISTICAMENTE SIGNIFICATIVO ($p < 0,05$) NA ANÁLISE GLM, COM RESPEITO À TEMPERATURA INFRAVERMELHA (°C).	46

1. INTRODUÇÃO

1.1 O que é a dor e como se mede?

A dor é uma experiência sensorial complexa que atua como um mecanismo de aviso e proteção para o animal, para este conseguir manter a sua integridade corporal e assegurar a sua sobrevivência (Bussiéres *et al.*, 2008).

Consiste numa sensação de desconforto, de intensidade variável e que se origina da estimulação de terminações nervosas sensoriais específicas (nociceptores) em diferentes localizações do corpo. Estes nociceptores criam sinais elétricos (transdução) da periferia para o sistema nervoso central (transmissão) onde são processados e interpretados como dor (percepção). Os nociceptores responsáveis pela transdução, são neurónios aferentes (ou sensoriais) e estão largamente distribuídos pelo corpo. São encontrados na pele, osso, músculo, órgãos internos, vasos sanguíneos, meninges, etc. Os estímulos detetados como nocivos podem ser químicos, térmicos ou mecânicos.

Quando a informação dos neurónios sensoriais de 1ª ordem (aferentes) passa para os neurónios sensoriais de 2ª ordem, esta é transmitida localmente ao sistema motor para iniciar respostas reflexas protetoras e também é transmitida supraespinhalmente em tratos ascendentes ao tronco cerebral, tálamo e córtex cerebral. A informação chega aos centros mais elevados, através de tratos ascendentes de neurónios, estes tratos incluem o trato: espino-talâmico, espino-mesencefálico, espino-cervico-talâmico e espinoreticular. A transmissão supraespinhal de informação nocicetiva inicia respostas do Sistema Nervoso Autónomo (SNA) criando a percepção de dor, esta dor vai provocar uma reação sistémica visto que, o sistema nervoso é o alvo da informação nociceptiva. Assim, graças ao SNA o animal vai ter uma resposta fisiológica e comportamental à dor (Dewey, 2008; Klaumann *et al.*, 2008). De forma geral, as reações fisiológicas que decorrem durante uma resposta à dor são:

- Diminuição do tónus gastrointestinal
- Diminuição do tónus urinário
- Aumento do tónus simpático

- Aumento do tónus músculo-esquelético
- Aumento do débito cardíaco e da frequência cardíaca (FC)
- Aumento da resistência vascular sistémica com vasoconstrição e consequentemente aumento da pressão sanguínea
- Aumento do consumo de oxigénio pelo miocárdio
- Aumento frequência respiratória (FR)

As reações endócrinas incluem um aumento das hormonas, adrenocorticotropa (ACTH), do cortisol, da hormona antidiurética (ADP), da hormona do crescimento (GnRH), AMP cíclico, catecolaminas, renina, angiotensina II, aldosterona, glucagon e interleucina 1 e pela diminuição da secreção de insulina e testosterona.

Estas alterações endócrinas são caracterizadas por um estado catabólico onde ocorre hiperglicémia, aumento do catabolismo protéico, lipólise, retenção renal de água e sódio, com aumento da excreção de potássio e diminuição da taxa de filtração glomerular (Dewey, 2008; Klaumann *et al.*, 2008).

Por outro lado, a resposta comportamental varia segundo a espécie, a raça, o estado de saúde e a idade do animal, sendo específica de cada um deles.

Todas as alterações comportamentais constituem uma resposta clássica ao stresse, neste caso induzido por um estímulo doloroso, e correspondem a uma adaptação para otimizar a sobrevivência (Dewey, 2008).

1.2 Porque é importante a medição da dor na clínica veterinária?

Visto que os animais têm capacidade sensitiva para a perceção de estímulos externos mas não têm a capacidade de comunicação verbal, as suas alterações comportamentais e dos parâmetros fisiológicos tornam-se imprescindíveis para a correta avaliação das manifestações de dor. Além disso, a mensuração e avaliação da severidade da dor nos animais é indispensável para tomar decisões clínicas (Radostits *et al.*, 2002).

As manifestações/expressões de dor são influenciadas por diversos fatores, como espécie, raça, variações individuais e ambientais, entre outros.

Dor somática e dor visceral, por exemplo, são diferentes fenómenos que se manifestam de maneira diferente e precisam de ser tratados de maneira diferente (Van Loon *et al.*, 2015).

A cólica é uma das mais importantes e frequentes doenças diagnosticadas no cavalo. A disponibilidade de ferramentas de avaliação de dor, específicas e validadas, irão ajudar a identificar dor relacionada com cólica e conseqüentemente contribuir para o bem estar dos equinos, apoiando e melhorando a qualidade do atendimento (Van Loon *et al.*, 2015).

No exame clínico, as manifestações de dor do animal são fundamentais para um diagnóstico por parte do médico veterinário, isto porque auxiliam na localização da lesão/dor, para determinar a natureza da mesma e aliviá-la (se possível). Tratar sintomaticamente a dor como tratamento de suporte para a doença primária, tendo a certeza de que a dor é a causa dos sintomas observados (Radostits *et al.*, 2002).

Nas figura 1 (A-D), verificam-se alguns dos comportamentos clássicos de dor, como olhar o flanco, esponjar-se no chão, raspar o chão e morder gradeamentos/madeira.



A. Olhar o flanco

(http://horseconsult.com/articles/images/kolik_hest_kolik_symptom_hestevelfaerd.jp)



B. Esponjar-se no chão

(<http://www.horsemanmagazine.com/wp-content/uploads/2008/10/horse-colic.jpg>)



C. Raspar o chão

(<http://blog.abler.com/mm/wp-content/uploads/2016/06/horse-kicking-in-stall-e1467160967298.jpg>)



D. Mordiscar gradeamentos/madeira

(https://stablemanagement.com/image/t_share/MTQINDU4NTA1NjY5NjgyNzQz/research-update-on-crib-biting-and-colic-promo-image.jpg)

Fig. 1 - Diferentes manifestações comportamentais de dore/ou stresse (A a D).

1.3 Como é que se mede a dor em cavalos?

Para avaliar a dor em qualquer espécie animal temos disponíveis, por um lado, os parâmetros objetivos de medição, que baseiam-se na medição das alterações fisiológicas que acontecem durante a resposta à dor; e os parâmetros subjetivos de medição, que se baseiam na avaliação das alterações comportamentais medidas mediante escalas padronizadas.

Métodos fisiológicos para medição do stresse animal incluem, segundo Trevisi & Bertoni (2009) e Romero *et al.*, (2011):

- 1. Frequência cardíaca (FC):** É a sucessão de sístoles e diástoles da musculatura do coração. Mede-se com um estetoscópio ou um pulsómetro em batimentos por minuto (bpm). Há uma relação directamente proporcional com o nível de stresse produzido pela dor que o animal apresenta.
- 2. Frequência respiratória (FR):** É o ciclo regular de inspirações e expirações, controlado por impulsos neurais transmitidos entre os músculos inspiratórios do tórax e os centros respiratórios do encéfalo. Mede-se com a ajuda do estetoscópio em respirações por minuto (rpm). Como consequência do aumento da FC, a FR também aumenta quando o animal apresenta stresse por dor.
- 3. Níveis sanguíneos de ACTH:** A ACTH é uma hormona libertada pela hipófise como resposta a situações de stresse, que ativa a síntese e libertação de glucocorticóides. A medição é feita recorrendo a uma amostra de sangue. A ACTH aumenta exponencialmente quando há stresse devido à dor.
- 4. Níveis sanguíneos de cortisol:** O cortisol é uma hormona esteróide, glucocorticóide, produzido pela glândula suprarenal. É libertada como resposta ao stresse e a um nível baixo de glucocorticóides no sangue. Pode medir-se com recolha de uma amostra de sangue ou saliva, aumentando quando há stresse produzido por dor.
- 5. Níveis sanguíneos de glucogénio:** O glucogénio ajuda a armazenar açúcar no corpo, sendo este libertado para que seja utilizado pelos músculos mediante uma situação de stresse. Mede-se com a recolha de uma amostra de sangue, aumentando quando há stresse.
- 6. Temperatura Ocular:** Numa situação de stresse a circulação sanguínea aumenta, consequentemente a temperatura nas zonas muito vascularizadas do

corpo (como a carúncula lagrimal) também aumentam. Assim, estudos recentes mostraram que a temperatura ocular é uma boa medida de stresse em cavalos (Valera *et al.*, 2012). Embora a sua relação com a dor tenha sido evidenciado em bovinos (Stewart *et al.*, 2009), a sua relação com a dor em cavalos ainda está a ser estudada.

O maior problema com a recolha de dados fisiológicos é que a maioria requer colheita duma amostra (sangue, saliva, etc), isto é uma limitação, visto que o animal têm que ser contido e manuseado para recolher a amostra, o que por si só, é um agente causador de stresse, logo os resultados não serão totalmente fiáveis. Além disso, a medição da FC, por exemplo, é problemática na medição do stresse produzido pela dor, visto que é difícil distinguir se esta resposta é devida à atividade metabólica ou a uma resposta emocional do animal. Também, muitos destes sistemas de recolha de amostras, necessitam de algum grau de manipulação ainda mais invasivo (cirurgia, cateterização, etc.) para extrair as amostras precisas e necessárias para análise. Neste sentido, foram e continuam a ser desenvolvidos novos métodos para medição do stresse, que sejam menos invasivos, mais fiáveis e mais precisos, como a temperatura ocular avaliada com termografia infravermelha (Stewart *et al.*, 2005).

Visto que a quantificação da dor de forma objetiva é difícil em animais, pelas razões anteriormente referidas, cada vez mais são usados métodos subjetivos de avaliação do stresse produzido pela dor, como as escalas padronizadas. As escalas comportamentais de dor levam em consideração os comportamentos específicos da espécie em questão e são uma ferramenta útil e eficiente, visto que são fáceis de usar e nada invasivos. Utilizam parâmetros “standard” que apesar de poderem ser utilizados por diferentes avaliadores, possibilitando resultados mais constantes.

Uma escala padronizada de dor ideal, têm que ser: linear, bem delimitada, bem definida e específica para o tipo de dor, tipo de espécie e tipo de raça em questão. Também têm que ser fácil de usar e incluir parâmetros que permitam a interpretação repetitiva de avaliador para avaliador resultando assim na obtenção de resultados constantes (Pritchett *et al.*, 2003).

Deste modo, diferentes autores criaram escalas de dor distintas, guiando-se por diferentes referências anatómicas, comportamentais e fisiológicas. Pritchett *et al.*, (2003) criaram uma escala para a identificação de indicadores comportamentais e fisiológicos em

animais com dor pós operatória (celiotomia exploratória por cólica). Fisiologicamente, foram medidos parâmetros tais como, a FC, a FR e a concentração plasmática de cortisol. A escala comportamental que criaram é numérica (ECN – Escala Classificação Numérica) e o score associado é preenchido por observação, de acordo com o grau de dor que o animal apresenta (Tabela 1). O score comportamental (ECN) foi subdividido em duas componentes: Pontuação de Postura e Pontuação de Socialização. A pontuação de postura é a soma dos scores de categorias tais como: comportamento de dor generalizado (Flehmen, raspar, olhar o flanco, sudação, etc), posição da cabeça e orelhas, localização na box e movimentos espontâneos. Quanto à pontuação de socialização, baseia-se na soma de scores de categorias tais como: resposta à abertura da porta, resposta à aproximação, tentar levantar uma mão, resposta à oferta de ração com a porta da box aberta (apesar destes não estarem permitidos de comer). Os scores de cada categoria são medidos de 1 a 4, sendo a máxima cotação para a ECN de 36.

Por outro lado, Bussières *et al.*, (2008) desenvolveram uma escala composta multifatorial de dor ortopédica para cavalos (EDC – Escala de Dor Composta). Mais tarde foi aplicada em cavalos com dor somática e visceral por Van Loon *et al.*, (2010). Esta escala foi construída com base em escalas já existentes, incluindo parâmetros fisiológicos, comportamentais e interativos (Tabela 2). Todos os parâmetros medidos, são cotados de 0 a 3, sendo o 0 correspondente à normalidade (sem modificações, sem dor) e o 3 corresponde à máxima intensidade de dor. O máximo atingível na EDC é de 39.

Posteriormente, Van Loon *et al.*, (2014) utilizou a ECN e a EDC descritas anteriormente, para medir a dor visceral, como já referido. Este estudo concluiu que a EDC (Bussières *et al.*, 2008) é útil tanto para a dor ortopédica como para a dor visceral, em cavalos. Esta escala pode ser amplamente usada como ferramenta na prática clínica visto ser tão objetiva. No caso da ECN (Pritchett *et al.*, 2003), esta não foi completamente validada, portanto, é debatível se pode ser usada para a avaliação de dor visceral.

Mais tarde, Costa *et al.*, (2014) desenvolveram e validaram uma escala de dor standard, baseada na expressão facial do cavalo (EEF – Escala de Expressão Facial). Cada parâmetro é medido de 0 (ausente) a 2 (obviamente presente) (Tabela 3). Embora esta escala apresente algumas limitações, visto que a avaliação da expressão facial do animal é dificultada pela cor da sua pelagem (pelagens mais escuras são mais difíceis de avaliar do que pelagens claras), também a cor de fundo escura ou a falta de luminosidade são

limitações. A grande vantagem desta escala é a observação do animal no seu ambiente natural sem interferência/manipulação humana.

Tabela 1 - Escala de classificação numérica (ECN) proposta por Pritchett *et al.*, (2003)

Comportamento	1	2	3	4
Comportamento de dor	Nenhum		Ocasional	Contínuo
Posição da cabeça	Acima garrote		Ao nível do garrote	Abaixo do garrote
Posição das orelhas	Para a frente, movimento frequente		Ligeiramente para trás, pouco movimento	
Localização na box	À porta, atento ao ambiente	No meio da box virado para a porta	No meio da box, virado para os lados	No meio da box, virado para trás
Locomoção espontânea	Move-se livremente	Dá passos, ocasionalmente		Sem movimento
Resposta à abertura da porta	Move-se para a porta	Olha para a porta		Sem resposta
Resposta à aproximação	Dirige-se ao observador, orelhas para a frente	Olha para o observador, orelhas para frente	Afasta-se do observador	Não se mexe, orelhas para trás
Elevação da mão	Levanta a mão livremente quando pedido	Levanta a mão após ligeiro encorajamento		Não está disposto a levantar a mão
Resposta ao grão	Dirige-se ao grão	Olha para a porta		Sem resposta

Tabela 2 - Escala de dor composta (EDC) proposta por Bussi eres *et al.*, (2008)

COMPORTAMENTO	CRITÉRIO	SCORE
Aparência (relutância no movimento, inquieto, agitado e ansioso)	Desperto e alerta, orelhas e cabeça baixas, sem relutância em mover-se	0
	Desperto, movimentos ocasionais com cabeça, sem relutância em mover-se	1
	Inquieto, pupilas dilatadas, orelhas espetadas, expressão facial anormal (ranger de dentes, bocejar após seda�o e/ou face contorcida)	2
	Excitado, movimetos corporais contínuos, expressão facial anormal	3
Suda�o	Sem sinais óbvios de suor	0
	Húmido ao toque	1
	Molhado ao toque, com gotas de suor pelo corpo	2
	Suor excessivo, gotas de suor a escorrer pelo corpo	3
Pontapear o abd�men	Calmo, em esta�o, sem pontapear abd�men	0
	Pontapeia ocasionalmente abd�men (1-2x/5min)	1
	Pontapeia frequentemente abd�men (3-4x/5min)	2
	Pontapeia excessivamente abd�men (>5x/5min), tentativas de deitar-se e rolar	3
Raspar o chão	Calmo, em esta�o, sem raspar	0
	Raspa ocasionalmente o chão (1-2x/5min)	1
	Raspa frequentemente o chão (3-4x/5min)	2
	Raspa excessivamente o chão (>5x/5min)	3
Postura (conforto, distribui�o do peso)	Calmo, em esta�o, andamento normal	0
	Mudança de peso ocasional, ligeiro tremor muscular	1
	Não suporta o peso, distribui�o de peso anormal	2
	Alonga-se, prostrado, tremores musculares	3
Movimento da cabeça	Sem evidência de desconforto, cabeça para a frente a maior parte do tempo	0
	Movimentos intermitentes com cabeça (lateral ou verticalmente), olhar o flanco (1-2x/5min), eleva�o do lábio (1-2x/5min)	1
	Movimentos intermitentes e rápidos com cabeça (lateral ou verticalmente), olhar o flanco frequentemente (3-4x/5min), eleva�o do lábio (3-4x/5min)	2
	Movimentos contínuos com cabeça, olhar o flanco excessivamente (>5x/5min), eleva�o do lábio (>5x/5min)	3

COMPORTAMENTO	CRITÉRIO	SCORE
Apetite	Come feno prontamente ou não lhe é permitido comer feno	0
	Hesita em comer feno	1
	Demonstra pouco interesse no feno, come muito pouco ou coloca-o na boca mas não o mastiga e/ou engole	2
	Não demonstra interesse no feno, nem come	3
Comportameto interativo	Presta atenção às pessoas	0
	Resposta exagerada a estímulos auditivos (quando observador chama o cavalo)	1
	Resposta excessiva e agressiva a estímulos auditivos (morder, virar os posteriores para dar coice ao observador)	2
	Estrupor, prostração, sem resposta a estímulos auditivos	3
Resposta à palpação da área dolorosa	Sem reação à palpação	0
	Reação ligeira à palpação	1
	Resistência à palpação	2
	Reação violenta à palpação	3
FC	24-44 bpm	0
	45-52 bpm	1
	53-60 bpm	2
	>60 bpm	3
FR	8-13 rpm	0
	14-16 rpm	1
	17-18 rpm	2
	>18 rpm	3
Motilidade intestinal	Motilidade normal	0
	Hipomotilidade	1
	Ausência de motilidade	2
	Hipermotilidade	3
Temperatura retal	36,9-38,5°C	0
	36,4-36,9°C ou 38,5-39°C	1
	35,9-36,4 ou 39-39,5°C	2
	35,4-35,9°C ou 39,5-40°C	3
TOTAL		0-39

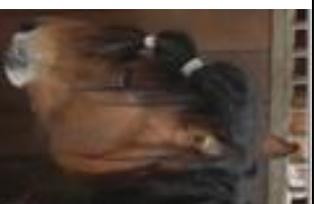
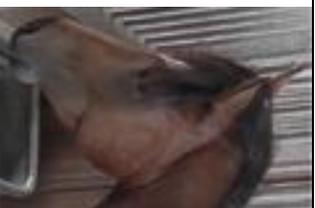
Tabela 3 - Escala de expressão facial (EEF) proposta por Costa *et al.*, (2014)

ORELHAS RÍGIDAS PARA TRÁS			RIGIDEZ PALPEBRAL		
<p>Ausente (0)</p> 	<p>Moderadamente Presente (1)</p> 	<p>Obviamente Presente (2)</p> 	<p>Ausente (0)</p> 	<p>Moderadamente Presente (1)</p> 	<p>Obviamente Presente (2)</p> 
<p>As orelhas rígidas e voltadas para trás. O espaço entre elas pode parecer alargado relativamente à base.</p>			<p>Pálpebra parcialmente ou totalmente fechada. O fecho da pálpebra com redução do tamanho do olho a mais de 50% considera-se =(2).</p>		

TENSÃO ACIMA DO OLHO**MÚSCULOS MASTIGADORES PROEMINENTES****Ausente (0)****Moderadamente presente (1)****Obviamente presente (2)****Ausente (0)****Moderadamente presente (1)****Obviamente presente (2)**

Músculos acima do olho contraídos, maior visibilidade das superfícies ósseas. Crista do temporal, visível = (2)

Músculos mastigadores visíveis, aumento da tensão acima dos lábios. Se estão obviamente proeminentes, considera-se um (2)

BOCA TENSA E QUEIXO PRONUNCIADO**NARINAS TENSAS E ACHATAMENTO DO PERFIL****Ausente (0)****Moderadamente presente (1)****Obviamente presente (2)****Ausente (0)****Moderadamente presente (1)****Obviamente presente (2)**

Boca tensa claramente visível quando o lábio superior está para trás e o inferior causa um queixo pronunciado.

Narinas tensas e ligeiramente dilatadas, o perfil do nariz fica achatado e os lábios alongados.

TOTAL**0-12**

2. A TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA

A termografia infravermelha (TIV) é capaz de detetar alterações no fluxo de sangue periférico a partir das alterações resultantes associadas à perda de calor e como tal pode ser uma ferramenta útil para medir o stresse nos animais (Stewart *et al.*, 2005). Estudos recentes com TIV têm demonstrado que a temperatura do olho pode ser um bom indicador de stresse também em cavalos (Cook *et al.*, 2001; Bartolomé *et al.*, 2012; Valera *et al.*, 2012).

Quando um animal está em stresse, o eixo HPA é ativado e há produção de calor, como consequência do aumento da concentração de catecolaminas e cortisol que estão a induzir um aumento de fluxo sanguíneo (Schaefer *et al.*, 2004).

A temperatura das extremidades e da pele é em grande parte dependente da quantidade de sangue que flui através dos vasos periféricos (Hsieh *et al.*, 1990), por isso as alterações de fluxo sanguíneo como consequência do stresse, irão alterar a quantidade de calor radiante que se perde no corpo do animal.

A temperatura de pequenas áreas em redor do bordo posterior da pálpebra e da carúncula lacrimal são ricas em leitos capilares enervados pelo sistema nervoso simpático (SNS), e respondem às alterações sofridas no fluxo sanguíneo.

Na figura 2 observa-se a temperatura medida com TIV da região do olho esquerdo. O círculo azul indica a área do olho utilizado para análise termográfica (bordo medial posterior da pálpebra inferior e carúncula lacrimal). A escala de cor à direita mostra as temperaturas da imagem em função da cor.

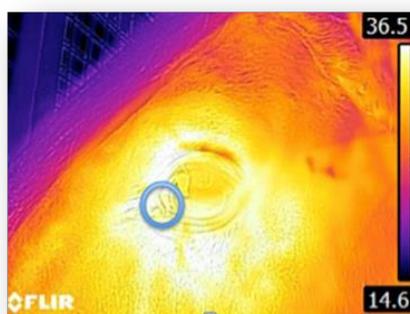


Fig. 2 - Imagem termográfica do olho esquerdo dum cavalo.

O princípio básico da termografia infravermelha (TIV) envolve a transformação de calor de uma superfície para uma representação pictorial. Todos os objetos imitem radiação devido ao seu movimento molecular interno (Kastberger *et al.*, 2003).

Na figura 3, observa-se a câmara de termografia infravermelha utilizada neste estudo para fazer as medições de temperatura.



Fig. 3 - Câmara de termografia infravermelha.

A radiação detectada por câmaras termográficas é emitida por todos os objetos proporcionalmente à sua temperatura, de maneira que as cores dos gradientes gerados refletem as diferenças no calor emitido. Em qualquer escala de cor utilizada, o branco representa temperaturas mais elevadas e o preto temperaturas mais baixas.

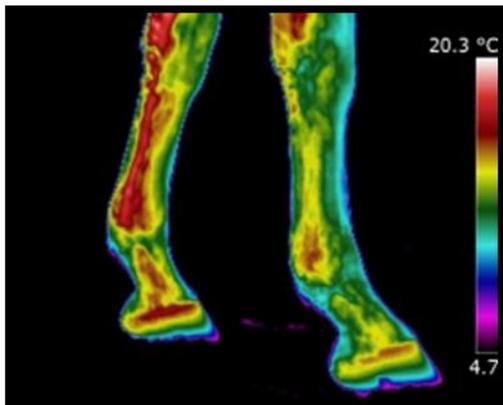
A emissividade refere-se à habilidade do objeto absorver e emitir radiação pelo objeto ou ser vivo. Considera-se um “corpo negro” um objeto hipotético que não reflete mas apenas emite radiação. Os animais e plantas são considerados “corpos cinzentos” visto que não só emitem, mas também refletem radiação (Kastberger *et al.*, 2003). Assim o valor médio de emissividade que se usa em mamíferos é de 0,98. A emissividade têm que ser considerada e ajustada quando a câmara de TIV é utilizada, pois as câmaras termográficas

geram imagens baseadas na quantidade de calor gerado em vez de refletido (Eddy *et al.*, 2001).

A TIV é não invasiva e não necessita contato, no entanto, um ambiente controlado é essencial para um bom “scan” termográfico. Devida à importância do fator ambiental, registros de temperatura e humidade do ambiente são de grande importância no momento da captura de imagem para calibrar os resultados de medição obtidos pela câmara. Existem componentes atmosféricos (vapor, dióxido de carbono) que absorvem a radiação em certos comprimentos de onda, logo, se registros de humidade e de temperatura do ar não forem tidos em consideração, a temperatura registada pela câmara pode demonstrar-se mais baixa do que a temperatura real do alvo em questão (Kastberger *et al.*, 2003).

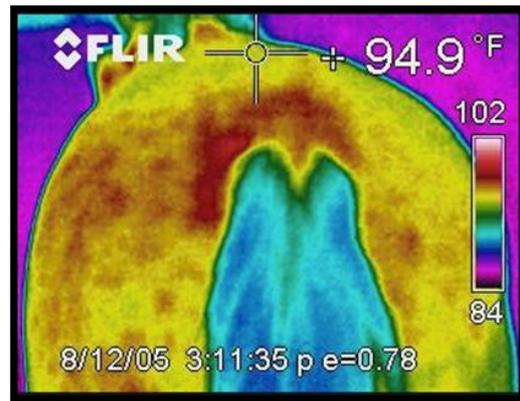
A recolha de imagens usando TIV têm que ser feita fora da luz direta do sol e de correntes de ar e o pêlo do animal têm que estar livre de sujidade, humidade e corpos estranhos. A sujidade altera a emissividade e o excesso de humidade aumenta a perda de calor local para o ambiente (Stewart *et al.*, 2005).

A TIV têm várias utilidades, não só na avaliação e diagnóstico de diferentes síndromes clínicas, mas também na monitorização da progressão da patologia. Em cavalos, a TIV tem tido especial utilidade no diagnóstico, prognóstico e avaliação de patologias de tecidos moles (tendões e ligamentos), de lesões ortopédicas superficiais, articulares, de ossos longos, miopatias e patologias de coluna (Eddy *et al.*, 2001). A figura 4 (A-D) mostra distintos casos de patologias avaliados com TIV.



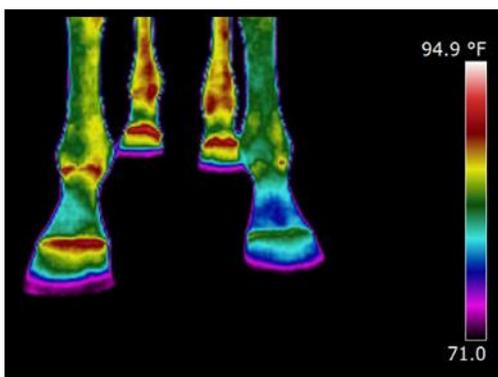
A

(<http://www.equine-thermography.co.uk/Benefits.html>)



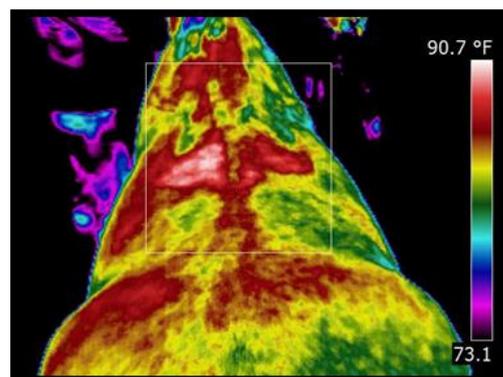
B

(<http://www.merchantcircle.com/equine-medsport-scottsdale-az/picture/view/1434602>)



C

(<http://www.midsouthhorsereview.com/articles.php?id=4757>)



D

(<http://www.ieinfrared.com/whatisinfrared.html>)

Fig. 4 - Imagem termográfica dos membros posteriores de um cavalo onde se observa aumento da temperatura na extremidade do membro esquerdo (A), da vista caudal do cavalo com lesão, visualização do aumento da temperatura, compatível com miosite nos glúteos (B), da vista frontal das quatro mãos do cavalo, lesão (diminuição da temperatura) compatível com síndrome do navicular na extremidade anterior esquerda (C), da vista dorsal do cavalo com as marcas nas zonas de fricção (aumento de temperatura) compatível com uso duma sela inadequada (D).

As vantagens da TIV incluem o facto de ser não invasiva, não envolve exposição a radiação, e é mais sensível a variações de temperatura subtis. Por ser altamente sensível, muitas vezes revela alterações fisiológicas antes destas se tornarem sinais clínicos, tornando a TIV excelente para prevenção de patologias recorrendo apenas a tratamento e/ou alterações no maneio e treino do animal.

Estas vantagens fazem a temperatura ocular, avaliada com a TIV, uma medida apropriada para a avaliação do stresse produzido pela dor, como consequência duma patologia visceral, como é o caso das cólicas em equinos.

Embora, em numerosas espécies domésticas seja avaliado o nível de stresse e a sua relação com a produtividade (Aguilar *et al.*, 2009 ; Fuquay, 1981; Young, 1981 ; Eitam *et al.*, 2009), poucos estudos avaliaram o nível de stresse em cavalos de uma forma objetiva e não invasiva (Cook *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2005; Bartolomé *et al.*, 2012; Valera *et al.*, 2012).

De acordo com Herman e Cullinan (1997), o stresse é uma resposta do organismo a uma situação perigosa de natureza dupla (benéfica ou prejudicial):

1. A curto prazo (stresse agudo), produz alterações adaptáveis que ajudam o animal a responder ao fator de stresse (mobilização de recursos de energia, inibição de inflamação e a resistência à infeção).
2. A longo prazo (stresse crónico), conduz a fenómenos patológicos tais como aumento crónico da pressão arterial, desenvolvimento de uma resposta imunológica e lesões orgânicas (lesões cardíacas, úlceras do estômago, etc).

O stresse provoca mudanças fisiológicas e psicológicas/comportamentais, que se vão repercutir nos níveis de uma série de indicadores (Grandin, 1997). Psicologicamente, o stresse, acaba por se expressar fisicamente, ocorrendo aparecimento de comportamentos repetitivos anormais, comportamentos estereotipados (Anónimo, 2002), que diferem entre espécies e são identificados a partir do comportamento considerado comum (normal) dentro de cada espécie (Haupt, 1987). Os mais comuns, geralmente aparecem em quase todas as espécies, são: raspar o chão, balançar a cabeça (“birra de urso”), sacudir a cauda, permanecer estático, perseguir a cauda, etc. Nas espécies equinas, também podemos encontrar os seguintes comportamentos: coicear, andar em círculo, coprofagia, polidipsia, automutilação ou picacismo (McDonnell, 2003).

Fisiologicamente, a resposta ao stress é devida à ativação do SNS do SNA, desencadeando libertação imediata de catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) e ativação e libertação de corticóides permitindo assim a libertação energética necessária para que o animal lide e perceba a agressão. No entanto, estes indicadores não se alteraram quando o stress é crónico. A curto prazo, o stress agudo, mobiliza a produção de energia para induzir um aumento da concentração de cortisol no plasma. Se a produção de cortisol é mantida demasiado tempo (stress crónico) há um esgotamento dos músculos, hipertensão e o sistema imunológico é prejudicado, assim como a fertilidade (Martos & Ayala, 2003).

Na figura 5 observa-se o esquema da resposta produzida pelo stress.

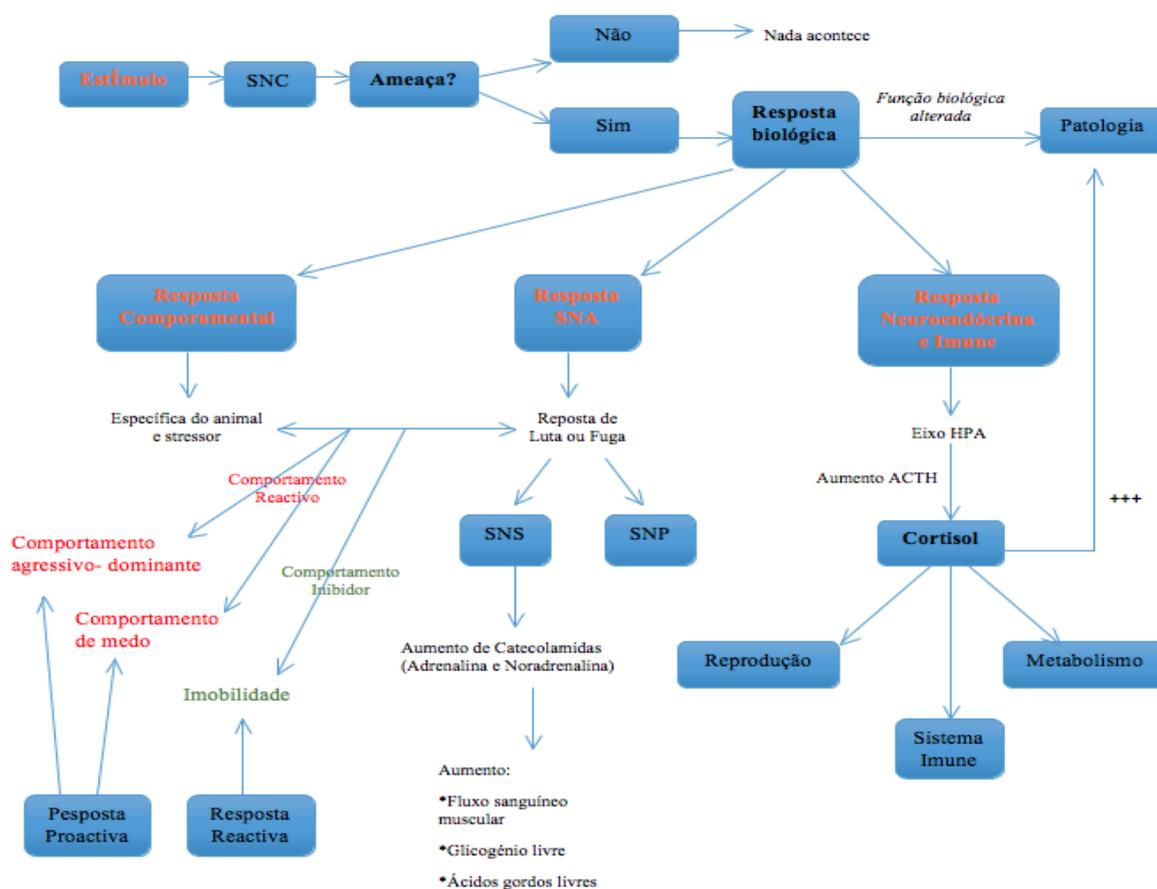


Fig. 5 - Esquema da fisiologia da resposta ao stress por Bartolomé *et al.*, 2016.

É importante distinguir stress de distresse. O distresse é um stress negativo, ou seja, quando os recursos necessários para a resposta ao stressor são desviados de outras funções biológicas essenciais ao animal, como crescimento e a reprodução, ou seja, implica

que o animal esteja a passar por um estado emocional negativo, que está a afetar o seu bem estar, como acontece na presença de dor durante a doença. Já o stresse, não é necessariamente negativo. É um mecanismo fisiológico que ajuda o animal a lidar com stressores de curto prazo, com os quais tem que lidar rotineiramente (Bartolomé *et al.*, 2016).

A intensidade da resposta ao stresse depende do stressor e do indivíduo, depende também das estratégias adotadas pelo indivíduo para lidar com este stressor (McEwen, 1994). Os stressores ativam o SNS, do qual resulta num aumento da libertação de adrenalina e de noradrenalina na medula da glândula suprarrenal (Stanford & Salmon, 1993).

Os stressores podem ser divididos em 3 grupos, de acordo com sua natureza:

1. **Stressores físicos:** fatores ambientais que afetam o animal e que alteram a sua homeostasia. Por exemplo, temperatura e/ou alta humidade ambiental, excesso de treino não compatível com o desenvolvimento físico deste, dor devido a doença, fome e/ou sede, etc (Grandin, 1997). De um modo geral, o stresse desaparece quando o fator externo é removido.
2. **Stressores psicológicos:** fatores externos que desencadeiam uma reação de medo ao animal. As principais causas de stresse psicológico são: movimento restrito, problemas hierárquicos dentro grupo e qualquer situação nova ou novo estímulo (Grandin, 1997). O medo condicionado é desenvolvido através de um circuito subcortical, por isso, é muito difícil de eliminar uma resposta de medo. Por conseguinte, a resposta ao stresse associado requer que o animal remova da sua memória, o medo, através de um processo de aprendizagem ativa (LeDoux, 1994). Além disso, a reação de medo de cada animal, em diferentes situações, é difícil de prever porque depende de como o animal tem perceção da experiência externa (Grandin, 1997).
3. **Stressores genéticos:** relacionados com a sensibilidade que cada animal tem a certas situações potencialmente stressantes. Assim, os animais com temperamento mais reativo, tendem a stressar mais em determinadas situações. A composição genética do animal também interage com a experiência anterior, desempenhando assim uma memória importante no desenvolvimento de reação do animal (Grandin, 1997). Além disso, podem ocorrer diferenças de

sensibilidade entre espécies e/ou estirpes da mesma espécie (Stricklin *et al.*, 1980; Hau & Pommier, 1993).

A dor seria enquadrada dentro dos tipos de stressores físicos, pois é uma doença que está a produzir dor consequentemente associada ao stresse.

No entanto, todos os métodos para medição de stresse usados até à data em clínica diária, têm limitações, por isso, comumente são usadas combinações de métodos fisiológicos e comportamentais para melhorar a avaliação do bem-estar animal. A necessidade de novos métodos não invasivos e mais fiáveis é imperativa, e por esta razão este projeto tem o seu foco na TIV.

A TIV têm sido usada como um meio não invasivo para avaliação da resposta ao stresse, em animais que estão a participar em distintas competições equestres (Valera *et al.*, 2012; Bartolomé *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015).

O stresse produzido pela dor é a tentativa do organismo atingir a homeostase. Em situações de stresse, dois caminhos neuroendócrinos distintos podem ser ativados. O eixo HPA, que provoca o aumento dos níveis de cortisol e o sistema simpatoadrenomedular, que induz o aumento das catecolaminas. Assim, a resposta ao stresse tem influência na fisiologia do animal, por aumentar: FC, FR, pressão arterial, temperatura, e também provocar alterações comportamentais. O grau de perceção da dor pelo indivíduo não só depende da intensidade do “input” nocicetivo mas também do estado mental do animal no momento de stresse (Wagner, 2010).

Os mamíferos têm um mecanismo de supressão de dor que é ativado durante a exposição a um estímulo stressante ou medo. Este mecanismo, tem o nome de analgesia induzida por stresse (AIS) e é mediado por opióides endógenos que atuam na inibição das vias descendentes, incluindo amígdala, substância cinzenta periaqueductal e ventromedial rostral. Além dos opióides endógenos, mecanismos não opióides também podem ter um papel importante na AIS. Neurotransmissores ou neuropéptidos que predominantemente inibem a nociceção, incluem o ácido g-aminobutírico (GABA), a glicerina, a vasopressina, a oxitocina, a adenosina, os endocanabinóides, assim como os opióides endógenos (Wagner, 2010).

Embora certos estímulos stressantes possam diminuir a perceção da dor, o inverso também pode ocorrer. Altos níveis de ansiedade podem aumentar a perceção da dor,

levando a um fenômeno conhecido como hiperalgesia induzida pelo stresse (HIS) . Com a realização de diferentes estudos, chegou-se à conclusão de que o medo e a ansiedade são estados psicológicos diferentes e com efeitos opostos, na percepção da dor. Ou seja, o medo é um resposta alarmante a uma ameaça direta e imediata, que está tipicamente associada a uma onda de atividade simpática e a um aumento de catecolaminas endógenas, resultando na resposta "luta ou fuga ". O indivíduo com medo, tenta escapar à ameaça imediata podendo ignorar uma lesão, pelo menos temporariamente, ou seja, o medo predomina e inibe a dor. No entanto, a ansiedade é a antecipação de uma ameaça futura, indefinida, associada ao aumento da ACTH circulante, aumento da temperatura corporal, aumento da FC, da pressão sanguínea e hiperventilação. A ansiedade resulta num estado de hipervigilância que aumenta a recetividade sensorial, levando a uma maior sensibilidade nocicetiva, ou HIS, ajudando a prevenir possíveis danos (Wagner, 2010).

Estudos recentes em animais sugerem que os efeitos separados e diferentes do medo e da ansiedade, podem surgir quer porque os circuitos neurais para cada um são separados ou porque diferentes níveis de ativação do mesmo circuito neural conduzem a diferentes consequências comportamentais. Assim, a exposição direta a um evento nocivo deve induzir altos níveis de medo e excitação que inibem a dor, enquanto que a ameaça relativamente difusa de um futuro evento nocivo, sem exposição real, induzirá um estado de ansiedade antecipada (níveis mais baixos de medo e excitação), o que aumentará a dor . A evidência de que o medo reduz a dor, e a ansiedade a aumenta é bastante clara. A descoberta de que a dor pode ser suprimida através de mecanismos naturais sugere a possibilidade de que a manipulação dos mecanismos de AIS possa levar a futuras terapias de dor, evitando efeitos colaterais indesejáveis associados aos atuais agentes farmacológicos, tais como úlceras gastrointestinais, obstipação ou alteração do comportamento (Wagner, 2010).

Desta forma, quando um animal está em stresse, o eixo HPA é ativado, resultando no aumento das catecolaminas e da concentração de cortisol. O fluxo sanguíneo é alterado, o que resultará também na alteração da produção e perda de calor pelo animal. Isto pode ser detetado usando uma câmara TIV especializada para recolher em tempo real uma imagem pictorial à distância geralmente sem necessidade de contenção ou contato com o animal (Stewart *et al.*, 2005).

A relação entre a atividade do HPA e a TIV foram inicialmente investigadas por Cook *et al.*, (2001), que usou a TIV e concentrações de cortisol para medir a atividade

adrenocortical e metabólica em cavalos. Amostras de sangue e saliva correspondentes, e TIV de imagens do olho foram colhidas em intervalos definidos antes e depois do teste com ACTH. Os resultados revelaram uma significativa correlação entre a temperatura máxima do olho e ambas as concentrações de cortisol no plasma (antes e depois do teste com ACTH), sugerindo que alterações na temperatura ocular podem estar associadas à ativação do eixo HPA. (Stewart *et al.*, 2005).

Portanto, a TIV tem um bom potencial para a detecção de stresse em cavalos com doença.

3. OBJETIVOS

O principal objetivo deste estudo foi: determinar a utilidade da termografia infravermelha na avaliação da dor em animais com doenças de origem visceral, e a sua relação com parâmetros fisiológicos (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal), com escalas comportamentais padronizadas de avaliação da dor (Escala de Expressão Facial e a Escala de Classificação Numérica) e com escalas compostas, comportamentais e fisiológicas, de avaliação de dor (Escala de Dor Composta).

O objetivo principal pode subdividir-se nos seguintes objetivos secundários:

1. Estabelecer uma relação entre a evolução dos diferentes parâmetros de avaliação de dor com o tempo de evolução da doença.
2. Estabelecer uma relação entre os parâmetros avaliados e os dados recolhidos por TIV.
3. Estabelecer se há influência dos parâmetros ambientais nos dados recolhidos por TIV.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A recolha de dados para este estudo foi realizada durante 4 meses, entre Outubro (2016) a Janeiro (2017), inclusive.

4.1 Animais

Neste estudo foram incluídos 9 cavalos internados no Hospital “Medicina e Cirurgia de Equinos” em Santo Estevão (Benavente) cuja queixa comum era dor abdominal (cólica).

Foi pedido o consentimento dos proprietários para a recolha de dados.

Depois do animal ser referenciado para o Hospital de Santo Estêvão e com a sua chegada ao hospital, recorria-se à recolha de informação do animal. Com a ajuda de uma tabela previamente elaborada (anexo 2), a informação recolhida incluía uma breve anamnese, que abrangia um total de 6 fatores próprios ao animal e do seu maneio anterior. Tudo isto, influencia o nível de stresse do animal (ou a sua suscetibilidade ao distresse) e portanto, também, os resultados do estudo. A **idade** foi agrupada em 3 grupos (<7 anos; entre ≥ 7 anos e <12 anos; ≥ 12 anos); o **sexo** (macho e fêmea); a **funcionalidade** (desporto ou lazer); a **raça** (Cruzado, Lusitano e Sela Francês); se tinha **desparasitações prévias** à hospitalização (Sim ou Não); se tinha **vacinações prévias** à hospitalização (Sim ou Não). Por fim, mais 7 fatores foram incluídos referente aos tratamentos e sintomas apresentados pelo animal: o **tipo das fezes** (Normais ou Patológicas); o **tipo de alimentação** (Normal ou Especial); se foi **administrado soro** (Sim ou Não); se foi **administrada Xilazina** (Sim ou Não); se foi **administrado flunixinina meglumina** (Sim ou Não); se foram **administrados outros medicamentos** (Sim ou Não) tendo em vista a resolução da cólica; se foram **administrados medicamentos** de modo geral (Sim ou Não), ou seja, medicação não relacionada com a cólica para outro problema concomitante, ou medicação que o animal já estivesse a realizar devido a patologias anteriores.

O total de 7 parâmetros (4 fisiológicos e 3 comportamentais) foram recolhidos individualmente, de duas em duas horas, perfazendo um período total de 10h de registos, medidos desde o momento da chegada do animal ao hospital (0h). Todos foram recolhidos

em circunstâncias similares (na box, sem luz directa e ambiente calmo) e sempre pelo mesmo técnico.

Para os cavalos 2 e 7, os registos não foram completados segundo as 10h de registos previamente estabelecidas, visto que o cavalo 2 foi entretanto eutanasiado e o cavalo 7 recebeu alta hospitalar.

4.2 Termografia Infravermelha

Para avaliação da temperatura ocular, procedeu-se à recolha de imagens com a câmara de termografia infravermelha (TIV) da marca FLIR i7®. Estas imagens foram sempre recolhidas no olho esquerdo, a cerca de 1 metro de distância e com um ângulo de 90° do eixo horizontal do olho (em todos os animais e em todos os momentos de registos) com o objetivo de se conseguir a temperatura da carúncula ocular, posteriormente medida recorrendo ao software de análise de imagem de TIV (FLIRTools®).

Na figura 6, observa-se uma imagem exemplificativa do material utilizado neste estudo.



(http://www.flir.com.br/uploadedImages/Instruments/Building-Diagnostics/cameraPods_exSeries.jpg)

Fig. 6 – Conjunto de material necessário para a realização de medições de temperatura com termografia infravermelha.

As imagens recolhidas pela câmara TIV foram sempre acompanhadas pela medição da temperatura e humidade ambiente, com a ajuda de um termohigrómetro (EXTECH 44550), essencial para a calibração posterior das imagens, no software específico. A emissividade da câmara foi ajustada para 0,98 por ser o valor usado em estudos prévios em cavalos (Cook *et al.*, 2001; Bartolomé *et al.*, 2013).

Observa-se, na figura 7, um termohigrómetro, semelhante ao utilizado neste estudo, para medição de humidade e temperatura ambiente.



(https://www.emi-lda.com/774-home_default/termohigrometro-de-bolso-em-forma-de-caneta-extech-44550.jpg)

Fig. 7 – Termohigrómetro.

A câmara de TIV foi sempre calibrada com a chegada de cada cavalo ao hospital e antes de cada nova medição, a cada duas horas. Os dados foram sempre recolhidos no interior do edifício (box/manga de contenção) para reduzir ao máximo a influência ambiental (radiação, vento, humidade, temperaturas muito elevadas ou baixas, evaporação, etc).

4.3 Parâmetros fisiológicos

Como métodos de avaliação fisiológica, usaram-se a frequência cardíaca (FC), a frequência respiratória (FR) e a temperatura retal (TR), todas elas à parte da temperatura do olho que foi medida com termografia infravermelha (TIV), como já referido anteriormente.

A FC e a FR foram avaliadas com um estetoscópio (3M™ Littmann® G13G11102), medindo parâmetros como: pulsações por minuto (ppm) no costado inferior e anterior direito, e respirações por minuto (rpm) no costado superior esquerdo e direito, respetivamente.

Para a TR usou-se um termómetro (Thermoval® Rapid Flex) para avaliação da temperatura. As medições encontram-se em graus centígrados (°C).

4.4 Escalas padronizadas da dor

Com o objetivo de avaliação da dor, utilizaram-se escalas já previamente estabelecidas e apropriadas a animais doentes. Para cada animal, foram preenchidas as 3

escalas de dor anteriormente citadas na introdução: A escala de classificação numérica ou ECN (Tabela 1) descrita por Pritchett *et al.*, (2003), e a escala de expressão facial ou EEF (Tabela 3) descrita por Costa *et al.*, (2014), como escalas baseadas na medição de parâmetros comportamentais. E a escala de dor composta ou EDC (Tabela 2) descrita por Bussi eres *et al.*, (2008) como a escala que combina a medição de parâmetros comportamentais e fisiológicos. Todas as escalas têm o objetivo comum de avaliação da dor.

A EDC inclui parâmetros fisiológicos, comportamentais e interativos (Tabela 2). Todos os parâmetros medidos são cotados de 0 a 3, sendo o 0 correspondente à normalidade (sem modificações, sem dor) e o 3 corresponde à máxima manifestação na presença de dor. Os valores nesta escala variam de 0 a 39.

A ECN   uma escala comportamental e o score é preenchido por observação (tais como todas as outras escalas de dor), de acordo com o grau de dor que o animal manifesta (Tabela 1). O score é subdividido em duas componentes: Pontuação de Postura e Pontuação de Socialização. A pontuação de postura é a soma dos scores de categorias tais como: comportamento de dor generalizado, posição da cabeça e orelhas, localização na box e movimento espontâneo. Quanto   pontuação de socialização, baseia-se na soma de scores de categorias tais como: resposta à abertura da porta, resposta   aproximação, tentar levantar uma mão, e resposta ao grão (apesar destes não estarem permitidos de comer). Os scores de cada categoria são medidos de 1 a 4, sendo os valores possíveis entre 9 e 36.

A EEF   uma escala de dor *standard* baseada na expressão facial do cavalo (Tabela 3). Cada parâmetro é medido de 0 (ausente) a 2 (obviamente presente) e os valores da escala oscilam entre 0 e 12.

Todas as escalas padronizadas de avaliação de dor utilizadas neste trabalho foram testadas previamente nos estudos que as publicaram. Neste estudo, todos os registos que as completaram, foram recolhidos pelo mesmo técnico, para evitar diferenças de medições entre indivíduos.

4.5 Análise Estatística

Os tratamentos estatísticos utilizados para este estudo foram realizados utilizando o Software informático Statistica v. 8.0. (Statistica software, 2007) para os 7 parâmetros avaliados (4 fisiológicos e 3 escalas padronizadas). A normalidade da distribuição das variáveis foi analisada previamente com o teste de Shapiro-Wilk (resultados não mostrados) e como os parâmetros não seguiram uma distribuição normal, as análises usadas no estudo foram não paramétricas.

- Análise estatística básica (média e desvio padrão, máximo e mínimo) para cada um dos 7 parâmetros em estudo e para cada um dos intervalos de recolha dos dados.
- Análise de variação (General Linear Model ou GLM) entre a variável TIV e os fatores ambientais recolhidos para cada animal. Esta análise utilizou-se para comprovar se os resultados da TIV são ou não influenciados pelos parâmetros ambientais recolhidos.
- Método da Média Mínimo Quadrática (MMQ) ou Least Square Means (LSM) e prova de comparação múltipla de Duncan de cada fator que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,05$) na análise GLM. A análise GLM foi realizada previamente, para cada um dos fatores analisados.
- Correlações do Sperm Rank entre a TIV e cada um dos parâmetros fisiológicos (FC, FR e TR) e comportamentais (EDC, ECN, EEF) analisados para cada um dos intervalos de registo de dados.

5. RESULTADOS

No gráfico 1, observa-se a evolução do valor da TIV no intervalo de tempo avaliado, para cada um dos cavalos em estudo. De forma geral, verifica-se uma evolução muito diversa entre os animais e entre as horas de registo embora tenha-se registado um aumento do valor da TIV no último intervalo horário (das 8h às 10h) para todos os animais. Por outro lado, os animais 3, 8, 7 e 9 apresentaram um pico mais baixo de TIV às 6h, enquanto que os animais 1, 4 e 5 apresentaram um pico mais alto, neste mesmo intervalo horário. Para os cavalos 2 e 7, não se pôde recolher valores para todas as supostas horas, devido ao facto de que a hospitalização destes animais terminou antes das 10 horas de registos.

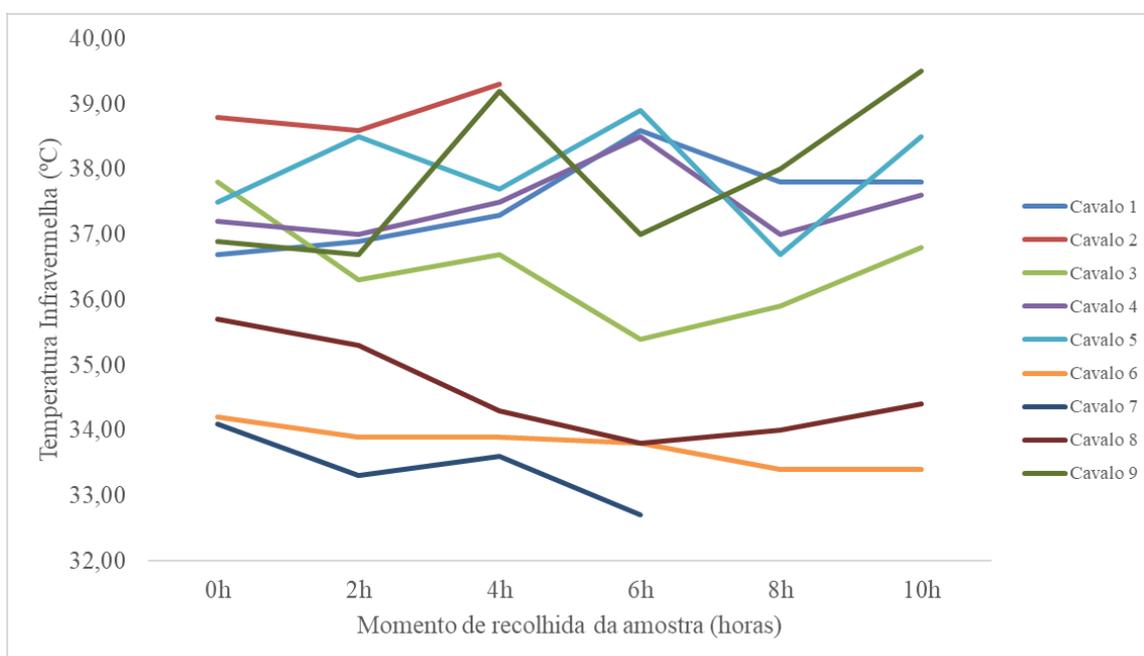


Gráfico 1 - Evolução do tempo (em horas) do valor da TIV para cada um dos animais avaliados no estudo.

Na Tabela 4 observamos uma análise estatística básica (média, desvio padrão, máximo e mínimo) para cada um dos 7 parâmetros em estudo, 4 fisiológicos (TIV, FC, FR, TR) e 3 comportamentais, avaliados com escalas da dor padronizadas (EDC, EEF, ECN), no total dos 9 animais que foram analisados.

Tabela 4 - Médias, desvios padrão, máximos e mínimos para os parâmetros fisiológicos (TIV, FC, FR, TR) e para as escalas padronizadas da dor (EDC, EEF e ECN), seguindo as horas de registro.

Análises Estatísticas	<i>Parâmetros Fisiológicos</i>				<i>Escalas da Dor</i>			
	TIV	FC	FR	TR	EDC	EEF	ECN	
0h	Média	36,5	57,3	16,7	37,6	7,2	4,8	10,3
	Desvio padrão	1,6	23,7	6,0	0,8	5,6	2,2	4,2
	Min.-Máx	34,1-38,8	32-96	8-28	36-38,4	0-15	1-8	4-17
2h	Média	36,4	51,5	13	37,6	6,5	5,5	16,5
	Desvio padrão	1,9	23,9	2,8	0,4	4,9	4,5	5,9
	Min.-Máx	33,3-38,6	32-96	8-16	37,2-38,2	0-13	0-12	11-29
4h	Média	36,6	53,3	12,9	37,7	6,8	5,3	19,3
	Desvio padrão	2,2	23,7	2,7	0,5	5,1	4,2	6,6
	Min.-Máx	33,6-39,3	32-96	8-16	37-38,3	0-14	0-12	10-29
6h	Média	36,1	47	11	38	3,9	5,5	17,8
	Desvio padrão	2,5	16,9	1,5	0,2	4,1	3,3	6,8
	Min.-Máx	32,7-38,9	32-80	8-12	37,3-38,6	0-9	0-12	5-28
8h	Média	36,1	49,1	9,7	38,2	6,3	5,7	17,4
	Desvio padrão	1,8	16,1	2,1	0,51	4,9	3,7	8,0
	Min.-Máx	33,4-37,8	28-72	8-12	37,4-38,6	2-13	4-12	3-30
10h	Média	36,9	48,3	10,3	38,3	4,9	5,1	18,0
	Desvio padrão	2,2	15,5	2,1	0,47	5,6	3,9	7,4
	Min.-Máx	33,4-38,5	32-74	8-12	37,7-38,8	0-13	1-12	5-30
TOTAL	Média	36,4	51,1	12,5	37,9	5,9	5,3	16,4
	Desvio padrão	1,95	3,79	3,9	0,6	4,9	3,5	6,9
	Min.-Máx	32,7-39,3	28-96	8-28	36-38,8	0-15	0-12	3-30

TIV=Termografia Infravermelha; FC=Frequência cardíaca; FR=Frequência respiratória; TR=Temperatura retal; EDC=Escala de dor composta; EEF=Escala de expressão facial; ECN=Escala de classificação numérica.

Dentro dos **parâmetros fisiológicos**, observou-se que a termografia infravermelha mostrou uma variação da média entre 36,1°C (6h) e 36,9°C (10h), com uma média total de 36,4°C. O valor máximo registado foi de 39,0°C às 4h, e o mínimo de 32,1°C às 6h.

Na frequência cardíaca, os valores máximos atingidos foram de 96 bpm às 0h, 2h e

4h, e o mínimo de 28 bpm às 8h. A média total foi de 51,1 bpm com um desvio padrão total de 3,8 bpm.

Para a frequência respiratória (FR) nos momentos 0h, 2h e 4h registaram-se os valores mais elevados de FR. Os mínimos/máximos totais verificados variaram entre 8 rpm, registados para todas as horas e 28 rpm registradas às 0h.

Para a temperatura retal (TR), o mínimo registado foi de 36°C ao início da hospitalização, e o máximo de 38,8°C avaliado no último registo de dados (10h). A média total foi de 37,9°C com um desvio padrão total de 0,6.

Nos **parâmetros comportamentais**, a EDC variou entre um mínimo de 0 e um máximo de 15, sendo a média total de 5,9. Tendo em conta que os valores alcançáveis desta escala vão de 0 a 39, os resultados demonstraram que os animais neste estudo não “usaram” a escala toda. O registo de maior grau de dor foi no momento 0h, com uma média de 7,22, às 6h foi registado o menor grau de dor, com uma média de 3,87.

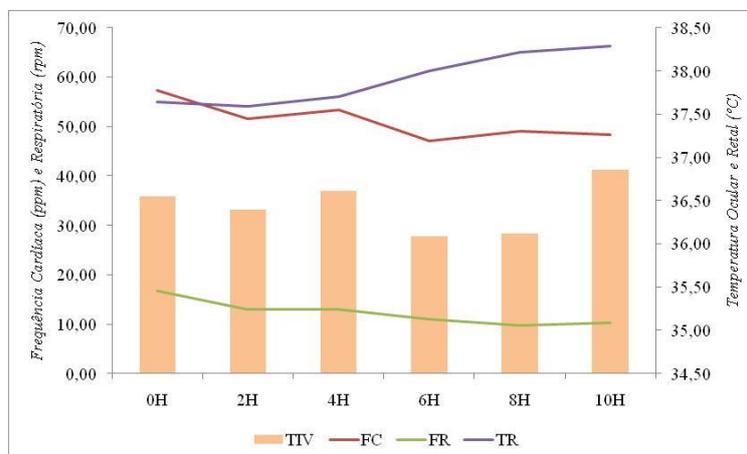
Para a EEF, os valores máximos e mínimos avaliados “usaram” todo o alcance possível da escala, variando entre um mínimo de 0 e um máximo de 12, com uma média total de 5,3. O registo de maior grau de expressão de dor, segundo esta escala, foi no momento 8h, com uma média de 5,7 e o menor grau de dor foi registado no início da hospitalização (0h) com uma média de 4,8.

Por último, na escala comportamental ECN, observou-se uma maior expressão de dor (postura e social) no momento 4h com uma média de 19,3 e com o início da hospitalização (0h) observou-se o momento de menor expressão de dor, com uma média de 10,3. Os mínimos e máximos registados situam-se entre 3 e 30, e encontram-se dentro do intervalo possível da escala que variava de 1 a 35. Estes dados da amostra não foram representativos de todas as variações alcançáveis nesta escala padronizada da dor.

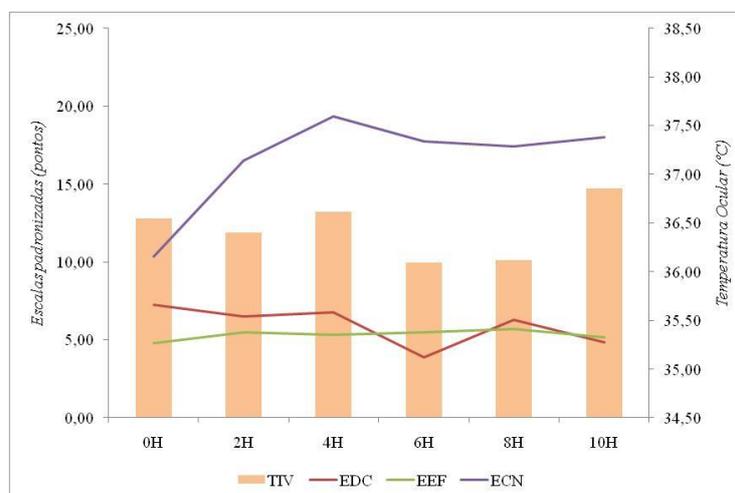
Com a finalidade de observar melhor a evolução da TIV em relação aos parâmetros fisiológicos e comportamentais avaliados, no gráfico 2, recorreu-se à criação da evolução das médias, nos momentos de registo de dados.

Com respeito à evolução da TIV em relação aos parâmetros fisiológicos (FC, FR e TR), gráfico 2A, observou-se que a FC e a FR têm tendência a diminuir, sendo parecidas entre si, com um pequeno aumento a partir das 6-8h de avaliação. A TR mostrou tendência de aumentar desde o início, com valores mais altos no intervalo final. Isto coincide com a TIV, que mostrou os valores médios mais altos no último intervalo de recolha de dados.

A.



B.



TIV=Termografia Infravermelha; FC=Frequência cardíaca; FR=Frequência respiratória; TR=Temperatura retal; EDC=Escala de dor composta; EEF=Escala de expressão facial; ECN=Escala de classificação numérica.

Gráfico 2 - Evolução das médias da TIV com os parâmetros fisiológicos da FC, FR e TR (A) e para as escalas padronizadas EDC, EEF e ECN de medição da dor (B), seguindo as horas de registo dos dados.

Com respeito à evolução da TIV, em relação aos parâmetros comportamentais das escalas padronizadas da dor (ECN, EEF e EDC), gráfico 2B, observou-se que a ECN aumentou até às 4h onde mostrou o valor mais elevado de dor, que estabilizou logo após e até ao final do tempo avaliado. A EDC mostrou uma evolução contrária, com valores estáveis até às 4h e o valor mais alto às 0h, logo mostrou os valores mínimos da dor às 6h e

voltou a aumentar às 8h e 10h. A EEF mostrou um pequeno aumento às 2h e permaneceu estável até ao final da avaliação. O valor da TIV mostrou um comportamento parecido à escala EDC, mas a diferença é que a TIV mostrou valores médios mais altos no último intervalo de recolha de dados.

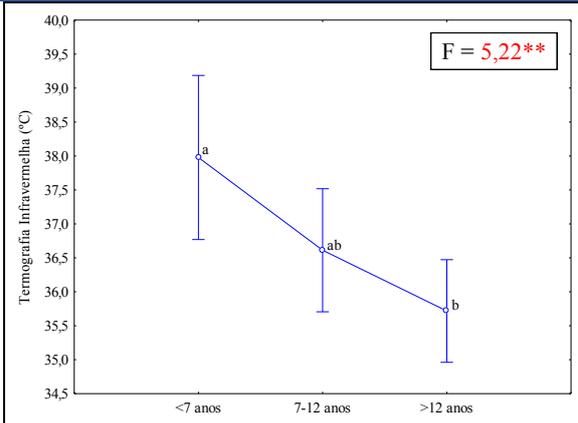
Com o propósito de avaliar a influência dos fatores ambientais nas medições da TIV, um teste de comparação múltipla não paramétrico ou GLM foi feito para cada um dos 13 fatores ambientais registados durante a recolha de dados (6 recolhidos na anamnese e 7 nos tratamentos e sintomas apresentados durante a hospitalização do animal) em relação à TIV. Esta análise foi apresentada em conjunto com uma análise de médias mínimo quadráticas (MMQ) e uma comparativa de Duncan para as médias da TIV que demonstraram ser estatisticamente significativas na análise GLM (Gráfico 3 de A-N), tendo estas o objetivo de comprovar a magnitude e as características concretas das diferenças apresentadas nas medições da TIV, segundo os fatores ambientais avaliados.

Os resultados mostraram que apenas os fatores sexo, funcionalidade e administração de xilazina não demonstraram diferenças estatisticamente significativas para a TIV. Assim, a idade (Gráfico 3A) mostrou valores da TIV significativamente mais baixos para os animais com mais de 12 anos em comparação com os animais com menos de 7 anos, com uma tendência descendente entre eles.

A raça (Gráfico 3E) mostrou valores da TIV significativamente mais baixos para os animais das raças cruzadas em comparação com os Lusitanos, que demonstraram valores mais altos.

Para as desparasitações (Gráfico 3F) e vacinações prévias (Gráfico 3G) dos animais, todos aqueles que foram desparasitados ou vacinados antes da sua hospitalização, mostraram em geral médias estatisticamente muito mais elevadas de TIV do que nos animais não desparasitados.

A) Idade



B) Sexo

$F = 3,61^{n.s.}$

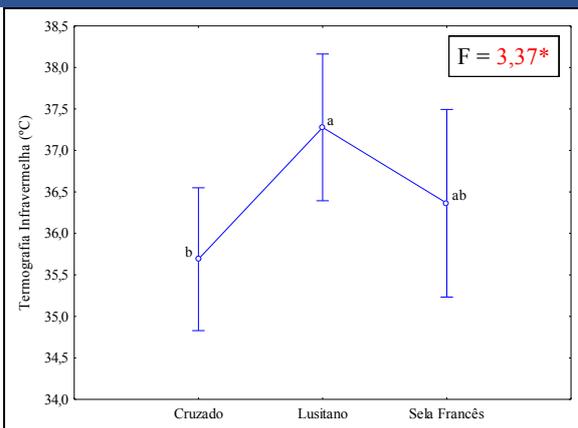
C) Funcionalidade

$F = 2,42^{n.s.}$

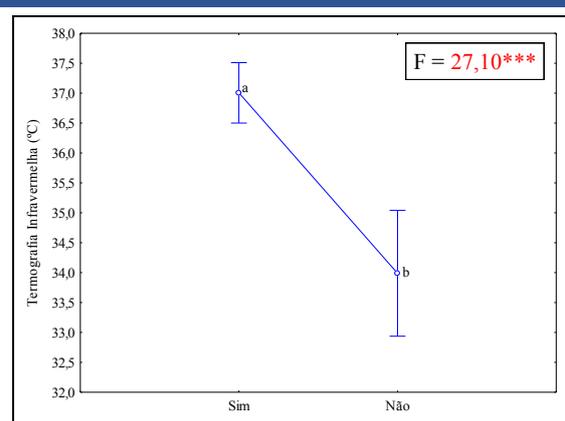
D) Administração de Xilazina

$F = 2,13^{n.s.}$

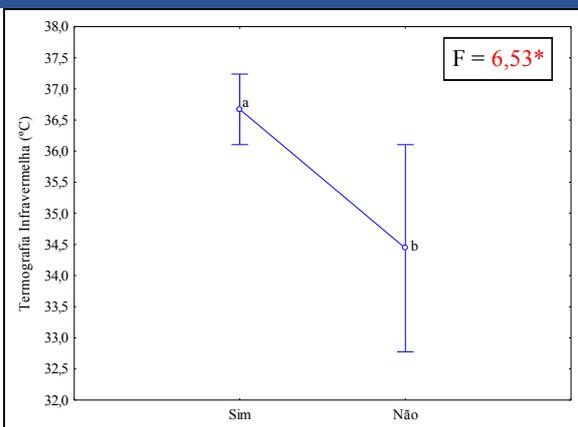
E) Raça



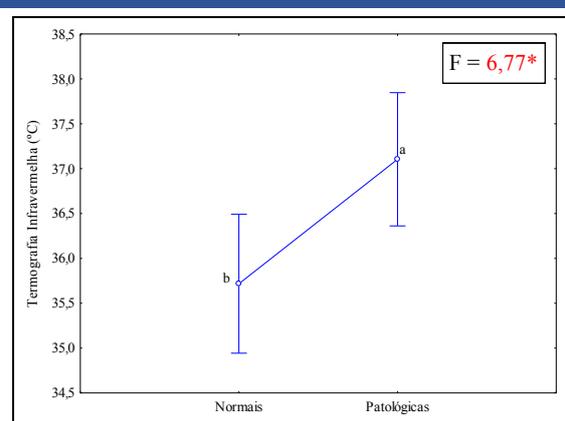
F) Desparasitações Prévias



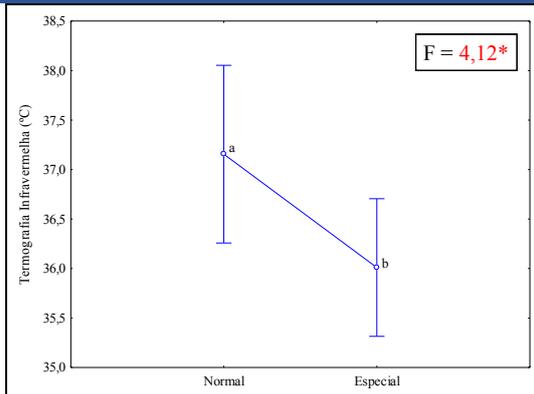
G) Vacinações Prévias



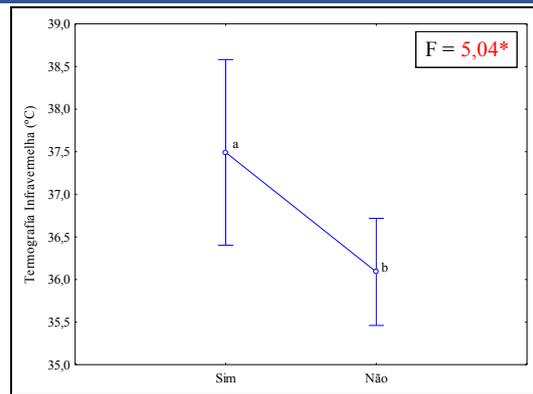
H) Tipos de Fezes



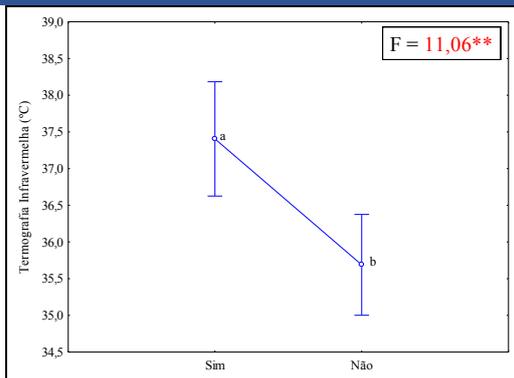
I) Tipo de Alimentação



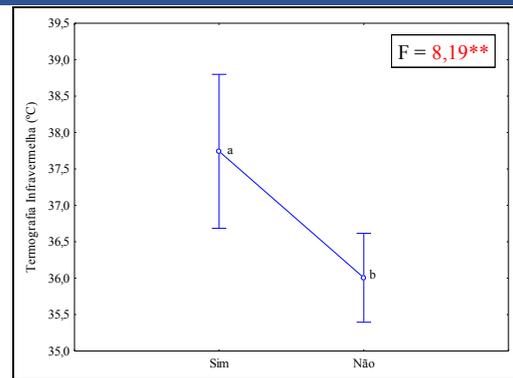
J) Adm. de Soro



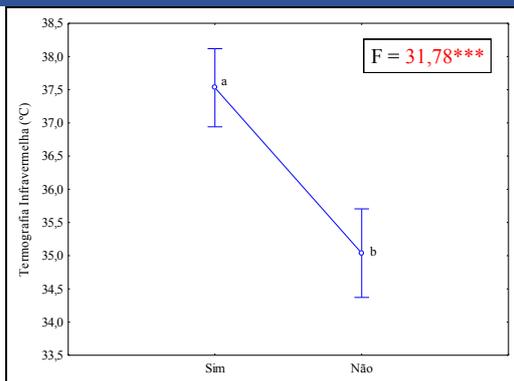
L) Adm. de Flunixin Meglumina



M) Adm. de outros medicamentos



N) Adm. de medicamentos (Geral)



F=Valor da análise GLM; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; n.s.= não significativo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias.

Gráfico 3 (A-N) - Teste de comparação múltipla (GLM) (valor F^p) e figura de Médias Mínimo Quadráticas (MMQ) com prova de comparação múltipla de Duncan, para cada fator analisado que se mostrou estatisticamente significativo ($p < 0,05$) na análise GLM, com respeito à temperatura infravermelha (°C).

Relativamente ao tipo de fezes (Gráfico 3 H), durante o tempo de hospitalização, as médias da TIV avaliadas nos animais com fezes não patológicas foram significativamente mais baixas do que aquelas avaliadas em animais com fezes patológicas (diarréia, obstipação, etc.).

Para o tipo de alimentação (Gráfico 3I) usada durante a hospitalização dos animais, aqueles que receberam alimentação específica de doente (“Especial”) mostraram médias de TIV significativamente mais baixas do que os animais que não receberam nenhuma dieta específica.

Por último, todos os animais que receberam algum tratamento só com: soro (Gráfico 3J), flunixin meglumina (Gráfico 3L), outros medicamentos (Gráfico 3M) ou com medicação no geral (Gráfico 3N), mostraram valores médios da TIV significativamente muito mais elevados do que os animais que não receberam.

Com o objetivo de avaliar a relação entre os valores de TIV com os parâmetros de avaliação da dor incluídos neste estudo, tanto fisiológicos (FC, FR e TR) como comportamentais (EEF, ECN e EDC), uma análise de correlação de Spearman Rank (para variáveis com distribuição não normal) foi desenvolvida na tabela 5, para cada uma das horas de registo dos dados e para os totais. A vermelho estão indicadas as correlações que foram estatisticamente significativas.

Tabela 5 - Correlações de Spearman Rank (em percentagem) entre a termografia infravermelha e os parâmetros avaliados: fisiológicos (FC, FR, TR) e comportamentais (EDC, EEF e ECN), para cada hora de registo de dados.

Termografia Infravermelha							
	0h	2h	4h	6h	8h	10h	TOTAL
FC	56,0	64,0	49,0	11,0	36,0	43,0	43,0**
FR	18,0	-7,0	11,0	-54,0	-41,0	-13,0	-1,0
TR	-22,0	18,0	72,0*	70,0	88,0*	91,0**	38,0**
EDC	68,1*	79,5*	57,1	40,9	41,4	20,5	56,1***
EEF	63,8	76,4*	77,6*	85,9**	23,4	39,6	62,4***
ECN	45,2	-4,8	34,5	19,3	14,4	48,7	16,7

FC=Freqüência cardíaca; FR=Freqüência respiratória; TR=Temperatura retal; EDC=Escala de dor composta; EEF=Escala de expressão facial; ECN=Escala de classificação numérica. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; n.s.= estatisticamente não significativo.

Com respeito aos **parâmetros fisiológicos**, a FC apenas mostrou valores estatisticamente significativos no total, com valores médios e positivos de 43%. A TR mostrou correlações altas, positivas e estatisticamente significativas com a TIV para os momentos 4, 8 e 10 horas, com valores que oscilaram entre 72% e 91% de correlação. No entanto, observou-se uma correlação positiva significativa e mais baixa quando não eram tidos em conta os intervalos de registo de dados, com 38%. A FR não mostrou nenhuma correlação estatisticamente significativa com a TIV, nem no total, nem em nenhum momento de recolha de dados.

Com respeito aos **parâmetros comportamentais**, a EDC mostrou valores de correlação positivos e estatisticamente significativos para o total e para os momentos 0 e 2h de recolha de dados, com valores médios-altos e positivos que oscilaram entre 56% e 80%. A EEF mostrou correlações altas, positivas e estatisticamente significativas para os momentos 2, 4 e 6h, com valores de correlação que oscilaram entre 76% e 86% e para o valor total demonstrou uma correlação positiva e altamente significativa de 62%. A ECN não mostrou nenhuma correlação estatisticamente significativa com a TIV, nem no total, nem em nenhum momento de recolha de dados.

6. DISCUSSÃO

O objetivo principal deste projeto foi descobrir se a temperatura ocular está relacionada com outras formas de medir a dor e se esta nova medida é adequada para a avaliação da dor visceral em cavalos. A dor é um parâmetro muito avaliado em clínica veterinária visto que o manejo da dor irá ajudar a melhorar métodos para um manejo de dor objetivo e reproduzível. Assim, poderá ser importante no desenvolvimento de nova medicação analgésica e de técnicas analgésicas mais refinadas que conseqüentemente irão ter um efeito positivo no bem estar animal (Van Loon *et al.*, 2014).

Devido ao facto de que a dor é uma experiência subjetiva, que não pode ser comunicada verbalmente pelos animais, observou-se que nenhum método "gold-standard" está disponível para a medição de dor em pacientes veterinários. Os cavalos representam um desafio particular uma vez que são uma espécie que evoluiu para não expressar dor abertamente, presumivelmente na tentativa de evitar predação (Taylor *et al.*, 2002). Assim, diferentes técnicas estão a ser usadas de forma conjunta em clínica veterinária para uma avaliação correta da dor, segundo a sua origem (visceral, somático, etc.) ou a sua intensidade (agudo, crónico, etc.). Este estudo tratou da validação de uma nova técnica, não invasiva e objetiva, a TIV, previamente utilizada para a avaliação do stresse em cavalos (Cook *et al.*, 2001; Hall *et al.*, 2011; Bartolomé *et al.*, 2013), testando a sua utilidade na medição do stresse produzido pela dor visceral em cólica em comparação com outras medidas fisiológicas e comportamentais amplamente usadas na clínica veterinária para a avaliação deste tipo da dor.

Observando os resultados da evolução da temperatura ocular (TIV) em conjunto com com o tempo de evolução da doença para cada cavalo que foi internado no Hospital do Santo Estêvão com doença visceral (cólica), verificou-se que a evolução da temperatura (ocular) é muito variável, com distintas tendências (aumento ou diminuição) segundo o animal avaliado. Assim, os animais 3, 8, 7 e 9 apresentaram um pico mais baixo de TIV às 6h, enquanto que os cavalos 1, 4 e 5 apresentaram um pico mais alto neste mesmo intervalo horário. Isto indica as diferentes formas de percepção de dor pelos animais, o que é também influenciado pela própria evolução da doença individual de cada animal (Wagner, 2010). Por outro lado, temos de ter em conta que durante o estudo os animais receberam

tratamentos médicos para alívio da dor, o que pode estar a influenciar a avaliação do stresse associado.

Quando se analisou a evolução dos valores médios da TIV em relação aos parâmetros de referência avaliados, observou-se que a termografia infravermelha mostrou valores de média ligeiramente superiores aos mostrados por animais jovens de desporto, participantes em provas de Salto de Obstáculos (35,3°C-36,6°C), descritos por Valera *et al.*, (2012). Por outro lado, Soroko *et al.*, (2016), demonstrou valores similares de TIV para os cavalos avaliados antes do treino e 120 minutos depois deste. Os valores indicados neste estudo mostraram que a TIV refletiu a presença de stresse devido aos valores demonstrados, mas este stresse pode ser devido a stresse associado à dor e não ao desporto ou ao treino, o que justifica o valor mais alto. Não foram encontrados estudos prévios de avaliação de dor em cólica com TIV para se ter um termo de comparação.

Os parâmetros frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR) são considerados importantes indicadores de dor em clínica veterinária (Price *et al.*, 2003; Dujardin & Van Loon, 2011). Neste estudo verificaram-se variações muito bruscas que coincidiam quando os animais apresentavam picos de dor por diferentes razões, que por vezes eram associados a passagem de fezes, a administração de fluídos por sonda nasoesofágica ou por colocação de novos animais em boxes adjacentes (stresse associado ao maneio). De forma geral, tanto para a TIV como para a FC e a FR observou-se uma tendência descendente dos valores médios com a hora de avaliação, o que indica um comportamento similar dos diferentes parâmetros.

A temperatura retal (TR) é um ótimo método para a medição da temperatura corporal do animal e é um indicador de avaliação do seu estado geral. Os valores encontrados neste estudo demonstraram ser inferiores nas primeiras horas e similares a partir das 6h de avaliação com a TR recolhida em cavalos com dor abdominal aguda grave reportados por Pihl *et al.*, (2016). Isto indica que a dor nos animais deste estudo foi mais intensa no final do período de avaliação no hospital.

Para os **parâmetros comportamentais** avaliados com as escalas padronizadas de dor (a EDC, a EEF e a ECN) os registos de maior grau de dor foram recolhidos no momento inicial do internamento no Hospital de Santo Estêvão e a meio da hospitalização foram registados os menores graus de dor. Estes voltaram a aumentar no final da hospitalização, coincidindo com os valores encontrados nos parâmetros fisiológicos. Os valores altos no

início são facilmente explicáveis pelo facto de que correspondem ao momento da chegada à clínica, logo o animal está num ambiente estranho, contido numa manga para exame físico e torna-se agitado e stressado, o que resulta numa avaliação do animal com valores mais altos nas diferentes classes das escalas comportamentais. Com o passar do tempo, a habituação do animal ao meio, transmite mais tranquilidade ao animal e mais sossego, conseqüentemente os registos das escalas vão diminuir. A administração de fármacos antiinflamatórios analgésicos também influenciaram na diminuição dos valores registados pois a dor estava a diminuir.

Com o fim de avaliar a influência dos fatores ambientais nas medições da TIV e observar a objetividade e independência do ambiente nesta medida (TIV), foram analisados 13 fatores ambientais em relação à TIV: a idade, o sexo, a funcionalidade, a raça, as desparasitações prévias, as vacinações prévias, o tipo de fezes, o tipo de alimentação, a administração de xilazina, de soro, de flunixinina meglumina e de outros medicamentos ou a administração de qualquer tipo de medicação no geral.

Os resultados deste estudo mostraram que a TIV é altamente influenciada pelo ambiente. Apenas os fatores sexo, funcionalidade e administração de xilazina não demonstraram diferenças estatisticamente significativas para a TIV. Estudos prévios indicaram que a TIV é influenciada por distintos fatores ambientais quando está a ser avaliado o stresse produzido durante o desporto. Assim, Bartolomé *et al.*, (2013) reportou diferenças baseadas na idade e origem genética do animal, em animais participantes em provas de Salto de Obstáculos. Sánchez *et al.*, (2016) reportou diferenças devidas à ganadaria de origem, ao transporte, ao treinamento e ao cavaleiro, em cavalos participantes em provas de Ensino. Isto pode ser devido a condições que afetam o nível de stresse do animal que estão a ser avaliados por TIV. No estudo feito nos animais hospitalizados, o stresse avaliado estava mais relacionado com o estímulo da dor do que com outro tipo de estímulos, o que justifica os fatores encontrados que foram considerados influentes na TIV.

A idade demonstrou, concretamente, uma tendência descendente entre as idades, com valores mais altos de stresse em animais mais jovens. Isto pode ser devido ao facto de que os animais jovens, no geral, demonstram respostas mais exacerbadas ao stresse devido a estímulos de dor, do que os animais mais velhos e com mais experiência. Alio & Padron, (1982) encontraram uma tendência similar em humanos. Outros autores explicaram esta tendência descendente como uma componente de aprendizagem subjacente, como resultado

de uma habituação do animal aos elementos stressantes da doença e da dor (Kusunose & Yamanobe 2002; Hall *et al.*, 2011).

A raça mostrou valores de TIV significativamente mais altos para os animais de raça Lusitana. Clark *et al.*, (1997) demonstrou que fatores próprios ao animal como a raça, podem influenciar a magnitude e o tipo de resposta ao stresse, o que corrobora os resultados encontrados neste estudo. A natureza mais nervosa típica dos Lusitanos, deve-se ao facto de que são animais mais ligeiros e reativos que outras raças, pela sua dedicação às touradas (Cordeiro, 1997), o que também está de acordo com os valores mais altos de TIV encontrados neste estudo para esta raça, em comparação com os Sela Francesa e os cruzados.

Para as desparasitações e vacinações prévias, todos aqueles que foram desparasitados ou vacinados antes da sua hospitalização, mostraram no geral médias estatisticamente muito mais elevadas da TIV que o resto dos animais. Isto pode ser justificado devido a uma maior sensibilidade dos animais tratados às reações de stresse pela dor.

Para os animais que mostraram alterações patológicas das fezes, os valores da TIV foram consideravelmente superiores, o que é explicado devido a uma maior sensibilidade nestes animais, visto que, se apresentam alterações das fezes logo mostram sinais de dor superiores em relação aos outros animais, portanto, valores mais altos de stresse. Estes valores de dor associados à presença de fezes patológicas foi reportado por outros autores (Teixeira *et al.*, 2015; Loschelder & Gehlen, 2017).

Para o tipo de alimentação, todos aqueles cavalos que realizaram uma dieta distinta da *standart* para cavalos (60% da forragem e 40% do grão) mostraram valores mais baixos de TIV. Pode ser justificado por uma maior inclusão de gordura na dieta especial destes animais, o que auxilia a diminuição do stresse e a reatividade nos cavalos, afetando, consequentemente a nível da TIV (Redondo *et al.*, 2009).

Quando se administrou algum tipo de medicação (soro, flunixinina meglumina, outros medicamentos ou qualquer combinação de todos eles), os valores da TIV foram consideravelmente mais altos. Isto pode ser devido ao facto de que a administração destes altera a vasoconstrição e vasodilatação dos capilares, produzindo alterações na distribuição sanguínea, que se refletem na medição da temperatura ocular por TIV.

Por último, as correlações feitas entre a TIV e os parâmetros avaliados, mostraram uma relação média-alta com quase todos os parâmetros de medição da dor, em especial, com 2 parâmetros fisiológicos (a FC e a TR) e com 2 parâmetros comportamentais (a EDC e a EEF). Para os dois primeiros faz sentido, pois ambos são parâmetros amplamente utilizados na clínica veterinária para a avaliação do stresse produzido pela dor, embora devam sempre ser usados em conjunto com outros parâmetros, por não serem totalmente fiáveis em todas as situações (Price *et al.*, 2003; Dujardin & Van Loon, 2011).

Com respeito às escalas da dor, a EDC é uma escala composta, o que significa que a sua avaliação inclui medições da FC e da TR que já mostraram estar relacionadas com a TIV.

Por outro lado, encontrou-se uma relação com a EEF que avalia a expressão comportamental da dor de forma mais objetiva e direta, embora tenha sido criada com o objectivo de avaliar a dor devido a uma castração e não para cólica (Costa *et al.*, 2014).

Com respeito à base fisiológica da TIV, estudos prévios de medição da dor em cavalos encontraram uma correlação significativa e positiva deste parâmetro com valores de cortisol salivar e plasmático (Cook *et al.*, 2001) e portanto, com o eixo HPA. Embora, outros estudos de avaliação de dor visceral em bovinos terem mostrado que durante o stresse ou a dor, o calor emitido pelos capilares superficiais ao redor do olho muda à medida que o fluxo sanguíneo é regulado sob controle do sistema nervoso autónomo (SNA) e essas alterações podem ser quantificadas usando a TIV (Stewart *et al.*, 2008). No início verificou-se uma queda sincronizada na temperatura ocular, indicativa do aumento da atividade simpática. Depois, a dor visceral mais profunda causou um aumento mais acentuado da TIV, indicativa de aumento do tónus parassimpático. Outros autores corroboraram a implicação da atividade simpática produzida por fatores emocionais nos cavalos antes e durante as competições de desporto, o que apesar de não serem respostas à dor, parecem ser controladas pelo mesmo sistema (Becker-Birck *et al.*, 2013; Visser *et al.*, 2002).

Desta forma, os resultados obtidos neste estudo estão a **corroborar o uso de TIV como uma ferramenta adequada para a medição do stresse produzido pela dor** desenvolvida durante uma patologia de cólicas nos cavalos.

Embora o que foi referenciado e dito previamente na discussão, a TIV mostra ser muito influenciada por diversos fatores ambientais, o que indica que não aparenta ser uma ferramenta adequada para a avaliação singular da dor em cavalos (gold standard), por isso

será ideal usá-la em conjunto com outros parâmetros: fisiológicos e comportamentais. Verificou-se que em conjunto com a FC, a TR e as escalas EDC e EEF, obtém-se uma avaliação mais completa de todo o espectro da dor visceral que afeta os cavalos durante as cólicas.

Temos de ter em conta algumas limitações do estudo, entre elas: o tamanho relativamente pequeno da amostra e a falta de informação das condições prévias de alguns animais, que nem sempre foram concedidas por parte dos proprietários. Assim, para futuros estudos, deverá ter-se em conta um aumento da amostra e uma estandardização de situações prévias ao estado doloroso dos animais.

7. CONCLUSÕES

- I. A TIV mostrou ser influenciada pela: idade, raça, desparasitações, vacinações prévias, tipo de fezes, tipo de alimentação e a administração de soro, flunixinina meglumina, outros medicamentos ou qualquer das três combinações anteriores.
- II. A TIV não pode ser usada como uma medida *gold standard* por ser influenciada por muitos fatores externos. Deve ser usada como complemento de outros parâmetros fisiológicos e comportamentais de avaliação.
- III. As correlações positivas e altamente significativas encontradas entre a TIV e outros indicadores específicos da dor, como a FC, a TR, a EDC e a EEF indicam que a temperatura ocular medida pela TIV aparenta ser uma ferramenta útil para avaliação da dor em cavalos com cólica.
- IV. O uso da TIV oferece um método seguro, não invasivo e objetivo para avaliação de dor em equinos, com o objetivo de melhorar o bem estar animal durante o exercício veterinário de rotina.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, I., Misztal, I., Tsuruta, S. 2009. Genetic components of heat stress for dairy cattle with multiple lactations. *Journal of Dairy Science*, 92 (11): 5702-5711.
- Alio, J., Padron, M. 1982. Influence of age on the temperature of the anterior segment of the eye. *Ophthalmic Research* 14, 153–159.
- Anónimo, 2002. The welfare of animals during transport. *Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare*. 130.
- Baker, H.W., Barker, I.D., Epstein, V.M., Hudson, B. 1982. Effect of stress on steroid hormone levels in racehorses. *Australian Veterinary Journal*, 2:71-1.
- Bartolomé, E., Sánchez M.J., Molina, A., Schaefer, A.L., Cervantes, I., Valera, M., 2013. Using eye temperature and heart rate for stress assessment in young horses competing in jumping competitions and its possible influence on sport performance. *The Animal Consortium* 7:12, p. 2044-2053.
- Bartolomé, E., Cockram, M.S., 2016. Potential effects of stress on the performance of sports horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 40, p.84-93.
- Becker-Birck, M., Schmidt, A., Lasarzik, J., Aurich, J., Möstl, E. Aurich, C. 2013. Cortisol release and heart rate variability in sport horses participating in equestrian competitions. *Journal of Veterinary Behavior* 8, 87–94.
- Bussièrès, G., Jacques, C., Lainay, O., Beauchamp, G., Leblond, A., Cadoré, J.L., Desmaizières, L.M., Cuvelliez, S.G., Troncy, E., 2008. Development of a composite orthopaedic pain scale in horses. *Research in Veterinary Science* 85, p.294–306.
- Clark, J.D., Rager, D.R., Calpin, J.P. 1997. Animal well-being. IV. Specific assessment criteria. *Laboratory Animal Science* 47, 586–597.
- Cook, N.J., Schaefer, A.L., Warren, L., Burwash, L., Anderson, M, Baron, V. 2001. Adrenocortical and metabolic responses to ACTH injection in horses: an assessment by salivary cortisol and infrared thermography of the eye. *Animal Science*, 81: 621.
- Cordeiro, A.R., 1997. Lusitano Horse – Son of the Wind. *Edições Inapa, Lisboa*, pp. 1-14.

- Costa, E.D., Minero M, Lebelt D, Stucke D, Canali E, 2014. Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration. *PLoS One*, 9, p. e92281
- Dai, F., Cogi, N.H., Heinzl, E.U.L, Costa, E.D., Canali, E., Minero, M.M., 2015. Validation of a fear test in sport horses using infrared thermography. *Journal of Veterinary Behavior* 10, p.128-136.
- Dewey, C.W., 2008. Pharmacologic management of pain for patients with neurologic disease, cap.18, p.585-595. *Practical Guide to Canine and Feline Neurology* (2^aed). Wiley-Blackwell.
- Dujardin, C.L.L., van Loon, J.P.A.M., 2011. Pain recognitions and treatment in the horse: a survey of equine veterinarians in the Netherlands and Belgium. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 136, 715-724.
- Eddy, A.L., Van Hoogmoed, M., Snyder, J.R., 2001. The Role of Thermography in the Management of Equine Lameness. *The Veterinary Journal*, 162, p. 172-181.
- Eitam, H., Brosh, A., Orlov, A., Izhaki, I., Shabtay, A. 2009. Caloric stress alters fat characteristics and Hsp70 expression in milk somatic cells of lactating beef cows. *Cell Stress and Chaperones*, 14: 173 - 182.
- Fuquay, J.W., 1981. Heat stress as it affects animal production. *Journal of Animal Science*, 52 (1): 164-174.
- Giovagnoli, G., Trabalza Marinucci, M. Bolla, A., Borghese, A. 2002. Transport stress in horses: an electromyographic study on balance preservation. *Livestock Production Science*, 73: 247–254.
- Grandin, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, 75(1):249-257.
- Hall, C., Burton, K., Maycock, E., Wragg E., 2011. A preliminary study into the use of infrared thermography as a means of assessing the horse's response to different training methods. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 6 (5): 291-292.

- Hausberger, M.; Bruderer, C.; Le Scolan, N.; Pierre, J.S. 2004. Interplay Between Environmental and Genetic Factors in Temperament/Personality Traits in Horses (*Equus caballus*). *Journal of Comparative Psychology*, 118(4): 434-446.
- Herman, J.P., Cullinan, W.E. 1997. Neurocircuitry of stress: Central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends in Neuroscience*, 20: 78-84.
- Houpt. 1987. Abnormal behavior. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 3: 357- 367.
- Hsieh, J.C., Chan, K.H., Lui, P.W., Lee, T.Y. 1990. Clinical application of infrared thermography in diagnosis and therapeutic assessment of vascular ischemic pain. *Ma Zui Xue Za Zhi*, 28(4): 493-501.
- Jones, R.B. 1977. Sex and strain differences in the open-field responses of the domestic chick. *Applied Animal Ethology*, 3: 255-261.
- Jones, R.B. 1987. The assessments of fear in the domestic fowl. In: Zayan, R. Cognitive and Duncan, I.J.H (eds). *Cognitive aspects of social behaviour in the domestic fowl*. Elsevier, Amsterdam. Pp: 40-81.
- Kahn, C.M., Line S., Aiello B.S. Controlo da Dor, cap.82, p.1211-1216. *Manual Merck de Saúde Animal (9ªed)*. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co., Inc, 2007.
- Kastberger G., Stachl R., 2003. Infrared imaging technology and biological applications. *Behavior Research Methods, Instruments & Computers*, 35 (3), 429-439.
- Klaumann, P.R., Wouk, A. F. P. F., Sillas, T., 2008. Pathophysiology of pain, *Archives of Veterinary Science*, v. 13, n.1, p.1-12.
- Kenny, F.J., Tarrant, P.V. 1987. The physiological and behavioural responses of crossbred Friesian steers to short-haul transport by road. *Livestock Production Science*, 17: 63-75.
- Kilgour, R. 1975. The open-field test as an assessments of the temperature of dairy cows. *Animal Behavior*, 23:615-624.
- Kusunose, R., Yamanobe, A. 2002. The effect of training schedule on learned tasks in yearling horses. *Applied Animal Behaviour Science* 78, 225–233
- LeDoux, J.E. 1994. Emotion, memory and the brain. *Scientific American*, 271: 50.

- Lima De, V., Piles, M., Rafel, O., López-Béjar, M., Ramón, J., Velarde, A., Dalmau, A., 2013. Use of infrared thermography to assess the influence of high environmental temperature on rabbits. *Research in Veterinary Science*.
- Lloyd, A.S., Martin, J.E., Bornett-Gauci, H.L.I., Wilkinson, R.G. 2008. Horse personality: Variation between breeds. *Applied Animal Behaviour Science*, 112: 369–383.
- Loschelder, J., Gehlen, H. 2017. Sand colic in the horse - Review and case examples [Sandkolik beim Pferd - Übersicht und Fallbeispiele]. *Pferdeheilkunde* 33(6): 591-596.
- Mann, P.R., Wouk, A.F.P.F., Sillas, T., 2008. Pathophysiology of pain. *Pesquisa em Veterinary Science* 13, n.1, p.1-12.
- Martos, N., Ayala, I. 2003. El estrés en los équidos. *Anales de Veterinaria*, 19: 121-127.
- Mason, G.J., 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behavior*, 41: 1015–1037.
- McCafferty, D.J., 2007. The value of infrared thermography for research on mammals: previous applications and future directions. *Mammal Review*, vol. 37, N.3, p. 207-223.
- McDonnell, S. 2003. Domestically shaped and aberrant behaviors. A practical field guide to horse behavior. *The blood horse*. Pp: 305-349.
- McEwen, B.S. 1994 Stress and the nervous system: Introduction. *Seminars in the Neurosciences*, 6: 195-196.
- Pihl, T. H., Scheepers, E., Sanz, M., Goddard, A., Page, P., Toft, N., Kjelgaard-Hansen, M., Andersen, P.H., Jacobsen, S. 2016. Acute-phase proteins as diagnostic markers in horses with colic. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio, Tex. 2001)*, 26(5), 664–674.
- Pommier, S.A., Houde, A. 1993. Effect of genotype for malignant hypothermia as determined by a restriction endonuclease assay on the quality characteristics of commercial pork loins. *Journal of Animal Science*, 71:420.
- 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, 124–137.

- 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 Behavior Science*. 80, p. 31–43.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W. Dor. cap.2, p.61-63. *Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. (9ª ed). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- Redondo, A. J., Carranza, J., & Trigo, P. 2009. Fat diet reduces stress and intensity of startle reaction in horses. *Applied Animal Behaviour Science*, 118(1–2), 69–75.
- Romero, M.H., Uribe-Velásquez, L.F., Sánchez, J.A. 2011. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosaúde*, 10: 71-87.
- Rushon, J.O., Tichy, A., Nell, B., 2015. Introduction of the use of thermography and thermometry in the diagnosis of uveitis in horses: a pilot project. *Veterinary Record Open*, 2:e000089.
- Sánchez, M.J., Bartolomé, E., Valera, M., 2015. Genetic study of stress assessed with infrared thermography during dressage competitions in the Pura Raza Español horse. *Applied Animal Behaviour Science*.
- Schaefer, A.L., Cook, N.J., Tessaro, S.V., Deregt, D., Desroches, G., Dubeski, P.L., Tong, A.K.W., Godson, D.L. 2004. Early detection and prediction of infection using infrared thermography. *Canadian journal of Animal Science*, 84: 73-80.
- Soroko, M., Howell, K., Zwyrzykowska, A., Dudek, K., Zielińska, P., & Kupczyński, R. 2016. Maximum Eye Temperature in the Assessment of Training in Racehorses: Correlations With Salivary Cortisol Concentration, Rectal Temperature, and Heart Rate. *Journal of Equine Veterinary Science*, 45, 39–45.
- Stanford, S.C., Salmon, P. 1993. *Stress: From synapse to syndrome*. London: Academic Press. Pp: 442.
- Stewart, M., Webster, J.R., Schaefer, A.L., Cook, N.J., Scott, S.L. 2005. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Animal Welfare*, 14: 319-325.

- Stewart, M., Stafford, K. J., Dowling, S. K., Schaefer, a L., & Webster, J. R. 2008. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & Behavior*, 93(4–5), 789–97.
- Stewart, M., Webster, J.R., Schaefer, A.L., Stafford, K.J., 2008. Infrared thermography and heart rate variability for non-invasive assessment of animal welfare. *The Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching News*, vol. 21, N.1.
- Stricklin, W.R., Heisler, C.E., Wilson, L.L. 1980. Heritability of temperament in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 51(1): 109.
- Tan, J., Ng, E.Y.K., Acharya, U.R., Chee, C., 2009. Infrared thermography on ocular surface temperature: A review. *Infrared Physics & Tecnology*, 52, p.97-108.
- 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, 1–19.
- Teixeira, P.P.M., Medeiros, R.M., Silva, M.A.M., Coutinho, L.N., Mariano, R.S.G., Vrisman, D.p., Oliveira, M.G. Bonato, D.V., Taira, A.R., Tironi, S.M.T., Vicente, W.R.R. 2015. *Acta Scientiae Veterinariae*, 43 (75).
- Trevisi, E., Bertoni, G. 2009. Some physiological and biochemical methods for acute and chronic stress evaluation in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (1):265-286.
- Valera, M., Bartolomé, E., Sánchez, M.J., Molina, A., Cook, N., Schaefer, A. 2012. Changes in eye temperature and stress assessment in horses during show jumping competitions. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32: 827-830.
- Van Loon, J.P.A.M., Back, W., Hellebrekers, L.J., van Weeren, P.R., 2010. Application of a composite pain scale to objectively monitor horses with somatic and visceral pain under hospital conditions. *Journal of Equine Veterinary Science* 30, 641– 649.
- Van Loon, J.P.A.M., Jonckheer-Sheehy, V.S.M., Back, W., Van Weeren, P.R., Hellebrekers, L.J., 2014. Monitoring equine visceral pain with a composite pain scale score and correlation with survival after emergency gastrointestinal surgery. *The Veterinary Journal* 200, p. 109-115.

- Van Loon, J.P.A.M., Van Dierendonck, Machteld C., 2015. Monitoring acute equine visceral pain with the Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain (EQUUS-FAP): a scale construction study. *The Veterinary Journal* 2015.
- Visser, E.K., Van Reenen, C.G., Van der Werf, J.T.N., Schilder, M.B.H., Knaap, J.H., Barneveld, A., Blokhuis, H.J. 2002. Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses. *Physiology & Behavior* 76, 289–296.
- Wagner, A.E., 2010. Effects of stress on pain in horses and incorporating pain scales for equine practice. *Vet Clin Equine*, 26, p.481-492.
- Yarnell, K., Hall, C., Billett, E., 2013. An Assessment of the Aversive Nature of an Animal Management Procedure (Clipping) using Behavioural and Physiological Measures.
- Young, B.A., 1981. Cold stress as it affects animal production. *Journal of Animal Science*, 52: 154- 163.

9. ANEXOS

ANEXO 1 - Folhas de registro de campo utilizadas para este projeto (identificação, exame físico e temperatura do cavalo 1 a 10):

IDENTIFICAÇÃO:																			
ID	Data		Nome	Microchip	Idade	Sexo	Raça	Função	Perguntas ao proprietário										
	Hora								Vac?	Desp?	Fezes?	Alim?	Med?	Qual?					
1																			

EXAME FÍSICO:										TEMPERATURA:						Notas:					
M:	FC	FR	TRC	Cór muc.	Motilidade Intestinal	Dor Palp.	Percussão	Palp. Rectal	Diagnóstico	T ^o C ocular	T ^o C rectal	Termografia									
												T ^o Amb	H% Amb	T ^o C da Câm.							
0H																					
2H																					
4H																					
6H																					
8H																					
10H																					

ANEXO 2 - Folhas de registro de campo utilizadas para este projeto: Escala de dor (acima) e escala de expressão facial (abaixo).

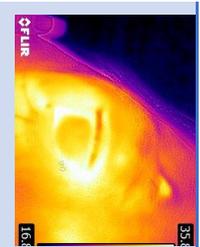
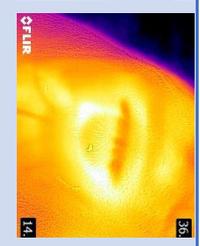
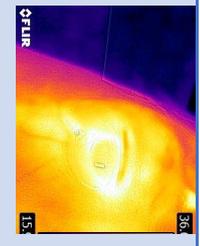
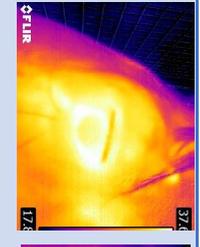
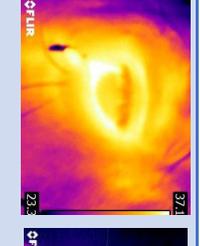
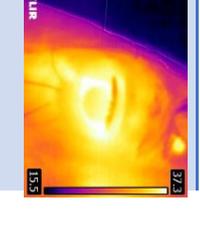
ESCALA DE DOR																
ID	M:	COMPORTAMENTO							R. AO OBS.			PARÂMETROS FISIO				TOTAL:
		Apar.	Sud.	Pont. abd	Rasp.	Post.	Mv. Cab	Appt	Inter.	P. Área Dol.	FC	FR	Mt. Inst.	T ^o C rect		
	0H															
	2H															
	4H															
	6H															
	8H															
	10H															

ESCALA DE EXPRESSÃO FACIAL										
Orelhas	Ríg. p/ →	Rigz	palp.	Tensão olho	Tensão mm mast.	Boca tensa	queixo pron.	Nar. Tens.	achat. perfil	TOTAL:

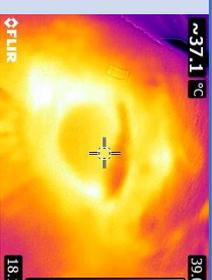
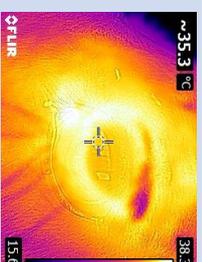
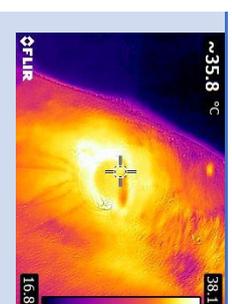
ANEXO 3 - Folhas de registro de campo utilizadas para este projeto: Escala de pontuação de postura e social.

ID	M:	Categoria				TOTAL	
PONT. POST.		1	2	3	4		
1	0h	Comp. de dor*	Nenhum		Ocasional	Contínuo	
		Posição da cabeça	↑ garrote		≈ garrote	↓ garrote	
		Posição das orelhas	p/←, mv. freq.		Ligeira/p/→, pco mov.		
		Localização na box	À porta, atento amb.	Meio box, p/porta	Meio box, p/os lados	Meio box, p/→	
		Movimentos espontâneos	Mov. livre/	Passos, ocasional/		S/ movimento	
TOTAL POSTURA							
PONT. SOCIAL.		Resposta à abertura da porta	Mov. p/porta	Olha p/ a porta	S/ resposta		
		Resposta à aproximação	Dg-se obs., orelhas p/←	Olha p/obs., orelhas p/←	Ã se mexe, orelhas p/→		
		Elevação da mão	Levanta livre/ pé, qd pedd	Levanta o pé após encorraj.	Ã levanta o pé		
		Resposta ao grão	Dirige-se ao grão	Olha p/a porta	S/ resposta		
TOTAL SOCIALIZAÇÃO							

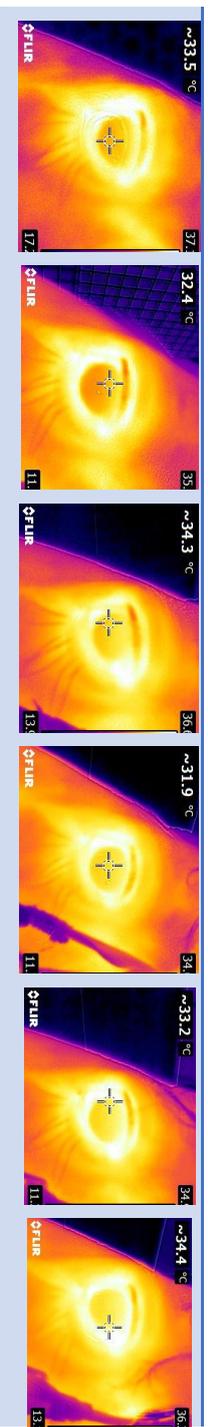
Anexo 4 - Dados fisiológicos, comportamentais e de dor recolhidos nos animais avaliados durante o estudo.

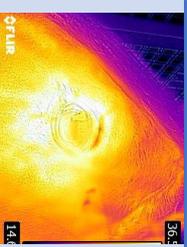
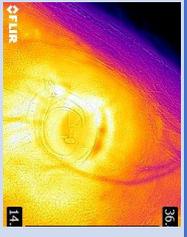
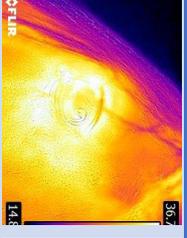
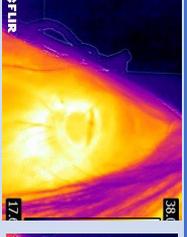
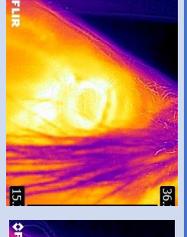
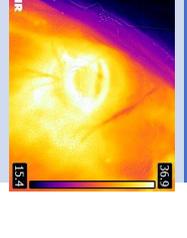
	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 1						
						
T^a Ocular (°C)	36,7°	36,9°	37,3°	38,6°	37,8°	37,8°
FC (bpm)	48	40	44	40	44	36
FR (rpm)	16	12	12	12	8	12
T^a Retal (°C)	37,9°	37,3°	37,5°	38,1°	38,6°	38,3°
Escala de Dor (EDC)	6	4	7	1	8	1
Escala Exp. Facial (EEF)	6	6	6	6	8	7
Escala Postura (ECN1)	12	12	12	12	13	13
Escala Social (ECN2)	5	3	5	5	5	5

	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 2						
T^a Ocular (°C)	38,8°	38,6°	39,3°	-	-	-
FC (bpm)	96	96	96	-	-	-
FR (rpm)	16	16	16	-	-	-
T^a Retal (°C)	36°	37,5°	37,7°	-	-	-
Escala de Dor (EDC)	15	13	14	-	-	-
Escala Exp. Facial (EEF)	8	12	12	-	-	-
Escala Postura (ECN1)	10	17	17	-	-	-
Escala Social (ECN2)	0	12	12	-	-	-

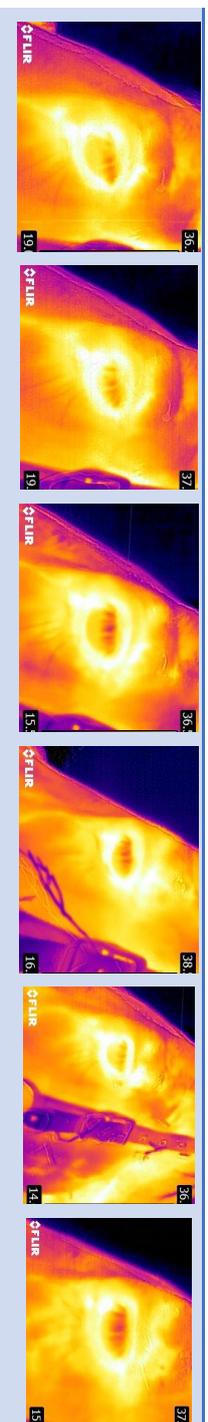


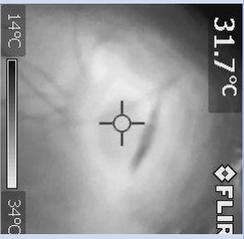
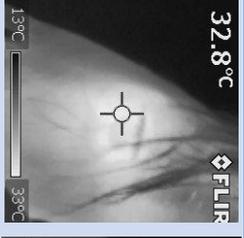
	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 3						
T^a Ocular (°C)	37,8°	36,3°	36,7°	35,4°	35,9°	36,8°
FC (bpm)	64	72	76	80	72	74
FR (rpm)	28	16	16	12	12	12
T^a Retal (°C)	38,4°	37,8°	38,3°	38,6°	38,6°	38,7°
Escala de Dor (EDC)	10	9	9	9	10	11
Escala Exp. Facial (EEF)	6	6	6	5	6	6
Escala Postura (ECN1)	12	14	14	14	14	15
Escala Social (ECN2)	0	6	6	6	6	6

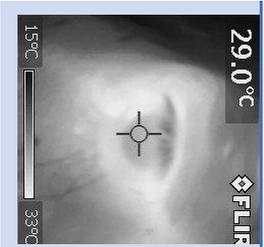
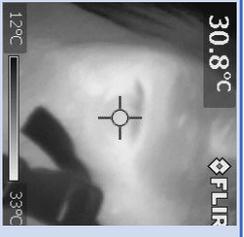
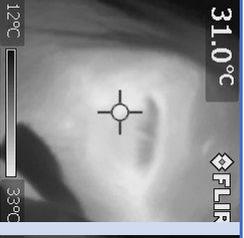


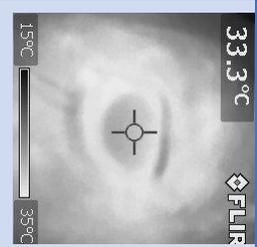
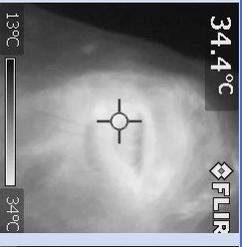
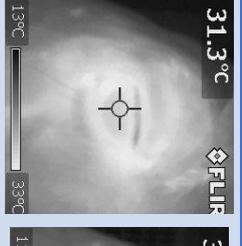
	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 4						
T^{ra} Ocular (°C)	 37,2°	 37°	 37,5°	 38,5°	 37°	 37,6°
FC (bpm)	32	32	32	32	32	36
FR (rpm)	14	12	12	10	8	8
T^{ra} Retal (°C)	38,2°	38,1°	38,1°	38,2°	38,2°	38,3°
Escala de Dor (EDC)	2	4	2	1	2	0
Escala Exp. Facial (EEF)	6	6	6	5	6	6
Escala Postura (ECN1)	7	7	5	5	3	5
Escala Social (ECN2)	4	4	5	0	0	0

	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 5						
T^a Ocular (°C)	37,5°	38,5°	37,7°	38,9°	36,7°	38,5°
FC (bpm)	48	52	48	52	56	56
FR (rpm)	16	12	16	10	12	12
T^a Retal (°C)	37,1°	37,2°	37,8°	38,4°	38,5°	38,6°
Escala de Dor (EDC)	9	12	9	8	13	13
Escala Exp. Facial (EEF)	6	12	12	12	12	12
Escala Postura (ECN1)	8	11	17	18	18	18
Escala Social (ECN2)	0	0	12	10	12	12



	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 6						
T^a Ocular (°C)	31.7° 	32.8° 	32.3° 	33.0° 	31.2° 	31.8° 
	14°C 34°C	13°C 38°C	13°C 34°C	13°C 33°C	13°C 33°C	12°C 33°C
FC (bpm)	32	36	32	32	28	32
FR (rpm)	12	16	12	12	12	12
T^a Retal (°C)	38°	37,3°	37,3°	37,6°	37,6°	37,6°
Escala de Dor (EDC)	9	12	9	8	13	13
Escala Exp. Facial (EEF)	6	12	12	12	12	12
Escala Postura (ECN1)	2	12	12	12	9	9
Escala Social (ECN2)	2	6	6	7	6	6

	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 7						
				-	-	
Tª Ocular (°C)	34,1°	33,3°	33,6°	32,7°	-	-
FC (bpm)	36	24	32	32	-	-
FR (rpm)	16	12	12	12	-	-
Tª Retal (°C)	37,1°	37,3°	37,3°	37,6°	-	-
Escala de Dor (EDC)	0	0	0	0	-	-
Escala Exp. Facial (EEF)	1	0	0	0	-	-
Escala Postura (ECN1)	5	8	7	7	-	-
Escala Social (ECN2)	1	5	5	5	-	-

	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 8						
T^a Ocular (°C)	33.3° 	-	34.4° 	31.3° 	31.3° 	32.8° 
FC (bpm)	80	-	64	48	48	44
FR (rpm)	24	-	12	12	8	8
T^a Retal (°C)	37,7°	-	37°	37,3°	37,4°	37,7°
Escala de Dor (EDC)	14	-	12	3	2	1
Escala Exp. Facial (EFF)	6	-	3	5	5	5
Escala Postura (ECN1)	8	-	15	13	12	12
Escala Social (ECN2)	0	-	8	8	6	6

	0H	2H	4H	6H	8H	10H
ANIMAL 9						
T^a Ocular (°C)	36,9°	36,7°	39,2°	37°	38°	39,5°
FC (bpm)	80	60	56	60	64	60
FR (rpm)	8	8	8	8	8	8
T^a Retal (°C)	38,4°	38,2°	38,3°	38,2°	38,6°	38,8°
Escala de Dor (EDC)	9	9	8	9	9	8
Escala Exp. Facial (EEF)	4	4	4	7	4	1
Escala Postura (ECN1)	10	9	8	14	14	13
Escala Social (ECN2)	6	6	6	6	6	6

