

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EXPRESSÕES FACIAIS DE DOR EM EQUINOS: COMPARAÇÃO
INTEROBSERVADOR**

Amanda Lima Carvalho Saran

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Camargo
Ferraz

Coorientadores:

MSc. Júlia Ribeiro Garcia de Carvalho;

Dr. Pedro Henrique Esteves Trindade

JABOTICABAL - SP

9º Semestre/2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EXPRESSÕES FACIAIS DE DOR EM EQUINOS:
COMPARAÇÃO INTEROBSERVADOR**

Amanda Lima Carvalho Saran

Guilherme de Camargo Ferraz

Trabalho de Conclusão de Curso
(Iniciação Científica) apresentado à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências
para graduação em Zootecnia.

S243e	Saran, Amanda Lima Carvalho Expressões faciais de dor em equinos: comparação interobservador / Amanda Lima Carvalho Saran. -- Jaboticabal, 2021 38 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Guilherme de Camargo Ferraz Coorientadora: Julia Ribeiro Garcia de Carvalho 1. Bem-estar. 2. Cavalo. 3. Dor. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO: Morfologia e Fisiologia Animal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: Expressões faciais de dor em equinos: comparação inter-observador

ACADÊMICO: Amanda Lima Carvalho Saran

CURSO: Zootecnia

ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz

Aprovado e corrigido de acordo com as sugestões da Banca Examinadora

BANCA EXAMINADORA:

	(Nomes)	(Assinaturas)
Presidente	Guilherme de Camargo Ferraz	
Membro	Mayara Travalini de Lima	
Membro	Nathali Adrielli Agassi de Sales	

Jaboticabal 04 / 08 / 2021

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 04, 08, 2021


Chefe do Departamento

Dedico este trabalho à minha família que sempre fez o possível e o impossível por mim, com todo amor. A minha vitória é de vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por sempre guiar meus passos e abençoar meu caminho e minhas escolhas. Nunca me faltou em nenhum momento.

Agradecer também a minha família, em especial à minha mãe, Fernanda, que sempre esteve ao meu lado, me incentivando e me apoiando a crescer e correr atrás dos meus sonhos, dando colo e carinho nos momentos difíceis e vibrando com as minhas conquistas como se fossem dela, e, na verdade, também são. Obrigada por tanto!

Aos meus avós, Herces e Maria Ignês, que sempre estiveram presentes e fizeram de tudo para nos ver crescendo, felizes e realizadas. São os melhores avós do mundo, minhas joias, como diz meu avô aos netos. Vocês são minha inspiração.

Ao meu pai, que me encorajou no começo quanto a escolha do curso, me orientou em minhas escolhas e deu suporte para que eu conseguisse chegar aonde estou hoje. Me espelhei nele, e espero um dia ser um pouquinho do que ele foi na área que escolhi trabalhar.

Agradecer as minhas irmãs, Aianoã e Ariela, por toda torcida e apoio que deram sempre. Aia até mudança me ajudou a fazer, tem prova de amor maior? Rs. Vocês são o meu alicerce, vamos nos apoiando e crescendo, juntas! E também aos meus irmãos mais novos, Anna e Sanzio.

Aos meus tios, Adriana, Mario, Susana, Ricardo, Daniela, por se importarem tanto e sempre estarem ali não só quando precisamos, mas pra tudo! Vocês são demais!

Todos meus primos, que amo do fundo do coração. Ao Davi, que sabe o carinho que tenho por ele e agradecimento por sempre cuidar de mim, desde pequenos, nas brincadeiras malucas que inventávamos.

Ao meu namorado, Leonardo, que me incentiva, apoia minhas escolhas, me dá colo nos momentos difíceis. Eu amo você! E, agradecer a família dele que me acolheu e me recebeu neste último semestre de faculdade, com todo carinho do mundo.

Ao professor Guilherme, meu muito obrigada por compartilhar todo o seu conhecimento e sempre me orientar com paciência, atenção e carinho nos momentos que precisei.

À Júlia, que me ajudou em vários momentos do Lafeq, me acalmou nos momentos de desespero e me proporcionou boas risadas em vários momentos. A nossa fada sensata! Obrigada por todos os ensinamentos e por toda a paciência comigo durante esses anos.

Ao Pedro que, com todo seu carisma, passou muito do seu conhecimento pra mim. Tenho enorme admiração por você!

Ao LAFEQ, em especial a todos que fazem parte comigo nesta caminhada, Vinícius, Letícia, Júlia, Izabelle, Catarina, Ana Carolina, Thayssa e Nathali. Obrigada por fazerem tudo parecer mais leve, sem a companhia de vocês nada seria possível, vocês sempre vão estar no meu coração.

Ao Deco, que sempre cuidou dos nossos cavalos com todo carinho possível. E também, sempre muito paciente e prestativo comigo e com todos que visitam o setor de equinocultura.

À CAP, que me proporcionou uma experiência empresarial incrível dentro da faculdade e também me fez conhecer pessoas maravilhosas que levarei para sempre, como amigos.

Às companheiras de faculdade, de perrengue, de festas, de alegrias e tristezas, Ana Victória e Naiara, obrigada por todos esses anos de companheirismo, sem o apoio de vocês com certeza eu não teria conseguido. Vocês duas foram essenciais! Quero agradecer também a Letícia, que morou

comigo e dividiu momentos especiais na nossa casinha. Muitas comilanças, risadas e conversas. Amo vocês três!

Minhas amigas de toda vida, que mesmo longe, sempre se fizeram presentes e torceram por mim, Camila, Ana Maria, Júlia e Mickaella. E óbvio, meu amigo Silas.

A Kiara, minha cachorra e companheira, meu carrapatinho, obrigada pelos bons momentos juntas.

E por último, mas não menos importante, a FCAV e todos os seus docentes. Esta faculdade me proporcionou uma experiência e aprendizado enormes, bons momentos. Obrigada a todos!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO DE LITERATURA	3
1.1. Bem-estar animal	3
1.2. Expressões faciais.....	4
1.3. Avaliação de expressões faciais relacionadas à dor	5
1.4. Confiabilidade interobservador.....	7
1.5. Polímeros.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Ética no uso de animais	9
2.2. Preparação dos polímeros	9
2.3. Animais	10
2.4. Grupos experimentais	10
2.5. Avaliação das expressões faciais	12
2.6. Treinamento dos avaliadores	13
2.7. Análise estatística.....	14
3. RESULTADOS	15
4. DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO	24
6. RESUMO	24
7. SUMMARY	26
8. REFERENCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

O bem-estar animal tem ganhado espaço mundialmente, sendo que este conceito amplo está presente em todos os códigos de ética, bem como nas regulamentações das agências que fomentam a pesquisa, tornando-se exigência entre consumidores, tutores e criadores, além da sociedade, no seu sentido mais amplo. Neste contexto, é importante ressaltar que, para tentar proporcionar situações de conforto aos animais, é imprescindível o adequado reconhecimento e o tratamento da sensação dolorosa (SINGER, 2002; MULLARD et al., 2017).

Segundo Broom (1986), bem-estar pode ser caracterizado como seu estado em relação às suas tentativas de se adaptar ao ambiente. Portanto, não é possível oferecer o bem-estar ao animal, e sim, proporcionar situação, ambiente e/ou objeto que possam trazer resultados positivos, que dependem exclusivamente do comportamento do animal em relação aos fatores ambientais e manejo imposto pela espécie humana (BROOM, 2004).

Dentro do contexto supramencionado, foram feitas investigações que tentaram identificar sensações as quais o animal estivesse exposto. Identificaram-se expressões faciais caracterizadas por contrações e tensões dos músculos faciais exibidas com base no estado emocional dos equinos, comportamento este desenvolvido para comunicação não verbal intraespecífica (Wathan et al., 2015). Além disso, as expressões faciais podem determinar o estado emocional do cavalo, refletindo sensações dolorosas (DALLA COSTA et al., 2014; GLEERUP et al., 2015; CONEGLIAN et al., 2020), estado de sedação (DE OLIVEIRA et al., 2021), cansaço físico (TRINDADE et al., 2020) e até emoções positivas (LANSADE et al., 2018).

Essas expressões faciais são consideradas indicadores comportamentais confiáveis na avaliação do estado do animal, sendo que, na espécie equina, são avaliadas características como, posicionamento das orelhas, contração das sobrancelhas, contração do músculo orbicular, abertura dos olhos, dilatação das narinas, tensão do focinho e tensão dos músculos mastigatórios (DALLA COSTA et al., 2014; GLEERUP et al., 2015). Para

manter a qualidade do diagnóstico quantitativo da dor, é importante que a escolha dos métodos de avaliação seja baseada na confiabilidade intra- e interavaliadores, o que depende da experiência e habilidade individuais dependentes dos avaliadores (MARTIN et al., 2007; GLEERUP et al, 2016).

Com o foco de comprovar confiabilidade das avaliações entre observadores, este estudo testou se um método de treinamento padronizado de 30 minutos aumentaria a confiabilidade entre avaliadores, revelando que as avaliações atingiriam alto grau de confiabilidade (Dai et al., 2020). Além disso, outro estudo comparou avaliações feitas por meio de imagens, por observadores que possuíam experiência com cavalos e conhecimento em expressões faciais apresentando bons resultados (DALLA COSTA et al., 2014). Comparações de avaliações feitas por meio de fotos e vídeos em equinos diagnosticados com laminite, avaliados por observadores treinados previamente para uso da metodologia e por médicos veterinários sem treinamento também foram realizadas. Os resultados apontaram boa confiabilidade para observadores treinados. Entretanto, demonstrou resultados não satisfatórios entre os médicos veterinários que não receberam o treinamento e que fizeram as avaliações de forma subjetiva, baseada em sua experiência prévia com equinos (CONEGLIAN et al., 2020).

Apesar disso, é relevante destacar dois pontos importantes. O primeiro deles é a ausência de estudos que analisem a confiabilidade interobservadores entre avaliadores experientes e inexperientes. Esta comparação possibilitaria avaliar se os resultados dos observadores inexperientes são semelhantes aos experientes, comprovando a eficiência ou não do uso desta metodologia por pessoas inexperientes que trabalham ou convivem com cavalos em suas rotinas práticas.

O segundo ponto trata-se da ausência de estudos que avaliam as expressões faciais quando os animais são submetidos à dor ou à nocicepção, ocasionadas por inflamação leve localizada, como é o caso do presente estudo, em que foram implantados dois tipos de polímeros por via subcutânea em equinos.

Em estudo pré-clínico, a biocompatibilidade desses materiais foi comprovada por variáveis fisiológicas como temperatura termográfica, limiar nociceptivo mecânico, fibrinogênio plasmático, avaliação ultrassonográfica, análises histopatológicas (coloração hematoxilina-eosina e coloração picrosirius-hematoxilina), além de microscopia eletrônica de varredura (CARVALHO et al., 2020).

Diante do exposto, objetivou-se investigar a confiabilidade interobservadores entre cinco avaliadores inexperientes e, também, com relação a um avaliador experiente, na avaliação das expressões faciais em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros, após um treinamento de quatro horas de forma remota. Nossa hipótese é que, após o treinamento, os avaliadores apresentarão alto grau de confiabilidade entre si, sendo eles experientes ou não.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Bem-estar animal

A *World Health Organization* (WHO) descreve o bem-estar animal como a maneira em que os indivíduos lidam com desafios do meio ambiente, incluindo sua sanidade, percepções, estado anímico, assim como outros efeitos que possam afetar de forma física e psicológica o animal (OIE, 2010). Desta forma, o bem-estar animal deve ser avaliado com base em seu comportamento em relação ao que lhe foi proporcionado, considerando variáveis comportamentais e fisiológicas.

Uma situação ao que o animal está ou não acostumado, ambientes diferentes ou um objeto oferecido ao indivíduo, podem trazer resultados positivos para a sua vida, mas, o que foi oferecido pelo ser humano não é o bem-estar em si. Esta definição deve levar em conta a relação do animal a outros conceitos, tais como necessidades vitais, as cinco liberdades, sensação de felicidade, ajustes ao meio ambiente, controle, capacidade de previsão, sentimentos, sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, estresse crônico e saúde (BROOM, 2004).

As avaliações do bem-estar animal podem ser realizadas por meio de variáveis comportamentais e/ou fisiológicas, que demonstram se o animal está submetido à alguma situação adversa que possa causar estresse patológico, desconforto ou dor (BROOM, 2004). Desta forma, as variáveis endócrinas, fisiológicas, comportamentais e clínicas possibilitam um diagnóstico do estado que o animal se encontra (APPLEBY et al., 1997).

1.2. Expressões faciais

Os primeiros relatos sobre expressões faciais foram feito por Charles Robert Darwin, em 1872, na obra “A expressão das emoções nos homens e nos animais” (DARWIN, 2009). Um século depois, foi criada a “*Facial Action Coding System*” (FACS), um etograma que descreveu as tensões e movimentações da face humana (EKMAN et al., 1978). Nas últimas duas décadas, houve um aumento significativo dos estudos das expressões faciais de mamíferos, incluindo humanos (WARDEN; HURLEY; VOLICER, 2003), bovinos (GLEERUP et al., 2015), cães (BREMHORST et al., 2019), camundongos (MILLER; LEACH, 2015), ovinos (GUESGEN et al., 2016; MCLENNAN et al., 2016), suínos (DI GIMINIANI et al., 2016) e gatos (Steagall et al., 2019).

Equus caballus é espécie animal gregária com amplo repertório de comunicação não verbal. Um exemplo disso são as suas expressões faciais. Devido a isso, na última década, as expressões faciais nesta espécie foram intensamente estudadas. E, para que isso fosse possível, foram catalogadas no “*Equine Facial Action Coding System*” (EquiFACS) expressões faciais da espécie aqui estudada, dispostas em um etograma que demonstra as características da face, no qual, as tensões e movimentações são determinadas pela contração de um músculo específico ou por um grupamento muscular.

Os autores do EquiFACS organizaram um treinamento seguido de certificação para que as avaliações sejam completadas de forma correta e padronizada. Este treinamento foi testado para analisar a curva de aprendizado

das pessoas. Quatro avaliadores, dos quais três eram inexperientes e um que não tinha experiência com cavalos, receberam um texto e vídeos com instruções práticas que descreviam como utilizar o EquiFACS de forma eficaz. Os observadores analisaram 22 vídeos curtos e demonstraram alta confiabilidade entre os codificadores após o treinamento (WATHAN et al., 2015).

Com a busca por melhorias na identificação das expressões faciais em diferentes estados emocionais dos cavalos, alguns estudos foram desenvolvidos, como, por exemplo, em situações que acarretam às sensações dolorosas em cavalos que foram submetidos a orquiectomia e também aos estímulos nocivos, um torniquete no carpo e a aplicação de capsaicina na face lateral do membro pélvico (DALLA COSTA et al., 2014; GLEERUP et al., 2015;), submetidos a sedação (DE OLIVEIRA et al., 2021), submetidos a cansaço físico leve (TRINDADE et al., 2020) e, até mesmo, refletindo sensações de felicidade (LANSADE et al., 2018).

1.3. Avaliação de expressões faciais relacionadas à dor

Para definirmos o que seria a dor e conseguirmos quantificá-la, podemos utilizar uma definição feita por RAJA et al., (2020), onde “a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a, ou semelhante àquela associada a, dano real ou potencial ao tecido”. Desta forma, a percepção da dor ocorrerá pela codificação e identificação de fatores ambientais, físicos ou químicos, ou patológicos, sendo chamados de nocicepção. Este fato se deve ao funcionamento do sistema nervoso central, que recebe estímulos da periferia do corpo e induzem respostas frente aos estímulos (ALVES et al., 2017).

Neste sentido, a avaliação das expressões faciais em cavalos tornou-se uma boa estratégia para identificar as sensações dolorosas e, desta forma, substituir a ausência de linguagem verbal nestes animais (SILVA et al., 2020). Algumas características identificadas em equinos são: posicionamento das orelhas, abertura dos olhos, contração da musculatura labial e da musculatura

orbicular, tensão do focinho e dos músculos mastigatórios (DALLA COSTA et al., 2014).

Com isso, foi desenvolvido estudo para comprovar a eficácia das avaliações de expressões faciais frente situações dolorosas, como em animais que passaram por procedimentos cirúrgicos, com dor aguda em cavalos submetidos à orquiectomia eletiva, desta forma, as avaliações foram feitas através da observação de fotos, que foram extraídas de vídeos da face destes animais, evidenciando que, a expressão facial demonstrou-se um método confiável e eficaz para diagnosticar presença de dor aguda em equinos, sendo uma alternativa, rápida e acessível às rotinas de clínicas e hospitais (DALLA COSTA et al., 2014).

Outro estudo, feito com equinos que apresentavam quadro de laminite, analisou se as expressões faciais seriam efetivas para substituir o método normalmente utilizado para diagnóstico de sensações dolorosas. Para identificação do quadro, normalmente, os animais precisam andar ao passo ou ao trote, mesmo sentindo dor intensa. Esta pesquisa demonstrou que as expressões faciais foram eficazes e são uma boa alternativa para diagnosticar animais que estão com dor devido à laminite, podendo até indicar casos mais leves e mais graves desta doença (DALLA COSTA et al., 2016).

Já, em relação às sensações dolorosas menos intensas, uma pesquisa conseguiu quantificar a dor originária de distúrbios dentários através da avaliação das fotos de expressões faciais (Coneglian et al., 2020). Ademais, Glerup et al. (2015) realizaram um estudo por meio de dois estímulos nociceptivos, um torniquete no carpo e a aplicação de capsaicina na face lateral do membro pélvico. As análises das expressões faciais foram feitas por meio de vídeos curtos, de 30 segundos cada. Observaram-se que, as alterações das orelhas, olhos, narinas, lábios, queixo e de alguns músculos faciais, podendo ser utilizadas no reconhecimento de dor em equinos. Concluiu-se então que, as expressões faciais foram capazes de identificar dor

nos equinos, mas que é necessário que sejam realizados mais estudos afim de testar a confiabilidade inter- e intra-observador.

1.4. Confiabilidade interobservador

A confiabilidade intra- e interavaliadores é importante para que os resultados obtidos apresentem qualidade no diagnóstico da dor de forma objetiva. Os dados obtidos nestas dependem diretamente da experiência dos avaliadores. Sendo assim, tal comparação evidencia a eficácia da metodologia escolhida (MARTIN et al., 2007; GLEERUP et al, 2016).

Alguns estudos foram desenvolvidos com a finalidade de comprovar a confiabilidade intraobservador e interobservador. O primeiro é quando todas as análises são feitas pela mesma pessoa e são feitos testes com mais de uma avaliação do próprio e único avaliador. Já o segundo, trata-se de quando as avaliações são feitas por mais de uma pessoa e estas notas são avaliadas comparando-se a confiabilidade entre os observadores (MARTIN et al., 2007).

Dentro deste contexto, foram realizados estudos que avaliaram a reprodutibilidade. Sendo assim, nosso estudo testou se um treinamento padronizado de 30 minutos melhoraria os índices de confiabilidade entre avaliadores e, reduziria a variabilidade dos resultados encontrados dentro do intervalo de confiança de 95%.

Portanto, selecionaram-se duzentos e seis estudantes que não possuíssem experiência prévia com equinos e não conhecessem a metodologia de avaliação das expressões faciais.

Antes de iniciar o treinamento, os alunos participantes foram solicitados a analisar 10 fotos de faces de cavalos. Em seguida, uma especialista em avaliação das expressões faciais forneceu uma sessão de treinamento presencial e incluiu descrições detalhadas e exemplos através de fotografias exemplificativas das características faciais dos equinos. Após o treinamento, os observadores refizeram as avaliações das mesmas fotografias, que foram aleatorizadas para minimizar a interferência da memória.

Os resultados demonstraram que o treinamento de 30 minutos foi insuficiente e que há necessidade de um treinamento mais abrangente para melhores resultados. Além disso, pressupõe-se que, uma melhor qualidade e uniformidade das fotos utilizadas e um menor número de observadores por treinador seriam pontos a serem considerados. Por fim, uma sessão prática, na qual, os observadores avaliariam os animais ao vivo, para uma melhor precisão da avaliação a campo também foi sugerida para melhora dos resultados (DAI et al., 2020).

Já em um estudo conduzido com cavalos submetidos a castração, foram feitas comparações interobservadores das avaliações feitas a partir de imagem estáticas. Os avaliadores possuíam experiência com cavalos e conhecimento em expressões faciais. O estudo demonstrou boa concordância entre avaliadores (DALLA COSTA et al., 2014).

Em uma pesquisa feita em animais com alterações odontológicas, realizou-se a comparação entre as avaliações via análise de fotos e vídeos dentre três observadores treinados para o uso de expressões faciais. Além disso, a avaliação facial também foi analisada por quatro médicos veterinários sem treinamento prévio, sendo que esses fizeram as avaliações de forma subjetiva e baseada em sua vivência. Desta forma, o estudo evidenciou boa concordância entre os avaliadores treinados, mas não entre os médicos veterinários não treinados. Não foi comparada a concordância entre avaliadores treinados e os avaliadores não treinados (CONEGLIAN et al., 2020).

1.5. Polímeros

Polímeros são macromoléculas resultantes da união de várias outras moléculas menores, comumente chamadas de monômeros, naturais ou artificiais. Dentre eles, os biodegradáveis, provenientes de fontes renováveis como, cana-de-açúcar, milho, batata e celulose, são eleitos os polímeros de escolha, devido ao baixo impacto ambiental (Pires et al., 2015).

O estudo conduzido por Carvalho et al., (2020) realizou a avaliação da biocompatibilidade e da biodegradação entre dois tipos de polímeros, um a base de poli(ácido lático) (PLA) puro e o outro, formado por uma blenda de PLA/poli(ϵ -caprolactona) (PCL), que foram implantados por via subcutânea em equinos. Os achados desta pesquisa demonstraram sucesso quanto à biocompatibilidade e à biodegradação desses materiais em equinos, sugerindo a aprovação de seu uso.

Desta forma, os polímeros apresentam-se como uma fonte sustentável e com grande crescimento nas ciências médicas, como já usado em suturas cirúrgicas feitas a partir de ácido 4 glicólico e ácido lático (Shalaby et al., 2003). Assim, poderemos substituir polímeros que causam danos ao ambiente, como os derivados do petróleo, uma vez que, está em alta a pauta sobre a preservação ambiental (Shah et al., 2008; Saini et al., 2016).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ética no uso de animais

Trata-se de um estudo oportunista, composto por um projeto guarda-chuva anterior, no qual, os animais foram submetidos à implantação subcutânea de polímeros. Todos os procedimentos realizados seguiram os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle em Experimentação Animal (CONCEA) (Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – UNESP, Jaboticabal, Brasil, Protocolo: 006548/17). Nosso estudo contribuiu para a diminuição do número de animais usados na experimentação animal baseado no conceito dos 4R's (Reduzir, Reutilizar, Reciclar e Reparar) (CARVALHO et al., 2020).

2.2. Preparação dos polímeros

Os polímeros foram desenvolvidos no Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil. Foi desenvolvido PLA puro com 100% de poli(ácido

lático) e a blenda PLA/PCL que foi a mistura de 71,43% em massa de poli(ácido láctico), 23,81% em massa de poli (ϵ -caprolactona) e 4,76% em massa de compatibilizante. Os implantes dos polímeros tinham dimensões de 1 cm² e 1mm de espessura (CARVALHO et al., 2020). Aqui é importante colocar a parte da esterilização.

2.3. Animais

Os equinos foram provenientes do rebanho didático do Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Exercício Equino (LAFEQ), do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Campus de Jaboticabal. Este plantel conta com seis animais adultos, três machos castrados e três fêmeas, sem raça definida. Os cavalos possuíam peso médio de 405 kg e idade entre 10 a 18 anos. Os animais foram mantidos em piquete com água, silagem e sal mineral *ad libitum*, e foram alimentados com 0,2% do peso vivo corporal em ração farelada, uma vez ao dia. Antes do início do experimento, os animais passaram por exames hematológicos, físicos e bioquímicos para comprovar o estado geral do animal. Além disso, os animais foram vacinados contra raiva (Rabmune, Cesa Saúde Animal Ltda, Brasil) toxóide tetânico, encefalomielite equina leste e oeste e influenza equina tipo A1 e A2 (Triequi, Ceva Saúde Animal Ltda, Brasil), e tratados com anti-helmíntico (Eqvalan Gold, Boehringer Ingelheim, Brasil), os quais foram repetidos a cada quatro meses.

2.4. Grupos experimentais

Os polímeros foram implantados na face lateral cervical esquerda e direita dos seis animais, totalizando 12 faces laterais do pescoço e compondo 3 grupos experimentais, como demonstrado na **Figura 1**. Cada grupo recebeu um implante, sendo que o grupo PLA (n=6) foi implantado com PLA puro na face lateral cervical direita do pescoço. O grupo PLA/PCL (n=6) recebeu a blenda PLA/PCL na face lateral cervical esquerda. O grupo implante negativo IN

(n=12), foi submetido somente à incisão cirúrgica, a qual foi realizada bilateralmente, de forma semelhante aos grupos implantados com polímeros (PLA ou PLA/PCL).

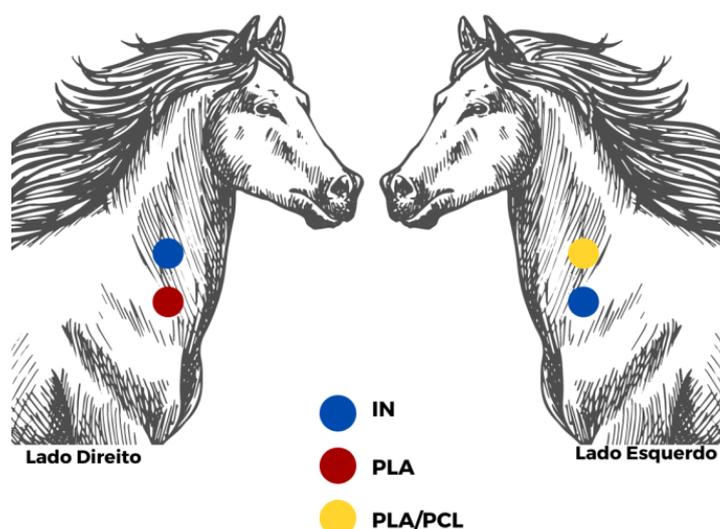


Figura 1 – Esquema demonstrativo dos locais de implantação. PLA: poli(ácido láctico) puro, PLA/PCL: blenda PLA/ poli(ε-caprolactona) (PCL); IN: implante negativo.

Os animais foram escolhidos aleatoriamente para implantar os materiais e obter o grupo IN, separados em duplas para cada grupo. Os procedimentos de implantação dos polímeros foram repetidos a cada 14 dias, até que as 4 implantações tivessem sido feitas em cada animal (PLA, PLA/PCL e IN em cada face cervical). Este intervalo entre implantes foi importante para não haver sobreposição de respostas sistêmicas inflamatórias decorrentes dos procedimentos cirúrgicos realizados para as implantações. Para que este intervalo fosse eficaz utilizou-se como guia o biomarcador de fibrinogênio plasmático (FP), uma proteína de fase aguda indicadora de inflamação. Desta forma, foi possível ter um parâmetro para realização dos procedimentos, feitos

quando as concentrações de fibrinogênio estivessem na faixa considerada normal, de acordo com as referências para os equinos (Carvalho et al. 2020).

2.5. Avaliação das expressões faciais

Para as filmagens os animais não foram sedados ou tranquilizados. Os animais foram filmados com uma câmera (XA10 A KIT, Canon), posicionada a uma distância de aproximadamente dois metros da face do animal. Os vídeos tiveram duração de cinco minutos e foram gravados sempre no mesmo local, uma hora antes, 24 e 48 horas após o procedimento.

Dos vídeos obtidos, foram extraídos dois videoclipes de trinta segundos, sendo que, para escolha destes, os seguintes critérios foram seguidos: mínimo de distúrbios externos, boa iluminação e, bom enquadramento do perfil do animal, para que as imagens para análise fossem precisas e claras. Em sequência, os videoclipes foram transferidos para o *software* ELAN (ELAN Linguistic Annotatos, version 4.9.4, USA) para análise e coleta dos comportamentos. Os 142 videoclipes foram avaliados no decorrer de 30 dias. Foram aplicadas pontuações para cada característica observada, sendo essas pontuações de 0, 1 e 2, na qual o escore mais alto (2) representa a máxima dor, e o escore mais baixo (0), a ausência de dor. As características faciais avaliadas foram: posicionamento das orelhas, contração do músculo orbicular, abertura dos olhos, dilatação das narinas, tensão do focinho e tensão dos músculos mastigatórios, adaptadas de acordo com Dalla Costa et al. (2014) e Glerup et al. (2015), conforme a **Tabela 1**. Com a soma de cada uma das pontuações atribuídas singularmente às características faciais obteve-se a somatória total das pontuações.

Tabela 1. Descrição das sete características faciais e seus escores adaptados de acordo com Dalla Costa et al. (2014) e Glerup et al. (2015).

Características Faciais	Pontuações	Descrição
Posição das Orelhas	0	Orelhas posicionadas para frente ou para o lado na maior parte do vídeo.
	1	Orelhas direcionadas para trás pelo

		menos uma vez ou em menos da metade do vídeo.
	2	Orelhas direcionadas para trás na maior parte do vídeo ou pressionadas contra o pescoço pelo menos uma vez.
Aperto dos Olhos	0	Músculo orbicular não contraído ao piscar durante o vídeo.
	1	Músculo orbicular moderadamente contraído ao piscar pelo menos uma vez durante o vídeo.
	2	Músculo orbicular intensamente contraído ao piscar pelo menos uma vez durante o vídeo.
Dilatação das Narinas	0	Narinas não dilatadas na maior parte do vídeo.
	1	Narinas moderadamente dilatadas na maior parte do vídeo.
	2	Narinas intensamente dilatadas na maior parte do vídeo.
Abertura dos Olhos	0	Olhos completamente abertos na maior parte do vídeo.
	1	Olhos parcialmente fechados na maior parte do vídeo
	2	Olhos completamente fechados na maior parte do vídeo.
Tensão do Focinho	0	Focinho sem tensão durante o vídeo.
	1	Focinho moderadamente tenso na maior parte do vídeo.
	2	Focinho intensamente tenso na maior parte do vídeo.
Tensão dos Músculos Mastigatórios	0	Músculos mastigatórios sem tensão durante o vídeo.
	1	Músculos mastigatórios moderadamente tensos na maior parte do vídeo.
	2	Músculos mastigatórios intensamente tensos na maior parte do vídeo.

2.6. Treinamento dos avaliadores

O estudo contou com seis avaliadores, sendo um deles experiente devido a um outro estudo (Trindade et al., 2020) e outros cinco inexperientes. Dentre os avaliadores inexperientes estavam: uma graduanda em Medicina Veterinária, uma graduanda em Zootecnia, uma pós-graduanda em Ciência Animal, uma pós-graduanda em Ciências Veterinárias e uma pós-graduanda

em Medicina Veterinária, e apesar dos cursos na área de Ciências Agrárias, nenhuma possuía experiência com avaliações de expressões faciais.

Os avaliadores inexperientes receberam treinamento através da introdução sobre as expressões faciais, assim como demonstrações de como deve-se avaliar cada característica facial. Este treinamento durou em torno de 4 horas, sendo ministrado de forma remota, pelo avaliador experiente, classificado por realização de estudo prévio sobre a linguagem corporal dos equinos submetidos ao trabalho de lida na bovinocultura (TRINDADE et al., 2020). Para as avaliações, os avaliadores tiveram acesso à tabela de descrição das sete características faciais analisadas (**Tabela 1**).

Os avaliadores podiam assistir quantas vezes quisessem o mesmo vídeo para avaliá-lo. Além disso, os avaliadores eram encobertos, pois não sabiam em qual grupo (IN, PLA e PLA/PCL) estavam os animais avaliados. A aleatorização desses vídeos foi feita pelo Excel.

2.7. Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram conduzidas por um cientista de dados no software R com o ambiente de desenvolvimento integrado RStudio (Version 4.0.2 (2020-06-22), RStudio, Inc.). As funções e os pacotes foram apresentados no formato “função{pacote}” e considerou-se α de 5% em todas as análises.

Para estimar a confiabilidade intra-observador das pontuações de cada expressão facial usou-se o coeficiente de kappa ponderado, sendo que as discordâncias foram ponderadas de acordo com a sua distância ao quadrado da concordância perfeita (“cohen.kappa{psych}”). Para a somatória total das expressões faciais foi usado o coeficiente de correlação intraclass (ICC) tipo “consistency” (“icc{irr}”). Ademais, estimou-se o intervalo de confiança (IC) de 95% dos coeficientes supracitados replicando-se 1.001 vezes os dados por boot strap (“function(‘data’,x){coefficient(‘data’[x,])[[6]]}{boot}”). Interpretação de kappa ponderado e ICC: muito boa 0,81 – 1,0; boa: 0,61 – 0,80; moderada:

0,41 – 0,60; razoável: 0,21 – 0,4; pobre < 0,2. Utilizou-se kw e ICC > 0,60 como critério para refinar a escala (ALTMAN, 1991).

3. RESULTADOS

A confiabilidade interobservador foi, no geral, de leve a moderada (**Tabela 2**). Isto acontece tanto na confiabilidade entre o avaliador experiente e inexperiente, como entre os avaliadores inexperientes.

As características faciais que apresentaram boa confiabilidade (0,61 a 0,80), foram: posicionamento das orelhas e abertura dos olhos (**Tabela 2**). Para o posicionamento das orelhas, o maior valor de confiabilidade ocorreu entre o Avaliadorl.1 e Avaliadorl.2 (**Figura 3**). Já para a característica abertura dos olhos, o melhor valor de confiabilidade foi entre o Avaliadorl.2 e Avaliadorl.5 (**Figura 7**).

A característica tensão dos músculos mastigatórios, demonstrada no **Figura 4**, apresentou confiabilidade razoável entre o Avaliadorl.2 e Avaliadorl.3. Em contrapartida, mostrou confiabilidade moderada entre o AvaliadorE e Avaliadorl.2. Ademais, as outras características observadas apresentaram confiabilidade piores, como dilatação das narinas, que apresentou confiabilidade moderada a pobre (**Figura 6**); tensão do focinho, que obteve confiabilidade pobre a razoável (**Figura 5**); e aperto dos olhos, que teve suas confiabilidades em maioria com valores pobres (**Figura 8**).

Apesar da variação das notas em cada uma das características, a confiabilidade da somatória total manteve graus razoáveis a moderados entre os avaliadores, o que pode indicar que nenhum dos avaliadores detectaram dor nos animais (**Figura 2**; **Gráfico 7**; **Figura 9**).



Figura 2. Imagem estática de um dos vídeos de 30s de um dos cavalos utilizados no experimento 24 h após a implantação de blenda PLA/PCL no espaço subcutâneo da face lateral cervical esquerda. A imagem mostra o cavalo orientando as orelhas para trás, dilatando a narina, tencionando o focinho e os músculos mastigatórios.

Tabela 2. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado, intraclasse (ICC) e seus intervalos de confiança de 95% feitos para avaliar a confiabilidade inter-observador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

Interpretação de kappa ponderado e ICC: muito boa 0,81 – 1,0; boa: 0,61 – 0,80; moderada: 0,41 – 0,60; razoável: 0,21 – 0,4; pobre < 0,2. Utilizou-se kw e ICC > 0,60 como critério para refinar a escala (ALTMAN, 1991).

	AvaliadorE	AvaliadorI.1	AvaliadorI.2	AvaliadorI.3	AvaliadorI.4	AvaliadorE	AvaliadorI.1	AvaliadorI.2	AvaliadorI.3	AvaliadorI.4
	Orelhas (Kappa ponderado)					Abertura dos olhos (Kappa ponderado)				
AvaliadorI.1	0,28 (0,4; 0,57)					0,56 (0,43; 0,67)				
AvaliadorI.2	0,36 (0,28; 0,56)	0,56 (0,52; 0,72)				0,61 (0,56; 0,75)	0,65 (0,52; 0,78)			
AvaliadorI.3	0,24 (0,33; 0,54)	0,71 (0,59; 0,8)	0,54 (0,52; 0,72)			0,37 (0,32; 0,58)	0,41 (0,28; 0,61)	0,51 (0,32; 0,71)		
AvaliadorI.4	0,28 (0,41; 0,63)	0,63 (0,54; 0,72)	0,49 (0,42; 0,65)	0,62 (0,51; 0,71)		0,41 (0,28; 0,53)	0,45 (0,37; 0,59)	0,36 (0,31; 0,53)	0,15 (0,06; 0,33)	
AvaliadorI.5	0,3 (0,46; 0,64)	0,64 (0,53; 0,75)	0,46 (0,39; 0,65)	0,66 (0,52; 0,76)	0,6 (0,48; 0,69)	0,64 (0,53; 0,76)	0,68 (0,55; 0,78)	0,7 (0,58; 0,83)	0,45 (0,37; 0,65)	0,5 (0,42; 0,65)
	Aperto dos olhos (Kappa ponderado)					Tensão dos Músculos Mastigatórios (Kappa ponderado)				
AvaliadorI.1	-0,02 (-0,06; -0,01)					0,55 (0,37; 0,7)				
AvaliadorI.2	0,12 (-0,02; 0,41)	0,1 (-0,03; 0,37)				0,44 (0,27; 0,59)	0,43 (0,24; 0,61)			
AvaliadorI.3	-0,03 (-0,08; -0,01)	0,16 (-0,04; 0,59)	0,44 (0,21; 0,62)			0,31 (0,15; 0,5)	0,44 (0,32; 0,62)	0,27 (0,11; 0,46)		
AvaliadorI.4	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)		0,3 (0,12; 0,48)	0,48 (0,34; 0,66)	0,41 (0,29; 0,59)	0,36 (0,19; 0,5)	
AvaliadorI.5	-0,01 (-0,04; 0)	-0,01 (-0,04; 0)	0,07 (0; 0,37)	0,1 (0; 0,57)	0 (0; 0)	0,38 (0,26; 0,58)	0,42 (0,3; 0,6)	0,34 (0,21; 0,54)	0,35 (0,19; 0,51)	0,47 (0,34; 0,6)
	Dilatação das Narinas (Kappa ponderado)					Tensão do Focinho (Kappa ponderado)				
AvaliadorI.1	0,27 (0,06; 0,45)					0,27 (0,09; 0,46)				
AvaliadorI.2	0,42 (0,24; 0,56)	0,22 (0,05; 0,37)				0,17 (0,1; 0,39)	0,18 (0,05; 0,41)			
AvaliadorI.3	0,11 (0,01; 0,3)	0,31 (0,05; 0,37)	0,25 (0,22; 0,51)			0,21 (0,05; 0,39)	0,3 (0,14; 0,5)	0,09 (0,02; 0,28)		
AvaliadorI.4	0,27 (0,09; 0,43)	0,37 (0,21; 0,51)	0,27 (0,09; 0,43)	0,24 (0,18; 0,47)		0,28 (0,12; 0,45)	0,24 (0,03; 0,42)	0,14 (0,02; 0,36)	0,31 (0,14; 0,49)	
AvaliadorI.5	0,3 (0,12; 0,46)	0,35 (0,2; 0,51)	0,3 (0,14; 0,44)	0,17 (0,08; 0,41)	0,2 (0,05; 0,38)	0,24 (0,09; 0,41)	0,28 (0,1; 0,47)	0,16 (0,06; 0,39)	0,15 (-0,01; 0,33)	0,36 (0,19; 0,52)
	Escala Total (ICC) (Kappa ponderado)									
AvaliadorI.1	0,54 (0,48; 0,7)									
AvaliadorI.2	0,55 (0,42; 0,64)	0,51 (0,46; 0,67)								
AvaliadorI.3	0,24 (0,27; 0,55)	0,51 (0,44; 0,67)	0,29 (0,38; 0,6)							

Avaliador1.4	0,3 (0,25; 0,56)	0,53 (0,4; 0,64)	0,36 (0,38; 0,63)	0,43 (0,31; 0,58)	
Avaliador1.5	0,38 (0,36; 0,61)	0,54 (0,43; 0,66)	0,32 (0,35; 0,58)	0,39 (0,28; 0,52)	0,46 (0,33; 0,58)

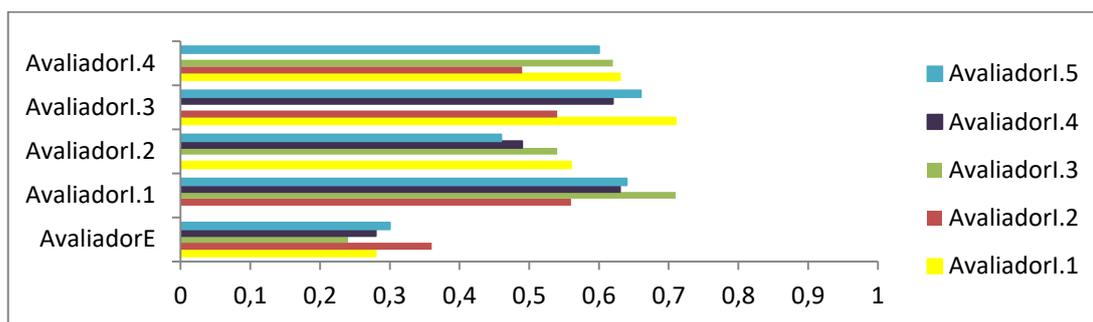


Figura 3. Posicionamento das Orelhas – Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

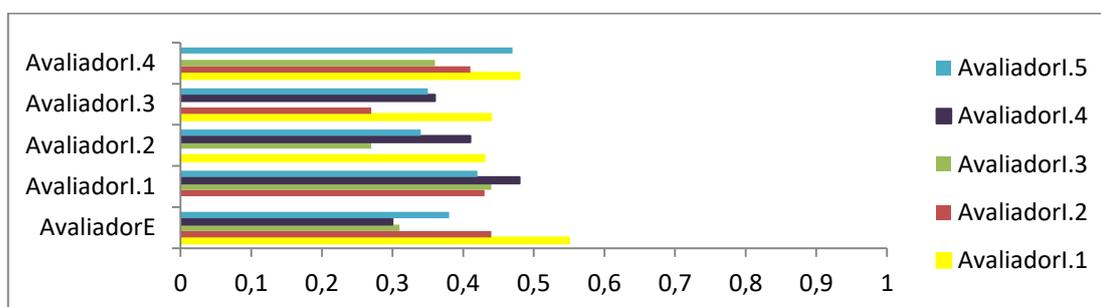


Figura 4. Tensão dos Músculos Mastigatórios - Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

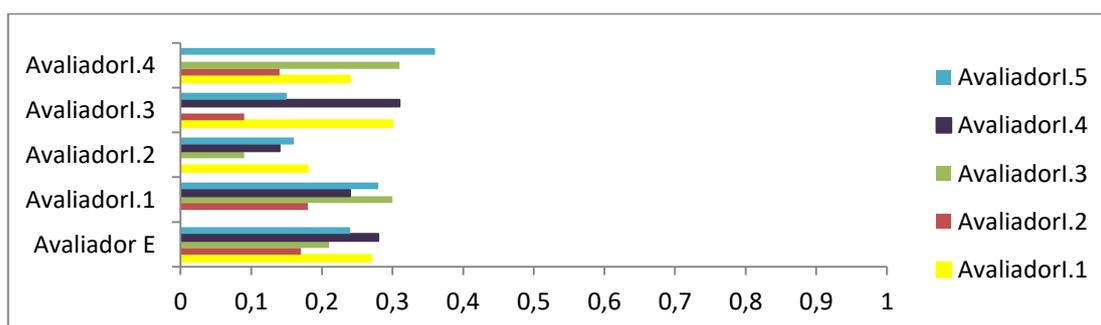


Figura 5. Tensão do Focinho - Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

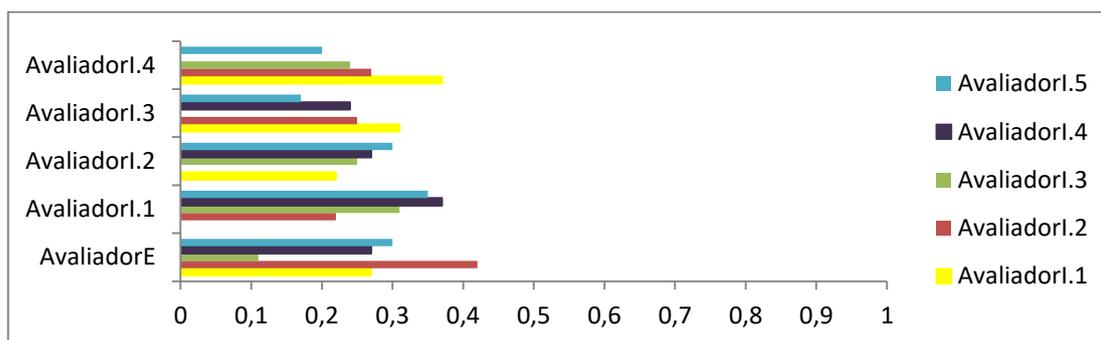


Figura 6. Dilatação da Narina - Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

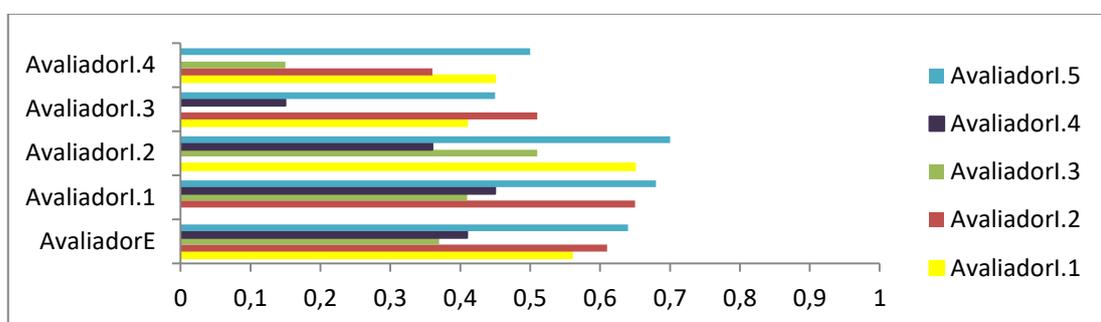


Figura 7. Abertura dos Olhos - Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

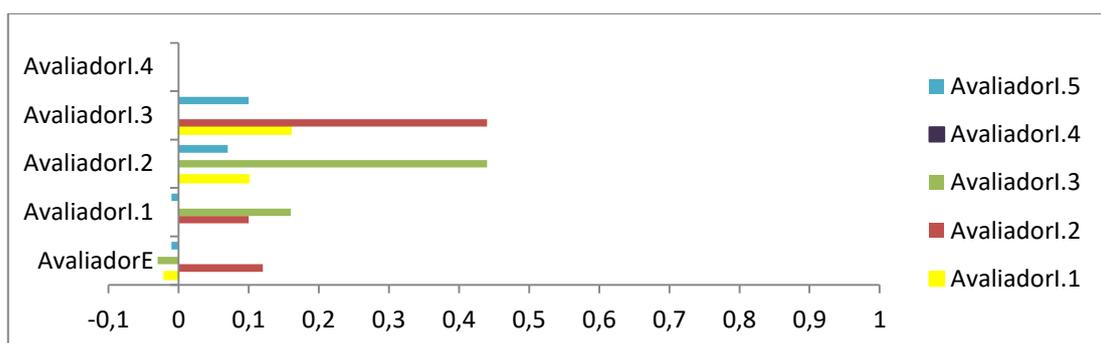


Figura 8. Aperto dos Olhos - Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

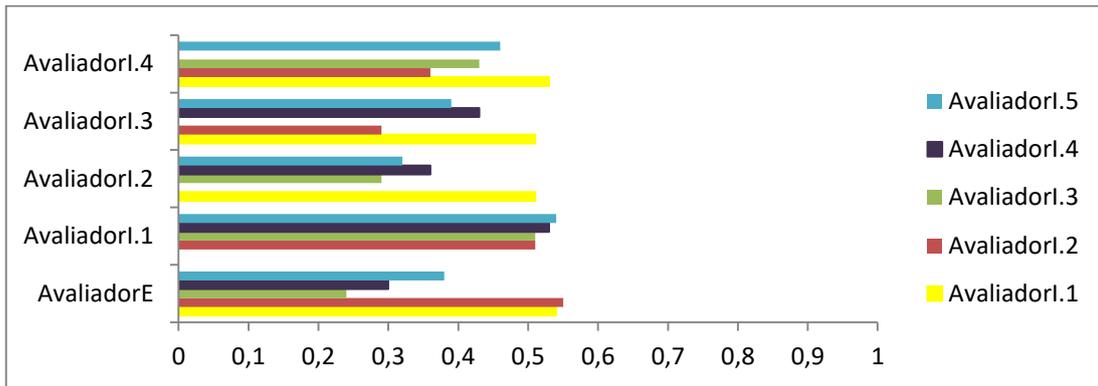


Figura 9. Escala Total (ICC) - Expressão facial analisada em equinos submetidos a implantação subcutânea de polímeros. Valores estimados do coeficiente Kappa ponderado e intraclasse (ICC) para avaliar a confiabilidade interobservador entre um avaliador experiente e cinco inexperientes.

4. DISCUSSÃO

Este estudo é pioneiro em avaliar a confiabilidade interobservador de expressões faciais em videoclipes de 30 segundos. Nossos achados elucidam a complexidade na pontuação de avaliações faciais em equinos, demonstrando a necessidade de um treinamento abrangente para avaliadores inexperientes. Esta afirmação pode ser consubstanciada pela confiabilidade de leve a moderada, contrariando nossa hipótese inicial. Com os valores obtidos, estas avaliações seriam inadequadas e ineficazes quando utilizadas por avaliadores inexperientes na expectativa de sensações dolorosas em rotinas práticas.

Em estudos feitos para comprovar a confiabilidade entre observadores foram feitas avaliações de fotografias, sendo que esses obtiveram alto grau confiabilidade entre observadores, com valores iguais a 0,992 (DAI et al., 2020), 0,90 (DALLA COSTA et al., 2014) e 0,86 (CONEGLIAN et al., 2020); enquanto nosso estudo com vídeos apresentou uma confiabilidade razoável a moderada, com valor máximo de 0,55. A avaliação por fotografia pode ter facilitado um resultado positivo para a confiabilidade entre os observadores, uma vez que, em imagens estáticas, não há mudança nos comportamentos e expressões dos animais, como pode ocorrer em vídeos. Desta forma, a foto pode ter sido capturada em um único instante que o animal demonstrou certo comportamento relacionado à dor e, na verdade, pode não ser o diagnóstico correto.

Seguindo a vertente das análises das expressões faciais por meio de vídeos, são necessárias imagens de qualidade e com posicionamento adequado da câmera filmadora em relação ao animal para que as avaliações sejam feitas sem dificuldades pelos observadores (DALLA COSTA et al., 2014; EVANGELISTA et al., 2019; CONEGLIAN et al., 2020;). Pensou-se nesta hipótese para a discrepância entre os resultados de todos os avaliadores obtidos aqui, pois havia alguns vídeos em que não foi possível avaliar determinadas características faciais, devido a sua baixa qualidade. Além disso, o posicionamento da câmera em relação ao animal, em alguns momentos também atrapalhou a avaliação, pois a angulação estava de forma que não era possível visualizar algumas expressões, sendo assim, essa problemática pode ter interferido nos resultados obtidos.

As avaliações das expressões faciais podem ser complexas e muito dinâmicas, pois, podem sofrer influências de estímulos ambientais e também dos estados emocionais do animal (Wathan et al., 2015; Hintze et al., 2016; Glerup et al., 2018). Os cavalos se comunicam tanto por vocalizações como por sinais corporais (Waran, 2001), com isso, entender os comportamentos e os sinais que os animais nos dão é de fundamental importância e, este entendimento é adquirido através estudos e pela convivência com os equinos. Desta forma, a experiência e sensibilidade do avaliador é muito importante para identificar as expressões de forma assertiva.

A dificuldade e a complexidade de avaliação de algumas características faciais também podem ser uma resposta para os resultados obtidos no presente estudo. A dilatação das narinas, por exemplo, que aqui é entendida como dor em pós-operatório, também pode ser visualizado em animais com hiperventilação após exercícios físicos em outros estudos (TRINDADE et al., 2020). Essa complexidade torna-se ainda maior se os avaliadores não apresentam experiências com cavalos e não entendem sobre sua etologia. Além disso, a descrição de cada comportamento pode não ter ficado tão clara a todos, criando dificuldade na padronização dos resultados.

Como encontrado no estudo de Dai et al., (2020), o treinamento de 30 minutos não foi capaz de preparar os avaliadores inexperientes para aplicar esta metodologia de avaliação. Com isso, podemos entender com nossos resultados, que, mesmo após um treinamento de quatro horas, os avaliadores inexperientes ainda não estariam aptos para avaliar a dor através das expressões faciais, sugerindo que são necessários mais treinamento e um período de experiência na área para a metodologia ser usada de forma eficaz.

Contudo, o estudo encontrou limitações em seu desenvolvimento, como por exemplo, ter apenas um avaliador experiente, o que não possibilitou a comparação dos dados com outro observador experiente para que fosse analisado o índice de concordância entre eles. Outro ponto a ser considerado é sobre a análise de confiabilidade intra-avaliador, feita apenas com o avaliador experiente. Além disso, houve uma dificuldade em padronizar o conhecimento de cada avaliador, mesmo que o Avaliadorl.1, Avaliadorl.2, Avaliadorl.3, Avaliadorl.4 e Avaliadorl.5 tenham sido

considerados inexperientes, foi difícil quantificar se a inexperiência deles era equivalente, mas supostamente não era.

Apesar das expressões faciais poderem ser uma excelente ferramenta para possibilitar o diagnóstico da dor em equinos, como recomendado por estudos prévios (DAI et al., 2020; DALLA COSTA et al., 2014; CONEGLIAN et al., 2020;), nossos resultados sugerem ser necessário um treinamento mais aprofundado dos avaliadores para realização de forma correta e eficaz. Além disso, checar também se as escalas são boas, pois não adianta treinar muito e o instrumento de avaliação não ser calibrado. Ademais, mostra-se necessário o aperfeiçoamento da qualidade das filmagens e posicionamento da câmera em relação aos animais para que se tenha imagens de alto padrão e aplicáveis em estudos para avaliação das expressões faciais, pois estudos já comprovaram que pelagem escura e iluminação insuficiente afetam a acurácia da avaliação (DALLA COSTA et al., 2014; EVANGELISTA et al., 2019). Além disso, um maior conhecimento sobre o comportamento de equinos e experiência na metodologia de avaliação é de extrema importância para que essa seja feita de forma assertiva.

5. CONCLUSÃO

O treinamento promoveu confiabilidade das análises de grau leve a moderado entre os observadores. Desta forma, evidencia-se a importância da realização de treinamentos para a avaliação das expressões faciais, para que, assim, não ocorram falhas na determinação da dor, e conseqüentemente, equívocos no tratamento do animal.

6. RESUMO

O bem-estar animal tem ganhado espaço mundialmente, sendo que este conceito amplo está presente em códigos éticos, tornando-se exigência entre consumidores, tutores e criadores e da sociedade. Com isso, foram feitas investigações que tentam identificar diferentes sensações às quais o animal estivesse exposto. As expressões faciais foram identificadas como ferramentas eficazes e confiáveis para caracterizar o estado emocional dos equinos em relação

às sensações dolorosas. Para manter a qualidade do diagnóstico quantitativo de dor é importante que a escolha dos métodos de avaliação seja baseada na confiabilidade intra e interavaliadores, o que acaba dependendo da experiência e habilidade de cada avaliador. Diante do exposto, objetivou-se a confiabilidade interobservador entre cinco avaliadores inexperientes e, também, comparando-os a um avaliador experiente, mediante avaliação de expressões faciais em equinos submetidos à implantação subcutânea de polímeros. Utilizaram-se seis equinos, que foram submetidos à implantação de polímeros na face lateral do pescoço, compondo 3 grupos experimentais. Cada grupo recebeu um implante, o grupo PLA (n=6) na face lateral cervical direita do pescoço, o grupo PLA/PCL (n=6) na face lateral cervical esquerda e o grupo implante negativo IN (n=12) que foi submetido somente à incisão cirúrgica, de forma semelhante aos grupos. Os vídeos foram gravados uma hora antes, 24 e 48 horas após o procedimento totalizando 142 videoclipes foram avaliados pelos observadores no decorrer de 30 dias. Os avaliadores inexperientes receberam treinamento via introdução sobre as expressões faciais, assim como demonstrações de como devem ser realizadas as avaliações de cada unidade de ação. Este treinamento durou em torno de 4 horas, sendo ministrado de forma remota, pelo avaliador experiente. Durante a avaliação aplicou-se pontuações para cada característica observada: posicionamento das orelhas, contração do músculo orbicular, abertura dos olhos, dilatação das narinas, tensão do focinho e tensão dos músculos mastigatórios. As pontuações eram dadas da seguinte forma: 0, 1 e 2, na qual, o escore mais alto (2) representa a máxima dor, e o escore mais baixo (0), a ausência de dor. Para estimar a confiabilidade intra-observador das pontuações de cada expressão facial aplicou-se kappa ponderado e, para a somatória total das expressões faciais, aplicou-se coeficiente de correlação intraclassa (ICC). A reprodutibilidade interobservador foi de leve à moderada. As características faciais que apresentaram boa confiabilidade, foram posicionamento das orelhas e abertura dos olhos. Nossos achados elucidam a complexidade na pontuação de avaliações faciais em equinos, demonstrando a necessidade de um treinamento abrangente para avaliadores inexperientes, para que, assim, não ocorram falhas na determinação da dor e, conseqüentemente, equívocos e negligência no tratamento da dor destes animais.

PALAVRAS-CHAVE: Equinos. Expressões faciais. Avaliador.

7. SUMMARY

Animal welfare has gained space worldwide, and this broad concept is present in ethical codes, becoming a requirement among consumers, guardians and breeders and even within society. Thus, investigations were carried out that tried to identify sensations to which the animal was exposed. Facial expressions were identified as an effective and reliable tool to characterize the emotional state of horses in relation to painful sensations. In order to maintain the quality of the quantitative pain diagnosis, it is important that the choice of evaluation methods is based on within-observer and between-observer reliability, which ends up depending on the experience and skill of each evaluator. Given the above, the aim of this study was to investigate the between-observer reliability of five inexperienced evaluators among themselves and also with an experienced evaluator in the evaluation of facial expressions in horses undergoing subcutaneous implantation of polymers. Six horses were used, which were submitted to implantation of polymers on the lateral side of the neck, comprising 3 experimental groups. Each group received an implant, the PLA group (n=6) on the right cervical lateral face of the neck, the PLA/PCL group (n=6) on the left cervical lateral face and the negative implant IN group (n=12) which was submitted only to surgical incision, similarly to the groups. The videos were recorded one hour before, 24 and 48 hours after the procedure, totaling 142 video clips, which were evaluated by the observers over the course of 30 days. Inexperienced evaluators received training containing an introduction to facial expressions, as well as demonstrations of how the evaluations of each facial feature are carried out. This training lasted around 4 hours, being given remotely by the experienced evaluator. During the evaluation, scores were applied for each characteristic observed: ear positioning, orbicularis muscle contraction, eye opening, nostril dilation, muzzle tension and masticatory muscle tension. Scores were given as follows: 0, 1 and 2, in which the highest score (2) represents the maximum pain, and the lowest score (0), the absence of pain. To estimate the intra-observer reliability of the scores for each facial expression, the weighted kappa coefficient was used and for the sum total of the facial expressions, the intraclass correlation coefficient (ICC) was used. between-observer reliability in general was mild to moderate, and the facial characteristics that showed good reliability were ear positioning and eye opening. Our findings elucidate the complexity in scoring facial evaluations in horses,

demonstrating the need for comprehensive training for inexperienced evaluators and for having experience with horses for the evaluation of facial expressions, so that there are no failures in the determination of pain, and consequently, mistakes in the treatment of the animal.

KEYWORDS: Horse. Facial expressions. Evaluator.

8. REFERENCIAS

ALTMAN, D. Some common problems in medical research. In: HALL, C. & (Ed.). . Practical statistics for medical research. London: Chapman and Hall, 1991. p. 404–408.

ALVES, J.E.O., et al. Mecanismos fisiopatológicos da nocicepção e bases da analgesia perioperatória em pequenos animais, 2017. Disponível em: <https://www.actabiomedica.com.br/index.php/acta/article/view/165/144>. Acesso em: 09 Jul. 2021

BROOM, D.M. Indicators of poor welfare. British Veterinary Journal, London, v.142, p.524-526, 1986.

BROOM, D. M. Animal welfare: concept and related issues – Review, [s. l.], 2004.

CARVALHO, J. R., et al. Biocompatibility and biodegradation of poly (lactic acid)(PLA) and an immiscible PLA/poly (ϵ -caprolactone)(PCL) blend compatibilized by poly (ϵ -caprolactone-btetrahydrofuran) implanted in horses. Polymer Journal, 1-15, 2020.

CONEGLIAN, Mariana Marcantonio *et al.* Use of the horse grimace scale to identify and quantify pain due to dental disorders in horses, [s. l.], 2020.

DAI, Francesca *et al.* Does Thirty-Minute Standardised Training Improve the Inter-Observer Reliability of the Horse Grimace Scale (HGS)? A Case Study, [s. l.], 30 abr. 2020.

DALLA COSTA, E. et al. Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. PLoS ONE, v. 9, n. 3, p. 1–10, 2014.

DARWIN C. A expressão das emoções no homem e nos animais. São Paulo: Companhia das Letras; 2009.

DE OLIVEIRA, A. R., GOZALO-MARCILLA, M., RINGER, S. K., SCHAUVLIEGE, S., FONSECA, M. W., ESTEVES TRINDADE, P. H., ... & Luna, S. P. L. Development and validation of the facial scale (FaceSed) to evaluate sedation in horses. 2021.

EKMAN P, FRIESEN WV. Facial Action Coding System: Investigator's Guide. California: Consulting Psychologists Press; 367 p, 1978.

EVANGELISTA, M. C. et al. Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale. *Scientific Reports*, v. 9, p. 1–11, 2019.

GUEDES, A. Pain Management in Horses. *Vet Clin Equine*, v. 33, n. 1, p. 181–211, 2017.

GLEERUP KB, FORKMAN B, LINDEGAARD C, ANDERSEN PH. An equine pain face. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 42:103-114, 2015.

GLEERUP, K. B., LINDEGAARD, C. Recognition and quantification of pain in horses: a tutorial review. *Equine Vet. Educ.* 28, 47-57; 10.1111/eve.12383, 2016.

GLEERUP, K. B., ANDERSEN, P. H, WATHAN, J. What information might be in the facial expression of ridden horses? Adaptation of behavioral research methodologies in a new field. *J. Vet. Behav.* 23, 101-103; 10.1016/j.jveb.2017.12.002, 2018.

HINTZE, S., SMITH, S., PATT, A., BACHMANN, I., WÜRBEL, H. Are eyes a mirror of the soul? What eye wrinkles reveal about a horse's emotional state. *PLoS One*. 11, e0164017; 10.1371/journal.pone.0164017, 2016.

LANSADE, L., NOWAK, R., LAINÉ, A. L., LETERRIER, C., BONNEAU, C., PARIAS, C., & BERTIN, A. Facial expression and oxytocin as possible markers of positive emotions in horses. *Scientific reports*, 8(1), 1-11, 2018.

MARTIN, P.; BATESON, P. *Measuring Behavior: An Introductory Guide*, 3rd ed.; Cambridge University Press: Cambridge, MA, EUA, 2007.

OIE (World Organization for Animal Health). Chapter 7.1: Introduction to the recommendations for animal welfare. In: *Terrestrial Animal Health Code, Volume 1*. Disponível em: http://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_aw_introduction.htm .

PIRES ALR, BIERHALZ ACK, MORAES AM. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. *Química Nova* 38:957-971, 2015.

RAJA, S. N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020.

SAINI P, ARORA M, RAVI KUMAR MNV. Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 107:47-59, 2016.

SHAH AA, HASAN F, HAMEED A, AHMED S. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnology Advances* 26:246-265, 2008.

SHALABY SW, BURG KJL (Eds.) *Absorbable and biodegradable polymers*. Boca Raton: CRC press. 304p, 2003.

SINGER, P. *Animal liberation*. New York: HarperCollins, 324 p, 2002.

SILVA, N. E. O. F. *et al.* Validation of the Unesp-Botucatu composite scale to assess acute postoperative abdominal pain in sheep (USAPS). *PLoS One*. 15, e0239622; 10.1371/journal.pone.0239622, 2020.

STEAGALL, P.V. *et al.* Acute Pain in Cats: Recent Advances in Clinical Assessment. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 21 (1): 25–34. <https://doi.org/10.1177/1098612X18808103>, 2019.

TRINDADE, P. H. E., HARTMANN, E., KEELING, L. J., ANDERSEN, P. H., FERRAZ, G. D. C., & PARANHOS DA COSTA, M. J. R. . Effect of work on body language of ranch horses in Brazil. *PloS one*, 15(1), e0228130, 2020.

WARAN NK. The social behaviour of horses. In: Keeling LJ, Gonyou HW (EE.). *Social behaviour in farm animals*. Wallingford: CABI Publishing; p. 247-74, 2001.

WARDEN, V.; HURLEY, A.; VOLICER, L. Pain Assessment in Advanced Dementia Scale (PAINAD). *J Am Med Dir Assoc*, v. 4, n. 1, p. 9–15, 2003.

WATHAN J, BURROWS AM, WALLER BM, MCCOMB K. EquiFACS: the equine facial action coding system. *PLoS One*. 10(9): e013781, 2015.