

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**DESENVOLVIMENTO, VALIDAÇÃO E CONFIABILIDADE DE UMA ESCALA
DE SEDAÇÃO GERAL E FACIAL EM EQUINOS**

ALICE RODRIGUES DE OLIVEIRA

**Botucatu, São Paulo
Junho de 2020**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**DESENVOLVIMENTO, VALIDAÇÃO E CONFIABILIDADE DE UMA ESCALA
DE SEDAÇÃO GERAL E FACIAL EM EQUINOS**

ALICE RODRIGUES DE OLIVEIRA

Tese de doutorado apresentada ao
programa de pós-graduação em
Biotecnologia Animal para obtenção do
título de Doutora em Biotecnologia
Animal, subárea de anestesiologia
veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Stelio Pacca
Loureiro Luna

Botucatu, São Paulo

Junho de 2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Oliveira, Alice Rodrigues de.

Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma
escala de sedação em equinos / Alice Rodrigues de
Oliveira. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Stelio Pacca Loureiro Luna
Capes: 50501011

1. Equino. 2. Cavalos. 3. Metadona. 4. Sedativos.
5. Escalas. 6. Receptores Adrenérgicos alfa 2.

Palavras-chave: Cavalos; Detomidina; Escalas.

Comissão Examinadora

Nome do autor: Alice Rodrigues de Oliveira. Botucatu, 15 de junho de 2020.

Prof. Titular Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ - UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe

Membro

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ - UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ - UNESP - Botucatu

Prof. Dra. Flávia Augusta de Oliveira

Membro

Departamento de Anestesiologia

UFT - Araguaiana

Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro

Membro

Departamento de Medicina Veterinária

FZEA - USP - Pirassununga

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Silvana e Darwin e meus irmãos Pedro e Laura (*in memorian*) por todo amor, carinho e suporte. Obrigada por me darem força e serem meu porto seguro.

Ao meu orientador, pela disposição em me receber nesta instituição, por compartilhar seus conhecimentos, pela amizade e por todas oportunidades a mim ofertadas durante esses três anos.

Aos meus amigos de Botucatu que foram uma segunda família por três anos. A jornada do doutorado foi mais leve com vocês. Obrigada pela parceria em cada aula prática, em cada curso organizado e em cada projeto desenvolvido. Vocês tornaram meus dias mais felizes.

Aos professores e médicos veterinários desta instituição, meus sinceros agradecimentos pelos ensinamentos diários, paciência e dedicação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo número 2017/16208-0 e projeto temático processo número 2017/12815-0.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Lista de Abreviaturas

DL: detomidina em dose baixa
DH: detomidina em dose alta
DLM: detomidina em dose baixa com metadona
DHM: detomidina em dose alta com metadona
ACPL: acepromazina em dose baixa
ACPH: acepromazina em dose alta
ACPL + ACPH: tranquilização
DH + DHM: detomidina alta
DL + DLM: detomidina baixa
EquiSed: escala numérica composta de sedação em equinos
FaceSed: escala numérica facial de sedação em equinos
ACAC: altura da cabeça acima do chão
ACAC%: altura da cabeça acima do chão em porcentagem
EAV: escala analógica visual
EDS: escala descritiva simples
EN: escala numérica
ENC: escala numérica composta
ECVAA: Colégio Europeu de Anestesiologia e Analgesia Veterinária
A1: avaliador 1
A2: avaliador 2
A3: avaliador 2
A4: avaliador 4
 K_w : coeficiente kappa ponderado
IC: intervalo de confiança
ICC: coeficiente de correlação intraclass

SUMÁRIO

	Páginas
CAPÍTULO 1	1
1. Introdução e Justificativa.....	Error! Bookmark not defined.
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. Avaliação da sedação em equinos	4
2.1.1. <i>Intensidade da sedação</i>	4
2.1.2. <i>Qualidade da sedação</i>	5
2.2. Métodos de pontuação	6
2.3. Validação de escalas	7
3. Referências.....	10
CAPÍTULO 2	17
CAPÍTULO 3	66

Resumo

OLIVEIRA, Alice Rodrigues de. **Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma escala de sedação geral e facial em equinos**, Orientador: Stelio Pacca Loureiro Luna, 2020. 114f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2020.

A sedação em equinos é alvo de estudos que avaliam os efeitos sedativos de fármacos em situações experimentais e clínicas. Há diferentes descrições para estimar sedação em equinos, porém sem padronização e validação o que dificulta a reprodutibilidade. Objetivou-se desenvolver e validar uma Escala numérica composta de sedação em equinos (EquiSed) e Escala numérica facial de sedação em equinos (FaceSed). Sete animais foram submetidos à seis diferentes protocolos: Detomidina em dose baixa isolada (DL, 2,5 µg/kg + 6,25 µg/kg/h, por 120 min) ou associada à metadona (DLM, 0,2 mg/kg de metadona + metadona 0,05 mg/kg/h, por 120 min), detomidina em dose alta isolada (DH, 5 µg/kg + 12,5 µg/kg/h, por 120 min) ou associada à metadona (DHM, 0,2 mg/kg de metadona + metadona 0,05 mg/kg/h, por 120 min), bolus de acepromazina em dose baixa (ACPL 0,02 mg/kg) e dose alta (ACPH 0,09 mg/kg). Quando submetidos à infusão contínua, os animais foram avaliados por 240 minutos e quando submetidos a bolus, avaliados por 120 minutos. Os cavalos foram fotografados e filmados nos momentos basal, pico de sedação, sedação intermediária e recuperação da sedação. Tirou-se a fotografia da face dos cavalos e na sequência foram filmados enquanto aplicavam-se os estímulos auditivo, visual, pressórico mediante o toque nas orelhas, nos membros torácico e pélvico e estabilidade postural. Os vídeos e fotos foram aleatorizados e avaliados duas vezes por quatro avaliadores com intervalo de um mês. Comprovou-se a responsividade da somatória de ambas as escalas ao longo do tempo ($p < 0,05$). Na EquiSed, todos os itens entraram no critério aceitável (0,3 - 0,7) na correlação item-total e a escala apresentou boa consistência interna (α de Cronbach = 0,73). A correlação de Spearman para validade critério concorrente da EquiSed *versus* a escala analógica visual (EAV), escala numérica (EN) e a escala descritiva simples (EDS) foram altas ($> 0,70$) em

animais tratados com detomidina em dose alta. Já com a altura da cabeça acima do chão (ACAC) foi média (-0,69). Confiabilidades intraobservadores boas e muito boas da somatória da EquiSed foram identificadas (0,89 – 0,91) e as concordâncias interobservadores em matriz dos avaliadores variaram de 0,53 a 0,86. A sensibilidade foi >78 para estímulo toque nas orelhas, auditivo, visual e instabilidade postural. Detectou-se especificidade para pressão nos membros (>74). A FaceSed apresentou alta consistência interna (α de Cronbach = 0,83) e correlação item-total entre 0,60 – 0,73. A correlação de Spearman da somatória da FaceSed *versus* a EN foram altas (>0,85) e a ACAC% foram médias (-0,38 a -0,56). A correlação intraobservadores variou de 0,82 a 0,91 e a interobservadores 0,64 a 0,84. A sensibilidade foi >82 e a especificidade variou de 44 a 82. Conclui-se que a EquiSed e a FaceSed possuem validade de critério, conteúdo e construto, são confiáveis e possuem boa consistência interna.

Palavras-chave: Cavalos, detomidina, escalas, maleato de acepromazina metadona, receptor adrenérgico α -2 agonista.

Abstract

OLIVEIRA, Alice Rodrigues de. **Development, validation and reliability of a general and facial sedation scale in horses**. Supervisor: Stelio Pacca Loureiro Luna, 2020. 114p. Thesis (PhD in Animal Biotechnology). Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2020.

Sedation in horses is the target of studies evaluating sedative effects of drugs in experimental and clinical situations. There are different descriptions to estimate sedation in horses, but without standardization and validation, which makes reproducibility difficult. The objective was to validate an Equine composite numerical sedation scale (EquiSed) and Equine numerical facial sedation scale (FaceSed). Seven animals were submitted to a study with six different protocols: Detomidine in low dose isolated (DL, 2,5 µg/kg + 6,25 µg/kg/h for 120 min) or associated with methadone (DLM, 0,2 mg/kg of methadone + 0,05 mg/kg/h for 120 min), detomidine in high dose isolated (DH, 5 µg/kg + 12,5 µg/kg/h for 120 min) or associated with methadone (DHM, 0,2 mg/kg de methadone + 0,05mg/kg/h for 120 min), acepromazine in bolus in low dose (ACPL 0,02 mg/kg) and high dose (ACPH 0,09 mg/kg). When submitted to continuous rate infusion, the animals were evaluated for 240 minutes and when submitted to bolus, evaluated for 120 minutes. A photograph was taken of the horse's faces and was subsequently they were filmed while the auditory, visual and pressure stimuli were applied by touching the ears, the thoracic and pelvic limbs and postural instability. The videos and photos were randomized and evaluated twice by four evaluators with an interval of one month. The responsiveness of both scales was verified over time ($p < 0,05$). In EquiSed, all the items were acceptable (0,3 – 0,7) in the item-total correlation and the scale showed good internal consistency (Cronbach's $\alpha = 0,73$). Spearman's correlation for concurrent criterion validation of the sum of EquiSed *versus* visual analogue scale (VAS), the numerical rating scale (NRS) and simple descriptive scale (SDS) was high ($> 0,70$) in animals treated with detomidina at high dose. The head height above the ground (HHAG) presented average results (-0,69). Good and very good reliability of the sum of EquiSed were identified for intraobserver (0,89 – 0,91) and interobserver

agreement matrix was 0,53 – 0,86. The sensitivity was >78 for touch the ears, auditory, visual and postural instability. Specificity for the pressure on the limbs (>74) was detected. FaceSed showed high internal consistency (Cronbach's α = 0,83) and item-total correlation between 0,60 – 0,73. The Spearman correlation of the sum of FaceSed *versus* NRS was high (>0,85) and ACAC% was average (-0,38 to -0,56). The intraobserver correlation range between 0,82 to 0,91 and interobservers 0,64 to 0,84. Sensitivity was >84 to touch the ears, auditory and visual. for all items and specificity ranged from 44 to 82. The conclusions is that EquiSed and FaceSed have validity of criterion, content and construct, reliable and with good internal consistency.

Keywords: Acepromazine maleate, detomidine, horses, methadone, scales, α -2 agonist adrenergic receptor.

CAPÍTULO 1

1. Introdução e Justificativa

A sedação em equinos para procedimentos clínicos com o animal em pé surgiu como alternativa à anestesia geral (POTTER et al., 2016) que, apesar do avanço da anestesia relacionados à monitoração e suporte vascular, os cavalos ainda não são isentos de riscos inerentes à recuperação pós-operatória, o que desencadeia a maior mortalidade peri-anestésica entre todas as espécies domésticas (JOHNSTON et al., 2002; DUGDALE, TAYLOR, 2016).

Os recentes avanços em cirurgias em equinos em posição quadrupedal desafiou o desenvolvimento de diferentes protocolos de sedação, envolvendo a administração de sedativos e analgésicos em infusões contínuas, com o objetivo de promover baixa ataxia e ausência de resposta a estímulos (GOZALO-MARCILLA et al., 2017, 2019; MARLY et al., 2014; MEDEIROS et al., 2017; SCHAUVLIEGE et al., 2019). Porém, para avaliar a aplicabilidade dos protocolos de sedação, diferentes escalas de sedação foram desenvolvidas com diferentes formas de pontuação e estímulos, com intuito de avaliar a intensidade e qualidade de sedação (SCHAUVLIEGE et al., 2019). Observa-se também que algumas das escalas optaram por misturar características de sedação geral e facial, como posição de olhos e orelhas para avaliação da sedação (MARLY et al., 2014).

As inúmeras escalas desenvolvidas para avaliação de sedação em equinos ainda não foram testadas quanto à sua validade, responsividade e confiabilidade. Sem a validação, a reprodutibilidade e comparação dos resultados científicos podem ter interpretações equivocadas entre si. Por isso estes testes avaliam propriedades psicométricas que garantem a acurácia de mensuração do que se avalia (BRONDANI et al., 2012) e são fundamentais para fidedignidade dos estudos.

A validade de uma escala reflete o grau com que ela mensura o que se propõe a mensurar (BINNEKADE et al., 2006) e, para tal, deve-se avaliar o conteúdo, o critério e o construto (CRELLIN et al., 2007). A validade do conteúdo examina se as perguntas individuais da escala se adequam ao conteúdo que se propõe a avaliar e não a outros fatores, como dor ou cansaço. Para tal, analisa-se cada item, em relevante ou não, por um comitê de especialistas (BULLOCH; TENENBEIN, 2002). A validade de construto avalia se os dados da escala estão em conformidade com a relação específica de interesse (BULLOCH;

TENENBEIN, 2002), ou seja, se os escores aumentam ou diminuem conforme ocorre a mudança do grau de sedação, relacionada à responsividade da escala. Já a validade de critério define o quanto a escala em questão se correlaciona a outra escala considerada padrão-ouro e/ou a um avaliador considerado padrão-ouro. Para avaliar se os itens estão agrupadas de modo em que há correlação entre as perguntas dentro dos grupos, aplica-se a análise da consistência interna, no sentido de avaliar importância específica de cada item no contexto geral da escala (MORTON et al., 2005; BELSHAW et al., 2015).

A confiabilidade avalia a capacidade de reprodutibilidade da escala (AREVALO et al., 2012), ou seja a concordância dos escores entre diferentes observadores (interobservadores), por meio do uso dos mesmos instrumentos de medição ao mesmo tempo (BINNEKADE et al., 2006). A confiabilidade intraobservadores avalia a capacidade da escala quanto à sua repetibilidade, comparando os escores atribuídos por um observador com ele mesmo em momentos diferentes (BELSHAW et al., 2015; MEROLA, MILLS, 2016).

Para avaliar tais atributos, é ideal utilizar fármacos da classe dos α -2 agonistas, que são amplamente empregados na espécie equina e que desencadeiam uma sedação evidente e dose dependente (CLARKE; ENGLAND; GOOSSENS, 1991), podendo ser intensificada com a adição de opioide (MARLY et al., 2014). Como comparativo à evidente sedação gerada pelos α -2 agonistas e opioides, a utilização de um tranquilizante em baixa dose como a acepromazina, que produz mudanças comportamentais fazendo com que o estado de alerta e coordenação do equino estejam reduzidas (BALLARD et al., 1982), auxiliaria na distinção entre os escores de sedação, conferindo maior capacidade de detecção do efeito sedativo e confiabilidade das escalas desenvolvidas.

Desta forma como justificativa do estudo, o desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma escala de sedação geral e facial em equinos, possibilitará comparar os efeitos sedativos de diferentes fármacos utilizados em situações experimentais e clínicas e diferenciar características faciais de sedação, de forma padronizada e reprodutível, o que servirá de base para inúmeros estudos. A hipótese deste estudo é que diante do modelo experimental utilizado, poder-se-á desenvolver uma escala de sedação geral e facial com validade de conteúdo, construto, critério, confiabilidade e responsividade. Portanto o objetivo

deste estudo foi validar e testar a confiabilidade da escala numérica composta de sedação geral quanto às respostas obtidas aos estímulos aplicados e da escala numérica facial em cavalos submetidos a diferentes protocolos de sedação.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Avaliação da sedação em equinos

As escalas de sedação desenvolvidas na literatura se dividem entre avaliar a intensidade e/ou qualidade de sedação. Essas avaliações são feitas por diferentes métodos de mensuração no que concerne à tipos de escalas e estímulos. A intensidade da sedação foi majoritariamente representados pela altura da cabeça em relação ao chão e, enquanto que a qualidade da sedação foi descrita com diferentes escalas, aplicando-se diferentes estímulos: mecânicos, auditivos e visuais (BRYANT, ENGLAND, CLARKE, 1991; CLARKE, ENGLAND, GOOSSENS, 1991; ENGLAND, CLARKE, GOOSSENS, 1992).

2.1.1. Intensidade da sedação

A altura da cabeça acima do chão (ACAC) em equinos avalia a intensidade da sedação e é considerado o método objetivo, mensurado em centímetros ou porcentagem em relação à altura basal registrada, sem que o animal tenha recebido qualquer estímulo prévio (BRYANT; ENGLAND; CLARKE, 1991; CLARKE; ENGLAND; GOOSSENS, 1991; RINGER et al., 2013). Apesar de ser o método mais próximo de ser padronizado, apresenta algumas variações entre os artigos quanto à definição do ponto da cabeça selecionado para a mensuração, podendo ter como referência a altura das narinas (RINGER et al., 2012a) ou a base do queixo (COSTA et al., 2015; L'AMI et al., 2013), o que pode gerar dúvidas no que concerne a sua repetibilidade.

A altura da cabeça acima do chão foi descrita em técnica de porcentagem (RINGER et al., 2012a), na qual a altura das narinas do cavalo mais frequentemente observada durante 1 hora antes da sedação foi considerada como 100% e esta altura até o chão foi dividida em 10 partes iguais, em uma escala fixada na parede. Considerou-se como sedação suficiente quando a

posição das narinas estivessem iguais ou menores que 50% em relação à altura inicial. Esta adaptação do método de avaliação inicial da ACAC foi utilizada em outros trabalhos (RINGER et al., 2012b; RINGER et al., 2013; MARLY et al., 2014; RANHEIM et al., 2015).

2.1.2. Qualidade da sedação

Alguns autores avaliaram estímulos auditivos e visuais como uma única resposta (audiovisuais) (ENGLAND; CLARKE; GOOSSENS, 1992; LOVE et al., 2011), outros as separaram e avaliaram apenas os estímulos mecânicos e auditivos (MAMA et al., 2009) ou ainda avaliaram estímulos mecânicos, auditivos e visuais separadamente (RINGER et al., 2013), dificultando a comparação entre os estudos.

Os estímulos aplicados para avaliar essas respostas também diferem entre si, como no caso do estímulo mecânico, que pode ser descrito como tocar a banda coronária do casco, tocar dentro das orelhas com um objeto de ponta romba (BRYANT, ENGLAND, CLARKE, 1991; CLARKE, ENGLAND, GOOSSENS, 1991; ENGLAND, CLARKE, GOOSSENS, 1992) ou utilizar algômetro de pressão (MAMA et al., 2009). A utilização de instrumentos de como os algômetros de pressão facilitam a padronização do toque mecânico ao mesmo tempo que dificultam sua aplicabilidade nos estudos com acesso restrito ao aparelho.

Os estímulos auditivos consistem em bater de palma produzindo um som alto atrás (BRYANT, ENGLAND, CLARKE, 1991; CLARKE, ENGLAND, GOOSSENS, 1991; ENGLAND, CLARKE, GOOSSENS, 1992) ou na frente do animal (LOVE et al., 2011). Outros autores descreveram som metálico de uma colher raspando em uma lata (RINGER et al., 2013), usar uma corneta ou um galão de plástico com pedras (MAMA et al., 2009; GRIMSRUD et al., 2012) ou chamar o cavalo, se aproximar, tocar o pescoço e ligar a máquina de tosa (L'AMI et al., 2013). Observa-se mais uma vez que não há padrão de intensidade sonora, nem mesmo dentro de cada estudo, o que dificulta a reprodutibilidade.

Para estímulo visual foram registrados o ato de abanar uma toalha ou abrir um guarda-chuva na frente da cabeça do animal (BRYANT, ENGLAND, CLARKE, 1991; CLARKE, ENGLAND, GOOSSENS, 1991; ENGLAND, CLARKE, GOOSSENS, 1992; RINGER et al., 2013).

A ataxia também foi avaliada de duas formas diferentes, com o animal parado, para aferir a estabilidade postural, e em movimento, referida como a própria ataxia (RINGER et al., 2013). A movimentação em questão foi avaliada quando o animal andava em círculos (RANHEIM et al., 2015) ou ao passar sobre obstáculos (MAMA et al., 2009; GRIMSRUD et al., 2012). Os métodos de pontuação descritos para avaliar a ataxia foram escalas descritivas simples, utilizando pontuações de 0 a 3 (BRYANT; ENGLAND; CLARKE, 1991; TAYLOR et al., 2014), bem como a escala analógica visual também foi uma opção para avaliar ataxia (RINGER et al., 2012a, 2012b).

2.2. Métodos de pontuação

Os métodos de pontuação descritos na literatura são: Escala Analógica Visual (EAV), Escala Descritiva Simples (EDS), a Escala Numérica (EN) e a Escala Numérica (EN) composta.

A EAV é representada por uma linha reta de 10 cm de comprimento que indica a continuidade do parâmetro avaliado, onde suas extremidades indicam o mínimo e o máximo do intervalo considerado (MCDOWELL, 2006) e é utilizada com grande frequência (LOVE; MURRELL; WHAY, 2011; POTTER et al., 2016; RINGER et al., 2012a, 2012b), Recomenda-se que esses intervalos sejam rotulados de forma curta e de fácil compreensão. Para garantir a consistência da pontuação, deve-se estabelecer regras quanto ao ponto exato da linha para o zero e para o 10 (dentro ou fora da linha). Essas escalas se propõem a medir intensidade ou qualidade de parâmetros subjetivos, como a dor ou a sedação (WALTZ; STRICKLAND; LENZ, 2010).

As EAV tendem a se correlacionar positivamente com a (EN) unidimensional pontuada de 0 a 10 (WALTZ; STRICKLAND; LENZ, 2010) devido às suas características classificatórias semelhantes, em que o avaliador escolhe um valor entre 0 e 10 (MCDOWELL, 2006).

A EN composta apresenta descrições para diferentes profundidades de sedação dentro de cada item proposto, em que o avaliador deve atribuir uma das descrições para de cada item (SCHAUVLIEGE et al., 2019). Essas descrições são interpretadas individualmente ou como somatória da escala. Esses métodos de avaliação são considerados subjetivos e podem levar a diferentes

interpretações por diferentes avaliadores, se não estiverem apropriadamente validados.

As descrições de cada escore dentro dos itens da escala que avaliam a sedação, receberam diversas adaptações entre os estudos (RINGER et al., 2012a; RINGER et al., 2013), mas de forma geral são avaliados por meio de um escore de impressão geral da sedação, pela ataxia e por estímulos mecânicos, auditivos e visuais.

A EDS descreve alternativas de profundidade e/ou qualidade de sedação em que o avaliador deve escolher apenas uma opção que considere a mais adequada (SCHAUVLIEGE et al., 2019), de forma semelhante à EN composta, mas sem detalhes nas descrições e avaliados individualmente.

2.3. Validação de escalas

A prática clínica e experimental na área médica possui os atributos centrais de mensurar algo, que é a base para diagnósticos, avaliação de resultados e intervenções médicas. Algumas dessas formas de mensuração possuem características psicométricas, que tem uma metodologia de análise baseada em análises psicológicas e comportamentais (VET; et al., 2011).

Muitos instrumentos são desenvolvidos para avaliação dessas propriedades psicométricas, porém foram validados de forma insuficiente ou não validados (VET; et al., 2011) e, portanto, podem não medir com acurácia o que se propuseram a mensurar (BINNEKADE et al., 2006; BRONDANI et al., 2013). Diferentes testes são utilizados para a validação das escalas, que se divide em validade de conteúdo, critério e construto, confiabilidade interobservadores e intraobservadores, consistência interna, sensibilidade e especificidade.

A validade de conteúdo, também chamada de relevância de conteúdo ou de cobertura do conteúdo, tem a função de garantir que a escala possua itens adequados que abranjam os domínios do que é investigado. (STREINER; NORMAN; CAIRNEY, 2015). Para isso, esta etapa é avaliada por especialistas da área, que entendem a relevância dos itens e atribuem suas opiniões sobre cada um deles. A validade de conteúdo se relaciona com a validade de construto, pois tem a intenção de garantir que os itens da escala representem o construto (HAYNES S, RICHARD D, 1995).

A validade de critério consiste em correlacionar a escala proposta com outras escalas delineadas para o mesmo objetivo. Para esta validação são utilizadas a validação concorrente e a correlação item-total, ambas avaliadas pelo teste de correlação de Spearman para variáveis não paramétricas e correlação de Pearson para variáveis paramétricas.

Na validação concorrente, a escala proposta deve ser correlacionada com outra escala com mesmo propósito de mensuração, quando avaliadas ao mesmo tempo (STREINER; NORMAN; CAIRNEY, 2015). Já correlação item-total avalia a importância de cada item dentro da escala, comparando-se a pontuação atribuída àquele item com a somatória da escala excluindo-se o mesmo item (DEVELLIS, 2016). Esta análise avalia a homogeneidade da escala. Quando esta correlação está $< 0,30$, deve interpretar-se que este item não contribui muito para distinção entre as características altas e baixas dentro da escala (VET; et al., 2011), o que indica a baixa variabilidade de pontuação estados de alta e baixa intensidade do que se avalia. A correlação $> 0,70$ indica que o item em questão da escala é muito estrito e que provavelmente ele mede fatores já atribuídos na escala, sugerindo que possa ser uma reformulação de itens já apresentados, insuflando os resultados da escala (STREINER; NORMAN; CAIRNEY, 2015).

Um instrumento com validade de construto deve ser capaz de mensurar aquilo que realmente se propõe a mensurar, identificado pela sua responsividade. Em momentos de alta intensidade que a escala se propõe a mensurar, deve apresentar altas pontuações, enquanto que em momentos de baixa intensidade deve apresentar pontuações baixas ou ausentes (BRONDANI; LUNA; PADOVANI, 2011). Uma das formas de avaliar o construto inclui a análises de variância (ANOVA) em sua forma paramétrica ou não paramétrica. Essas análises podem ser ao longo do tempo ou entre os grupos, dependendo-se do delineamento experimental. Outra análise importante é a análise dos componentes principais, que divide os itens em variáveis inter-relacionadas por meio de dimensões (PLICHTA; KELVIN, 2011). Nesta análise, os autovalores > 1 e fatores de cargas $>$ ou $<$ que 0.5 devem ser considerados como importantes para a avaliação (KAISER, 1958).

Já a confiabilidade de uma escala é analisada pela concordância entre resultados aplicados pelo mesmo avaliador ou por avaliadores diferentes ao

avaliar um mesmo material (KIM, 2013; MIOT, 2016). A análise das pontuações atribuídas pelos avaliadores em cada momento em cada item, que representam variáveis qualitativas (categóricas) ordinais, deve ser avaliada pelo coeficiente Kappa ponderado. Isto porque esta análise considera que os valores 0 e 1 são mais próximos que os valores 0 e 3, conforme a representatividade da sua descrição e que portanto não devem ser considerados como um erro de forma igualitária (WALTZ; STRICKLAND; LENZ, 2010). Por este motivo esta análise aplica-se a cada item da escala isoladamente, à escala numérica unidimensional e às escalas descritivas simples. Em variáveis quantitativas discretas, caso atribuído ao valor da somatória das escalas, emprega-se o coeficiente de correlação intraclases do tipo concordância (MIOT, 2016) pois espera-se que os avaliadores tenham obtido uma mesma somatória das pontuações, ou ao menos muito próximas. Já em variáveis contínuas como a escala analógica visual, raramente uma concordância completa ocorrerá entre as diferentes avaliações e por isso espera-se que haja uma relativa consistência entre dois valores atribuídos, de modo que estejam dentro de um mesmo ranking de variáveis (STREINER; NORMAN; CAIRNEY, 2015).

Quando o que se mensura é baseado em um grande número de itens, avalia-se a consistência interna da escala pelo Coeficiente α de Cronbach para identificar o quanto esses itens estão correlacionados entre si. Medidas acima de 0,7 devem ser consideradas (STREINER; NORMAN; CAIRNEY, 2015).

A variabilidade da distribuição das pontuações mostra o quanto cada pontuação aparece nos diferentes momentos avaliados (BRONDANI; LUNA; PADOVANI, 2011). Elas auxiliam a compreender a característica da ocorrência das pontuações em momentos com e sem sedação, possibilitando a interpretação da sensibilidade e especificidade da escala. Interpretando-se para sedação, em momentos de sedação intensa, a distribuição de altas pontuações indica a sensibilidade enquanto que em momentos ausentes de sedação a distribuição de ausência de sedação representa a especificidade.

3. Referências

- AREVALO, J. J. et al. Palliative sedation: Reliability and validity of sedation scales. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 44, n. 5, p. 704–714, 2012.
- BALLARD, S. et al. The pharmacokinetics, pharmacological responses and behavioral effects of acepromazine in the horse. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 5, n. 1, p. 21–31, 1 mar. 1982.
- BELSHAW, Z. et al. Quality of life assessment in domestic dogs: An evidence-based rapid review. **Veterinary Journal**, v. 206, n. 2, p. 203–212, 2015.
- BINNEKADE, J. M. et al. The reliability and validity of a new and simple method to measure sedation levels in intensive care patients: a pilot study. **Heart & lung : the journal of critical care**, v. 35, n. 2, p. 137–43, 2006.
- BRONDANI, J. T. et al. Validade e responsividade de uma escala multidimensional para avaliação de dor pós-operatória em gatos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1529–1538, dez. 2012.
- BRONDANI, J. T. et al. Validation of the English version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. **BMC veterinary research**, v. 9, n. 1, p. 143, 2013.
- BRONDANI, J. T.; LUNA, S. P. L.; PADOVANI, C. R. Refinement and initial validation of a multidimensional composite scale for use in assessing acute postoperative pain in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 2, p. 174–183, fev. 2011.
- BRYANT, C. E.; ENGLAND, G. C. W.; CLARKE, K. W. A Comparison of the Sedative Effects of Medetomidine and Xylazine in the Horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 18, p. 55–57, 1991.
- BULLOCH, B.; TENENBEIN, M. Validation of 2 pain scales for use in the pediatric emergency department. **Pediatrics**, v. 110, n. 3, p. e33, 2002.
- CLARKE, K. W.; ENGLAND, G. C. W.; GOOSSENS, L. Sedative and cardiovascular effects of romifidine, alone and in combination with butorphanol, in the horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 18, n. 1, p. 25–29, 1991.
- COSTA, G. L. et al. Anti-nociceptive and sedative effects of romifidine, tramadol and their combination administered intravenously slowly in ponies. **Veterinary**

Anaesthesia and Analgesia, v. 42, n. 2, p. 220–225, 2015.

CRELLIN, D. et al. Analysis of the validation of existing behavioral pain and distress scales for use in the procedural setting. **Paediatric Anaesthesia**, v. 17, n. 8, p. 720–733, 2007.

DEVELLIS, R. F. Scale Development Theory and Applications (Fourth Edition Robert). **SAGE Publication**, v. 4, p. 256, 2016.

DUGDALE, A. H.; TAYLOR, P. M. Equine anaesthesia-associated mortality: where are we now? **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 43, n. 3, p. 242–255, maio 2016.

ENGLAND, G. C.; CLARKE, K. W.; GOOSSENS, L. A comparison of the sedative effects of three alpha 2-adrenoceptor agonists (romifidine, detomidine and xylazine) in the horse. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 15, n. 2, p. 194–201, jun. 1992.

GOZALO-MARCILLA, M. et al. Sedative and antinociceptive effects of different combinations of detomidine and methadone in standing horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, n. 5, p. 1116–1127, 2017.

GOZALO-MARCILLA, M. et al. Clinical applicability of detomidine and methadone constant rate infusions for surgery in standing horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 46, n. 3, p. 325–334, 2019.

GRIMSRUD, K. N. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous medetomidine in the horse. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, n. 1, p. 38–48, 2012.

HAYNES S, RICHARD D, K. E. Content validity in psychosocial assessment: A functional approach to concept and method. **Psychol Assess**, v. 7, n. 3, p. 238–247, 1995.

JOHNSTON, G. M. et al. The confidential enquiry into perioperative equine fatalities (CEPEF): mortality results of Phases 1 and 2. **Vet Anaesth Analg**, v. 29, n. 4, p. 159–170, 2002.

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, v. 23, n. 3, p. 187–200, 1958.

KIM, H.-Y. Statistical notes for clinical researchers: Evaluation of measurement error 1: using intraclass correlation coefficients. **Restorative Dentistry & Endodontics**, v. 38, n. 2, p. 98, 2013.

L'AMI, J. J. et al. Sublingual administration of detomidine in horses: Sedative

effect, analgesia and detection time. **Veterinary Journal**, v. 196, n. 2, p. 253–259, 2013.

LOVE, E. J. et al. Assessment of the sedative effects of buprenorphine administered with 10 µg/kg detomidine in horses. **The Veterinary record**, v. 168, n. 14, p. 379, 2011.

LOVE, E. J.; MURRELL, J.; WHAY, H. R. Thermal and mechanical nociceptive threshold testing in horses: A review. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 38, n. 1, p. 3–14, 2011.

MAMA, K. R. et al. Plasma concentrations, behavioural and physiological effects following intravenous and intramuscular detomidine in horses. **Equine veterinary journal**, v. 41, p. 772–777, 2009.

MARLY, C. et al. Evaluation of a romifidine constant rate infusion protocol with or without butorphanol for dentistry and ophthalmologic procedures in standing horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 41, n. 5, p. 491–497, 2014.

MCDOWELL, I. **Measuring Health: A Guide to Rating Scales (Book)**. Third Edit ed. [s.l.] Oxford University Press, 2006. v. 10

MEDEIROS, L. Q. et al. Sedative and cardiopulmonary effects of dexmedetomidine infusions randomly receiving, or not, butorphanol in standing horses. **Veterinary Record**, v. 181, n. 15, 2017.

MEROLA, I.; MILLS, D. S. Systematic review of the behavioural assessment of pain in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 2, p. 60–76, 2016.

MIOT, H. A. Análise de concordância em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 15, n. 2, p. 89–92, 2016.

MORTON, C. M. et al. and Validate an Interval Level Pain Scale for Assessment of Acute Pain in Dogs. **Paediatric Anaesthesia**, v. 26, n. 6, p. 575–581, 2005.

PLICHTA, S. B.; KELVIN, E. A. **Munro's statistical methods for health care research: Sixth edition**. [s.l.: s.n.].

POTTER, J. J. et al. Preliminary investigation comparing a detomidine continuous rate infusion combined with either morphine or buprenorphine for standing sedation in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 43, n. 2, p. 189–194, 2016.

RANHEIM, B. et al. The pharmacokinetics of dexmedetomidine administered as

a constant rate infusion in horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 38, n. 1, p. 93–96, 2015.

RINGER, S. K. et al. Development of a xylazine constant rate infusion with or without butorphanol for standing sedation of horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, n. 1, p. 1–11, 2012a.

RINGER, S. K. et al. Development of a romifidine constant rate infusion with or without butorphanol for standing sedation of horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, n. 1, p. 12–20, jan. 2012b.

RINGER, S. K. et al. The effects of a loading dose followed by constant rate infusion of xylazine compared with romifidine on sedation, ataxia and response to stimuli in horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 40, n. 2, p. 157–165, 2013.

SCHAUVLIEGE, S. et al. How to score sedation and adjust the administration rate of sedatives in horses: a literature review and introduction of the Ghent Sedation Algorithm. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 46, n. 1, p. 4–13, 2019.

STREINER, D. L.; NORMAN, G. R.; CAIRNEY, J. **Health measurement scales: a practical guide to their development and use**. [s.l.] Oxford University Press, 2015.

TAYLOR, P. et al. Evaluation of sedation for standing clinical procedures in horses using detomidine combined with buprenorphine. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 41, n. 1, p. 14–24, 2014.

VET., H. C. W. DE et al. **Measurement in Medicine A Practical Guide**. [s.l.] Cambridge University Press, 2011.

WALTZ, C.; STRICKLAND, O.; LENZ, E. **Measurement in nursing and health research: Fourth edition**. [s.l.: s.n.].

CAPÍTULO 2

Trabalho normatizado para periódico Equine Veterinary Journal:
<https://beva.onlinelibrary.wiley.com/hub/journal/20423306/homepage/forauthors.html>

Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma escala de sedação em equinos.

A. R. OLIVEIRA[†], M. GOZALO-MARCILLA[‡], S. K. RINGER[§],
S.SCHAUVLIEGE[¶], M. W. FONSECA[†], P. H. E. TRINDADE[†], J. N. P. P.
FILHO[†], S. P. L. LUNA^{†*}

[†] Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (Unesp), Botucatu, São Paulo, Brazil.

[‡] The Royal (Dick) School of Veterinary Studies and Roslin Institute. The University of Edinburgh, Midlothian, UK.

[§] Equine Department, Section of Anaesthesiology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland.

[¶] Department of Surgery and Anaesthesia of Domestic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium

* Corresponding author: stelio.pacca@unesp.br

Resumo

Introdução: A falta de padronização das escalas de sedação em equinos dificulta a reprodutibilidade e comparação dos resultados de fármacos entre os estudos.

Objetivo: Validar uma escala numérica composta de sedação em equinos (EquiSed).

Delineamento do estudo: Estudo aleatorizado controlado, encoberto, horizontal, prospectivo.

Métodos: Sete cavalos foram submetidos aos protocolos: detomidina em dose baixa ou alta isolada, por 120 min (DL 2.5 µg/kg + 6.25 µg/kg/h; DH 5 µg/kg + 12.5 µg/kg/h, respectivamente) ou associada à metadona (DLM e DHM, 0.2 mg/kg + 0.05mg/kg/h), bolus de acepromazina em dose baixa (ACPL 0.02 mg/kg) e alta (ACPH 0.09 mg/kg). Filmaram-se os cavalos nos momentos basal, pico de sedação, sedação intermediária e recuperação da sedação, enquanto aplicavam-se os estímulos auditivo, visual, pressórico mediante o toque nas orelhas, nos membros torácico e pélvico e instabilidade postural. Os vídeos foram aleatorizados e avaliados duas vezes por quatro avaliadores com intervalo de um mês.

Resultados: Constatou-se responsividade da EquiSed ($p < 0.05$) ao longo do tempo analisada pelo modelo linear misto com pós teste de Bonferroni. Todos os itens se enquadraram no critério adequado de correlação item-total (0.3 – 0.7) e a consistência interna da escala foi boa (α de Cronbach = 0.73). Definiu-se a escala como bidimensional baseado no teste de associação múltipla. Constatou-se uma alta correlação da somatória da EquiSed com as escalas analógica visual (0.77) e numérica (0.76) descritiva simples (0.70) e média com a altura da cabeça acima do chão (-0.52). A confiabilidade intra e interobservador da somatória da EquiSed foram 0.89 – 0.94 e 0.45 – 0.88, respectivamente. A sensibilidade foi > 78 para os estímulos toque nas orelhas, auditivo, visual e instabilidade postural. Os itens pressão no membro pélvico e torácico não apresentaram sensibilidade. Apenas o item pressão no membro pélvico e torácico apresentaram especificidade (>74).

Principais limitações: Os cavalos eram dóceis e não se avaliou a escala em cavalos de diferentes temperamentos.

Conclusões: A EquiSed apresenta confiabilidade intra e interobservadores, validade de critério, conteúdo e construto.

Palavras-chave: Cavalos, detomidina, escalas, maleato de acepromazina metadona, receptor adrenérgico α -2 agonista.

Introdução

Como alternativa à anestesia geral a fim de reduzir a elevada mortalidade anestésica [1], definida em 0.9% para cirurgias eletivas [2], preconiza-se sedar cavalos na posição quadrupedal para procedimentos diagnósticos e cirúrgicos, com protocolos que acarretem sedação consistente, analgesia e mínima ataxia, para garantir segurança do animal e dos envolvidos [3–6].

Para determinar o grau e a qualidade da sedação dos protocolos farmacológicos, propuseram-se escalas com diferentes métodos de pontuação e estímulos [6]. A altura da cabeça acima do chão (ACAC) é um método objetivo baseado na porcentagem de alteração em relação ao momento basal, considerada como 100% ($\pm 10\%$). A $ACAC \leq 50\%$ representa animal suficientemente sedado [3,5,7]. Considera-se métodos subjetivos de pontuação aqueles que dependem da interpretação do avaliador, tais como as escalas analógica visual (VAS) [8,9], descritiva simples (EDS) [10,11], numérica (EN) e escala numérica composta (ENC) [12].

Estudos do início da década de 90 [13–15] avaliaram a qualidade da sedação pela (ENC) por meio de estímulos mecânicos, auditivos e visuais. O algômetro de pressão [16] ou o tátil por meio do toque de um objeto dentro das orelhas ou coroa do casco [13–15,17] compõem os estímulos mecânicos. Os auditivos variam entre bater de palmas atrás [9,13–15] ou na frente do animal [17], sons de raspar uma colher em uma lata [7], agitar um galão de plástico cheio de pedras [16,18] ou a combinação dos estímulos auditivo e sensorial de uma máquina de tosa ligada e tocada na região cervical lateral [19]. Abanar uma toalha [9,13–15] ou abrir um guarda-chuva na frente do cavalo [7,20] são registros de estímulos visuais.

A instabilidade postural e ataxia são métodos subjetivos para avaliar respectivamente a sedação com o animal parado [13] e em movimento circular [7] ou

ao pular pequenos obstáculos [16,18]. Para a ataxia ainda se pode usar a EAV [3,5], ESD [1,11] e ENC [9,21].

Para garantir a confiabilidade e acurácia das mensurações entre diferentes estudos [22,23], o processo de validação da escala inclui a validade de conteúdo, o treinamento dos observadores, a distribuição de frequência de escores, análise de componentes principais, as confiabilidades intra (repetibilidade) e interobservadores (reprodutibilidade e matriz de correlação), a validade de critério concorrente e construto (responsividade), correlação item-total, consistência interna, a sensibilidade e a especificidade, como descrito em outras validações na medicina veterinária [22,24–28].

A hipótese deste estudo é que a escala proposta baseada em estímulos descritos em estudos prévios [3,5,9,13–20,29–33] mensura com acurácia e confiabilidade a sedação em equinos. Desta forma objetivou-se desenvolver e validar uma escala composta de sedação em cavalos (EquiSed) submetidos a diferentes intensidades de sedação e tranquilização.

Materiais e Métodos

Declaração de Ética

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais para pesquisa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil, sob o protocolo 2017/0051. Trata-se de estudo prospectivo realizado na fazenda experimental da mesma Instituição, a qual os cavalos pertenciam. Seu uso foi autorizado pelo professor responsável da área de equideocultura (J.N.P.F.). A fase I do estudo foi oportunista a outro estudo com sedação de equinos [20] submetidos a infusão contínua de diferentes doses de detomidina isolada ou associada a metadona. A fase II foi adicionada para inclusão de outros dois grupos dos mesmos cavalos e que foram tratados com duas doses de acepromazina em bolus sob condições semelhantes ao estudo original.

Animais

Nas duas fases utilizaram-se três cavalos machos castrados e quatro fêmeas não

castradas mestiços de quarto de milha e apaloosa [20], do mesmo plantel, com idade média de 10 ± 0.95 (9 – 11 anos) e peso médio 402 ± 21 kg (372 – 450 kg). Para inclusão, duas semanas antes do início de cada fase do estudo, os cavalos foram classificados como saudáveis baseado na normalidade do exame físico e laboratorial de hemograma e bioquímicos (uréia, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e gama glutamil transferase). Não houveram exclusões. Os cavalos eram mantidos a pasto e alimentados com ração uma vez ao dia. Realizou-se protocolos experimentais em dias e períodos (manhã ou tarde) fixos na semana para respeitar o período de washout do fármaco (detomidina e metadona). No dia anterior ao estudo, separou-se e manteve-se o cavalo em instalações cobertas, com água *ad libitum* e acesso à área externa. O período de jejum sólido foi de 2 horas.

Calculou-se o tamanho da amostra para o estudo original utilizando a diferença entre as médias da ACAC (momento basal e após sedação) e o desvio padrão de ambos os momentos, baseado no estudo piloto realizado para seleção das doses do estudo original [20] e nos dados de estudos prévios com os mesmos animais [9]. O tamanho amostral foi definido considerando-se uma probabilidade de erro tipo I (α) de 0.5 e um poder ($1 - \beta$) de 0.80 (https://www.statstodo.com/SSizUnpairedDiff_Pgm.php).

Posteriormente calculou-se número amostral mínimo para um poder de teste de 0.80 para o estudo atual utilizando a somatória dos escores da EquiSed para cada grupo de tratamentos (DL + DLM, DH + DHM e ACPL + ACPH). O poder foi calculado pelo site <http://biomath.info/power/> utilizando a diferença entre as médias do momento basal e pico de sedação e o desvio padrão destes dois momentos agrupados, constatando-se poder adequado para o teste.

Desenvolvimento da escala

Desenvolveu-se a escala proposta de acordo com estímulos descritos na literatura para avaliar a sedação em equinos (Tabela 1). Para cada item, atribuiu-se descrições de respostas específicas para cada escore de 0 a 3 (Tabela 1) [13–15], onde 0 corresponde a ausência de sedação e 3 a sedação máxima. A somatória dos itens escala compôs a escala, onde 0 representa a ausência de sedação e 18 a sedação

154 máxima.

155

156 **TABELA 1.** EquiSed para avaliar a qualidade e grau de sedação em equinos.

Qualidade e grau de sedação			
Altura da cabeça acima do chão (ACAC)			Referências
Altura do limite inferior da borda ventral do lábio ao chão. Considera-se a altura da cabeça para cada cavalo no momento basal como 100%. Calcula-se a altura após a sedação como a porcentagem comparada à altura do momento basal			[1,3,5,8,13–16,19,30,34,35]
Estímulos realizados	Resposta aos estímulos	Escores	Referências
Toque na orelha			[13,14,34]
Tocar com material de ponta romba (exemplo caneta) dentro das orelhas por três segundos	Sem resposta	3	
	Move levemente a orelha e/ou a cabeça e/ou pescoço	2	
	Move intensamente a orelha e/ou a cabeça e/ou pescoço	1	
	Move intensamente a orelha e a cabeça e/ou pescoço e movimenta o corpo	0	
Pressão na coroa do casco do membro torácico (alternar o lado em cada momento)			[7,13,14,34]
Pressão forte por três segundos com material de ponta romba (caneta com tampa em formato de ponta romba) na região da coroa do membro torácico	Sem resposta	3	
	Move o membro lentamente sem levantá-lo	2	
	Levanta o membro lentamente	1	
	Levanta o membro rapidamente antes ou ao toque e/ou movimenta os outros membros e/ou a cabeça e/ou tronco	0	
Pressão na coroa do casco do membro pélvico (alternar o lado em cada momento)			[7,13,14,34]
Pressão forte por três segundos com material de ponta	Sem resposta	3	
	Move o membro lentamente sem levantá-lo	2	
	Levanta o membro lentamente	1	

romba (exemplo: caneta) na região da coroa do membro pélvico	Levanta o membro rapidamente antes ou ao toque e/ou movimenta os outros membros e/ou a cabeça e/ou tronco	0
--	---	---

Instabilidade Postural

[1,13–
15,17,33,34]

Observar o animal parado e a seguir empurrá-lo lateralmente com força	Cambaleia intensamente, risco de cair ou cai. Membro(s) torácico(s) e/ou pélvico(s) em ampla base e/ou desalinhado(s) ou cruzado(s)	3
	Cambaleia moderadamente. Membro(s) torácico(s) e/ou pélvico(s) em ampla base e/ou desalinhado(s)	2
	Não cambaleia ou cambaleia levemente. Membro(s) torácico(s) e/ou pélvico(s) em ampla base	1
	Não cambaleia. Peso equilibrado em todos os membros ou descansando um membro	0

Auditivo

[9,13–15]

Resposta ao forte bater de palma atrás do animal	Sem resposta	3
	Move lentamente a cabeça e/ou orelha(s)	2
	Move rapidamente a cabeça e/ou orelha(s)	1
	Move rapidamente a cabeça e/ou orelha(s) e movimenta o corpo	0

Visual

[7]

Resposta ao abrir um guarda-chuva na frente do animal	Sem resposta	3
	Move levemente a cabeça e/ou pescoço e/ou orelhas	2
	Move intensamente a cabeça e/ou pescoço e/ou orelha(s)	1
	Move intensamente a cabeça e/ou pescoço e/ou orelha(s) e o(s) membro(s)	0

Somatória da EquiSed

18

157 EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos.

158

159 **Coleta de dados**

160 **Fase I**

A primeira fase do estudo foi aleatorizada e encoberta [20]. Pesaram-se os cavalos e levaram-os à baia experimental para aplicação de repelente, tricotomia, antissepsia da região, inserção e fixação de cateter 14-gauge (G14 x 70 mm, Delta Med Srl, Italy)^a na veia jugular para administrar os fármacos.

Antes das infusões, alocaram-se os cavalos no tronco de contenção dentro da baia experimental, onde foram paramentados com os equipamentos necessários para o estudo original [20]. Duas câmeras de vídeo instaladas dentro da baia experimental filmaram o cavalo em posição oblíqua crânio-caudal e em posição oblíqua caudo-cranial para visualização do animal como um todo.

Após a coleta basal, aplicou-se um dos tratamentos de forma encoberta ao pesquisador responsável e aleatorizada (<https://sorteador.com.br>): DL - Detomidina (Eqdomin, 10 mg/ml)^b em dose baixa (2.5 µg/kg seguido da infusão contínua de 6.25 µg/kg/h), DH - detomidina em dose alta (5 µg/kg seguido da infusão contínua de 12.5 µg/kg/h IV), DLM - detomidina em dose baixa com metadona (Mytedom 10 mg/ml)^c (2.5 µg/kg de detomidina + 0.2 mg/kg de metadona seguido de infusões contínuas de detomidina 6.25 µg/kg/h + metadona 0.05 mg/kg/h IV) e DHM - detomidina em alta dose com metadona (5 µg/kg de detomidina + 0.2 mg/kg de metadona seguido de infusões contínuas de detomidina 12.5 µg/kg/h + metadona 0.05 mg/kg/h IV). Aplicou-se o *bolus* do(s) fármaco(s) e iniciaram-se as infusões contínuas por meio de duas bombas de seringas calibradas (DigiPump SR8xk^d and Pilot Anestesia^e) e separadas para cada fármaco. Administraram-se as infusões contínuas por 2 horas e mantiveram-se os cavalos no tronco por 4 horas.

No momento basal e aos 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após o início dos tratamentos mensurou-se a ACAC em centímetros com uma régua fixa à parede posicionada aproximadamente a um metro e meio de distância do cavalo. Na sequência iniciou-se a filmagem e a aplicação dos estímulos da EquiSed na mesma ordem da escala apresentada na Tabela 1. Além da filmagem, também registraram-se os escores da EquiSed *in loco*.

Fase II

Esta fase não foi encoberta ou aleatorizada no momento *in loco* pois foi incluída 11 meses após a fase I. Utilizou-se a mesma metodologia e cavalos da fase I que foram

tratados com *boli* de acepromazina (Acepran 1%)^f em dose baixa (ACPL 0.02 mg/kg) e alta (ACPH 0.09 mg/kg), exceto que se mantiveram os cavalos no tronco de contenção por apenas 120 minutos.

Seleção dos Vídeos e Avaliações

Para desenvolver a validação, incluíram-se os momentos representativos dos possíveis graus de intensidade de sedação, sendo o basal, pico de sedação, sedação intermediária e de final da sedação (retorno ao basal). Para tal baseou-se nos dados do estudo farmacocinético [36] e nos resultados *in loco* para selecionar vídeos representativos da Fase I. O momento basal foi antes da administração do(s) fármaco(s); o pico de sedação foi 120 minutos após o início da administração dos fármacos, imediatamente anterior de se encerrar a infusão contínua, quando havia alta pontuação na escala de sedação *in loco*. A sedação intermediária foi aos 30 minutos após a interrupção da administração dos fármacos (150 minutos após o início da administração dos fármacos), quando a redução da concentração do(s) fármaco(s) levava a queda na pontuação da sedação *in loco*. O momento final da sedação foi aos 120 minutos após a interrupção da administração dos fármacos (240 minutos após o início da administração dos fármacos), onde havia apenas uma sedação residual com escores próximos ao basal.

A seleção dos vídeos Fase II se baseou nos resultados *in loco* dos efeitos sedativos da acepromazina. Selecionaram o momento basal, o pico de sedação aos 60 minutos, a sedação intermediária aos 90 minutos e o final da sedação aos 120 minutos após a administração dos *boli* de acepromazina. Avaliaram-se 168 vídeos com aproximadamente 45 segundos de duração cada um.

Três Diplomados pelo Colégio Europeu de Anestesiologia e Analgesia Veterinária (ECVAA) de diferentes instituições (M.G.M; S.K.R e S.S.), junto com a pesquisadora responsável (A.R.O) avaliaram os vídeos. O avaliador 1 (A1 - A.R.O.) possuía sete anos de experiência com anestesiologia e sedação em equinos, enquanto os avaliadores 2, 3, e 4 (A2 – M.G.M., A3 – S.K.R. e A4 – S.S.) possuíam experiência de 15, 17 e 18 anos respectivamente. O avaliador 2 foi diplomado pelo ECVAA em 2014 e os avaliadores 3 e 4 em 2009. Os avaliadores se familiarizaram

com os itens da EquiSed a partir de vídeos representativos de cada escore. Para o treinamento os avaliadores aferiram 10% do total dos vídeos (16 vídeos de diferentes momentos de sedação) de forma aleatorizada, em dois períodos diferentes, com um intervalo de um mês. Após se confirmar a confiabilidade inter e intraobservadores $\geq 80\%$, por meio da correlação de Spearman, que os avaliadores eram capazes de identificar a intensidade da sedação de forma semelhante, deu-se sequência às avaliações principais.

Aleatorizou-se e disponibilizou-se em plataforma digital (Google drive) os 168 vídeos em duas pastas independentes (www.random.org), para que os avaliadores pontuassem, de forma encoberta em duas fases intervaladas de um mês, os escores correspondentes a cada vídeo. Antes do início das avaliações os avaliadores leram as instruções para a análise e preenchimento das planilhas de avaliação. Instruiu-se os avaliadores a assistirem os vídeos quantas vezes considerassem necessário para preencher as planilhas e que avaliassem até 1 hora ao dia, para a fadiga não interferir na avaliação. Preencheu-se a planilha na ordem EN, EDS, EAV para sedação geral, EAV para instabilidade postural e EquiSed, na mesma ordem em que aplicaram-se os estímulos.

Análises Estatísticas

Realizou-se a análise de conteúdo da EquiSed em quatro etapas: 1) inclusão de estímulos e suas respostas descritos em estudos que avaliaram a sedação em equinos conforme descritos na Tabela 1, 2) observação de vídeos tutoriais demonstrativos das respostas de cada escore correspondente a cada comportamento, 3) análise crítica dos futuros avaliadores (A.R.O, M.G.M, S.K.R., S.S.) quanto à interpretação da EquiSed e 4) atribuição da importância de cada item para a validação de conteúdo conforme descrito anteriormente em processos de validação de escalas de dor em outras espécies [24,27], em que três anestesiistas veterinários não participantes do estudo, com experiência há mais de 10 anos na área, voluntariamente atribuíram a relevância de cada item da escala em +1, para relevante, 0, para não soube opinar e -1, para irrelevante. Realizou-se a média de cada variável e incluiu-se àquelas com valor ≥ 0.5 .

Para avaliar as confiabilidades intraobservador (repetibilidade; comparação dos dados da primeira com a segunda avaliação dos vídeos) e interobservadores (reprodutibilidade; comparação dos dados da primeira e segunda avaliação dos vídeos entre todos os avaliadores, também denominada matriz de concordância interobservadores) utilizou-se o coeficiente kappa ponderado (K_w) com intervalo de confiança (IC) de 95% para a EN, EDS e cada item da EquiSed. Utilizou-se o coeficiente de correlação intraclasse (ICC) do tipo concordância com IC de 95% para analisar a somatória da EquiSed e o ICC do tipo consistência com IC de 95% para analisar a VAS sedação e instabilidade postural. Considerou-se a confiabilidade referente ao Kappa ponderado e ICC (IC) como muito bom 0.81 – 1.0; bom 0.61 – 0.80; moderado 0.41 – 0.60, razoável 0.21 – 0.40; e pobre < 0.20 [39,40]

Realizaram-se todas as análises a seguir com os dados de todos os avaliadores e todos os momentos agrupados, exceto para validade de constructo (responsividade), em que os escores foram comparados entre os momentos (basal, pico de sedação, sedação intermediária e final). Para as análises de validade de critério e distribuição de frequências agruparam-se os tratamentos acepromazina (ACPL + ACPH - tranquilização), detomidina em dose baixa (DL + DLM – detomidina baixa) e detomidina em dose alta (DH + DHM – detomidina alta).

A validade de critério concorrente baseou-se na correlação de Spearman entre a somatória da EquiSed *versus* as escalas EN, EDS, EAV [22,28] e ACAC%, com os seguintes tratamentos agrupados em tranquilização (ACPL + ACPH), detomidina em dose baixa (DL + DLM) e detomidina em dose alta (DH + DHM). As análises foram separadas com o intuito de diferenciar para a ACAC% o efeito da acepromazina em relação aos demais tratamentos com detomidina.

A responsividade da somatória da escala EquiSed e da ACAC % foram avaliadas por modelos lineares mistos, por apresentar distribuição residual Gaussiana. Ajustou-se para o modelo de comparação ao longo do tempo da EquiSed, efeitos fixos (avaliador, fase de avaliação, momentos e tratamentos) e efeitos aleatórios (animais, ordem de exposição aos tratamentos e ordem que os vídeos foram assistidos). Para as comparações entre os tratamentos, foi considerado como efeito fixo o avaliador, a fase e os tratamentos. Como efeitos aleatórios consideraram-se os animais, a ordem de exposição aos tratamentos e a ordem que os vídeos foram

assistidos). O efeito considerado para a ACAC% foi a ordem de exposição dos cavalos aos tratamentos, por este dado ter sido coletado apenas in loco.

Os itens da EquiSed e EN, EDS, EAV de sedação e EAV instabilidade postural não apresentaram distribuição normal, e portanto utilizou-se o teste de Friedman para as comparações ao longo do tempo e Kruskal-Wallis para as comparações entre tratamentos. O pós-teste de Bonferroni foi utilizado para a responsividade.

A análise de componentes principais pelo teste de associação múltipla avaliou a associação de todos os itens da escala entre si, para definir o número de dimensões que representam a extensão da escala [37]. Utilizou-se o critério de Kaiser [38] para indicar os autovalores > 1 e variância > 20 e selecionar itens da escala com fator de carga ≥ 0.50 ou ≤ -0.50 .

Realizou-se a correlação item-total para identificar a homogeneidade da escala, por meio da correlação de Spearman entre a pontuação atribuída a cada item *versus* a somatória da EquiSed excluindo-se o item analisado. Aceitaram-se valores entre 0.3 e 0.7 [41].

Calculou-se a consistência interna da escala pelo coeficiente α de Cronbach [42], que determina o quanto os itens da escala se correlacionam entre si. Considera-se valores minimamente aceitáveis entre 0.60 – 0.64, aceitáveis 0.65 – 0.69, bons 0.70 – 0.74, muito bons 0.75 – 0.80 e excelentes acima de 0.80 [43].

Para analisar a sensibilidade e especificidade, transformaram-se os dados em dicotômicos para presença (1, correspondente a escore 1, 2 ou 3) ou ausência (0, correspondente a escore 0) de escores representativos de sedação nos momentos de pico de sedação e nos momentos basais respectivamente. A especificidade é gerada pela relação entre o total de resultados verdadeiros negativos (cavalos não sedados – escore 0) em relação ao número total de avaliações no momento basal quando não se esperava que os escores indicassem sedação. A sensibilidade foi calculada pela relação dos verdadeiros positivos (cavalos que apresentaram escores 1, 2 ou 3) em relação ao número total de avaliações no pico de sedação. Interpretaram-se ambas como excelente, quando 95 -100%, boa, quando 85 – 94,9%, moderada, quando 70 – 84.9% e não sensível ou específica, quando $< 70\%$ [27,44].

A frequência da distribuição das pontuações 0, 1, 2 e 3 de cada item em cada momento dentro de cada tratamento agrupado (ACPL + ACPH, DL + DLM e DH +

DHM) foi analisada por estatística descritiva.

Resultados

Treinamento

Na etapa do treinamento os avaliadores apresentaram excelente confiabilidade interobservadores (82 - 93%) e intraobservadores (88%, 82%, 91% e 85% para os avaliadores de 1 a 4 respectivamente).

Validade de conteúdo

Todos os itens da escala apresentaram somatória > 0.5 para o grau de relevância na média dos três anestesiistas. Desta forma não houveram mudanças no conteúdo da escala.

Confiabilidade

Confiabilidade intraobservador (Repetibilidade)

A repetibilidade da EquiSed variou de boa e muito boa para os itens (0.67 – 0.89), exceto para o estímulo auditivo, que foi moderada a boa (0.54 – 0.69) e instabilidade postural que foi razoável a boa (0.25 – 0.91) (Tabela 2). A repetibilidade da somatória da EquiSed foi muito boa (0.84 - 0.94) e da EN variou de boa a muito boa (0.75 – 0.90), para a EAV sedação variou de moderada a muito bom (0.62 – 0.92), para EAV instabilidade postural de moderada a muito boa (0.54 – 0.87) e para a EDS de pobre a muito boa (0.20 – 0.90).

TABELA 2. Confiabilidade intraobservador dos escores de sedação da EquiSed, EN, EDS, EAV sedação e EAV de instabilidade postural em equinos sedados com acepromazina ou detomidina isolada ou associada à metadona.

Itens/Escalas	A1			A2			A3			A4		
	<i>k_w</i>	Min	Máx	<i>k_w</i>	Min	Máx	<i>k_w</i>	Min	Máx	<i>k_w</i>	Min	Máx
EN	0.80	0.80 - 0.80		0.89	0.89 - 0.89		0.90	0.90 - 0.90		0.75	0.75 - 0.75	
EDS	0.73	0.73 - 0.73		0.69	0.69 - 0.69		0.75	0.66 - 0.83		0.55	0.20 - 0.90	

Orelhas	0.67	0.67 - 0.67	0.78	0.78 - 0.78	0.77	0.77 - 0.77	0.73	0.73 - 0.73				
Membro torácico	0.91	0.91 - 0.91	0.89	0.89 - 0.89	0.90	0.9 - 0.9	0.92	0.92 - 0.92				
Membro pélvico	0.81	0.81 - 0.81	0.83	0.83 - 0.83	0.86	0.86 - 0.86	0.80	0.80 - 0.80				
Instabilidade Postural	0.69	0.69 - 0.69	0.58	0.25 - 0.91	0.78	0.72 - 0.84	0.53	0.34 - 0.72				
Auditivo	0.62	0.62 - 0.62	0.62	0.54 - 0.69	0.59	0.59 - 0.59	0.58	0.58 - 0.58				
Visual	0.82	0.82 - 0.82	0.85	0.85 - 0.85	0.84	0.84 - 0.84	0.76	0.76 - 0.76				
Somatória da EquiSed	ICC (agreement)											
	ICC	Min	Máx	ICC	Min	Máx	ICC	Min	Máx	ICC	Min	Máx
	0.89	0.84 - 0.92		0.91	0.87 - 0.94		0.91	0.88 - 0.94		0.89	0.84 - 0.92	
	ICC (consistency)											
	ICC	Min	Máx	ICC	Min	Máx	ICC	Min	Máx	ICC	Min	Máx
EAV sedação	0.76	0.69 - 0.82		0.89	0.85 - 0.92		0.89	0.86 - 0.92		0.71	0.62 - 0.78	
EAV instabilidade postural	0.70	0.62 - 0.77		0.64	0.54 - 0.72		0.83	0.78 - 0.87		0.56	0.45 - 0.66	

345 EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos. EN – Escala
346 Numérica, EDS – Escala Descritiva Simples, EAV - Escala Analógica Visual. A1 -
347 Avaliador 1, A2 - avaliador 2. A3 - Avaliador 3. A4 - Avaliador 4. Interpretação
348 Kappa ponderado e ICC - muito bom 0.81 – 1.0; bom 0.61 – 0.80; moderado 0.41 –
349 0.60, razoável 0.21 – 0.40; e pobre < 0.20 [39,40].

350

351 **Matriz de concordância interobservador (Reprodutibilidade)**

352 Os itens instabilidade postural, estímulo auditivo e visual apresentaram confiabilidade
353 pobre a muito boa (-0.42 – 1.0) que variaram entre os avaliadores do estudo. A
354 confiabilidade das escalas EN, EAV de sedação e a EquiSed variaram de moderada
355 a muito boa (0.45 – 0.88). A EDS e a EAV de instabilidade postural apresentaram
356 confiabilidade pobre a boa (0.03 – 0.79) e razoável a boa (0.20 – 0.66),
357 respectivamente (Tabela 3).

358

359 **TABELA 3.** Matriz de concordância interobservador dos escores de sedação da
360 EquiSed, EN, EDS, EAV sedação e EAV de instabilidade postural em equinos
361 sedados com acepromazina ou detomidina isolada ou associada à metadona.

Evaluator	1		2		3	
	k_w	Min - Max	k_w	Min - Max	k_w	Min - Max
				EN		
2	0.72	0.72 - 0.72				
3	0.75	0.75 - 0.75	0.78	0.78 - 0.78		
4	0.67	0.51 - 0.82	0.79	0.79 - 0.79	0.81	0.81 - 0.81
				EDS		
2	0.41	0.03 - 0.79				
3	0.34	0.26 - 0.42	0.43	0.35 - 0.50		
4	0.43	0.23 - 0.63	0.60	0.54 - 0.66	0.59	0.46 - 0.71
				Toque nas Orelhas		
2	0.66	0.56 - 0.77				
3	0.63	0.60 - 0.67	0.61	0.61 - 0.61		
4	0.54	0.40 - 0.68	0.58	0.58 - 0.58	0.69	0.69 - 0.69
				Pressão no Membro Torácico		
2	0.92	0.92 - 0.92				
3	0.92	0.92 - 0.92	0.92	0.92 - 0.92		
4	0.90	0.90 - 0.90	0.92	0.92 - 0.92	0.91	0.91 - 0.91
				Pressão no Membro Pélvico		
2	0.77	0.77 - 0.77				
3	0.82	0.82 - 0.82	0.85	0.85 - 0.85		
4	0.68	0.68 - 0.68	0.75	- 0.75 0.75	0.78	0.78 - 0.78
				Instabilidade Postural		
2	0.47	0.16 - 0.77				
3	0.54	0.46 - 0.61	0.50	0.29 - 0.70		
4	0.40	0.28 - 0.53	0.43	-0.18 - 1.00	0.43	0.29 - 0.57
				Auditivo		
2	0.47	-0.02 - 0.96				
3	0.52	0.28 - 0.77	0.58	0.28 - 0.89		
4	0.31	0.06 - 0.57	0.26	-0.42 - 0.93	0.37	-0.07 - 0.81
				Visual		
2	0.74	0.74 - 0.74				
3	0.64	0.58 - 0.70	0.72	0.72 - 0.72		
4	0.38	0.16 - 0.61	0.46	0.33 - 0.59	0.55	0.20 - 0.91
	ICC	IC	ICC	IC	ICC	IC
				EquiSed		
2	0.81	0.77 - 0.85				
3	0.78	0.74 - 0.82	0.86	0.83 - 0.88		
4	0.53	0.45 - 0.61	0.72	0.66 - 0.77	0.78	0.73 - 0.82
				EAV sedação		
2	0.65	0.58 - 0.71				
3	0.75	0.70 - 0.80	0.74	0.69 - 0.79		
4	0.58	0.50 - 0.64	0.78	0.74 - 0.82	0.75	0.70 - 0.79
				EAV instabilidade postural		
2	0.44	0.35 - 0.52				
3	0.59	0.52 - 0.66	0.30	0.20 - 0.39		
4	0.42	0.33 - 0.50	0.44	0.35 - 0.52	0.32	0.22 - 0.41

362 EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos, EN – Escala

363 Numérica, EDS - Escala Descritiva Simples, EAV – Escala Analógica Visual. A1 -

364 Avaliador 1, A2 - avaliador 2, A3 - Avaliador 3, A4 - Avaliador 4. Interpretação Kappa

ponderado e ICC - muito bom 0.81 – 1.0; bom 0.61 – 0.80; moderado 0.41 – 0.60, razoável 0.21 – 0.40; e pobre < 0.20 [39,40].

Validação de critério

Validade de critério concorrente

As correlações entre a somatória da EquiSed com a EN, EDS e EAV de sedação foram altas em detomidina alta (DH + DHM) enquanto a tranquilização (ACPL + ACPH) e detomidina baixa (DL+ DLM) apresentaram correlações médias. A ACAC% apresentou correlação média para detomidina alta e baixa para tranquilização e detomidina baixa. (Tabela 4).

TABELA 4. Correlação entre a EquiSed com a EN, EDS e EAV sedação registrados pela observação dos vídeos e com a ACAC% registrada *in loco* em equinos sedados com acepromazina ou detomidina isolada ou associada à metadona.

Escalas / EquiSed	Tratamentos	Momentos agrupados
EN	Tranquilização (ACPL + ACPH)	0.65
	Detomidina baixa (DL+ DLM)	0.69
	Detomidina alta (DH + DHM)	0.84
	Todos os tratamentos	0.77
EDS	Tranquilização (ACPL + ACPH)	0.57
	Detomidina baixa (DL+ DLM)	0.67
	Detomidina alta (DH + DHM)	0.78
	Todos os tratamentos	0.70
EAV sedação	Tranquilização (ACPL + ACPH)	0.64
	Detomidina baixa (DL+ DLM)	0.68
	Detomidina alta (DH + DHM)	0.84
	Todos os tratamentos	0.76
ACAC%	Tranquilização (ACPL + ACPH)	-0.14
	Detomidina baixa (DL+ DLM)	-0.40
	Detomidina alta (DH + DHM)	-0.69
	Todos os tratamentos	-0.52

EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos, EN – Escala Numérica, EDS - Escala Descritiva Simples, EAV sedação – Escala Analógica Visual. ACAC% - Altura da cabeça acima do chão %. Interpretação da Correlação de Spearman - 0 – 0.35 - correlação baixa; 0.35 – 0.7 - correlação média; 0.7 – 1.0 - correlação alta. Valores em negrito correlação > 70 [22,39,45].

Validade de construto (responsividade)

Os estímulo toque nas orelhas apresentou responsividade para todos os tratamentos com detomidina. O estímulo visual apresentou responsividade para todos os tratamentos, exceto ACPL. Os estímulo pressão no membro torácico foi responsivo para os tratamentos detomidina em dose alta e a pressão no membro pelvico para a detomidina em dose alta e detomidina em dose baixa com metadona. Os estímulos de instabilidade postural e auditivo foram responsivos em todos os tratamentos (Tabela 5).

Todas as escalas foram responsivas em todos os tratamentos, demonstrando maiores valores no pico de sedação em relação ao basal (Tabela 5). A avaliação com todos os tratamentos juntos também identificou diferenças do momento basal e final da sedação em relação ao pico de sedação e sedação intermediária. O pico de sedação e sedação intermediária também foram diferentes entre si (Fig. 1).

Os escores de todas as escalas, exceto altura da cabeça, foram maiores no momento final em relação ao basal nos cavalos submetidos a tranquilização com ACPL e ACPH (Tabela 5). A EquiSed identificou a permanência da tranquilização até o momento final da sedação, ilustrado pela figura 2A, enquanto que a detomidina baixa e detomidina alta foram semelhantes em apresentar maiores escores no pico de sedação, estes que reduziram no momento intermediário e se igualaram ao basal no momento final da sedação (Fig, 2B e 2C).

Com exceção da EAV IP e ACAC%, todas as escalas, no pico de sedação, diferenciaram os tratamentos em detomidina alta (DH+DHM) do tratamentos detomidina baixa (DL+DLM). Todas as escalas diferenciaram e dose alta e baixa de acepromazina (ACPL+ACPH) com exceção da Equised, que identificou que o tratamento ACPH não apresenta diferenças entre ACPL e DL. A metadona não incrementou a sedação nos grupos que foi utilizada.

TABELA 5. Responsividade ao longo do tempo dos itens da EquiSed e responsividade ao longo do tempo e entre tratamentos para a somatória da EquiSed, EN, EDS, EAV de sedação e ACAC%.

Scales		Moments							
		Baseline		Peak of sedation		Intermediate		End of sedation	
		Median	Amplitude	Median	Amplitude	Median	Amplitude	Median	Amplitude
EN	ACPL	2cAB	1-5	2abcC	1-6	3aB	1-6	2bB	1-5
	ACPH	1bB	0-6	4aB	1-7	4aB	1-7	4aA	1-7
	DL	2bcA	1-7	5aB	2-9	3bB	1-8	2cBC	1-5
	DLM	1cA	0-6	5aB	1-8	3bB	1-7	2cC	1-4
	DH	2cAB	0-6	7aA	5-9	4bA	2-8	2cC	1-5
	DHM	2cAB	1-5	8aA	4-10	6bA	2-8	2cBC	1-5
EDS	ACPL	1b	0-2	1abC	0-2	1aA	0-2	1abB	0-2
	ACPH	0b	0-2	1aB	0-2	1aAB	0-2	1aA	0-2
	DL	1bc	0-2	2aB	0-3	1bA	0-2	1cB	0-2
	DLM	0c	0-2	2aB	0-3	1bA	0-2	1cB	0-1
	DH	1c	0-2	2aA	1-3	1bBC	0-2	1cB	0-2
	DHM	1b	0-2	2aA	1-3	2aC	0-3	1bB	0-2
Orelhas	ACPL	1	0-2	1C	0-2	1B	0-3	1	0-2
	ACPH	1	0-3	1B	0-3	1B	0-3	1	0-3
	DL	1b	0-2	1aB	1-3	1abB	0-2	1b	0-3
	DLM	1b	0-3	1aB	0-3	1abB	0-3	1b	0-3
	DH	1b	0-3	2aA	0-3	1bAB	0-2	1b	0-3
	DHM	1b	0-2	2aA	1-3	2aA	0-3	1b	0-2
Membro torácico	ACPL	0	0-3	0C	0-3	0AB	0-3	0A	0-3
	ACPH	0	0-3	0ABC	0-3	0A	0-3	0A	0-3
	DL	0	0-3	0C	0-3	0AB	0-3	0AB	0-2
	DLM	0	0-2	0BC	0-3	0AB	0-1	0AB	0-2
	DH	0b	0-2	3aAB	0-3	0bB	0-1	0bB	0-1
	DHM	0b	0-1	2aA	0-3	0bAB	0-2	0bB	0-1
Membro Pélvico	ACPL	0	0-1	0C	0-2	0AB	0-2	0ABC	0-2
	ACPH	0	0-2	0C	0-1	0B	0-2	0ABC	0-2
	DL	0	0-1	0C	0-1	0B	0-1	0BC	0-0
	DLM	0b	0-1	0aBC	0-1	0abB	0-1	0bAC	0-1
	DH	0b	0-1	1aAB	0-2	0bAB	0-1	0bB	0-1
	DHM	0b	0-1	2aA	0-3	0bA	0-2	0bA	0-1
Instabilidade Postural	ACPL	0bC	0-1	1aC	0-2	1aABC	0-2	1aAB	0-2
	ACPH	0bBC	0-1	1aBC	0-2	1aBC	0-2	1aA	0-2
	DL	1abA	0-1	1aB	0-2	1abBC	0-1	0bBC	0-2
	DLM	0bABC	0-2	1aB	0-2	1bB	0-1	0bC	0-1
	DH	1cAB	0-1	2aA	0-2	1bAC	0-2	0cBC	0-1
	DHM	0cABC	2-0	2aA	0-3	1bA	0-2	0cBC	0-2
Auditory	ACPL	2b	0-3	2aB	1-3	2aB	1-3	2abAB	1-3
	ACPH	2b	1-3	2aB	1-3	2aB	0-3	2aAB	1-3
	DL	2b	0-3	3aA	2-3	2abB	1-3	2bB	1-3
	DLM	2b	0-3	3aA	1-3	2aB	1-3	2bAB	1-3
	DH	2b	1-3	3aA	1-3	3aA	1-3	2bAB	0-3
	DHM	2b	0-3	3aA	1-3	3aA	2-3	2bA	1-3

Visual	ACPL	1	0-3	1C	1-3	1C	1-3	2AB	0-3
	ACPH	1b	0-3	2aBC	1-3	2aBC	0-3	2aA	0-3
	DL	1b	0-2	2aB	0-3	2acBC	0-3	1bcB	0-3
	DLM	1b	0-3	2aB	0-3	2aAB	0-3	1bB	0-3
	DH	2b	1-3	3aA	1-3	3aAB	1-3	2bAB	0-3
	DHM	2b	0-3	3aA	2-3	3aA	1-3	1bB	0-2
EquiSed	ACPL	5b	1-10	6aC	3-12	6a	3-14	6aAB	2-12
	ACPH	4,5b	1-15	7aBC	3-15	7a	2-13	7aA	3-14
	DL	5,5bc	2-12	7aB	5-14	6b	2-12	5cBC	2-9
	DLM	4c	1-10	7aB	3-14	7b	1-11	4,5cC	1-8
	DH	6c	2-10	11aA	7-16	8b	3-11	5cBC	2-9
	DHM	5c	2-11	12aA	9-16	8,5b	5-15	5cBC	2-10
EAV sedação	ACPL	7c	0-50	14bcC	0-59	24aB	0-62	19bAB	0-51
	ACPH	6b	0-60	36aB	0-64	31aB	0-67	28aA	0-77
	DL	15bc	0-61	47aB	2-83	22bB	0-73	10cBC	0-56
	DLM	6c	0-52	48aB	0-82	22bB	0-86	9cBC	0-36
	DH	6c	0-52	70aA	44-99	40bA	14-81	7cC	0-46
	DHM	7c	0-47	76aA	31-99	55bA	4-80	11cC	0-54
EAV Instabilid ade Postural	ACPL	0bB	0-16	3abC	0-31	10aBC	0-53	5aAB	0-30
	ACPH	0bB	0-22	12aC	0-65	10aBC	0-47	10aA	0-66
	DL	7bA	0-30	12aC	0-74	7bC	0-41	2bB	0-43
	DLM	1bcAB	0-30	17aB	0-62	6bC	0-39	0cB	0-25
	DH	0cAB	0-24	28aAB	0-85	15bAB	0-77	3cB	0-22
	DHM	1cAB	0-37	41aA	7-92	15bA	0-69	2cB	0-51
Altura da cabeça acima do chão%	ACPL	100	100-100	89A	27-100	84A	81-90	95AB	71-103
	ACPH	100a	100-100	66bAB	53-91	82bAB	50-102	92abB	68-105
	DL	100a	100-100	53cBC	22-71	93bA	44-105	103abAB	83-110
	DLM	100a	100-100	64cAB	29-89	85bA	47-95	100aAB	96-107
	DH	100a	100-100	27cC	18-47	60bB	27-80	100aAB	86-105
	DHM	100a	100-100	29cC	14-74	68bAB	26-95	102aA	84-147

415 EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos, EN – Escala
416 Numérica, EDS - Escala descritiva simples, EAV sedação - Escala analógica visual;
417 ACPL + ACPH (Acepromazina em dose baixa e alta); DL + DLM (Detomidina em
418 dose baixa e alta); DH+DHM (Detomidina em dose baixa e alta). Letras minúsculas
419 diferentes representam diferenças estatísticas ao longo do tempo ($p < 0.05$) ($a > b > c$).
420 Letras maiúsculas diferentes representam diferenças estatísticas entre os
421 tratamentos ($p < 0.05$) ($A > B$).

422

423

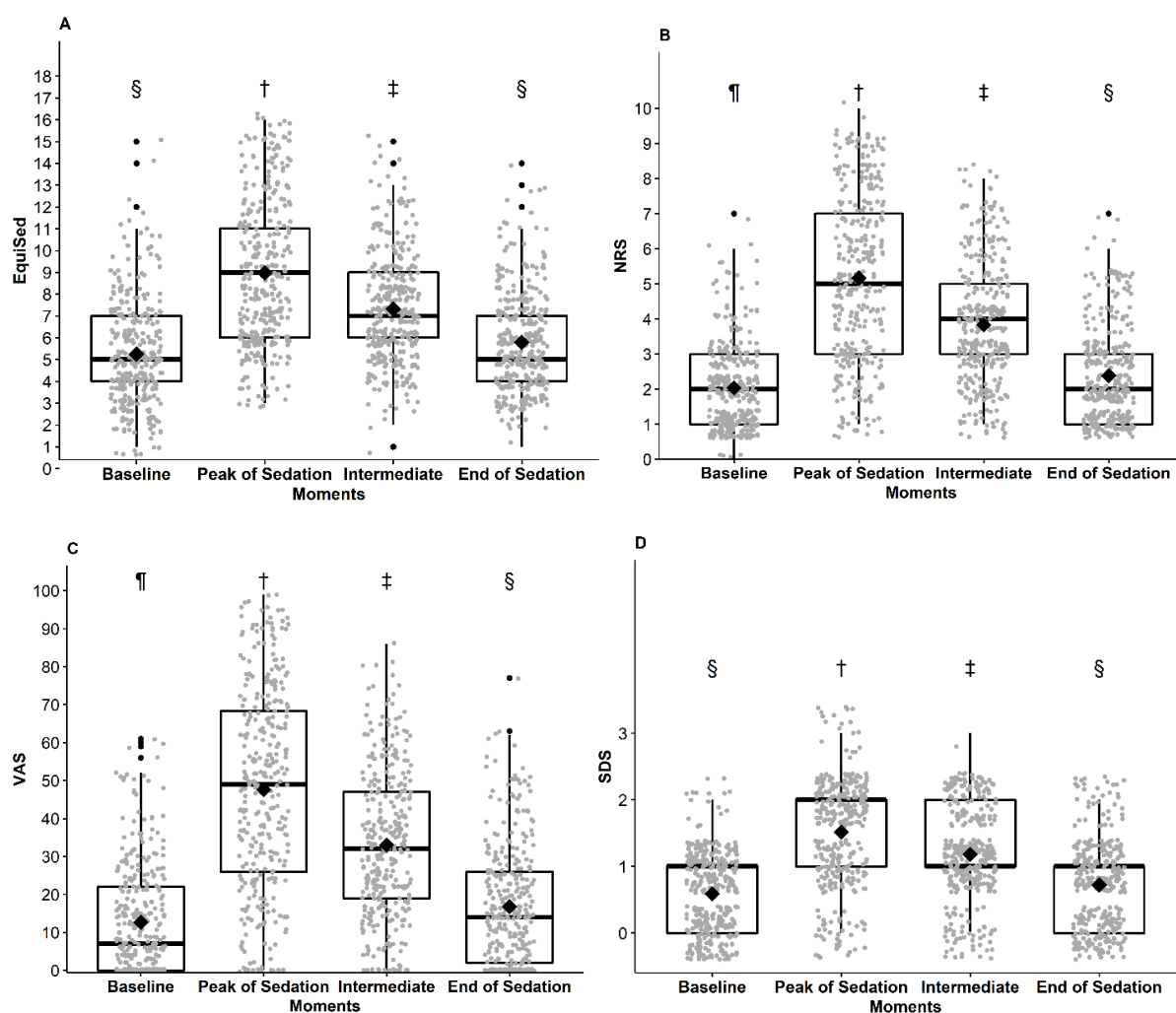


Fig 1. Escores da EquiSed (Figura A), Escala Numérica (EN) (Figura B), escala analógica visual de sedação (EAV) (Figura C) e escala descritiva simples (EDS) (Figura D) em cavalos (n = 7) antes e após os tratamentos ACPL, ACPH, DL, DLM, DH e DHM. ACPL e ACPH - acepromazina em dose baixa e alta; DL e DLM - detomidina em dose baixa e associada à metadona; DH e DHM - detomidina em dose alta e associada à metadona. Baseline - momento basal; Peak of sedation - pico de sedação; Intermediate - sedação intermediária e End of sedation - final da sedação. Símbolos diferentes indicam diferenças significativas entre si (p<0.05). † > ‡ > § > ¶.

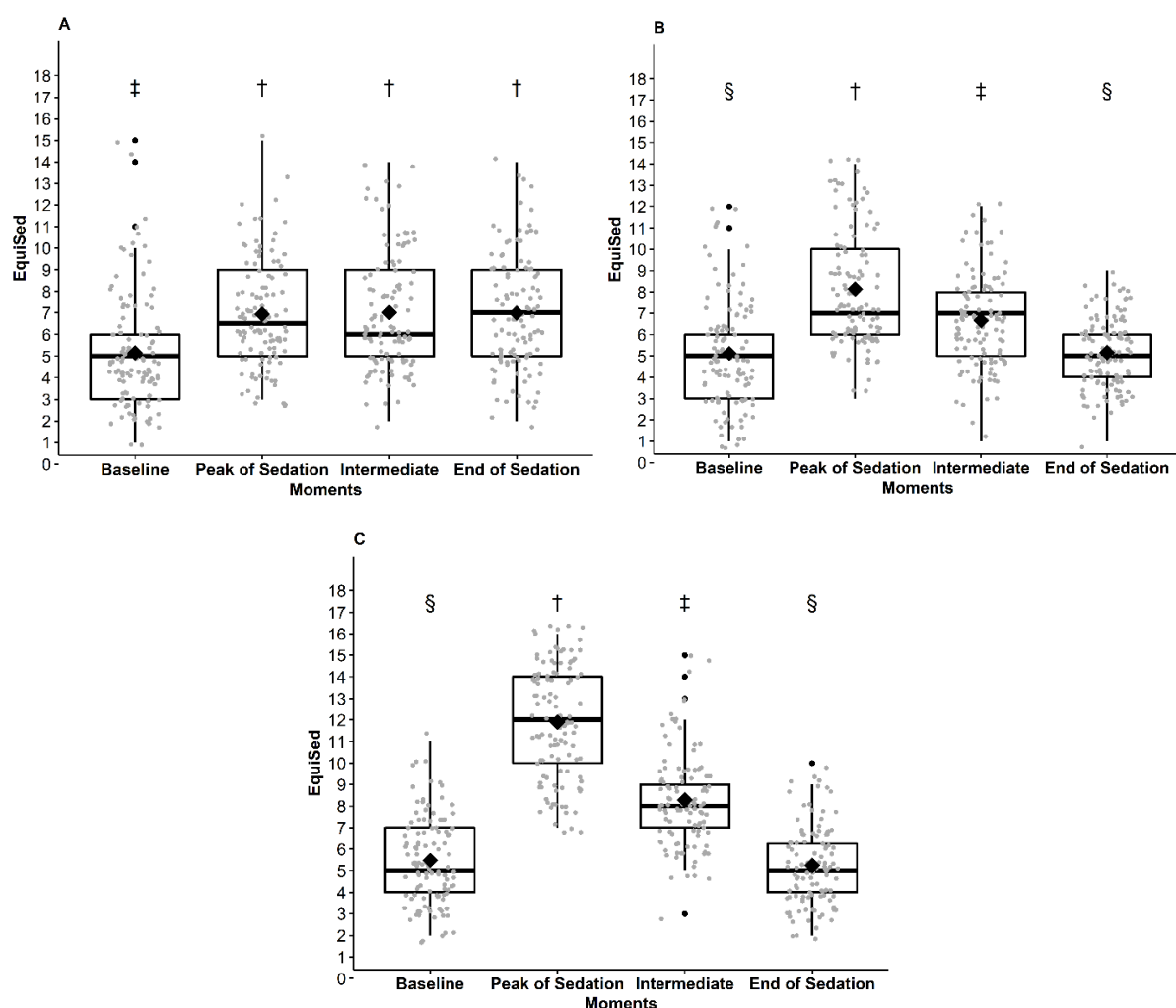


Fig 2. Escores da EquiSed antes e após tranquilização (Figura A; ACPL + ACPH), detomidina baixa (Figura B; DL + DLM) and detomidina alta (C - DH e DHM). ACPL + ACPH - acepromazina em dose baixa e alta; DL + DLM - detomidina em dose baixa e associada à metadona; DH e DHM - detomidina em dose alta e associada à metadona. Baseline - momento basal; Peak of sedation - pico de sedação; Intermediate - sedação intermediária e End of sedation. Símbolos diferentes indicam diferenças significativas entre si ($p < 0.05$). † > ‡ > § > ¶.

Análise de componentes principais (PCA)

A análise de associação múltipla por componentes principais definiu duas dimensões com autovalores > 1 (Tabela 6), aceitáveis segundo critério de Kaiser [38].

TABELA 6. Valores de carga, autovalores e variância dos itens da EquiSed pela

análise de componentes principais.

Itens da EquiSed	Fatores de carga na	Fatores de carga na
	Dimensão 1	Dimensão 2
Toque nas orelhas	0,67	0,07
Pressão no membro torácico	0,71	0,50
Pressão no membro pélvico	0,72	0,36
Instabilidade Postural	0,68	-0,17
Estímulo Auditivo	0,48	-0,76
Estímulo Visual	0,68	-0,27
Autovalor	2,62	1,07
Variância	43,64	17,84

EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos. Autovalores > 1, variância > 20 e fator de carga ≥ 0.50 ou ≤ -0.50 são aprovados [38]. Fatores de carga representam a correlação dos itens com a escala e o quanto cada item contribui para cada fator.

Todos os itens da escala apresentam a mesma direção vetorial para identificar animais sedados (Fig. 4).

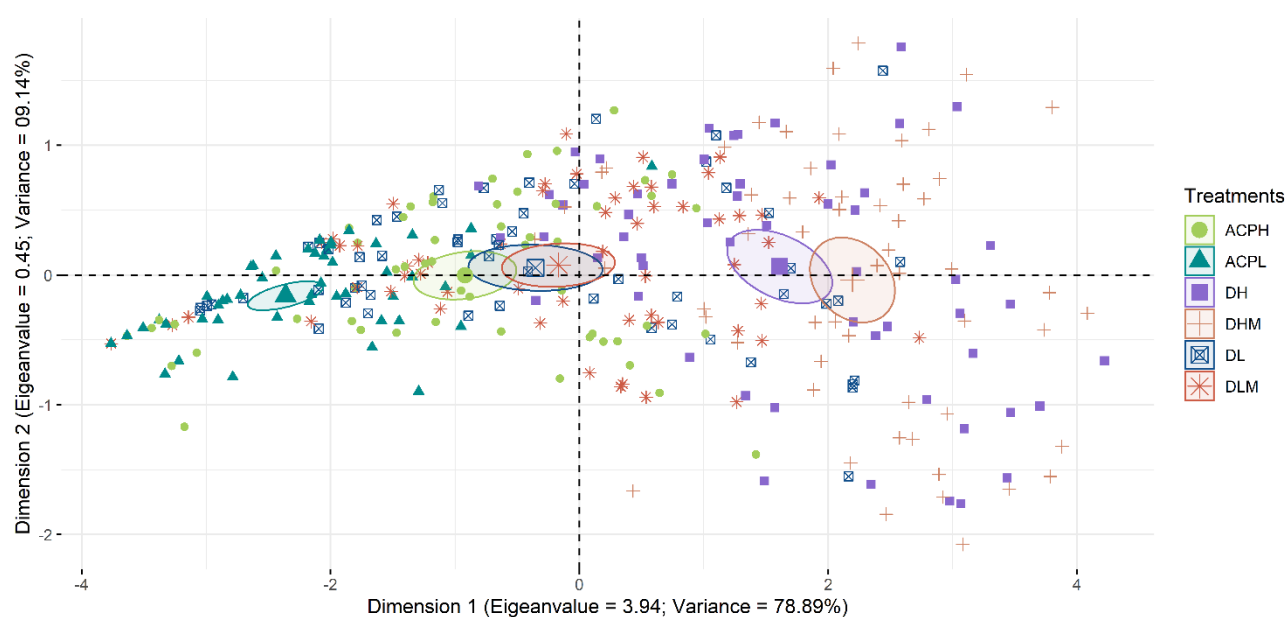


Fig 3. Distribuição dos grupos identificada pela Principal Component Analysis (PCA) da EquiSed. As elipses foram construídas de acordo com os tratamentos

administrados e escores atribuídos pela EquiSed, EN, EDS, EAV sedação e EAV postural instability. EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos. ACPL e ACPH - Acepromazina em dose baixa e alta respectivamente, DL e DLM - Detomidina em dose baixa e associada à metadona respectivamente, DH e DHM - Detomidina em dose alta e associada à metadona respectivamente.

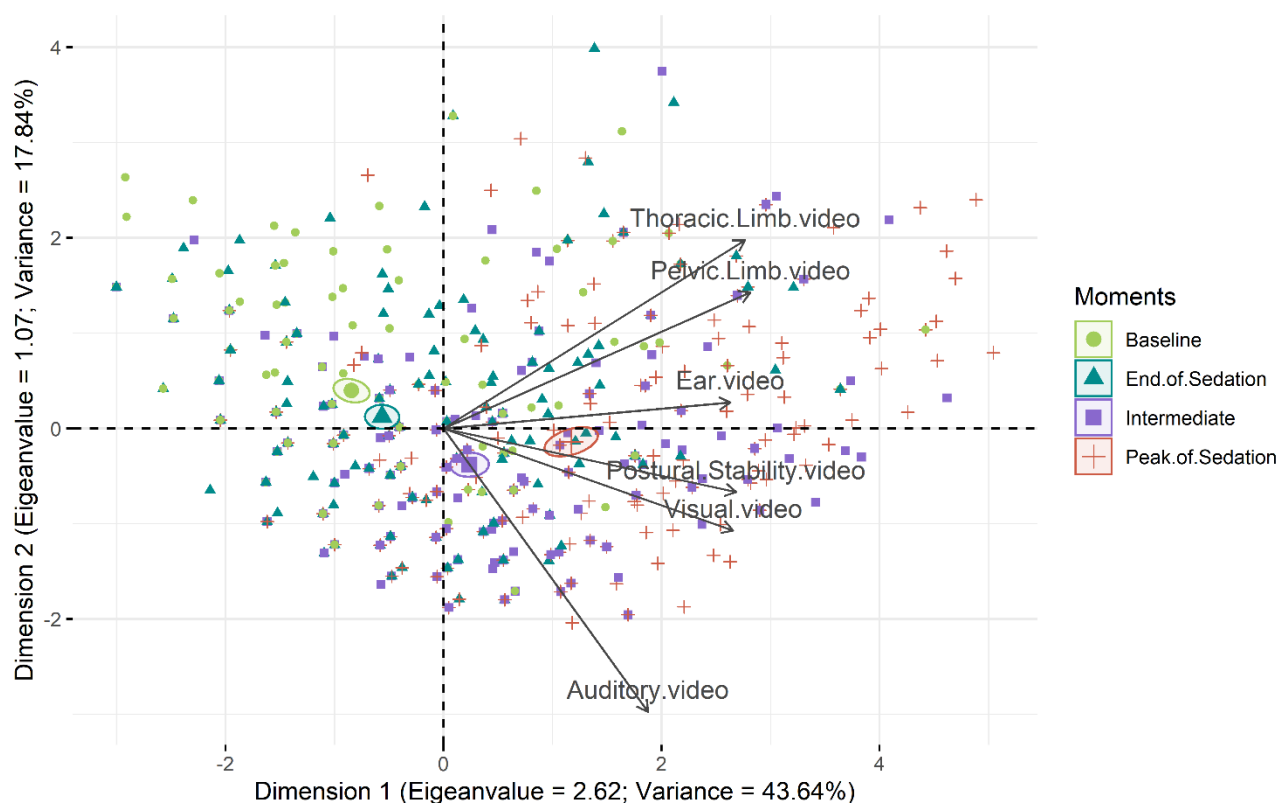


Fig 4. Biplot da análise Principal Component Analysis (PCA) da EquiSed. Elipses de confiança foram construídas de acordo com os momentos antes e após a sedação. M1 - basal (verde); M2 - pico de sedação (vermelho); M3 - intermediário (azul); M4 - final da sedação (amarelo). As elipses à esquerda representam, ausência ou final da sedação e à direita representam o pico de sedação ou sedação intermediária. Os momentos de maior sedação (M2 e M3) influenciam todos os itens da escala já que seus vetores se direcionam a essas elipses.

Correlação item-total e consistência interna

A correlação item total variou entre 0.31 a 0.54, desta forma aceita-se todos os itens (0.3-0.7) (Tabela 7). [39]. A consistência interna foi boa para o escore total da escala

e aceitável ou boa ao se excluir cada item.

TABELA 7. Correlação de Spearman item-total e consistência interna de cada item da EquiSed.

Itens da EquiSed	Correlação item-total	Consistência interna
Todos os itens		0.73
Excluindo Toque nas orelhas	0.50	0.68
Excluindo Pressão no membro torácico	0.49	0.69
Excluindo Pressão no membro pélvico	0.54	0.68
Excluindo Instabilidade postural	0.50	0.68
Excluindo Estímulo auditivo	0.31	0.73
Excluindo Estímulo visual	0.49	0.68

EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos. Interpretação da correlação de Spearman item-total (r_s) - valores entre 0.3 e 0.7 são aceitáveis e estão em negrito [41]. Interpretação do coeficiente α de Cronbach (consistência interna): minimamente aceitáveis 0.60 – 0.64, aceitáveis 0.65 – 0.69, bons 0.70 – 0.74, muito bons 0.75 – 0.80 e excelentes > 0.80 [43].

Sensibilidade e especificidade

Ao se considerar todos os tratamentos agrupados, o item toque nas orelhas apresentou de boa sensibilidade e os estímulos auditivo e visual apresentaram sensibilidade excelente. A instabilidade postural apresentou sensibilidade boa, mas o estímulo de pressão nos membros não foi sensível. Apenas os estímulos nos membros apresentaram especificidade (Tabela 8).

TABELA 8. Sensibilidade e especificidade dos itens da EquiSed com as avaliações de todos os avaliadores para todos os grupos juntos e cada tratamento agrupado.

Itens da EquiSed	Orelhas	Membro torácico	Membro pélvico	Instabilidade postural	Auditivo	Visual
Todos grupos						
Sensibilidade %	93	42	39	78	100	100
Especificidade %	16	74	91	62	1	8
ACPL						
Sensibilidade %	80	25	18	52	100	100
Especificidade %	21	73	87	84	1	3

ACPH						
Sensibilidade %	87	43	23	71	100	100
Especificidade %	23	84	91	75	0	10
DL						
Sensibilidade %	100	29	14	73	100	98
Especificidade %	12	64	85	37	1	8
DLM						
Sensibilidade %	95	43	45	80	100	100
Especificidade %	18	73	98	60	3	21
DH						
Sensibilidade %	98	53	61	96	100	100
Especificidade %	7	71	95	50	0	5
DHM						
Sensibilidade %	100	64	73	96	100	100
Especificidade %	12	80	87	62	1	1

EquiSed - Escala numérica composta de sedação em equinos. Sensibilidade -

escores 1, 2 ou 3 atribuídos no pico de sedação (verdadeiros positivos).

Especificidade - escores 0 atribuídos no momento basal (verdadeiros negativos).

Interpretação: excelente 95 -100%, boa 85 – 94.9%, moderada 70 – 84.9% e não sensível ou específica < 70%. [27,44].

Distribuição das pontuações

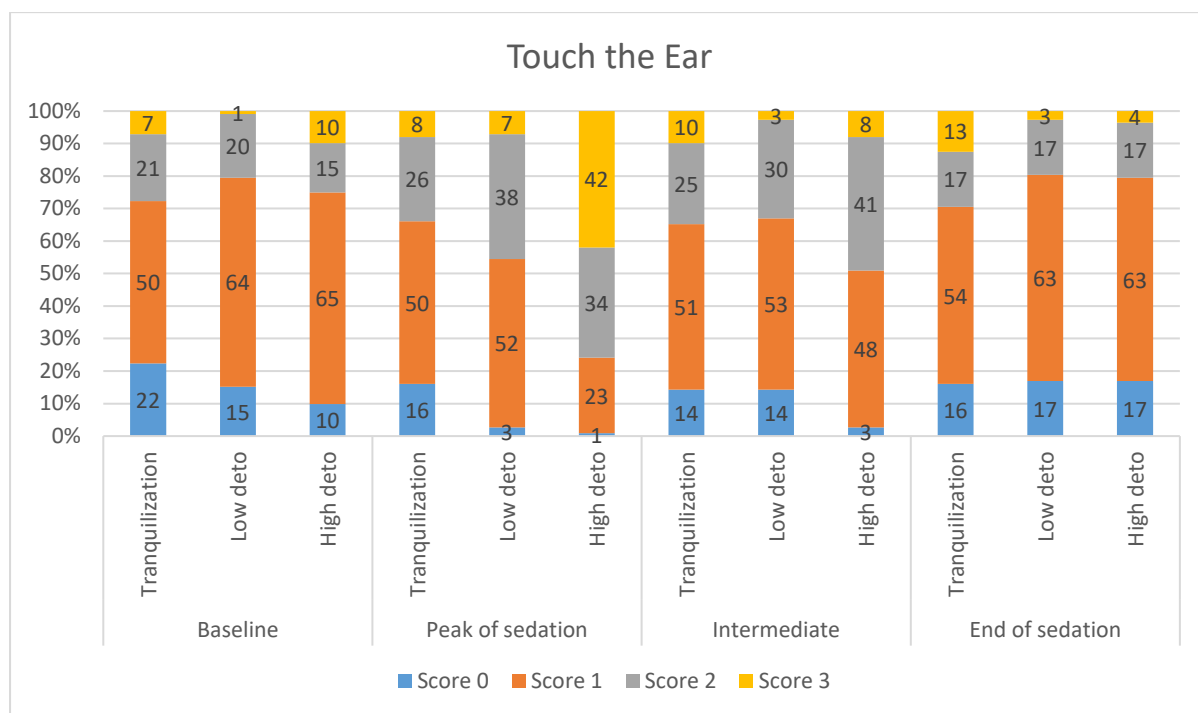
A frequência da ocorrência das pontuações em porcentagem para cada item da EquiSed de nos cavalos submetidos à detomidina alta (DH + DHM), detomidina baixa (DL + DLM) ou tranquilização (ACPL +ACPH) estão apresentados na Fig. 5.

Observa-se uma baixa frequência de escores 0 para os estímulos toque nas orelhas, auditivo e visual. A frequência de escores 3 aumentou para o estímulo auditivo em cavalos submetidos à detomidina baixa e alta e para o visual, em cavalos submetidos à sedação detomidina alta. Apesar da frequência do escore 3 ter aumentado para a pressão no membro torácico, ainda foram atribuídos muitos escores zero na sedação detomidina alta durante o momento de pico de sedação.

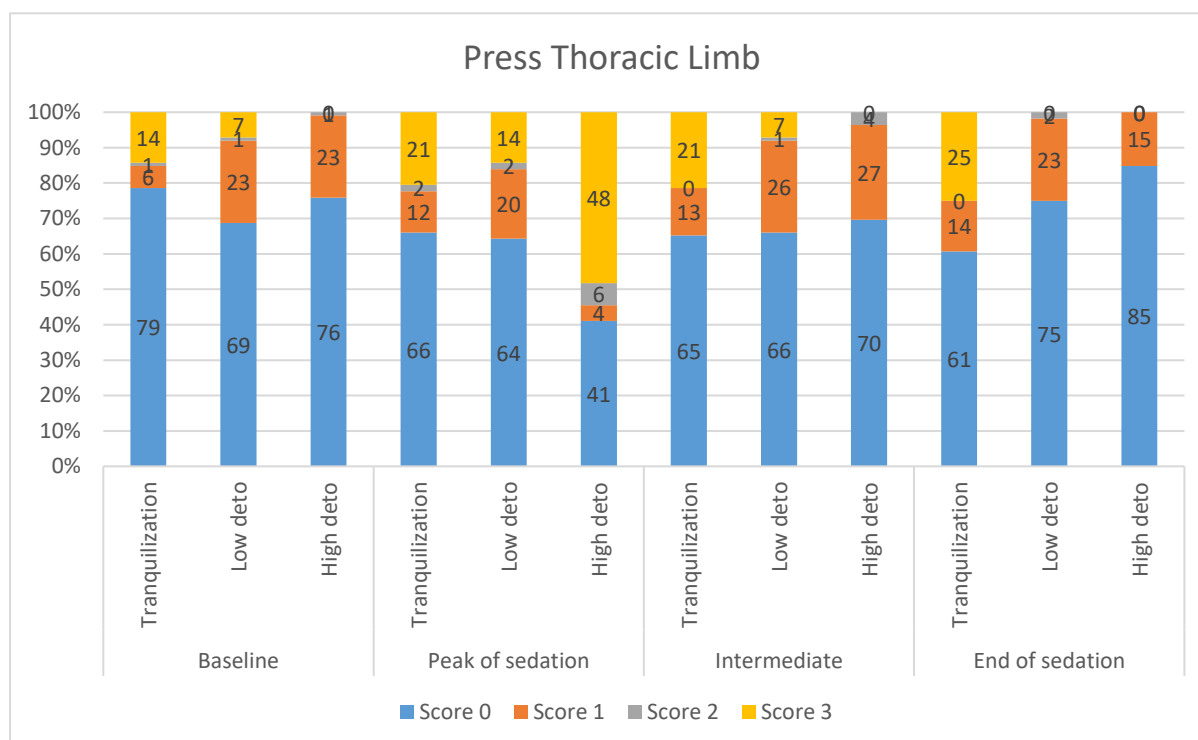
Nos estímulos pressão no membros pélvico, também houve alta frequência de escores zero em todos os momentos, entretanto a frequência dos escores 1 e 2 aumentaram quando os cavalos foram tratados com detomidina alta. De forma semelhante, os escores 1 e 2 foram mais frequentes para a instabilidade postural nos momentos de pico de sedação e sedação intermediária para todos os tratamentos, em cavalos submetidos à tranquilização, sedação com detomidina baixa e alta.

522

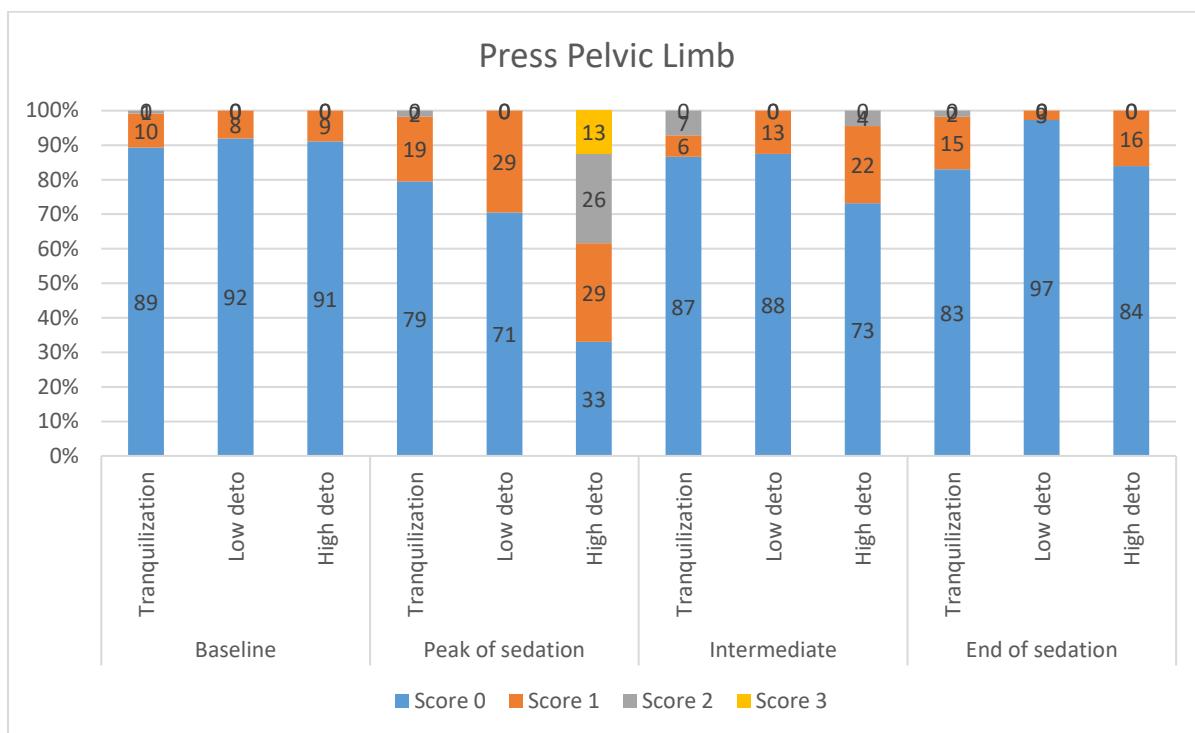
523



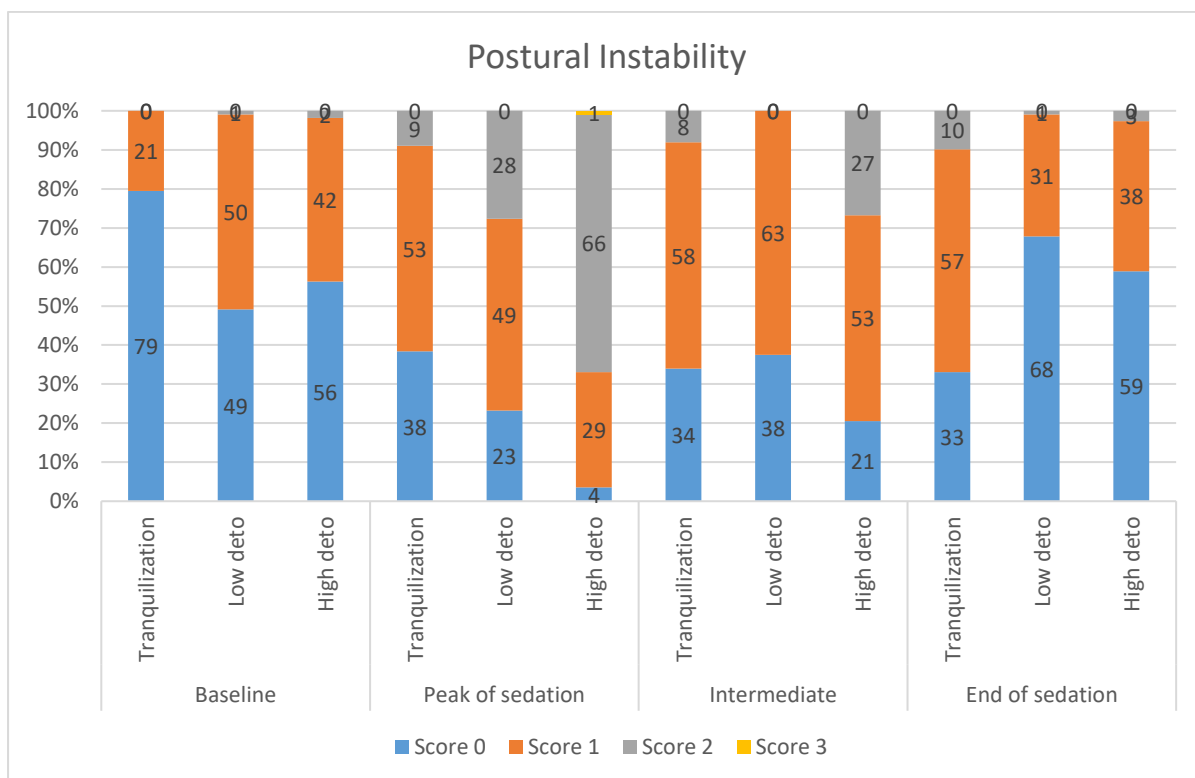
524



525



526



527

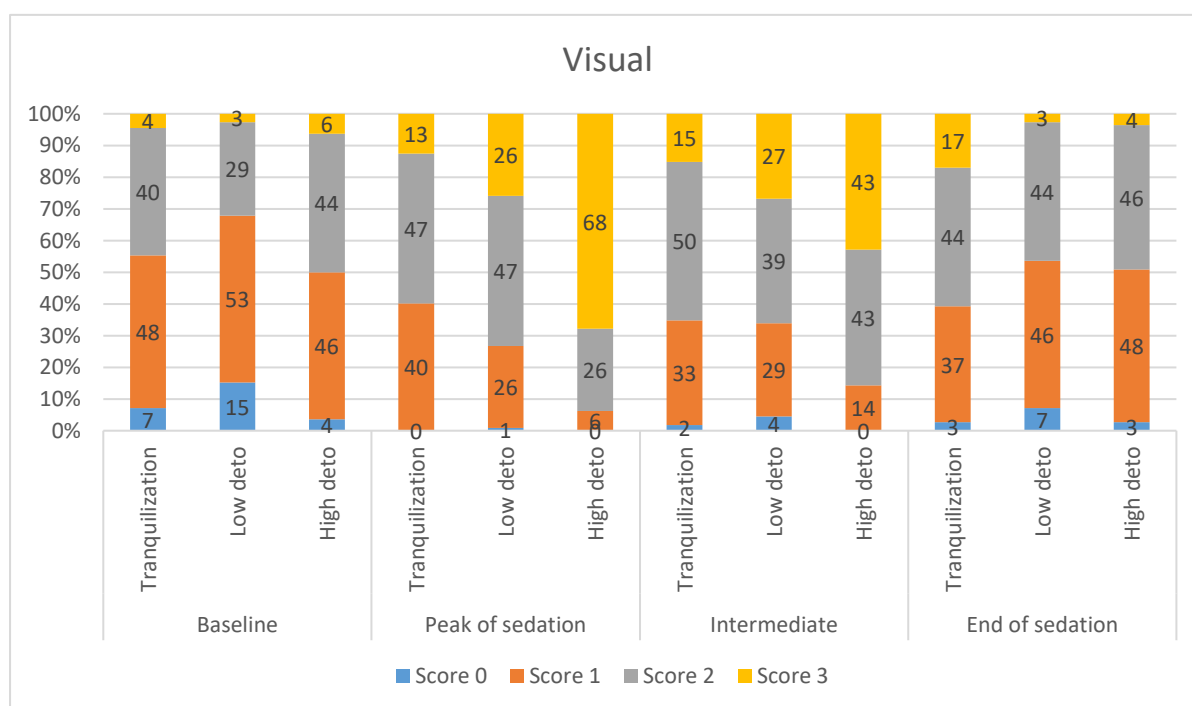
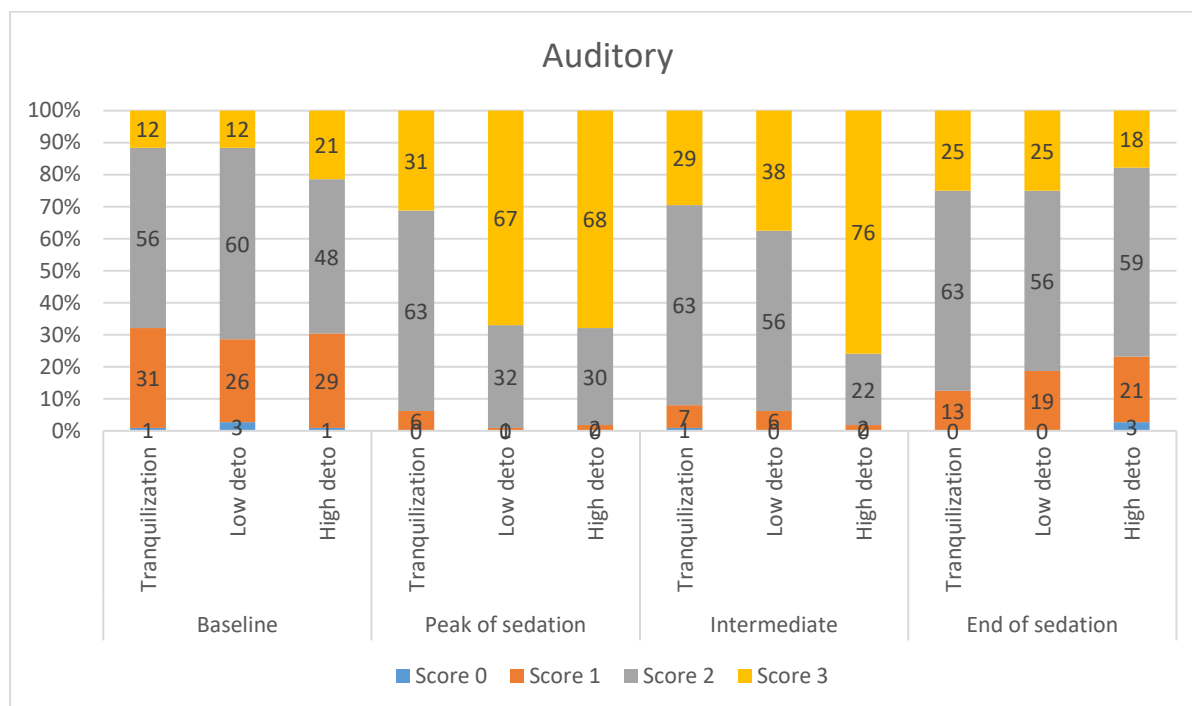


Fig 5. Distribuição de frequências dos escores da EquiSed antes e após a tranquilização (ACPL+ACPH), sedação com detomidina em dose baixa (DL+DLM) e detomidina em dose alta (DH+DHM). ACPL e ACPH - Acepromazina em dose baixa e alta respectivamente, DL e DLM - Detomidina em dose baixa e associada à metadona respectivamente, DH e DHM - Detomidina em dose alta e associada. Baseline - momento basal, Deep - pico de sedação, Intermediate -

536 sedação intermediária e End - final da sedação.

537 **Discussão**

538 A EquiSed é aplicável para estudos experimentais e clínicos, já que identificou a
539 sedação em equinos segundo os critérios de validação e confiabilidade utilizados em
540 escalas de dor em diversas espécies animais e no homem [22,24,25,27,28,46–48].

541 A validação deste instrumento se baseou na observação da resposta
542 comportamental [49], de cavalos em seu estado natural e sob efeito de fármacos.
543 Para a EquiSed procurou-se avaliar as respostas comportamentais frente aos
544 estímulos descritos na literatura desde a década de 90 [1,7,9,13–15,17,33,34], para
545 padronizar a metodologia e avaliar a reprodutibilidade de estudos futuros.

546 Os fármacos selecionados para este estudo são amplamente utilizados na
547 literatura [50,51]. A acepromazina e a detomidina isoladas ou associadas à opióides
548 produzem tranquilização e sedação e espera-se graus diferentes de hiporreatividade
549 aos estímulos ambientais.

550 Para validar a escala e garantir confiabilidade em seu uso clínico e
551 experimental, selecionou-se avaliadores experientes na prática com sedação em
552 equinos. Normalmente em outras métricas, especialmente na área de dor, incluem-
553 se avaliadores inexperientes no processo de validação, para maior abrangência em
554 aplicar a escala [52]. Já para o uso do instrumento ora proposto requer-se avaliadores
555 experientes com sedação em cavalos até que se valide a escala por avaliadores
556 inexperientes.

557 A metodologia utilizada para validação e avaliação da confiabilidade intra e
558 interobservadores foi semelhante à descrita para validar escalas de dor em animais
559 [22,24–28,53], o que inclui avaliadores encobertos observando vídeos aleatorizados
560 quanto ao momento para minimizar o viés de interpretação, [54].

561 A validade de conteúdo avalia a representatividade dos itens [55] e se
562 correlaciona com a repetibilidade e reprodutibilidade da escala [56]. Aprimorou-se e
563 detalhou-se os estímulos já descritos e reproduzidos na literatura (Tabela 1) e outros
564 pesquisadores experientes não participantes do estudo avaliaram a relevância e
565 clareza da descrição de todos os itens [37,57], em consonância com o processo de
566 validação de outras escalas em animais [24,27,41].

A interpretação de um instrumento depende de resultados confiáveis [58]. Os fatores que afetam a confiabilidade são a fadiga do avaliador, a falta de prática e experiência em avaliar o atributo e a descrição inadequada dos itens que compõem o instrumento [56]. Embora os avaliadores fossem anestesiistas experientes, experiência geral não garante uma boa confiabilidade de um atributo específico [59]. A familiarização com o instrumento por meio de vídeos demonstrativos de cada comportamento, garantiu a aquisição de experiência [60,61], o que assegurou uma boa confiabilidade intra e interobservadores já na fase de treinamento. Evitou-se a fadiga ao se instruir os avaliadores a assistirem os vídeos por até no máximo uma hora por dia e a validade do conteúdo garantiu uma descrição adequada da escala [56].

A despeito dos cuidados anteriores, as confiabilidades intra e interobservadores para o estímulo auditivo e a instabilidade postural apresentaram os piores resultados em relação às demais, entretanto mesmo assim as confiabilidades intraobservadores para a somatória da EquiSed foi a única escala a apresentar confiabilidade intraobservador muito boa (0.84 – 0.94) para todos os observadores. Já as confiabilidades interobservadores da EquiSed, EN e EAV sedação foram similares. A subjetividade das escalas multidimensionais, especialmente da EDS, podem comprometer a fidedignidade ao se comparar resultados de diferentes estudos [3,5,7]. Na avaliação de dor em cães também se observou resultados inconsistentes de confiabilidade interobservadores para a EDS [62].

A validade de critério concorrente mensura o quanto o novo instrumento se correlaciona aos já consagrados [39,52]. Dada a ausência de escalas validadas para avaliar a sedação em equinos, comparou-se a EquiSed com aquelas frequentemente utilizadas na literatura, a EAV, EDS, EN e ACAC%.

As escalas unidimensionais e ACAC% apresentaram boas correlações com a EquiSed durante a sedação detomidina alta (Tabela 5), porém a correlação com as escalas unidimensionais foi média durante a sedação detomidina baixa e a tranquilização e pobre quando correlacionada a ACAC%, o que demonstra uma redução da linearidade entre os instrumentos [63] na medida que diminui a intensidade da sedação. Entretanto a baixa linearidade entre as escalas nos graus mais leves de sedação não impediu que todas apresentassem responsividade.

Ao se submeter uma escala de sedação à validade de construto para avaliar a responsividade (Tabela 5), procura-se identificar diferenças entre os momentos antes e após a sedação/tranquilização e diferenças entre tratamentos e doses [64], como fármacos da classe dos α -2 adrenérgicos [13] ou tranquilizantes como a acepromazina [65,66]. Neste sentido procurou-se incluir os possíveis fármacos e associações utilizadas no cenário clínico e experimental, bem como diferentes doses para se avaliar o possível efeito da dose nos valores dos escores.

Constatou-se na responsividade da EquiSed e escalas unidimensionais que o efeito tranquilizante da acepromazina permaneceu mais intenso que o basal por até 120 minutos [12,67] e neste momento ainda foi maior que os tratamentos com detomidina (Tabela 5). Por este motivo, estudos que utilizam acepromazina, devem considerar seu prolongado efeito tranquilizante. As escalas não diferenciaram o efeito dose resposta da inclusão da metadona em cada dose de detomidina. Todos os itens tem capacidade em contribuir para aumentar a pontuação da EquiSed quando tratados com detomidina alta, já que apresentaram aumentos significativos ($p < 0.05$) em momentos de pico de sedação e/ou sedação intermediária (Tabela 5). Os itens que contribuem para a pontuação da sedação em cavalos tratados com acepromazina são instabilidade postural, estímulo auditivo e visual.

As diferenças entre tratamentos identificados pela responsividade no momento pico de sedação pela EquiSed corroboram com o gráfico gerado pela PCA de tratamentos (Fig 3), pois observou-se para os tratamentos ACPH, DL e DLM, semelhança estatística na responsividade e a proximidade das elipses representativas desses tratamentos na PCA. Entretanto, a EquiSed não identificou diferenças entre ACPH e ACPL na responsividade, o que sugere uma intermedialidade do ACPH com a tranquilização ACPL e com sedação detomidina baixa (DL+DLM). Pelo motivo de que o ACPH tem característica tranquilizante, optou-se por mantê-lo como sedação representativa tranquilização para interpretação de algumas análises.

A análise de componentes principais identifica como as variáveis se agrupam em fatores ou dimensões [68], para determinar a extensão da escala (Tabela 2) [69]. Todos os estímulos foram aprovados na escala [70,71] e como o estímulo se enquadrou na segunda dimensão, as escala se consolidou como bidimensional. Os

vetores representativos de cada estímulo, representado no Biplot pela figura 4, ilustraram a influência de cada item pelos momentos de pico de sedação e intermediário, visto que todos os vetores direcionaram-se para o lado direito do gráfico, onde esses momentos, representados pelas elipses, se encontram.

A correlação item-total confirmou a homogeneidade e importância de cada item da EquiSed [72], demonstrando que todos os itens contribuem para a pontuação final. A consistência interna que correlaciona os diferentes itens da escala, foi aceitável para todos os itens o que sugere que todos os itens para a escala como um todo, são representativos para avaliar a sedação em equinos [39].

A sensibilidade e a especificidade avaliam a acurácia em identificar animais sedados e não sedados respectivamente. A baixa sensibilidade para os estímulos táteis nos membros foi uma surpresa, pois os α -2 adrenérgicos reduzem esta resposta [9]. As possíveis explicações para tais resultados são que o efeito é dose-dependente e embora doses altas, como 20 μ g/kg, inibam a resposta aos estímulos táteis nos membros [15], o mesmo não ocorre em doses baixas. Em consonância com esta afirmação observa-se que a sensibilidade ficou próxima ao valor aceitável (0.70) nos cavalos sedados com as doses mais altas de detomidina e quando a detomidina foi associada à metadona. Uma outra possível explicação é que baixas doses de detomidina não reduzem de forma tão intensa atividade locomotora e não geram tanta ataxia quando [9] comparadas às doses maiores que 5 μ g/kg. Neste estudo não se constatou máxima ataxia, o que corrobora a ausência de supressão da resposta aos estímulos táteis nos membros.

Quanto à especificidade, apenas os itens pressão nos membros foram específicos. Os demais itens foram inespecíficos porque atribuiu-se o escore 1 no momento basal com alta frequência. A reduzida especificidade pode ser justificada pela docilidade dos animais, em que, acostumados ao manejo, não respondem comportamentos característicos do escore zero, sendo esta uma das limitações citadas neste estudo. Uma opção para melhorar a especificidade seria unir os escores 0 e 1 e suas descrições e considerá-los como ausência de sedação (escore 0), entretanto o escore 1 também ocorreu nos momentos de sedação, desta forma preferiu-se manter a forma original, visto que é mais importante que a escala detecte sedação em momentos nos quais o animal encontra-se sedado.

Os cavalos submetidos à dose mais alta de detomidina isolada e associada à metadona apresentaram altos escores de sedação segundo a EquiSed, em consonância com o aumento dos limiares nociceptivos mecânicos, térmicos e elétricos, avaliados paralelamente em outro estudo [20]. Tal aumento de limiar nociceptivo foi semelhante para DLM, entretanto neste estudo, não identificou-se semelhança de sedação entre cavalos tratados com DH + DHM com cavalos tratados com DL + DLM. A comparação desses dados sugere que a metadona auxilia no aumento do limiar nociceptivo em cavalos submetidos à sedação com $\alpha 2$ agonistas, mas não necessariamente na sedação.

Os estímulos utilizados para avaliar a sedação neste estudo foram compilados de estudos anteriores, entretanto há uma grande variedade de métodos para avaliar os estímulos auditivo e visual. Na literatura o bater de palmas atrás do animal foi diversas vezes avaliado de forma simultânea e combinada com o estímulo visual, quando apresentou [9] ou não diferenças significativas [15] entre animais sedados e não sedados. Tal fato dificulta comparar o estímulo auditivo a estudos prévios. Os trabalhos que avaliaram o estímulo auditivo de forma isolada ao visual não apresentaram metodologia padronizada, o que dificulta sua reprodutibilidade e/ou aplicabilidade [7,16,18,19]. Neste estudo optou-se por bater palma como estímulo auditivo e abrir um guarda chuva para o estímulo visual devido à sua fácil aplicabilidade e ambos foram responsivos em avaliar a sedação em equinos. Não se pode afirmar que as respostas seriam as mesmas frente à outras formas de estímulos auditivo ou visual.

Deve-se considerar também que os estímulos auditivo e visual podem ser de difícil aplicabilidade na prática clínica, além de que podem assustar os animais que o recebem. Por este motivo, eles podem ser retirados da escala com a garantia de que a escala ainda será responsiva, visto que todos os itens da EquiSed apresentaram responsividade aos tratamentos aplicados.

A avaliação de instabilidade postural (enquanto parado) e ataxia (em movimento), já foi avaliada por diferentes escalas como o EAV e EN. Ambas as escalas comprovadamente identificam diferenças ao longo do tempo, porém já foram ineficazes em demonstrar diferenças entre tratamentos [5]. Diferentemente neste estudo, o EAV aplicado para a instabilidade postural identificou diferenças entre

tratamentos em todos os momentos, inclusive no momento com ausência de sedação. Apesar da diferença metodológica entre este estudo, que foi realizado por vídeo com encobrimento de momentos, com os demais estudos, que foram realizados in loco sem encobrimento de momentos, pode-se afirmar que a atribuição de escores para EAV IP é um parâmetro subjetivo que pode não ser fideigno para este fim de avaliação.

Limitações do estudo

Uma das limitações do estudo, como já citada acima, foi o temperamento dócil dos cavalos, o que possivelmente explica a ausência da especificidade de alguns estímulos da EquiSed, pois os cavalos não respondiam aos estímulos, o que fez os observadores atribuírem escores acima de zero no momento basal. Provavelmente cavalos sob estresse ou agitados apresentem pontuações mais baixas em todos os itens da escala antes da sedação. Para suprir esta deficiência a escala deveria ser aplicada em animais de diferentes temperamentos para confirmar ou não tal consideração.

Uma outra limitação foi que o desempenho das escalas unidimensionais pode ter sido inflado pela experiência dos avaliadores e pelo conhecimento prévio dos indicadores comportamentais de sedação descritos na EquiSed.

Conclui-se que a EquiSed apresenta confiabilidade intra e interobservadores e validade de conteúdo, critério e construto em equinos tranquilizados com acepromazina ou sedados com detomidina isolada ou associada à metadona.

Declaração de interesses dos autores

Não há conflito de interesses a declarar

Comitê de ética para pesquisa animal

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais para pesquisa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil, sob o protocolo 2017/0051.

Consentimento do tutor:

727 Não aplicável

728

729 **Fonte de fomento**

730 Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP), bolsa de
731 doutorado processo 2017/16208-0 e projeto temático 2017/12512-0.

732

733 **Agradecimentos**

734 Agradecemos aos colegas que gentilmente analisaram a escala desenvolvida para
735 uma das etapas da validação desta escala: Marilda Taffarel, Flávia de Oliveira e
736 Carlize Lopes. Agradecemos Altamiro Rosam pelo cuidado e dedicação aos animais
737 usados neste estudo. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
738 (FAPESP), processo número 2017/16208-0 e projeto temático processo número
739 2017/12815-0. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de
740 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de
741 Financiamento 001.

742

743 **Autores**

744 Alice R. de Oliveira contribuiu para a idealização, desenvolvimento, execução, análise
745 e interpretação de dados e preparação do manuscrito. Miguel Gozalo-Marcilla
746 contribuiu com a idealização, desenvolvimento, execução e preparação do
747 manuscrito. Miguel Gozalo-Marcilla, Simone K. Ringer, Stijn Schauvliege contribuíram
748 com a idealização, avaliação dos vídeos e correções do manuscrito do estudo.
749 Mariana W. Fonseca e José Nicolau P. P. Filho contribuiu com desenvolvimento e
750 execução do estudo. Pedro Henrique Esteves Trindade contribuiu com análise
751 estatística e interpretação de dados. Stelio P.L. Luna contribuiu com a idealização,
752 desenvolvimento, interpretação de dados, preparação do manuscrito e correção final
753 do manuscrito.

754

755 **Endereço das Empresas**

756 ^aDelta Med Srl, Italy.

757 ^bOurofino Saúde Animal, São Paulo, Brazil.

758 ^cCristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, São Paulo, Brazil.

^dDigicare Biomedical Technology Inc, Florida, USA.

^eFresenius Vial, Brezins, France.

^fVetnil Indústria e Comércio de Produtos Veterinários Ltda, Louveira, São Paulo, Brazil.

Material Suplementar

1. Diretrizes para avaliação e preenchimento das planilhas no processo de validação da Escala de sedação em equinos (EquiSed).

Dear Evaluator,

Please read carefully the following instructions before you start.

Explanation of videos:

Please open the file “1st Randomization - main analysis - videos”

At each video the sequence of the stimuli is: Touch the ear, press the coronary band of the thoracic limb, press the coronary band of the pelvic limb, auditory, visual and postural instability. Please ignore and do not evaluate the stimulus on the scapula of the horse. This stimulus was removed from the scale because the horses did not show a consistent response.

The files send in word documents attached to be filled for each step of the evaluation consist of different Scales: 1. The “**Numerical Scale**”, consisting of 1 for no sedation and 10 for the maximum possible sedation; 2. The “**Simple Descriptive Scale**” to be filled from 0 to 3, according to the scale presented in the other word document attached (training word file); 3. The “**Visual Analogue Scale (VAS) for general scale**”, considering the left as no sedation and the right as maximum sedation possible; 4. The “**Visual Analogue Scale (VAS) for postural instability**”, considering the left as animal completely stable and the right as very unstable (risk of falling); 5. The “**EquiSed**” to fill the score of each variable, according to the scale presented in the other word document attached (training word file).

The analysis is described in steps:

- Familiarization of the scales
- 1st training
- 2nd training
- 1st part of the final evaluation
- 2nd part of the final evaluation

1. Familiarization: Please read the scales before starting the analysis and watch the videos included in “Video examples” file exemplifying each item of the general scale of sedation. If you have any doubts, suggestions or concerns, please contact us before starting the analysis. This will take about one hour of your time.

Steps **2** and **3** are important to guarantee a good intra-observer confiability

2. 1st training: The file will be shared with you on google drive: “1st Randomization – training videos” containing the videos numbered as “1, 2, 3, 4 ...16.

This analysis will take about two hours of your time.

Deadline: _____

After that, once you receive the new lot of videos, you should follow the instructions below.

3. 2nd training: The file will be shared with you on google drive:

“2nd Randomization – training videos” file containing the videos numbered as “1, 2, 3, 4 ...16.

This analysis will take about two hours of your time.

Deadline: _____

After that, once you receive the new lot of videos, you should follow the instructions below.

4. 1st part of the main evaluation: The file will be shared with you on google drive:

821 “1st Randomization – main analysis - videos” file containing the videos numbered as
 822 “1, 2, 3, 4 ... 168”.

823 This analysis will take about 8 hours of your time.

824 Deadline: _____

825 After that, once you receive the new lot of videos, you should follow the instructions
 826 below.

827

828 **5. 2nd part of the main evaluation:** The file will be shared with you on google drive:

829 “2nd Randomization – main analysis videos” file containing the videos numbered as
 830 “1, 2, 3, 4 ... 168”.

831 This analysis will take about 8 hours of your time.

832 Deadline: _____

833

834 **6.** For all steps you can watch each video the number of times you consider necessary
 835 to fill out the scales. The scales must be filled in the order of the sheet in word
 836 document attached: 1. The **Numerical Scale**; 2. The **Simple Descriptive Scale**; 3.
 837 The **Visual Analogue Scale (VAS) for general scale**; 4. The **Visual Analogue Scale**
 838 **(VAS) for postural instability**, 5. The **EquiSed**.

839

840 **7.** We strongly recommend you should not perform the analysis longer than 1 hour a
 841 day, as the fatigue may compromise the quality of the analysis.

842

843 **8.** The beginning and deadline of each step is described in the table below. If it is not
 844 possible to follow the schedule, please let us know. It's more important for us that the
 845 scales are filled carefully than complying the schedule.

846

847 **9.** After the conclusion of each phase, please send the word files to Alice Rodrigues
 848 de Oliveira (aliceoliveira.br@gmail.com).

849

850 Thank you for your contribution!

851 Best regards

852 Table 1. Schedule

Steps	Start	Deadline	Action	Name of the file	Expected time
Familiarization with the scales			Analysis of the videos exemplifying each item of the scale for doubts or concerns	Video examples	1 hour
1 st training			Analysis of 16 videos	1 st Randomization – training videos	2 hours
2 nd training			Analysis of 16 videos	2 nd Randomization – training videos	2 hours
1 st part of the main analysis			Analysis of 168 videos	1 st Randomization – main analysis videos	8 hours
2 nd part of the main analysis			Analysis of 168 videos	2 nd Randomization – main analysis videos	8 hours

853

854

855

Referências

- 856 1. Potter, J.J., Macfarlane, P.D., Love, E.J., Tremaine, H., Taylor, P.M. and
857 Murrell, J.C. (2016) Preliminary investigation comparing a detomidine
858 continuous rate infusion combined with either morphine or buprenorphine for
859 standing sedation in horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **43**, 189–194.
- 860 2. Johnston, G.M., Eastment, J.K., Wood, J.L.N. and Taylor, P.M. (2002) The
861 confidential enquiry into perioperative equine fatalities (CEPEF): mortality
862 results of Phases 1 and 2. *Vet Anaesth Analg* **29**, 159–170.
- 863 3. Ringer, S.K., Portier, K.G., Fourel, I. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2012)
864 Development of a xylazine constant rate infusion with or without butorphanol
865 for standing sedation of horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **39**, 1–11.
- 866 4. Gozalo-Marcilla, M., Luna, S.P., Gasthuys, F., Pollaris, E., Vlaminck, L.,

- Martens, A., Haspeslagh, M. and Schauvliege, S. (2019) Clinical applicability of detomidine and methadone constant rate infusions for surgery in standing horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **46**, 325–334.
<https://doi.org/10.1016/j.vaa.2019.01.005>.
5. Ringer, S.K., Portier, K.G., Fourel, I. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2012) Development of a romifidine constant rate infusion with or without butorphanol for standing sedation of horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **39**, 12–20.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22151873>. Accessed February 27, 2017.
 6. Schauvliege, S., Cuypers, C., Michielsen, A., Gasthuys, F. and Gozalo-Marcilla, M. (2019) How to score sedation and adjust the administration rate of sedatives in horses: a literature review and introduction of the Ghent Sedation Algorithm. *Vet. Anaesth. Analg.* **46**, 4–13.
<https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.08.005>.
 7. Ringer, S.K., Portier, K., Torgerson, P.R., Castagno, R. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2013) The effects of a loading dose followed by constant rate infusion of xylazine compared with romifidine on sedation, ataxia and response to stimuli in horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **40**, 157–165.
 8. Risberg, A., Spadavecchia, C., Ranheim, B., Krontveit, R. and Haga, H.A. (2014) Antinociceptive effects of three escalating dexmedetomidine and lignocaine constant rate infusions in conscious horses. *Vet. J.* **202**, 489–497.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.09.007>.
 9. Gozalo-Marcilla, M., Luna, S.P., Crosignani, N., Filho, J.N.P., Possebon, F.S., Pelligand, L. and Taylor, P.M. (2017) Sedative and antinociceptive effects of different combinations of detomidine and methadone in standing horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **44**, 1116–1127.
 10. Hamm, D. and Jöchle, W. (1991) Sedation and analgesia with dormosedan® (Detomidine hydrochloride) or acepromazine for suturing of the vulvar lips in mares (Caslick's surgery). *J. Equine Vet. Sci.* **11**, 86–88.
 11. Taylor, P., Coumbe, K., Henson, F., Scott, D. and Taylor, A. (2014) Evaluation of sedation for standing clinical procedures in horses using detomidine combined with buprenorphine. *Vet. Anaesth. Analg.* **41**, 14–24.
 12. Poller, C., Hopster, K., Rohn, K. and Kästner, S.B.R. (2013) Nociceptive

- thermal threshold testing in horses - effect of neuroleptic sedation and neuroleptanalgesia at different stimulation sites. *BMC Vet. Res.* **9**.
13. Bryant, C.E., England, G.C.W. and Clarke, K.W. (1991) A Comparison of the Sedative Effects of Medetomidine and Xylazine in the Horse. *Vet. Anaesth. Analg.* **18**, 55–57.
 14. Clarke, K.W., England, G.C.W. and Goossens, L. (1991) Sedative and cardiovascular effects of romifidine, alone and in combination with butorphanol, in the horse. *Vet. Anaesth. Analg.* **18**, 25–29.
 15. England, G.C., Clarke, K.W. and Goossens, L. (1992) A comparison of the sedative effects of three alpha 2-adrenoceptor agonists (romifidine, detomidine and xylazine) in the horse. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **15**, 194–201.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1359161>. Accessed February 27, 2017.
 16. Mama, K.R., Grimsrud, K., Snell, T. and Stanley, S. (2009) Plasma concentrations, behavioural and physiological effects following intravenous and intramuscular detomidine in horses. *Equine Vet. J.* **41**, 772–777.
 17. Love, E.J., Taylor, P.M., Murrell, J., Whay, H.R. and Waterman-Pearson, a E. (2011) Assessment of the sedative effects of buprenorphine administered with 10 µg/kg detomidine in horses. *Vet. Rec.* **168**, 379.
 18. Grimsrud, K.N., Mama, K.R., Steffey, E.P. and Stanley, S.D. (2012) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous medetomidine in the horse. *Vet. Anaesth. Analg.* **39**, 38–48.
 19. L'Ami, J.J., Vermunt, L.E., Loon, J.P.A.M. van and Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M. (2013) Sublingual administration of detomidine in horses: Sedative effect, analgesia and detection time. *Vet. J.* **196**, 253–259.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.08.016>.
 20. Gozalo-Marcilla, M., Oliveira, A.R. de, Fonseca, M.W., Possebon, F.S., Pelligand, L., Taylor, P.M. and Luna, S.P.L. (2018) Sedative and antinociceptive effects of different detomidine constant rate infusions, with or without methadone in standing horses. *Equine Vet. J.* .
<http://doi.wiley.com/10.1111/evj.13054>. Accessed April 16, 2019.
 21. Medeiros, L.Q., Gozalo-Marcilla, M., Taylor, P.M., Campagnol, D., Oliveira, F.A. De, Watanabe, M.J. and Araujo Aguiar, A.J. De (2017) Sedative and

- cardiopulmonary effects of dexmedetomidine infusions randomly receiving, or not, butorphanol in standing horses. *Vet. Rec.* **181**.
22. Brondani, J.T., Mama, K.R., Luna, S.P.L., Wright, B.D., Niyom, S., Ambrosio, J., Vogel, P.R. and Padovani, C.R. (2013) Validation of the English version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. *BMC Vet. Res.* **9**, 143.
<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/143>.
23. Brondani, J.T., Luna, S.P.L., Minto, B.W., Santos, B.P.R., Beier, S.L., Matsubara, L.M. and Padovani, C.R. (2012) Validade e responsividade de uma escala multidimensional para avaliação de dor pós-operatória em gatos. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* **64**, 1529–1538.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352012000600019&lng=pt&nrm=iso&tlng=en. Accessed February 28, 2017.
24. Brondani, J.T., Luna, S.P.L. and Padovani, C.R. (2011) Refinement and initial validation of a multidimensional composite scale for use in assessing acute postoperative pain in cats. *Am. J. Vet. Res.* **72**, 174–183.
25. Monteiro, B.P., Steagall, P.V.M., Lavoie, A., Frank, D., Troncy, E., Luna, S.P.L. and Brondani, J.T. (2015) Validation of the French version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. In: *Proceedings of the 12th World Congress of Veterinary Anaesthesiology*. pp 184–184.
26. Rocca, G. Della, Brondani, J.T., Augusta De Oliveira, F., Crociati, M., Sylla, L., Ngonput, A.E., Salvo, A. Di, Pacca, S. and Luna, L. (2016) Validation of the Italian version of the UNESP-BOTUCATU unidimensional composite pain scale for the assessment of postoperative pain in cattle.
[http://www.vaajournal.org/article/S1467-2987\(17\)30087-9/pdf](http://www.vaajournal.org/article/S1467-2987(17)30087-9/pdf). Accessed June 8, 2017.
27. Taffarel, M.O., Luna, S.P.L., Oliveira, F.A. de, Cardoso, G.S., Alonso, J. de M., Pantoja, J.C., Brondani, J.T., Love, E., Taylor, P., White, K. and Murrell, J.C. (2015) Refinement and partial validation of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in horses. *BMC Vet. Res.* **11**, 83.

28. Oliveira, F.A. de, Luna, S.P.L., Amaral, J.B. do, Rodrigues, K.A., Sant'Anna, A.C., Daolio, M. and Brondani, J.T. (2014) Validation of the UNESP-Botucatu unidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cattle. *BMC Vet. Res.* **10**, 200.
29. Ringer, S.K., Schwarzwald, C.C., Portier, K.G., Ritter, A. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2013) Effects on cardiopulmonary function and oxygen delivery of doses of romifidine and xylazine followed by constant rate infusions in standing horses. *Vet. J.* **195**, 228–234.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.06.036>.
30. Marly, C., Bettschart-Wolfensberger, R., Nussbaumer, P., Moine, S. and Ringer, S.K. (2014) Evaluation of a romifidine constant rate infusion protocol with or without butorphanol for dentistry and ophthalmologic procedures in standing horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **41**, 491–497.
31. Seo, J.P., Son, W.G., Gang, S. and Lee, I. (2011) Sedative and analgesic effects of intravenous xylazine and tramadol on horses. *J. Vet. Sci.* **12**, 281–286.
32. Love, E.J., Taylor, P.M., Murrell, J. and Whay, H.R. (2012) Effects of acepromazine, butorphanol and buprenorphine on thermal and mechanical nociceptive thresholds in horses. *Equine Vet. J.* .
33. Gardner, R. and White, G. (2010) Efficacy of sublingual administration of detomidine gel for sedation of horses undergoing veterinary and husbandry procedures under field conditions. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **237**, 1459–1464.
<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.237.12.1459>.
34. Dalla Costa, E., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E. and Leach, M.C. (2014) Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration. *PLoS One* **9**, e92281.
<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0092281>. Accessed May 16, 2017.
35. Rettig, M.J., Leelamankong, P., Rungsri, P. and Lischer, C.J. (2016) Effect of sedation on fore- and hindlimb lameness evaluation using body-mounted inertial sensors. *Equine Vet. J.* **48**, 603–607.
36. Gozalo-Marcilla, M., Moreira da Silva, R., Pacca Loureiro Luna, S., Rodrigues de Oliveira, A., Werneck Fonseca, M., Peporine Lopes, N., Taylor, P.M. and

Pelligand, L. (2019) A possible solution to model nonlinearity in elimination and distributional clearances with α 2-adrenergic receptor agonists: Example of the intravenous detomidine and methadone combination in sedated horses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1–7.

37. Jensen, M.P. (2003) Questionnaire Validation: A Brief Guide for Readers of the Research Literature. *Clin. J. Pain* **19**, 345–352.
38. Kaiser, H.F. (1958) The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika* **23**, 187–200.
39. Streiner, D.L., Norman, G.R. and Cairney, J. (2015) *Health measurement scales: a practical guide to their development and use*, Oxford University Press.
40. Miot, H.A. (2016) Análise de concordância em estudos clínicos e experimentais. *J. Vasc. Bras.* **15**, 89–92.
41. Streiner, D. IL. and Norman, G.R. (2008) *Health Measurement Scales: a practical guide to their development and use*, 4nd ed., Oxford University Press, New York.
42. Cronbach, L. (1951) Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika* **16**, 297–333.
43. Streiner, D.L. (2003) Starting at the beginning: An introduction to coefficient alpha and internal consistency. *J. Pers. Assess.* **80**, 99–103.
44. Bussi res, G., Jacques, C., Lainay, O., Beauchamp, G., Leblond, A., Cador , J.-L., Desmaizi res, L.-M., Cuvellez, S.G. and Troncy, E. (2008) Development of a composite orthopaedic pain scale in horses. *Res. Vet. Sci.* **85**, 294–306. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18061637>. Accessed June 8, 2017.
45. Altman, D. (1990) Some common problems in medical research. In: *Pratical statistics for medical research*. pp 404–408.
46. Sessler, C.N., Gosnell, M.S., Grap, M.J., Brophy, G.M., O’Neal, P. V., Keane, K.A., Tesoro, E.P. and Elswick, R.K. (2002) The Richmond Agitation-Sedation Scale: Validity and reliability in adult intensive care unit patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **166**, 1338–1344.
47. Lemos, J. De, Tweeddale, M. and Chittock, D. (2000) Measuring quality of sedation in adult mechanically ventilated critically ill patients: The Vancouver

- Interaction and Calmness Scale. *J. Clin. Epidemiol.* **53**, 908–919.
48. Ashkenazy, S. and DeKeyser-Ganz, F. (2011) Assessment of the reliability and validity of the Comfort Scale for adult intensive care patients. *Hear. Lung* **40**, e44-51 1p. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hrtlng.2009.12.011>.
49. Vet, H.C.W. de, Terwee, C.B., Mokkink, L.B. and Knol, D.L. (2011) *Measurement in Medicine A Practical Guide*, Cambridge University Press.
50. Lopes, C., Luna, S.P.L., Rosa, A.C., Quarterone, C., Crosignani, N., Taylor, P.M., Pantoja, J.C. and Puoli, J.N.P. (2016) Antinociceptive effects of methadone combined with detomidine or acepromazine in horses. *Equine Vet. J.* .
51. Oliveira, F.A. de, Pignaton, W., Teixeira-Neto, F.J., Queiroz-Neto, A. de, Puoli-Filho, J.N.P., Scognamillo, M.V.R., Viveiros, B.M. and Luna, S.P.L. (2014) Antinociceptive and Behavioral Effects of Methadone Alone or in Combination with Detomidine in Conscious Horses. *J. Equine Vet. Sci.* **34**, 380–386. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080613004693>. Accessed June 9, 2017.
52. Merola, I. and Mills, D.S. (2016) Systematic review of the behavioural assessment of pain in cats. *J. Feline Med. Surg.* **18**, 60–76. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1098612X15578725>.
53. Luna, S.P.L., Araújo, A.L. de, Nóbrega Neto, P.I. da, Brondani, J.T., Oliveira, F.A. de, Santos Azerêdo, L.M. dos, Telles, F.G. and Trindade, P.H.E. (2020) Validation of the UNESP-Botucatu pig composite acute pain scale (UPAPS). *PLoS One* **15**, 1–27.
54. Tuytens, F.A.M., Graaf, S. de, Heerkens, J.L.T., Jacobs, L., Nalon, E., Ott, S., Stadig, L., Laer, E. Van and Ampe, B. (2014) Observer bias in animal behaviour research: Can we believe what we score, if we score what we believe? *Anim. Behav.* **90**, 273–280. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.02.007>.
55. McDowell, I. (2006) *Measuring Health: A Guide to Rating Scales (Book)*., Third Edit., Oxford University Press.
56. Martin, P. and Bateson, P. (2007) *Measuring Behaviour*, Cambridge University Press, Cambridge. <http://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9780511810893>.

Accessed January 20, 2020.

57. Waltz, C., Strickland, O. and Lenz, E. (2010) *Measurement in nursing and health research: Fourth edition*.
<https://books.google.com.sa/books?id=1xAdjkR14ocC>.
58. Cook, D.A. and Beckman, T.J. (2006) Current concepts in validity and reliability for psychometric instruments: Theory and application. *Am. J. Med.* **119**, 166.e7-166.e16.
59. Roughan, J. V. and Flecknell, P.A. (2006) Training in behaviour-based post-operative pain scoring in rats - An evaluation based on improved recognition of analgesic requirements. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **96**, 327–342.
60. Langford, D.J., Bailey, A.L., Chanda, M.L., Clarke, S.E., Drummond, T.E., Echols, S., Glick, S., Ingrao, J., Klassen-Ross, T., LaCroix-Fralish, M.L., Matsumiya, L., Sorge, R.E., Sotocinal, S.G., Tabaka, J.M., Wong, D., Maagdenberg, A.M.J.M. van den, Ferrari, M.D., Craig, K.D. and Mogil, J.S. (2010) Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nat. Methods* **7**, 447–449. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20453868>.
 Accessed May 17, 2017.
61. Zhang, E.Q., Leung, V.S.Y. and Pang, D.S.J. (2019) Influence of rater training on inter- And intrarater reliability when using the rat grimace scale. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* **58**, 178–183.
62. Holton, L.L., Scott, E.M., Nolan, A.M., Reid, J., Welsh, E. and Flaherty, D. (1998) Comparison of three methods used for assessment of pain in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **212**, 61–66.
63. Akoglu, H. (2018) User's guide to correlation coefficients. *Turkish J. Emerg. Med.* **18**, 91–93.
64. Crellin, D., Sullivan, T.P., Babl, F.E., O'Sullivan, R. and Hutchinson, A. (2007) Analysis of the validation of existing behavioral pain and distress scales for use in the procedural setting. *Paediatr. Anaesth.* **17**, 720–733.
65. Luna, S.P.L., Angeli, A.L., Ferreira, C.L., Lettry, V. and Scognamillo-Szabó, M. (2008) Comparison of pharmacopuncture, aquapuncture and acepromazine for sedation of horses. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **5**, 267–272.
66. Driessen, B., Zarucco, L., Kalir, B. and Bertolotti, L. (2011) Contemporary use

of acepromazine in the anaesthetic management of male horses and ponies: A retrospective study and opinion poll. *Equine Vet. J.* **43**, 88–98.

67. Knych, H.K., Seminoff, K., McKemie, D.S. and Kass, P.H. (2018) Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and metabolism of acepromazine following intravenous, oral, and sublingual administration to exercised Thoroughbred horses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **41**, 522–535.
68. Plichta, S.B. and Kelvin, E.A. (2011) *Munro's statistical methods for health care research: Sixth edition*.
69. Gracely, R.H. (1992) Evaluation of multi-dimensional pain scales. *Pain* **48**, 297–300.
70. Pett, M., Lackey, N. and Sullivan, J. (2011) An Overview of Factor Analysis. *Mak. Sense Factor Anal.* 2–12.
71. Chapman, K.W., Lawless, H.T. and Boor, K.J. (2001) Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of ultrapasteurized milk. *J. Dairy Sci.* **84**, 12–20.
[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74446-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74446-3).
72. DeVellis, R.F. (2016) *Scale Development Theory and Applications* (Fourth Edition Robert). *SAGE Publ.* **4**, 256. <https://b-ok.cc>.
73. Clarke, K.W. and Taylor, P.M. (1986) Detomidine: A new sedative for horses. *Equine Vet. J.* **18**, 366–370.

CAPÍTULO 3

Trabalho normatizado para periódico Equine Veterinary Journal:
<https://beva.onlinelibrary.wiley.com/hub/journal/20423306/homepage/forauthors.html>

Desenvolvimento e validação da escala facial para avaliar sedação em equinos

A. R. OLIVEIRA[†], M. GOZALO-MARCILLA[‡], S. K. RINGER[§],
S.SCHAUVLIEGE[¶], M. W. FONSECA[†], P. H. E. TRINDADE[†], J. N. P. P.
FILHO[†]; S. P.L. LUNA^{†*}

[†] Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary
Medicine and Animal Science, São Paulo State University (Unesp), Botucatu, São
Paulo, Brazil.

[‡] The Royal (Dick) School of Veterinary Studies and Roslin Institute. The University of
Edinburgh, Midlothian, UK.

[§] Equine Department, Section of Anaesthesiology, Vetsuisse Faculty, University of
Zurich, Zurich, Switzerland.

[¶] Departament of Surgery and Anaesthesia of Domestic Animals, Faculty of Veterinary
Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium.

* Corresponding author: stelio.pacca@unesp.br

Resumo

Introdução: Embora se utilizem características faciais para se estimar a sedação em equinos, não há estudos que mensurem sua confiabilidade e reprodutibilidade.

Objetivos: Validar uma escala facial para avaliar a sedação em equinos (FaceSed).

Delineamento do estudo: Estudo aleatorizado controlado, prospectivo, encoberto, horizontal.

Métodos: Submeteu-se sete cavalos aos protocolos infusão de detomidina isolada em dose baixa ou alta por 120 min (DL 2.5 µg/kg + 6.25 µg/kg/h; DH 5 µg/kg + 12.5 µg/kg/h, respectivamente) ou associada à metadona (DLM e DHM, 0.2 mg/kg + 0.05mg/kg/h), bolus de acepromazina em dose baixa (ACPL 0.02 mg/kg) e alta (ACPH 0.09 mg/kg). Fotografou-se a face dos cavalos nos momentos basal, pico de sedação, sedação intermediária e recuperação da sedação. Após aleatorização dos momentos e tratamentos, enviou-se os vídeos a quatro pesquisadores para avaliarem duas vezes com um intervalo de um mês.

Resultados: Os itens da FaceSed apresentaram repetibilidade e reprodutibilidade moderada a muito boa (0.53 a 0.92) e razoável a muito boa (0.37 a 0.88), respectivamente. A validade de critério concorrente (correlação de Spearman) entre a somatória da FaceSed versus a escala numérica (EN) foi de 0.85, 0.91 e 0.95 para tranquilização (ACPL+ACPH), detomidina baixa (DL+DLM) e detomidina alta (DH+DHM), respectivamente. Todos os itens bem como a somatória da FaceSed apresentaram responsividade ($p < 0.05$). Pela análise de componentes principais caracterizou-se a FaceSed como unidimensional. A alta consistência interna (α de Cronbach = 0.83) indicou boa intercorrelação dos itens. O item olhos apresentou correlação item-total acima do valor sugerido entre 0.3 - 0.7 (0.73) indicando ausência de homogeneidade na escala. A sensibilidade de cada item variou de 82 a 97, corroborando com a maior frequência de escores 1 e 2 nos momentos de sedação. Já a especificidade variou de 44 a 82, devido a presença de escores 1 no momento basal.

Principais limitações: Utilizou-se fotos ao invés de vídeos para avaliar as características faciais.

Conclusões: A FaceSed é um instrumento com boa confiabilidade, consistência interna e validade de conteúdo, critério e construto para identificar tranquilização e sedação em equinos.

Palavras-chave: Cavalos, detomidina, escalas, maleato de acepromazina metadona, receptor adrenérgico α -2 agonista.

Introdução

A sedação e tranquilização para procedimentos em cavalos na posição quadrupedal é uma alternativa à anestesia geral [1], a fim de reduzir a alta mortalidade (0.9%) relacionada à anestesia nesta espécie [2,3].

Na literatura desenvolveram-se escalas com diferentes sistemas de pontuação para mensurar a qualidade e a intensidade da sedação de diversos protocolos [4]. Alguns métodos são objetivos como a altura da cabeça acima do chão [5–8] e outros subjetivos, como as escalas simples descritiva [1,9,10], numérica composta [11,12] e analógica visual [5,7]. As escalas subjetivas estão sujeitas à interpretação do avaliador e podem gerar diferenças de resultados com representatividade duvidosa ao se comparar os estudos.

Para não se manipular o cavalo ao se avaliar a sedação, adaptaram-se as escalas mais convenientes para propósito clínico [13,14] ou experimental [15]. Normalmente fazem parte das escalas de seção a instabilidade postural [6], resposta à ameaça, movimentação da cabeça, orelhas e abertura dos olhos [13,16]. Tais estímulos podem perturbar o animal e interferir no grau de sedação, o que é um problema especialmente em situações clínicas em que se deseja garantir uma boa sedação no transcorrer do procedimento.

Embora atributos da expressão facial se incluam nestes instrumentos, não se avaliou separadamente sua relevância para identificar a sedação [13,16]. Para preencher essas lacunas é importante submeter o instrumento a um processo de validação registrado em outros artigos que validaram escalas comportamentais [17–20] e faciais de dor [20–24]. Para tal avalia-se a repetibilidade e reprodutibilidade (confiabilidades intra e interobservadores respectivamente) e a validação dos três

'Cs', referentes a conteúdo, critério e construto que testa a responsividade da escala. Adicionalmente procede-se a análise de componentes principais, correlação item-total e consistência interna, sensibilidade e especificidade, e análise da distribuição de escores.

Baseado na hipótese de que a escala, de acordo com os critérios acima, mensura adequadamente a sedação por meio da expressão faciais, objetivou-se desenvolver e validar uma escala facial para avaliar a sedação em equinos (FaceSed) tranquilizados e sedados com diferentes doses de acepromazina e de detomidina isolada ou associada à metadona.

Materiais e métodos

Utilizaram-se três cavalos machos inteiros e quatro fêmeas castradas, mestiços de quarto de milha e apaloosa, pertencentes à fazenda experimental Edgardia, da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu. O critério de inclusão se baseou na normalidade dos exames físico e laboratorial (hemograma e bioquímico: uréia, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e gama glutamil transferase). Os cavalos pertenciam ao mesmo plantel, eram mantidos à pasto e alimentados com ração uma vez ao dia. Recolhiam-se os cavalos um dia antes do estudo, para mantê-los em instalações cobertas com água *ad libitum* e acesso à área externa. Estabeleceu-se jejum sólido de 2 horas antes do início do experimento realizado para cada animal em dias e períodos da manhã ou tarde fixos na semana, respeitando-se um prazo de carência de 7 dias entre os fármacos.

Dividiu-se o estudo em duas fases. A primeira foi oportunista ao desenvolvimento de outro estudo, quando se submeteu os equinos à infusão contínua de detomidina isolada ou associada à metadona [15]. Por tal motivo, o tamanho da amostra foi calculado para estudo original, utilizando-se a altura da cabeça em relação ao solo (ACAC) coletada durante o estudo piloto realizado para o estudo original[15], em que selecionou-se as doses e utilizou-se também a ACAC coletada de outro estudo outro estudo realizado com os mesmo animais [11], (https://www.statstodo.com/SSizUnpairedDiff_Pgm.php) ($\alpha = 0.05$, $\beta = 0.80$) O cálculo foi realizado com a diferença entre as médias da ACAC do momento basal e após

sedação e desvio padrão dos dois momentos juntos. Na segunda fase, submeteu-se os mesmos cavalos a duas doses de acepromazina em *bolus*.

Fase I

Após pesagem e encaminhamento dos cavalos à baia experimental, procedia-se a tricotomia e assepsia local e inseria e fixava-se um cateter 14-gauge (G14 x 70 mm)^a na veia jugular. Alocou-se os cavalos no tronco de contenção dentro da baia experimental, mensurou-se, por meio de uma régua fixada à parede, a altura da cabeça acima do chão (ACAC) sem perturbar o animal, mantendo-se uma distância de 1.5 m do cavalo e depois fotografou-se, nas posições lateral e oblíqua crânio-caudal a face dos cavalos para registro do momento basal. Na sequência, realizou-se estímulos táteis [15,25], auditivos e visuais para avaliar a profundidade da sedação e registro *in loco*, cujos dados foram utilizados em outros estudos [15,25].

A seguir administrava-se os seguintes tratamentos de forma encoberta e aleatória (<https://sorteador.com.br>): DL - Detomidina (Eqdomin, 10 mg/ml)^b em dose baixa (2.5 µg/kg seguido da infusão contínua de 6.25 µg/kg/h), DH - detomidina em dose alta (5 µg/kg seguido da infusão contínua de 12.5 µg/kg/h IV), DLM - detomidina em dose baixa com metadona (Mytedom 10 mg/ml)^c (2.5 µg/kg de detomidina + 0.2 mg/kg de metadona seguido de infusões contínuas de detomidina 6.25 µg/kg/h + metadona 0,05 mg/kg/h IV) e DHM - detomidina em dose alta com metadona (5 µg/kg de detomidina + 0.2 mg/kg de metadona seguido de infusões contínuas de detomidina 12.5 µg/kg/h + metadona 0.05mg/kg/h IV). As infusões contínuas foram administradas após os *bolus* do(s) fármaco(s) por duas bombas de seringa (DigiPump SR8xk^d e Pilot Anestesia^e), uma para cada fármaco, por 120 minutos. Manteve-se os cavalos no tronco por quatro horas. As avaliações da ACAC e da sedação e os registros fotográficos foram realizadas aos 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após os tratamentos.

Fase II

Onze meses após a primeira fase realizou-se nova avaliação física e laboratorial para atestar sanidade dos cavalos. Injetou-se um *bolus* de acepromazina (Acepran 1%)^f

em dose baixa (ACPL 0.02 mg/kg) ou alta (ACPH 0.09 mg/kg) e avaliou-se os cavalos nos momentos da Fase II, porém apenas até 120 minutos após os tratamentos.

Seleção das fotos e avaliações

Os momentos representativos de sedação foram selecionados para a fase I e II baseado nos estímulos táteis, auditivos e visuais *in loco*, pois a face dos animais não foi avaliada *in loco*. Selecionou-se os momentos representativos para a fase I a partir de um estudo farmacocinético paralelo nos animais tratados com detomidina [26], corroborado pelos resultados do grau de sedação segundo os estímulos táteis, auditivos e visuais registrados *in loco* [25]. Para a fase II selecionou-se os momentos representativos apenas a partir dos resultados do grau de sedação segundo os estímulos táteis, auditivos e visuais registrados *in loco*. Utilizou-se esses estímulos para a seleção dos momentos representativos, visto que, a face dos animais não foi avaliada e registrada *in loco*. Os momentos representativos das diferentes intensidades de sedação foram: basal, pico de sedação, sedação intermediária e final da sedação. O momento basal ocorreu antes da administração do(s) fármaco(s). O pico de sedação nas fases I foi aos 120 minutos após o início da infusão dos fármacos, imediatamente antes de se encerrar a infusão contínua e na fase II 60 minutos após administrar-se acepromazina, momentos que caracterizavam alta pontuação na escala de sedação *in loco*. A sedação intermediária foi nas fases I e II aos 150 e 90 minutos, respectivamente, quando a redução da concentração do(s) fármaco(s) diminuía a pontuação da sedação *in loco*. O momento final da sedação foi de 240 e 120 minutos nas fases I e II, respectivamente, caracterizados apenas por uma sedação residual com escores próximos ao basal. Selecionaram-se para avaliação 168 momentos (7 cavalos X 6 tratamentos X 4 momentos).

Após a análise de conteúdo da FaceSed descrita a seguir, quatro avaliadores sem comunicação mútua, sendo três de diferentes instituições diplomados pelo Colégio Europeu de Anestesiologia e Analgesia Veterinária [M.G.M. (desde 2014); S.K.R. (desde 2009) e S.S. (desde 2009)] e a pesquisadora responsável (A.R.O.) observaram e pontuaram, de forma encoberta, os escores das duas fotos da face do cavalo em cada momento.

Antes do início das análises realizou-se treinamento prévio pela avaliação de 10% do total dos momentos enviados (168). Isso consistiu de 16 momentos diferentes: 4 cavalos em momento basal, 4 cavalos em pico de sedação, 4 cavalos em sedação intermediária e 4 cavalos em final de sedação. Durante a coleta de dados, foram tiradas duas fotos de cada momento, conforme o animal era submetido aos tratamentos e essas duas fotos foram disponibilizadas para o avaliador, totalizando portanto, 32 fotos para o período de treinamento. Essas 16 pastas (cada uma com duas fotos do mesmo animal), foram aleatorizadas duas vezes: a primeira aleatorização foi disponibilizada com um intervalo de um mês da segunda aleatorização para que os avaliadores pontuassem os escores de cada momento encoberto. As aleatorizações não foram apenas dos momentos para cada animal em sequência. Todos os animais e todos os momentos de sedação foram aleatorizados entre si. Após se confirmar uma correlação interobservadores $\geq 80\%$ quanto à atribuição dos escores, deu-se sequência às avaliações principais.

Aleatorizou-se da mesma forma que no treinamento, todos os 168 momentos duas vezes (www.random.org) que foram disponibilizados em pastas do Google drive, para pontuação dos escores em duas etapas intervaladas por ao menos 1 mês. Disponibilizou-se também as planilhas de avaliação e as diretrizes para preencher os dados (Material Suplementar). Solicitou-se que os avaliadores não trabalhassem no projeto além de 1 hora ao dia para evitar o cansaço e que primeiro pontuassem a escala numérica (EN) de 1 (não sedado) a 10 (sedação máxima) e depois a FaceSed.

Análises Estatísticas

Desenvolveu-se a escala com base nas descrições faciais de equinos em condições normais, de estresse e de dor de acordo com a literatura [21,27–30], conforme referenciado na Tabela 1 e pela análise das características faciais observadas pelas fotos deste estudo. O conteúdo da FaceSed está exemplificado no Material suplementar 1.

Considera-se como parte da validação do conteúdo: 1) A utilização de características faciais já descritos em estudos com sedação em equinos, 2) análise da clareza semântica do conteúdo descrito na escala pelos avaliadores (A.R.O., M.G.M., S.K.R., S.S.), 3) familiarização dos avaliadores com cada item da FaceSed

por meio da análise das fotos exemplificativas disponibilizadas no Material suplementar e 4) análise da importância de cada item [18,31], em que três anestesistas veterinários que não participaram das avaliações, atribuíram para cada item da escala em relevante +1, não soube opinar 0 ou irrelevante -1.

Todos os testes deste estudo foram realizado com as duas análises (primeira e segunda etapa de avaliação) de todos os avaliadores.

Calculou-se as confiabilidades da EN e dos itens da FaceSed pelo coeficiente kappa ponderado (K_w) e da somatória FaceSed pelo coeficiente de correlação intraclass (ICC) do tipo concordância (Intervalo de confiança – valor mínimo e máximo). Para a repetibilidade comparou-se os dados da primeira com a segunda avaliação de cada avaliador. Para a reprodutibilidade comparou-se os escores da primeira e segunda avaliação de todos os avaliadores por meio de uma matriz de concordância. Interpretou-se o kappa ponderado e o ICC como muito bom (0.81-1.0), bom (0.61-0.80), moderado (0.41-0.60), razoável (0.21-0.40) ou pobre < (0.2) [32,33].

Para a análise de validade critério concorrente e distribuição de frequências agrupou-se os tratamentos conforme suas semelhanças de intensidade, qualidade e duração de sedação, para se avaliar eventuais diferenças entre tranquilização (ACPL + ACPH) e entre sedação com baixa dose de detomidina (DL + DLM) e alta dose de detomine (DH + DHM).

Para a validade de critério concorrente mensurou-se a correlação de Spearman entre a FaceSed e a EN. A responsividade, correspondente a validade de constructo da escala, foi avaliada pelas diferenças ao longo do tempo para cada tratamento e entre os tratamentos dentro de cada momento (basal, pico de sedação, sedação intermediária e final). Cada item da FaceSed e a EN não apresentaram uma distribuição normal, portanto realizou-se o teste de Friedman para análises ao longo do tempo em cada tratamento isolado e de Kruskal-Wallis para comparações entre tratamentos dentro de cada momento. A somatória da FaceSed apresentou uma distribuição Gaussiana, e portanto foi analisada por modelos lineares mistos, seguido pelo pós-teste de Bonferroni. Para tais modelos, na análise ao longo do tempo, aplicou-se como efeitos fixos avaliador, fase de avaliação, momento e tratamento e efeitos aleatórios animais, ordem de exposição aos tratamentos e a ordem que as fotos foram pontuadas. Para as comparações entre os tratamentos, aplicou-se como

efeito fixo o avaliador e a fase em que se pontuou as fotos, enquanto que para efeitos aleatórios aplicou-se a ordem de exposição dos tratamentos e a ordem de pontuação das fotos. Para a ACAC% considerou-se apenas o efeito da ordem de exposição dos tratamentos, visto que este foi um dado coletado *in loco*.

A análise de componentes principais pelo teste de associação múltipla definiu em quantas dimensões os itens da escala se distribuíram, conforme a suas inter-relações [34]. Sua interpretação baseou-se no critério de Kaiser [35], onde se aprova autovalores > 1 e variância > 20 e seleciona-se os itens da escala com fator de carga ≥ 0.50 ou ≤ -0.50 .

Outra método que avaliou a intercorrelação dos itens foi a consistência interna pelo coeficiente α de Cronbach [36]. São valores minimamente aceitáveis entre 0.60 – 0.64, aceitáveis 0.65 – 0.69, bons 0.70 – 0.74, muito bons 0.75 – 0.80 e excelentes acima de 0.80 [37].

Para saber se os itens contribuíam para a pontuação total da escala de forma homogênea, realizou-se a correlação item-total de Spearman entre cada item e a somatória total da FaceSed após se excluir o item avaliado. Os valores aceitáveis devem estar entre 0.30 e 0.70 [38].

Calculou-se a sensibilidade pela relação entre cavalos com escores ≥ 1 no pico de sedação (considerados sedados ou verdadeiros positivos) e o número total de cavalos e a especificidade pela relação entre os cavalos pontuados com escore 0 no momento basal (não sedados ou verdadeiros negativos) e o número total de cavalos. Suas interpretações são excelentes, quando 95 – 100%, boas, quando 85 – 94,9%, moderadas, quando 70 – 84,9% e não sensível ou específica, quando $< 70\%$ [18,39]. Por fim, analisou-se a frequência da distribuição das pontuações de cada item.

Resultados

Validade de conteúdo

O item abertura parcial entre as pontas das orelhas ou assimetria representativo do escore 1 apresentou média menor que 0.5 para o grau de relevância (Tabela 1). O relaxamento do lábio superior não foi aprovado pois todos os subitens apresentaram média inferior à 0,5.

TABELA 1. Validade de conteúdo da FaceSed desenvolvida para avaliar o grau de sedação em equinos.

Local avaliado	Comportamento	Escore	Relevância (-1, 0, 1)	Literatura
Orelhas				[21,22,29,30]
	Sem abertura entre as pontas orelhas, posição de atenção	0	0.66	
	Abertura parcial entre as pontas orelhas ou assimetria	1	0.33	
	Abertura ampla entre as pontas orelhas (orelhas relaxadas)	2	0.66	
Abertura orbital				[16,21,22,29,30]
	Abertura ocular completa	0	1	
	Olhos semiabertos	1	1	
	Olhos quase ou totalmente fechados	2	1	
Relaxamento do lábio inferior				[21,29,30]
	Lábios superiores e inferiores sem sinais de relaxamento e/ou boca fechada	0	1	
	Lábios superiores e inferiores levemente relaxado	1	1	
	Lábio superior e inferior com acentuado relaxamento e/ou boca aberta	2	1	
Relaxamento do lábio superior				
	Lábio superior sem sinais de relaxamento	0	0.33	
	Lábio superior levemente relaxado	1	0	
	Lábio superior com acentuado relaxamento	2	0.33	

FaceSed - Escala Numérica Facial de Sedação em Equinos

Confiabilidade

Confiabilidade intraobservador (repetibilidade)

As repetibilidades dos itens da FaceSed variaram de moderadas a muito boas (0.53 – 0.90) (Tabela 2). A repetibilidade da EN e a somatória da FaceSed foi muito boa e boa a muito boa, respectivamente.

TABELA 2. Comparação entre a pontuação da FaceSed e EN da primeira e segunda fase (mínimo e máximo) de cada avaliador.

Itens da	A1			A2			A3			A4		
FaceSed	k_w	Min	Max	k_w	Min	Max	k_w	Min	Max	k_w	Min	Max
Orelhas	0.8	0.73 - 0.86		0.71	0.71 - 0.71		0.56	0.48 - 0.64		0.71	0.71 - 0.71	
Abertura orbital	0.85	0.79 - 0.91		0.85	0.8 - 0.9		0.72	0.67 - 0.77		0.86	0.86 - 0.86	
Lábio inferior	0.72	0.68 - 0.76		0.62	0.53 - 0.7		0.68	0.62 - 0.75		0.7	0.66 - 0.74	
Lábio superior	0.77	0.77 - 0.77		0.7	0.67 - 0.73		0.62	0.53 - 0.71		0.77	0.71 - 0.82	
EN	0.9	0.9 - 0.9		0.86	0.86 - 0.86		0.91	0.91 - 0.91		0.92	0.92 - 0.92	
	ICC	Min	Max	ICC	Min	Max	ICC	Min	Max	ICC	Min	Max
FaceSed	0.91	0.89 - 0.94		0.86	0.74 - 0.90		0.82	0.78 - 0.86		0.89	0.85 - 0.92	

FaceSed - Escala numérica de sedação facial em equinos. EN – Escala numérica. A1 - Avaliador 1, A2 - avaliador 2. A3 - Avaliador 3. A4 - Avaliador 4 - Interpretação do Kappa ponderado e ICC - muito bom 0.81 – 1.0; bom 0.61 – 0.80; moderado 0.41 – 0.60, razoável 0.21 – 0.40; e pobre < 0.20 [32,33,40].

Confiabilidade interobservadores (reprodutibilidade)

O item abertura orbital apresentou uma concordância boa a muito boa (0.68 – 0.88) e os demais apresentaram concordâncias razoáveis a boas (0.26 – 0.71).

A EN apresentou concordâncias muito boas (0.83 – 0.88), enquanto que a FaceSed apresentou concordâncias moderadas a muito boas (0.57 – 0.87).

TABELA 3. Comparação em matriz de todos os avaliadores entre a pontuação da FaceSed e EN.

Evaluator	1		2		3	
	k_w	Min - Max	k_w	Min - Max	k_w	Min - Max
Item			Orelhas			
2	0.39	0.33 - 0.46				
3	0.55	0.47 - 0.62	0.54	0.46 - 0.62		
4	0.61	0.53 - 0.69	0.57	0.48 - 0.65	0.61	0.53 - 0.68
Item			Abertura orbital			
2	0.83	0.79 - 0.88				
3	0.74	0.68 - 0.80	0.75	0.71 - 0.79		
4	0.80	0.75 - 0.84	0.84	0.82 - 0.86	0.75	0.71 - 0.78
Item			Lábio inferior			
2	0,44	0,26 - 0,63				
3	0,50	0,42 - 0,57	0,45	0,37 - 0,53		
4	0,64	0,59 - 0,70	0,49	0,40 - 0,59	0,45	0,37 - 0,52
Item			Lábio superior			
2	0.65	0.59 - 0.71				
3	0.54	0.47 - 0.61	0.52	0.45 - 0.59		
4	0.65	0.58 - 0.71	0.64	0.59 - 0.70	0.59	0.52 - 0.65
Escala			EN			
2	0.83	0.83 - 0.83				
3	0.85	0.85 - 0.85	0.83	0.83 - 0.83		
4	0.88	0.88 - 0.88	0.83	0.83 - 0.83	0.83	0.83 - 0.83
	ICC	Min - Max	ICC	Min - Max	ICC	Min - Max
Escala			FaceSed			
2	0.75	0.70 - 0.79				
3	0.64	0.57 - 0.70	0.73	0.67 - 0.77		
4	0.84	0.80 - 0.87	0.82	0.78 - 0.85	0.71	0.65 - 0.76

FaceSed - Escala numérica de sedação facial em equinos. EN – Escala numérica. A1 - Avaliador 1, A2 - avaliador 2. A3 - Avaliador 3. A4 - Avaliador 4. Interpretação Kappa ponderado e ICC - muito bom 0.81 – 1.0; bom 0.61 – 0.80; moderado 0.41 – 0.60, razoável 0.21 – 0.40; e pobre < 0.20 [32,33,40].

Validação de critério concorrente

As correlações da somatória da FaceSed com a EN para os animais tratados com acepromazina, detomidina em dose baixa e detomidina em dose alta foi de 0.85, 0.91 e 0.95, respectivamente e para a ACAC% foi de - 0.56, - 0.38 e - 0.45, respectivamente.

Validade de construto (responsividade)

Ao analisar todos os tratamentos agrupados, a FaceSed e a EN apresentaram escores maiores ao final da sedação quando comparado ao momento basal (Fig.1). Porém, quando avaliados isoladamente observou-se os escores foram maiores no

final da sedação quando comparado ao basal apenas para os grupos ACPL e ACPH de ambas as escalas e para o DHM da FaceSed (Tabela 4).

Todos os itens apresentaram responsividade ao longo do tempo, entretanto nas comparações entre tratamentos no momento pico de sedação, a FaceSed diferenciou os dois grupos de detomidina com metadona entre si, e a DHM da ACPH. Já a EN diferenciou os tratamentos de alta dose de detomidina com os tratamentos com acepromazina (Tabela 4)

Todos os itens da FaceSed, sua somatória, a EN apresentaram responsividade ao longo do tempo para todos os tratamentos enquanto que a ACAC% não apresentou responsividade apenas para a ACPL (Tabela 4).

TABELA 4. Responsividade da FaceSed, EN e ACAC%. ao longo do tempo e entre os tratamentos.

		Moments							
Escalas	Itens	Baseline		Peak of sedation		Intermediate		End of sedation	
		Median	Amplitude	Median	Amplitude	Median	Amplitude	Median	Amplitude
Orelhas	ACPL	0.5bB	0-2	1aB	0-2	1aB	0-2	1abAB	0-2
	ACPH	1bA	0-2	1aB	0-2	1aB	0-2	1aA	0-2
	DL	1cAB	0-2	2aA	0-2	1bB	0-2	1bcAB	0-2
	DLM	0cB	0-2	2aA	0-2	1bB	0-2	1cB	0-2
	DH	1bAB	0-2	2aA	0-2	2aA	0-2	1bAB	0-2
	DHM	0bB	0-2	2aA	0-2	2aA	0-2	1bB	0-2
Abertura orbital	ACPL	0b	0-1	1aD	0-2	1aC	0-2	1aB	0-2
	ACPH	0b	0-1	1aCD	0-2	1aBD	1-2	1aA	0-2
	DL	0c	0-1	2aAB	1-2	1bCD	0-2	0cC	0-1
	DLM	0c	0-1	1aBC	0-2	1bC	0-2	0cC	0-1
	DH	0b	0-2	2aA	1-2	1.5aAB	1-2	0bC	0-1
	DHM	0b	0-1	2aA	0-2	2aA	0-2	0bBC	0-2
Lábio inferior	ACPL	0b	0-1	1aB	0-2	1aAB	0-2	1aAB	0-2
	ACPH	0.5b	0-2	1aB	0-2	1aA	0-2	1aA	0-2
	DL	0c	0-2	1aAB	0-2	1bB	0-2	1bcBC	0-2
	DLM	1b	0-2	1aB	0-2	1abB	0-2	0bC	0-2
	DH	1c	0-2	2aA	1-2	1bA	0-2	0cC	0-2
	DHM	1b	0-2	2aA	0-2	1aA	0-2	0bC	0-1
Lábio superior	ACPL	0b	0-1	1aC	0-2	1a	0-2	0.5aB	0-2
	ACPH	0c	0-1	1abBC	0-2	1a	0-2	1bcA	0-2
	DL	0c	0-2	1aB	0-2	0bc	0-2	0bcB	0-2
	DLM	0c	0-1	1aBC	0-2	1ab	0-2	0bcB	0-2
	DH	0c	0-2	2aA	0-2	1b	0-2	0cA	0-2
	DHM	0b	0-1	2aA	0-2	1a	0-2	0bA	0-2
FaceSed	ACPL	1c	0-5	4aABC	1-8	3bcAB	1-7	3bAB	0-7
	ACPH	2b	0-5	4aC	2-8	5aA	2-8	4aA	1-8
	DL	2c	0-5	6aAB	3-8	3bB	0-8	2cAB	0-5
	DLM	1c	0-6	5aCB	1-8	4bB	0-8	2cAB	0-6
	DH	2c	0-8	7aABC	4-8	6bAB	1-8	2cAB	0-7
	DHM	1d	0-4	7aA	4-8	6bAB	1-8	2cB	0-5
EN	ACPL	2bB	0-5	4aE	2-10	4aC	2-7	4aB	0-7
	ACPH	2bA	1-5	6aDE	3-8	5.5aB	3-10	5aA	2-9
	DL	2cAB	0-4	7aBC	4-10	4bC	1-10	3cBC	1-6
	DLM	2cAB	0-6	6aCD	3-10	4bC	1-10	2cC	0-5
	DH	2cAB	0-10	9aA	5-10	6.5bAB	2-10	3cC	1-8
	DHM	2bB	0-5	9aAB	4-10	7aA	2-10	3bC	1-6
ACAC%	ACPL	100	100-100	89A	27-100	84A	81-90	95AB	71-103
	ACPH	100a	100-100	66bAB	53-91	82bAB	50-102	92abB	68-105
	DL	100a	100-100	53cBC	22-71	93bA	44-105	103abAB	83-110
	DLM	100a	100-100	64cAB	29-89	85bA	47-95	100aAB	96-107
	DH	100a	100-100	27cC	18-47	60bB	27-80	100aAB	86-105

DHM 100a 100-100 29cC 14-74 68bAB 26-95 102aA 84-147

FaceSed - Escala numérica facial de sedação em equinos, EN – Escala numérica, ACAC% - Altura da cabeça acima do chão, ACPL + ACPH (Acepromazina em dose baixa e alta); DL + DLM (Detomidina em dose baixa e alta); DH+DHM (Detomidina em dose baixa e alta). Letras minúsculas diferentes representam diferenças estatísticas ao longo do tempo ($p < 0,05$) ($a > b > c$). Letras maiúsculas diferentes representam diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p < 0,05$) ($A > B > C$).

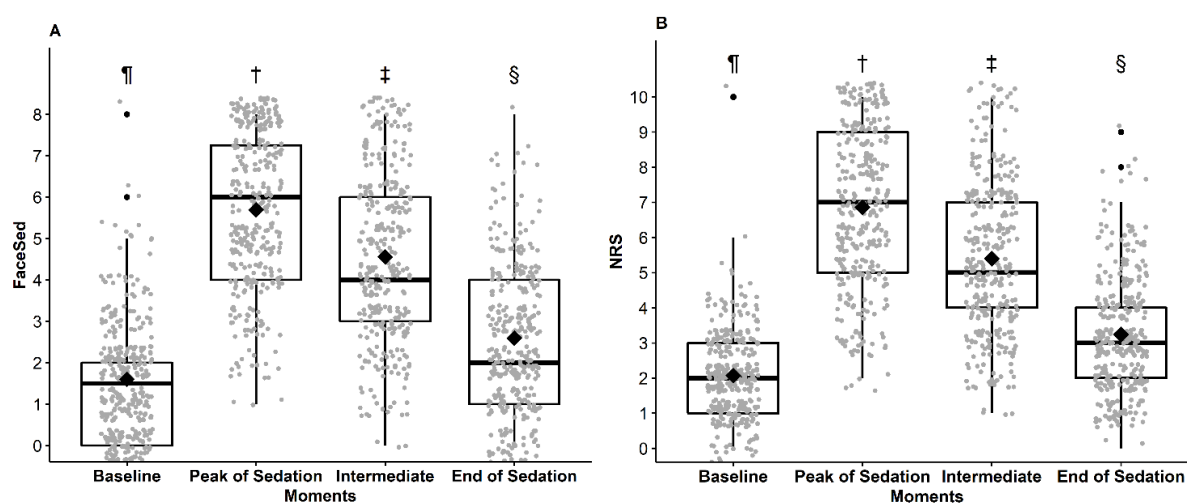


Fig 1. Escores da FaceSed (A) e EN (B) antes e após os tratamentos agrupados (ACPL, ACPH, DL, DLM, DH e DHM). FaceSed - Escala numérica facial de sedação em equinos, EN – Escala numérica. ACPL + ACPH - acepromazina em dose baixa e alta, DL + DLM - detomidina em dose baixa e associada à metadona, DH e DHM - detomidina em dose alta e associada à metadona. Baseline - momento basal, Peak of sedation - pico de sedação, Intermediate - sedação intermediária e End of sedation. Símbolos diferentes indicam diferenças significativas entre si ($p < 0.05$). $† > ‡ > § > ¶$.

Análise de componentes principais

A análise de associação múltipla por componentes principais (Tabela 5) definiu a escala como unidimensional, por apresentar os maiores fatores de carga de cada item na primeira dimensão (> 0.5), com autovalor > 1 e variância > 20 [35].

Tabela 5. Valores de carga, autovalores e variância dos itens da FaceSed pela

análise de componentes principais.

Itens da FaceSed	Fatores de carga na Dimensão 1	Fatores de carga na Dimensão 2
Orelhas	0.78	0.52
Abertura orbital	0.86	0.11
Relaxamento lábio inferior	0.77	-0.51
Relaxamento lábio superior	0.83	-0.13
Autovalor	65.72	14.12
Variância	2.63	0.56

FaceSed - Escala numérica facial de sedação em equinos. Valores em negrito representam autovalores > 1 , variância > 20 e fator de carga ≥ 0.50 ou ≤ -0.50 aprovados de acordo com o critério de Kaiser [35].

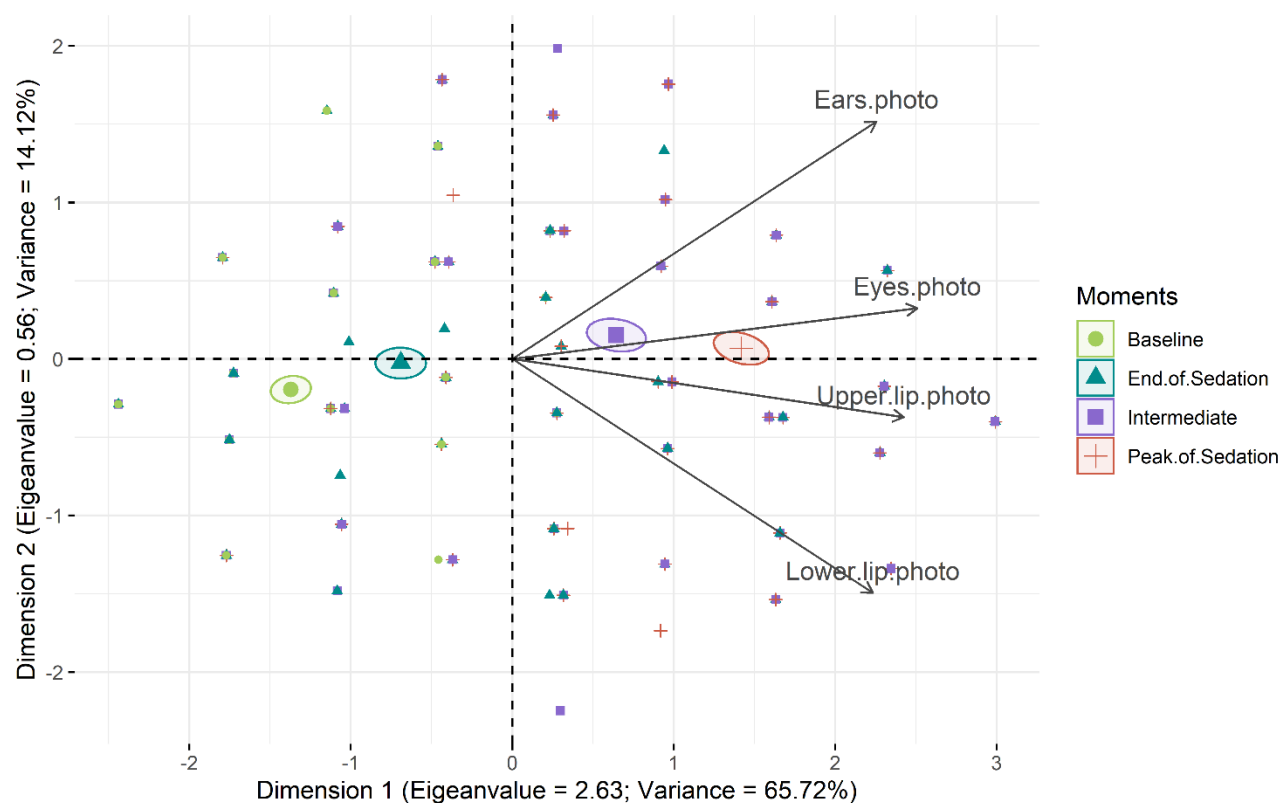


Fig 2. Biplot da análise Principal Component Analysis (PCA) da FaceSed. Elipses de confiança foram construídas de acordo com os momentos antes e após a sedação.

M1 - basal (verde); M2 - pico de sedação (vermelho); M3 - intermediário (azul); M4 - final da sedação (amarelo). As elipses à esquerda representam, ausência ou final da sedação e à direita representam o pico de sedação ou sedação intermediária. Os momentos de maior sedação (M2 e M3) influenciam todos os itens da escala já que seus vetores se direcionam a essas elipses.

Correlação item-total e consistência interna

A correlação item-total se enquadrou dentro dos valores considerados aceitáveis de 0.3 a 0.7, exceto para o item abertura orbital [32] e a consistência interna foi excelente para a todos os itens da escala (Tabela 6).

Tabela 6. Correlação item-total de Spearman e consistência interna de cada item da FaceSed

Itens da FaceSed	Correlação item-total	Consistência interna
Todos os itens		0.83
Excluindo Orelhas	0.60	0.80
Excluindo Abertura orbital	0.73	0.74
Excluindo Relaxamento lábio inferior	0.60	0.80
Excluindo Relaxamento lábio superior	0.68	0.77

FaceSed - Escala numérica facial de sedação em equinos. Interpretação da correlação item-total de Spearman (r_s) - valores entre 0,3 e 0,7 são aceitos e se destacam em negrito [38]. O coeficiente α de Cronbach foi calculado pela pontuação total da escala e excluindo cada item da escala. Interpretação: minimamente aceitáveis 0.60 – 0.64, aceitáveis 0.65 – 0.69, bons 0.70 – 0.74, muito bons 0.75 – 0.80 e excelentes > 0.80 [37].

Sensibilidade e especificidade

Todos os itens apresentaram sensibilidade com os tratamentos isolados ou agrupados, entretanto só se observou especificidade para os itens abertura orbital e relaxamento do lábio superior (Tabela 7).

391 **Tabela 7. Sensibilidade e especificidade da FaceSed.**

Itens da FaceSed	Orelhas	Abertura orbital	Relaxamento lábio inferior	Relaxamento lábio superior
Todos os tratamentos				
Sensibilidade %	97	96	87	82
Especificidade %	44	79	49	82
ACPL				
Sensibilidade %	94	82	84	61
Especificidade %	50	87	52	80
ACPH				
Sensibilidade %	89	98	83	78
Especificidade %	16	70	50	73
DL				
Sensibilidade %	100	100	87	89
Especificidade %	40	80	52	84
DLM				
Sensibilidade %	100	96	70	70
Especificidade %	52	73	48	86
DH				
Sensibilidade %	100	100	100	98
Especificidade %	45	82	48	77
DHM				
Sensibilidade %	100	98	96	95
Especificidade %	62	82	45	92

392 FaceSed - Escala numérica facial de sedação em equinos. Interpretação: excelente
 393 95-100%, boa 85-94.9%, moderada 70-84.9% e não sensível ou não específica <
 394 70%. [18,39].

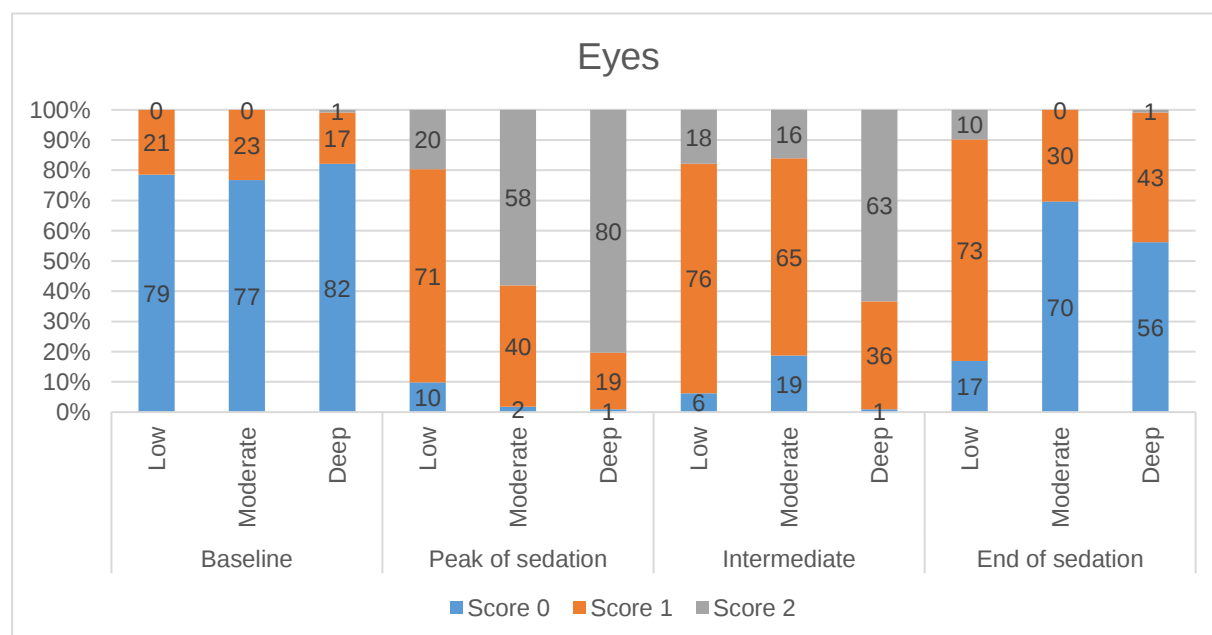
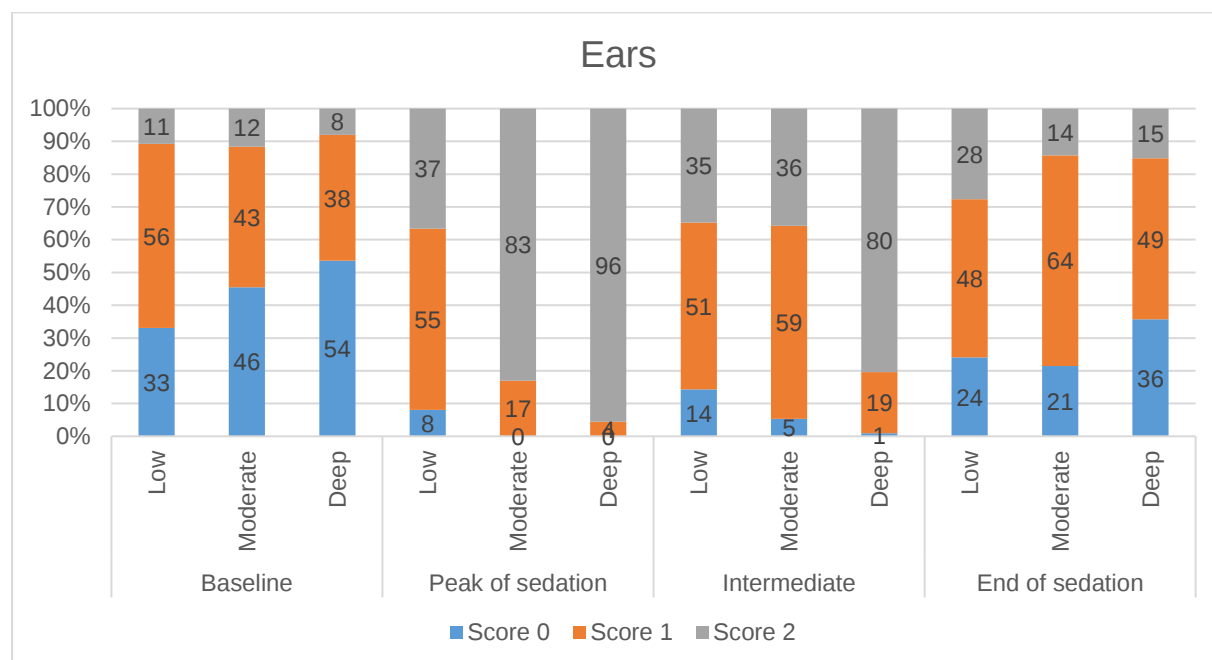
395

396 **Distribuição das pontuações**

397 Houve maior frequência de escores 0 no momento basal para os itens abertura orbital
 398 e lábio superior (Fig. 3), corroborando com os dados da especificidade (Tabela 7).

399 Os escores 1 e 2 predominaram no pico de sedação e/ou sedação
 400 intermediária de todos os itens, sendo o escore 2 predominante na sedação intensa

e moderada para orelhas e abertura orbital, e predominante apenas na sedação intensa dos itens lábios superiores e inferiores.



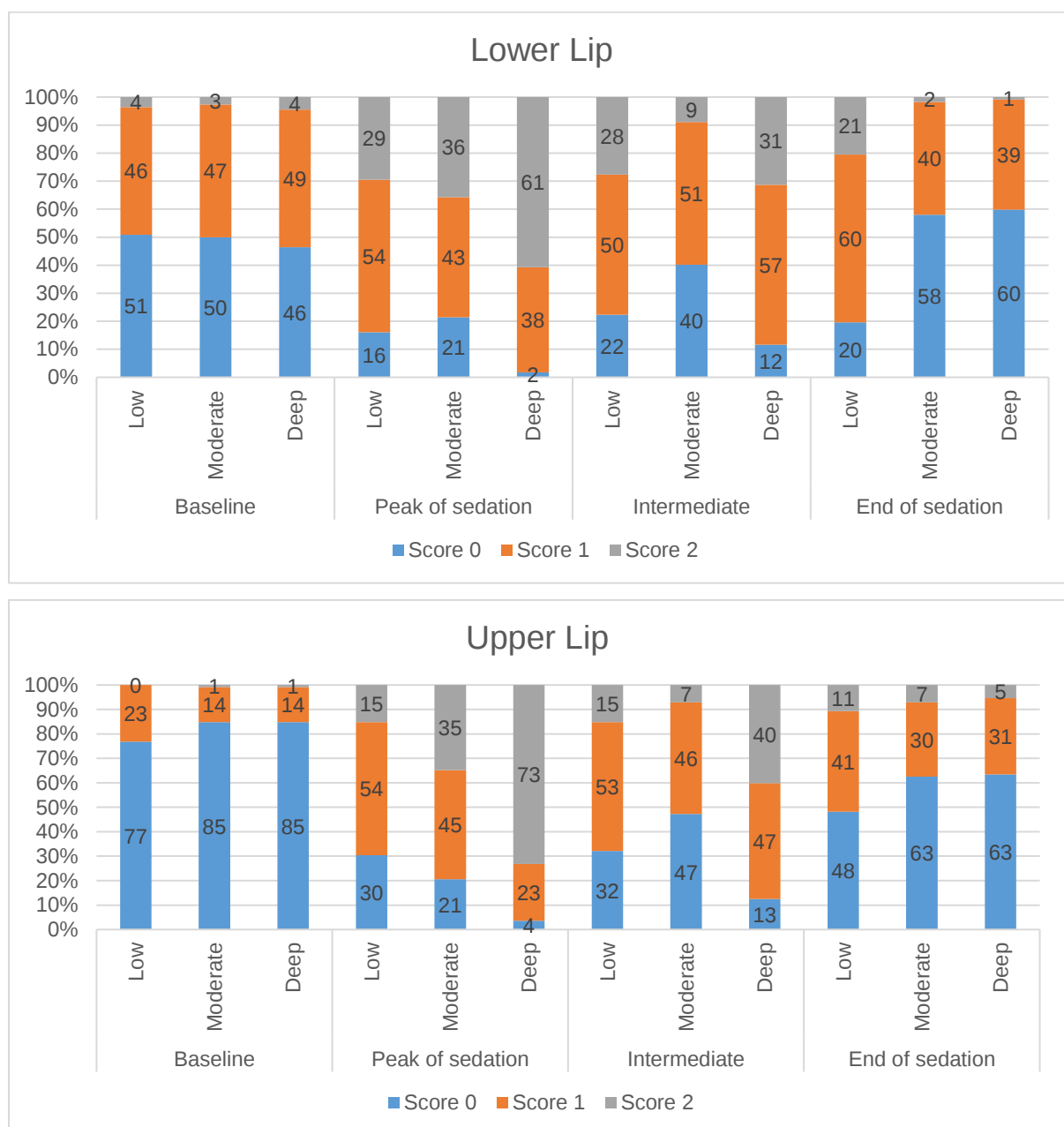


Fig. 3. Distribuição de frequências dos escores da FaceSed, dentro de cada momento avaliado pelo avaliador padrão-ouro nos grupos de sedação intensa (detomidina em dose alta – Treatment DH+DHM), sedação moderada (detomidina em dose baixa – Treatment DL+DLM) e sedação leve (acepromazina em dose alta e baixa – Treatment ACPL+ACPH). ACPL + ACPH - acepromazina em dose baixa e alta, DL + DLM - detomidina em dose baixa e associada à metadona, DH e DHM - detomidina em dose alta e associada à metadona. Baseline - momento

basal, Peak of sedation - pico de sedação, Intermediate - sedação intermediária e End of sedation.

Discussão

A FaceSed é instrumento simples e prático que apresenta confiabilidade e validade para avaliar a sedação em equinos submetidos à tranquilização com acepromazina e à com alfa-2 agonista associada ou não a opioide, a partir dos critérios de validação utilizados em outros estudos [17,19,31,41–44].

Como o treinamento de avaliadores melhorou a reprodutibilidade de escala facial em ratos [45] e de escalas de dor comportamentais [46], optou-se por treinar os avaliadores, mesmo sendo experientes, já que experiência não garante boa confiabilidade [47]. Pode-se considerar como parte do treinamento [45], a apresentação prévia da escala aos avaliadores para melhor compreensão e consideração da importância de cada item da escala, o que possivelmente acarretou uma boa correlação interobservadores no treinamento e no trabalho propriamente dito.

A inclusão de itens já avaliados em estudos de sedação na espécie equina, associado às ações descritas anteriormente compuseram parte da validação de conteúdo de uma escala, cuja análise identifica o quanto as perguntas estão bem formuladas e abrangem o tema proposto [48]. Em complementação três pesquisadores anestesistas com experiência em sedação em cavalos finalizaram a validade de conteúdo da FaceSed, de forma similar à validações de escalas de dor em animais [18,31]. A relevância do escore 1 referente à abertura parcial das orelhas foi menor que 0.5, porém como os demais itens foram aprovados, optou-se por mantê-los. O item o relaxamento dos lábios superiores não foi considerado relevante em nenhum dos escores. Para tal fato, deve-se considerar que, o caimento do lábio superior não é uma característica descrita na literatura para avaliação da sedação e é possível que sua descrição nesta escala tenha sido uma surpresa pelos pesquisadores da área. Por este motivo, o questionamento da sua relevância (não relevante ou não saber opinar) é natural, porém sua ocorrência foi observada durante a etapa de desenvolvimento da escala e por este motivo, os autores optaram por

avaliar a importância dessa característica facial mediante as demais análises do processo de validação e confiabilidade.

A somatória da FaceSed apresentou confiabilidades intraobservadores muito boa e interobservadores moderada a muito boas, o que garante a reprodutibilidade de futuros estudos na área de sedação que empreguem esta ferramenta. Embora haja relato que as avaliações de olhos e do focinho em cavalos são menos consistentes por apresentarem valores $Kappa < 0.42$ em comparações interobservadores que passaram por treinamento [28], este estudo não corrobora com estes resultados para o item abertura orbital. Os vieses já descritos que afetam a confiabilidade de um instrumento, são o tempo prolongado de avaliação levando ao cansaço dos avaliadores, a descrição inadequada dos itens e a falta de prática dos avaliadores [49,50]. A confiabilidade interobservadores reduzida desses itens, pode influenciado na reduzida a confiabilidade interobservadores da FaceSed em relação a EN.

O fato da EN apresentar melhores confiabilidades interobservadores do que a FaceSed é uma novidade, visto que escalas unidimensionais normalmente não apresentam boas confiabilidades entre si e entre observadores [51]. A EN foi pontuada antes da FaceSed, o que descartou o viés de se pontuá-la baseado no escore da facial, entretanto o fato dos avaliadores já serem previamente treinados a reconhecer as características faciais de sedação descritas pela FaceSed e por outros trabalhos na literatura conforme referenciados na Tabela 1, pode ter contribuído para a boa confiabilidade da EN.

Ao se propor uma nova escala, é preciso compará-la a instrumentos consagrados na literatura, para averiguar o quanto seus escores se correlacionam com um instrumento padrão-ouro [52]. Para tal análise, denominada validade de critério concorrente, utilizou-se EN, que apresentou uma alta correlação positiva com a FaceSed em todos os tratamentos, indicando semelhança das escalas em suas diferentes grandezas. Esperava-se que a correlação com a ACAC% fosse inversamente proporcional à intensidade da sedação, entretanto constatou-se que, apesar de todos os tratamentos apresentarem a correlação negativa esperada, ela não foi proporcional à intensidade da sedação, pois animais tranquilizados com acepromazina apresentaram uma correlação maior do que os animais tratados com

detomidina. Por este motivo, não é possível afirmar que a ACAC% e a FaceSed seguem o mesmo critério de mensuração.

Para que uma escala seja responsiva, esta deve detectar as diferenças estatísticas das intervenções realizadas, que alteram o que o instrumento se propõe a medir [53]. Tanto o escore total da FaceSed, como cada um de seus itens identificaram as mudanças faciais dos cavalos sob sedação, já que apresentaram escores maiores no pico de sedação e na sedação intermediária quando comparados aos momentos basal e final da sedação. O mesmo se observou para a EN e ACAC%.

Destaca-se que ocorreu responsividade em cavalos submetidos à tranquilização com acepromazina e à sedação com alfa-2 agonistas e que portanto a FaceSed pode ser utilizada para ambos as classes de fármacos, porém sem capacidade para uma distinta diferenciação entre esses tratamentos. A EN também não foi capaz de diferenciar a tranquilização da sedação com baixa dose de detomidina associada à metadona.

As escalas compostas estão sujeitas ao viés da inclusão de itens que não se correlacionam entre si, daí a necessidade de se analisar os componentes principais para identificar como as variáveis se agrupam de acordo com a sua intercorrelação [54]. Todos os itens da escala apresentaram fatores de carga ≥ 0.50 na primeira dimensão, assim como autovalor > 1 e variância > 20 seguindo o critério de Kaiser [35]. Interpreta-se que todos os itens da FaceSed seguem de forma semelhante a mesma tendência de mensuração para o que a escala se propôs a mensurar. Observa-se que todos os itens são influenciados pelos momentos de sedação, confirmado pela análise vetorial dos itens em direção a estes momentos, conforme ilustrado pelo Biplot na Fig. 2.

Outra forma de avaliar o grau de correlação entre os itens da escala é pelo Coeficiente α de Cronbach [55]. Esta análise denominada consistência interna, pode ser interpretada em conjunto a análise de componentes principais. Isto porque o altos valores identificados pelo Coeficiente α de Cronbach costumam ocorrer em situações onde poucas dimensões foram identificadas [32], corroborando com o princípio de intercorrelação dos itens e que foi identificado na FaceSed, por ter apresentado apenas um fator de dimensão e uma alta consistência interna (0,89).

Confirmada a intercorrelação dos itens, é preciso identificar se eles contribuem

para a somatória da escala de forma homogênea, processo em que se calcula a Correlação de Spearman entre o valor atribuído em cada item com a somatória da escala quando este mesmo item é excluído [32]. Esta análise chama-se correlação item-total e espera-se que os valores encontrados estejam entre o intervalo de 0.30 a 0.70 [38]. Itens com valores abaixo deste intervalo não contribuem para distinção de características leves e altas dentro da escala [52], ao passo que isto ocorre pela reduzida variabilidade na pontuação em estados sedados e não sedados, enquanto que itens com valores acima deste intervalo são muito estritos e insuflam os resultados [32]. Sendo assim, pode-se afirmar que o item abertura orbital da FaceSed não contribui de forma homogênea para a escala em relação aos demais itens, por estar levemente acima do intervalo sugerido (0.73) [38]. Ainda assim, optou-se por mantê-lo por este ter sido o único teste ao qual seu resultado foi fora dos limites esperados.

Baseado no cálculo de sensibilidade e especificidade da escala com todos os tratamentos, pode-se afirmar que todos os itens possuem capacidade de boa a excelente para identificar os animais verdadeiramente sedados, com base na avaliação de todos os grupos juntos. Entretanto os itens orelhas e lábio inferior foram moderadamente específicos ou ausentes de especificidade, pois escores 1 de sedação foram atribuídos em momentos em que o cavalo não havia sido submetido aos seus respectivos tratamentos, corroborando com os dados apresentados na distribuição de frequências (Fig. 3). A falta de especificidade é uma limitação da FaceSed, pois isto indica que cavalos em seu estado natural e relaxados, apresentam as características de sedação que foram incluídas na escala e que corroboram com a literatura quanto ao fechamento orbital e lábios caídos [21].

Para avaliação da sedação, as orelhas já foram alvo de observação da sua movimentação [13] e reação ao toque [11], entretanto seu posicionamento estático não foi bem descrito. A avaliação da capacidade de movimentação da orelha, sem considerar o posicionamento, pode não ser discriminativo de um cavalo sedado e/ou com dor durante um procedimento em posição quadrupedal ou em um pós-operatório imediato. Observou-se neste estudo que o cavalo sedado amplia a distância entre as pontas das orelhas mantendo-as lateralizadas e que foi uma característica descrita pela EquiFACS (Equine Facial Action Coding System) em equinos relaxados, como

orelhas caídas com reduzida visibilidade do ouvido interno por vista lateral [29]. Para avaliação de dor também descreve-se a ampliação da distância entre as pontas das orelhas, entretanto o cavalo tende a direcioná-las para trás ou mantê-las assimétricas [27,30].

O fechamento orbital é outra característica descrita pela EquiFACS como relaxamento do músculo elevador da pálpebra superior [29] e que foi observada nos cavalos deste estudo e descrita para classificação da intensidade de sedação [16]. Destaca-se que este item não deve ser confundido com o fechamento (compressão) orbital descrito em equinos com dor [27]

O relaxamento dos lábios inferiores foi descrito em cavalos não sedados [29] e que pode justificar a ausência de especificidade da FaceSed. O relaxamento do lábio superior descrito na FaceSed acompanha o alongamento vertical das narinas (fotos - material suplementar 1). Este alongamento vertical foi descrito nas EquiFACS como mudança na conformação das bordas da narinas de uma forma curva para mais alongada [29]. Porém esta ação ocorre em conjunto à elevação da narina, e não ao relaxamento do lábio como observado na sedação neste estudo. A singularidade desta característica facial de sedação pode relacionar-se à especificidade do item relaxamento do lábio superior identificado nesta escala.

A somatória da FaceSed desenvolvida neste estudo possui validade de conteúdo, critério e construto e que apresenta confiabilidade intra e interobservadores para identificar sedação em equinos tranquilizados com acepromazina ou sedados com detomidina isolada ou associada à metadona.

Declaração de interesses dos autores

Não há conflito de interesses a declarar

Comitê de ética para pesquisa animal

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais para pesquisa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil, sob o protocolo 2017/0051.

Consentimento do tutor:

574 Não aplicável.

575

576 **Fonte de fomento**

577 Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP), bolsa concedida
578 protocolo 2017/16208-0 e projeto temático 2017/12512-0.

579

580 **Agradecimentos**

581 Agradecemos aos colegas que gentilmente analisaram a escala desenvolvida para
582 uma das etapas da validação desta escala: Marilda Taffarel, Flávia de Oliveira e
583 Carlize Lopes. Nossos sinceros agradecimentos ao Altamiro Rosam pelo cuidado e
584 dedicação aos animais usados neste estudo. . À Fundação de Amparo à Pesquisa do
585 Estado de São Paulo (FAPESP), processo número 2017/16208-0 e projeto temático
586 processo número 2017/12815-0. O presente trabalho foi realizado com apoio da
587 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) –
588 Código de Financiamento 001.

589

590 **Autores**

591 A. R. Oliveira contribuiu para a idealização, desenvolvimento, execução, análise e
592 interpretação de dados e preparação do manuscrito. M. Gozalo-Marcilla contribuiu
593 com a idealização, desenvolvimento, execução e preparação do manuscrito. M.
594 Gozalo-Marcilla, S. K. Ringer, S. Schauvliege contribuíram com a idealização,
595 avaliação dos vídeos e correções do manuscrito do estudo. M. W. Fonseca e J. N. P.
596 P. Filho contribuiu com desenvolvimento e execução do estudo. P. H. E. Trindade
597 contribuiu com análise estatística e interpretação de dados. S. P.L. Luna contribuiu
598 com a idealização, desenvolvimento, interpretação de dados, preparação do
599 manuscrito e correção final do manuscrito.

600

601 **Endereço das Empresas**

602 ^aDelta Med Srl, Italy.

603 ^bOurofino Saúde Animal, São Paulo, Brazil.

604 ^cCristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, São Paulo, Brazil.

605 ^dDigicare Biomedical Technology Inc, Florida, USA.

606 ^eFresenius Vial, Brezins, France.

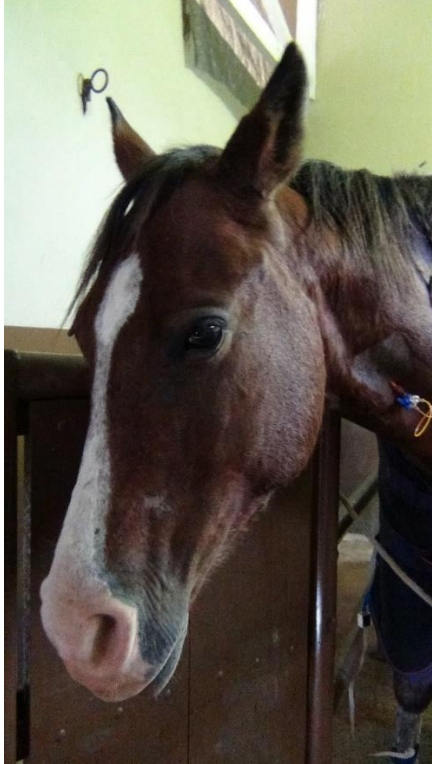
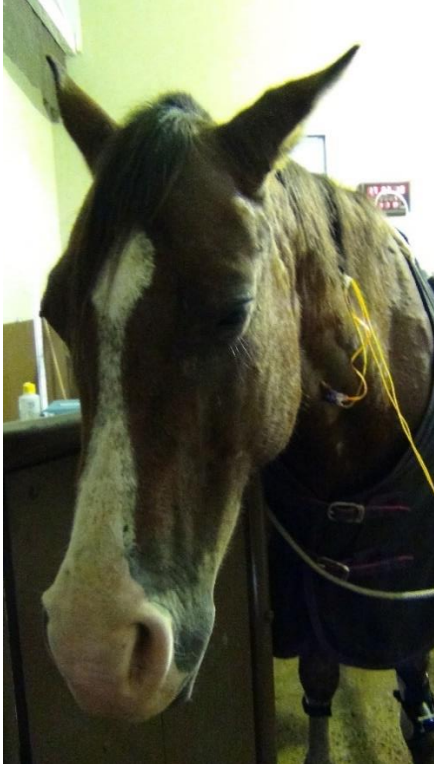
607 ^fVetnil Indústria e Comércio de Produtos Veterinários Ltda, Louveira, São Paulo,
608 Brazil.

609

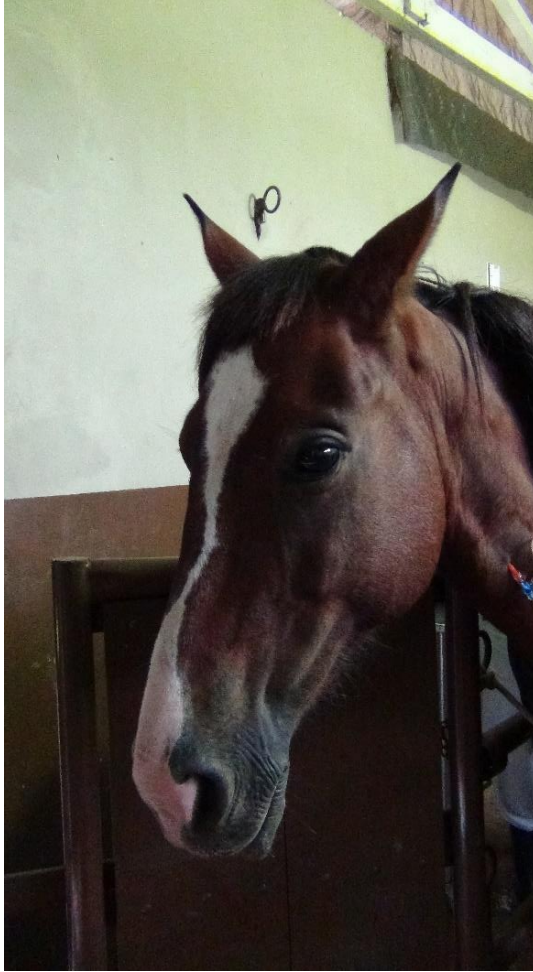
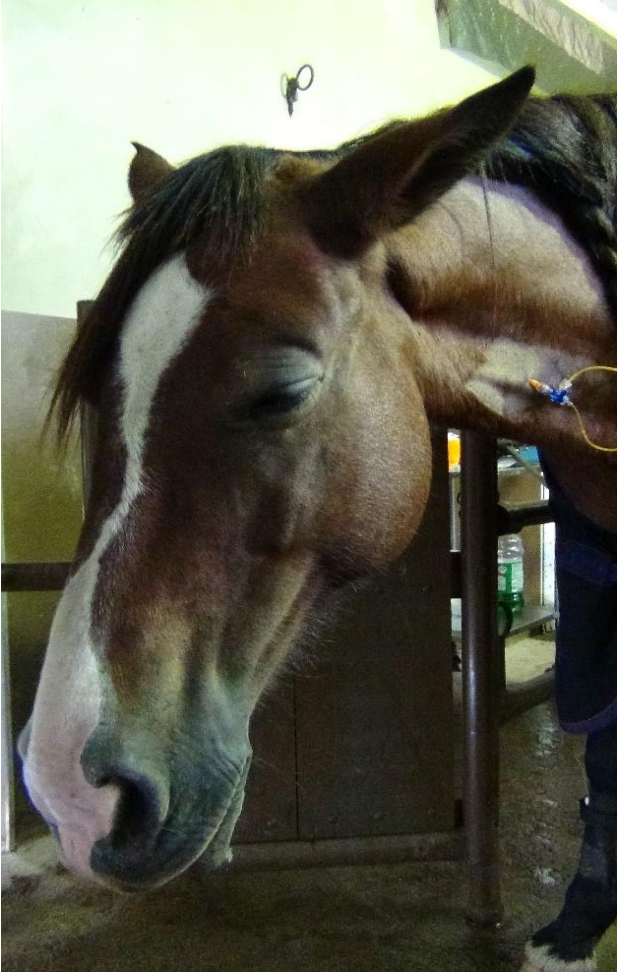
Material Suplementar

1. Exemplificação dos escores de cada item da escala facial de sedação (FaceSed).

Ears:

No opening between the ear tips, position of attention = score 0	Partial opening between the ear tips or asymmetry = score 1	Wide opening between the ear tips (ears relaxed) = score 2
		

Orbital opening:

Eyes completely opened = score 0	Eyes partially opened = score 1	Eyes almost or completely closed = score 2
		

Relaxation of the lower lip:

No signs of lower lip relaxation and/or closed mouth = score 0	Slight relaxation of lower lip = score 1	Pronounced relaxation of lower lip and/or open mouth = score 2
		

Relaxation of the upper lip:

No signs of upper lip relaxation = score 0	Slight relaxation of upper lip = score 1	Pronounced relaxation of upper lip = score 2
--	--	--



2. Guidelines for evaluation of a Facial Sedation Scale in Horses

Dear Evaluator,

Please read carefully the following instructions before you start.

Explanation of the photos:

Please open the file “1st Randomization - main analysis - photos”.

Each file of these photos have two photos of the same animal at the same moment and both must be seen to apply the facial scale. These photos were taken before the videos, at the baseline and after treatments corresponded to the following situations: before sedation, intermediate and deep sedation and last moment when sedation was abated.

The files sent in word document attached to be filled for each step of the evaluation consist of different Scales: 1. The “**Numerical Scale**”, consisting of 1 for no sedation and 10 for the maximum possible sedation; 2. The “**Sedation Scale (FaceSed)**” to fill the score of each variable, according to the scale presented in the other word document attached (training word file).

The analysis is described in steps:

- Familiarization of the scales
- 1st training
- 2nd training
- 1st part of the main evaluation
- 2nd part of the main evaluation

2. Familiarization: Please read the scale before starting the analysis and if you have any doubts, suggestions or concerns, please contact us before starting the analysis. This will take about one hour of your time.

Steps 2 and 3 are important to guarantee a good intra-observer confiability

2. 1st training: The file will be shared with you on google drive:

“1st Randomization – training photos” file with the photos, including 16 files and numbered as “1, 2, 3, 4 ... 16”.

Each file with two photos, a total 32 photos should be analysed.

This analysis will take about two hours of your time.

Deadline: _____

After that, once you receive the new lot of photos, you should follow the instructions below.

3. 2nd training: The file will be shared with you on google drive:

“2nd Randomization – training photos” file with the photos, including 16 files and numbered as “1, 2, 3, 4 ... 16”.

Each file with two photos, a total 32 photos should be analysed.

This analysis will take about two hours of your time.

Deadline: _____

After that, once you receive the new lot of photos, you should follow the instructions below.

4. 1st part of the main evaluation: The file will be shared with you on google drive:

1st Randomization – main analysis - photos” file containing the photos numbered as “1, 2, 3, 4 ... 168”.

This analysis will take about 8 hours of your time.

Deadline: _____

After that, once you receive the new lot of photos, you should follow the instructions below.

5. 2nd part of the main evaluation: The file will be shared with you on google drive:

“2nd Randomization – main analysis photos” file containing the photos numbered as “1, 2, 3, 4 ... 168”.

This analysis will take about 8 hours of your time.

Deadline: _____

6. The scales must be filled in the order of the sheet in word document attached: 1. The Numerical Scale; 2. The Sedation Scale (FaceSed).

7. We strongly recommend you should not perform the analysis longer than 1 hour a day, as the fatigue may compromise the quality of the analysis.

8. The beginning and deadline of each step is described in the table below. If it is not possible to follow the schedule, please let us know. It's more important for us that the scales are filled carefully than complying the schedule.

9. After the conclusion of each phase, please send the word files to Alice Rodrigues de Oliveira (aliceoliveira.br@gmail.com).

Thank you for your contribution!

Best regards

Alice and Stelio

Table 1. Schedule

Steps	Start	Deadline	Action	Name of the file	Expected time
Familiarization with the scale			Analysis of the photos exemplifying each item of the scale for doubts or concerns	Guidelines - photos	1 hour
1 st training			Analysis of 32 photos	1 st Randomization – training photos	2 hours
2 nd training			Analysis of 32 photos	2 nd Randomization – training photos	2 hours
1 st part of the main analysis			Analysis of 336 photos	1 st Randomization – main analysis photos	8 hours
2 nd part of the main analysis			Analysis of 168 videos and 336 photos	2 nd Randomization – main analysis photos	8 hours

Referências:

- Potter, J.J., Macfarlane, P.D., Love, E.J., Tremaine, H., Taylor, P.M. and Murrell, J.C. (2016) Preliminary investigation comparing a detomidine continuous rate infusion combined with either morphine or buprenorphine for standing sedation in horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **43**, 189–194.
- Johnston, G.M. and Steffey, E. (1995) Confidential enquiry into perioperative equine fatalities (CEPEF). *Vet. Surg. VS Off. J. Am. Coll. Vet. Surg.* **24**, 518–519.

3. Johnston, G.M., Eastment, J.K., Wood, J.L.N. and Taylor, P.M. (2002) The confidential enquiry into perioperative equine fatalities (CEPEF): mortality results of Phases 1 and 2. *Vet Anaesth Analg* **29**, 159–170.
4. Schauvliege, S., Cuypers, C., Michielsens, A., Gasthuys, F. and Gozalo-Marcilla, M. (2019) How to score sedation and adjust the administration rate of sedatives in horses: a literature review and introduction of the Ghent Sedation Algorithm. *Vet. Anaesth. Analg.* **46**, 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.08.005>.
5. Ringer, S.K., Portier, K.G., Fourel, I. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2012) Development of a romifidine constant rate infusion with or without butorphanol for standing sedation of horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **39**, 12–20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22151873>. Accessed February 27, 2017.
6. Ringer, S.K., Portier, K., Torgerson, P.R., Castagno, R. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2013) The effects of a loading dose followed by constant rate infusion of xylazine compared with romifidine on sedation, ataxia and response to stimuli in horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **40**, 157–165.
7. Ringer, S.K., Portier, K.G., Fourel, I. and Bettschart-Wolfensberger, R. (2012) Development of a xylazine constant rate infusion with or without butorphanol for standing sedation of horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **39**, 1–11.
8. Bryant, C.E., England, G.C.W. and Clarke, K.W. (1991) A Comparison of the Sedative Effects of Medetomidine and Xylazine in the Horse. *Vet. Anaesth. Analg.* **18**, 55–57.
9. Taylor, P., Coumbe, K., Henson, F., Scott, D. and Taylor, A. (2014) Evaluation of sedation for standing clinical procedures in horses using detomidine combined with buprenorphine. *Vet. Anaesth. Analg.* **41**, 14–24.
10. Carregaro, A.B., Ueda, G.I., Censoni, J.B., Bisetto, S.P., Alonso, B.B. and Reginato, G.M. (2020) Effect of Methadone Combined With Acepromazine or Detomidine on Sedation and Dissociative Anesthesia in Healthy Horses. *J. Equine Vet. Sci.* **86**, 102908. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102908>.
11. Gozalo-Marcilla, M., Luna, S.P., Crosignani, N., Filho, J.N.P., Possebon, F.S., Pelligand, L. and Taylor, P.M. (2017) Sedative and antinociceptive effects of different combinations of detomidine and methadone in standing horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **44**, 1116–1127.
12. Medeiros, L.Q., Gozalo-Marcilla, M., Taylor, P.M., Campagnol, D., Oliveira, F.A. De, Watanabe, M.J. and Araujo Aguiar, A.J. De (2017) Sedative and cardiopulmonary

effects of dexmedetomidine infusions randomly receiving, or not, butorphanol in standing horses. *Vet. Rec.* **181**.

13. Marly, C., Bettschart-Wolfensberger, R., Nussbaumer, P., Moine, S. and Ringer, S.K. (2014) Evaluation of a romifidine constant rate infusion protocol with or without butorphanol for dentistry and ophthalmologic procedures in standing horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **41**, 491–497.
14. Gozalo-Marcilla, M., Luna, S.P., Gasthuys, F., Pollaris, E., Vlamincx, L., Martens, A., Haspeslagh, M. and Schauvliege, S. (2019) Clinical applicability of detomidine and methadone constant rate infusions for surgery in standing horses. *Vet. Anaesth. Analg.* **46**, 325–334. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2019.01.005>.
15. Gozalo-Marcilla, M., Oliveira, A.R. de, Fonseca, M.W., Possebon, F.S., Pelligand, L., Taylor, P.M. and Luna, S.P.L. (2018) Sedative and antinociceptive effects of different detomidine constant rate infusions, with or without methadone in standing horses. *Equine Vet. J.* . <http://doi.wiley.com/10.1111/evj.13054>. Accessed April 16, 2019.
16. Chevalier, H.M., Provost, P.J. and Karas, A.Z. (2004) Effect of caudal epidural xylazine on intraoperative distress and post-operative pain in Holstein heifers. *Vet. Anaesth. Analg.* **31**, 1–10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-2995.2004.00140.x>.
17. Brondani, J.T., Mama, K.R., Luna, S.P.L., Wright, B.D., Niyom, S., Ambrosio, J., Vogel, P.R. and Padovani, C.R. (2013) Validation of the English version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. *BMC Vet. Res.* **9**, 143. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/143>.
18. Taffarel, M.O., Luna, S.P.L., Oliveira, F.A. de, Cardoso, G.S., Alonso, J. de M., Pantoja, J.C., Brondani, J.T., Love, E., Taylor, P., White, K. and Murrell, J.C. (2015) Refinement and partial validation of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in horses. *BMC Vet. Res.* **11**, 83.
19. Oliveira, F.A. de, Luna, S.P.L., Amaral, J.B. do, Rodrigues, K.A., Sant'Anna, A.C., Daolio, M. and Brondani, J.T. (2014) Validation of the UNESP-Botucatu unidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cattle. *BMC Vet. Res.* **10**, 200.
20. Evangelista, M.C., Watanabe, R., Leung, V.S.Y., Monteiro, B.P., O'Toole, E., Pang, D.S.J. and Steagall, P. V. (2019) Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale. *Sci. Rep.* **9**, 1–11.
21. Gleerup, K.B., Forkman, B., Lindegaard, C. and Andersen, P.H. (2015) An equine pain face. *Vet. Anaesth. Analg.* **42**, 103–114.

22. Dalla Costa, E., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E. and Leach, M.C. (2014) Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration. *PLoS One* **9**, e92281. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0092281>. Accessed May 16, 2017.
23. Vandierendonck, M.C. and Loon, J.P.A.M. Van (2016) 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 validation study. *Vet. J.* **216**, 175–177. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.08.004>.
24. Häger, C., Biernot, S., Buettner, M., Glage, S., Keubler, L.M., Held, N., Bleich, E.M., Otto, K., Müller, C.W., Decker, S., Talbot, S.R. and Bleich, A. (2017) The Sheep Grimace Scale as an indicator of post-operative distress and pain in laboratory sheep. *PLoS One* **12**, 1–15.
25. Oliveira, A.R., Gozalo-Marcilla, M., Fonseca, M.W., Puoli-Filho, J.N.P. and Luna, S.P.L. (2017) Partial validation of a sedation scale in horses. In: *13th World Congress of Veterinary Anaesthesiology*, Veneza. p 122.
26. Gozalo-Marcilla, M., Moreira da Silva, R., Pacca Loureiro Luna, S., Rodrigues de Oliveira, A., Werneck Fonseca, M., Peporine Lopes, N., Taylor, P.M. and Pelligand, L. (2019) A possible solution to model nonlinearity in elimination and distributional clearances with $\alpha 2$ -adrenergic receptor agonists: Example of the intravenous detomidine and methadone combination in sedated horses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1–7.
27. Costa, E.D., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E. and Leach, M.C. (2014) Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration. **9**, 1–10.
28. Mullard, J., Berger, J.M., Ellis, A.D. and Dyson, S. (2017) Development of an ethogram to describe facial expressions in ridden horses (FEReq). *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* **18**, 7–12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jveb.2016.11.005>.
29. Wathan, J., Burrows, A.M., Waller, B.M. and McComb, K. (2015) EquiFACS: The Equine Facial Action Coding System. *PLoS One* **10**, e0131738. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26244573>. Accessed May 17, 2017.
30. Loon, J.P.A.M. van and Dierendonck, M.C. Van (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. *Vet. J.* **206**, 356–364. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.023>.
31. Brondani, J.T., Luna, S.P.L. and Padovani, C.R. (2011) Refinement and initial validation of a multidimensional composite scale for use in assessing acute postoperative pain in cats. *Am. J. Vet. Res.* **72**, 174–183.
 32. Streiner, D.L., Norman, G.R. and Cairney, J. (2015) *Health measurement scales: a practical guide to their development and use*, Oxford University Press.
 33. Miot, H.A. (2016) Análise de concordância em estudos clínicos e experimentais. *J. Vasc. Bras.* **15**, 89–92.
 34. Jensen, M.P. (2003) Questionnaire Validation: A Brief Guide for Readers of the Research Literature. *Clin. J. Pain* **19**, 345–352.
 35. Kaiser, H.F. (1958) The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika* **23**, 187–200.
 36. Cronbach, L. (1951) Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika* **16**, 297–333.
 37. Streiner, D.L. (2003) Starting at the beginning: An introduction to coefficient alpha and internal consistency. *J. Pers. Assess.* **80**, 99–103.
 38. Streiner, D. IL. and Norman, G.R. (2008) *Health Measurement Scales: a practical guide to their development and use*, 4nd ed., Oxford University Press, New York.
 39. Bussi eres, G., Jacques, C., Lainay, O., Beauchamp, G., Leblond, A., Cador e, J.-L., Desmaizi eres, L.-M., Cuvelliez, S.G. and Troncy, E. (2008) Development of a composite orthopaedic pain scale in horses. *Res. Vet. Sci.* **85**, 294–306. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18061637>. Accessed June 8, 2017.
 40. Altman, D. (1990) Some common problems in medical research. In: *Pratical statistics for medical research*. pp 404–408.
 41. Monteiro, B.P., Steagall, P.V.M., Lavoie, A., Frank, D., Troncy, E., Luna, S.P.L. and Brondani, J.T. (2015) Validation of the French version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. In: *Proceedings of the 12th World Congress of Veterinary Anaesthesiology*. pp 184–184.
 42. Sessler, C.N., Gosnell, M.S., Grap, M.J., Brophy, G.M., O’Neal, P. V., Keane, K.A., Tesoro, E.P. and Elswick, R.K. (2002) The Richmond Agitation-Sedation Scale: Validity and reliability in adult intensive care unit patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **166**, 1338–1344.
 43. Lemos, J. De, Tweeddale, M. and Chittock, D. (2000) Measuring quality of sedation in

adult mechanically ventilated critically ill patients: The Vancouver Interaction and Calmness Scale. *J. Clin. Epidemiol.* **53**, 908–919.

44. Ashkenazy, S. and DeKeyser-Ganz, F. (2011) Assessment of the reliability and validity of the Comfort Scale for adult intensive care patients. *Hear. Lung* **40**, e44-51 1p. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hrtlng.2009.12.011>.
45. Zhang, E.Q., Leung, V.S.Y. and Pang, D.S.J. (2019) Influence of rater training on inter- And intrarater reliability when using the rat grimace scale. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* **58**, 178–183.
46. Mich, P.M., Hellyer, P.W., Kogan, L. and Schoenfeld-Tacher, R. (2010) Effects of a pilot training program on veterinary students' pain knowledge, attitude, and assessment skills. *J. Vet. Med. Educ.* **37**, 358–368.
47. Roughan, J. V. and Flecknell, P.A. (2006) Training in behaviour-based post-operative pain scoring in rats - An evaluation based on improved recognition of analgesic requirements. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **96**, 327–342.
48. McDowell, I. (2006) *Measuring Health: A Guide to Rating Scales (Book)*., Third Edit., Oxford University Press.
49. Cook, D.A. and Beckman, T.J. (2006) Current concepts in validity and reliability for psychometric instruments: Theory and application. *Am. J. Med.* **119**, 166.e7-166.e16.
50. Martin, P. and Bateson, P. (2007) *Measuring Behaviour*, Cambridge University Press, Cambridge. <http://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9780511810893>. Accessed January 20, 2020.
51. Holton, L.L., Scott, E.M., Nolan, A.M., Reid, J., Welsh, E. and Flaherty, D. (1998) Comparison of three methods used for assessment of pain in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **212**, 61–66.
52. Vet, H.C.W. de, Terwee, C.B., Mokkink, L.B. and Knol, D.L. (2011) *Measurement in Medicine A Practical Guide*, Cambridge University Press.
53. Hays, R.D. and Hadorn, D. (1992) Responsiveness to change: an aspect of validity, not a separate dimension. *Qual. Life Res.* **1**, 73–75.
54. Plichta, S.B. and Kelvin, E.A. (2011) *Munro's statistical methods for health care research: Sixth edition*.
55. Wagner, M.C., Hecker, K.G. and Pang, D.S.J. (2017) Sedation levels in dogs: a validation study. *BMC Vet. Res.* **13**, 110. <http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-017-1027-2>.