



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

**UTILIZAÇÃO DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA
COMO UMA DAS FERRAMENTAS PARA A
AVALIAÇÃO DO BEM-ESTAR DE EQUINOS SOLTOS
E ESTABULADOS**

DÉBORA RODRIGUES DE OLIVEIRA ELEUTÉRIO DE AZEVEDO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO/2020



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

**UTILIZAÇÃO DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA
COMO UMA DAS FERRAMENTAS PARA A
AVALIAÇÃO DO BEM-ESTAR DE EQUINOS SOLTOS
E ESTABULADOS**

DÉBORA RODRIGUES DE OLIVEIRA ELEUTÉRIO DE AZEVEDO

ORIENTADOR: FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 175/2020

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO/2020

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**UTILIZAÇÃO DE TERMOGRAFIA
INFRAVERMELHA COMO UMA DAS
FERRAMENTAS PARA A AVALIAÇÃO DO BEM-
ESTAR DE EQUINOS SOLTOS E ESTABULADOS**

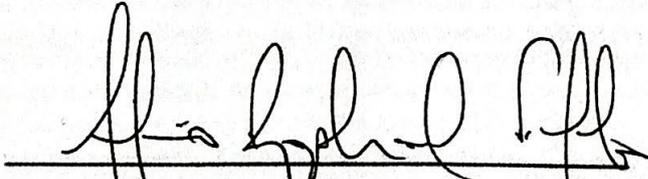
DÉBORA RODRIGUES DE OLIVEIRA ELEUTÉRIO DE AZEVEDO

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM SAÚDE ANIMAL**

APROVADA POR:



**FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL, Doutor (UnB)
(ORIENTADOR)**



**ANTÔNIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO, Doutor (UnB)
(EXAMINADOR INTERNO)**



**CARLOS HENRIQUE CAMARA SAQUETTI, Doutor (PMDF)
(EXAMINADOR EXTERNO)**

BRASÍLIA/DF, 20 de Novembro de 2020

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

AZEVEDO, D. R. O. E. de. **Utilização da Termografia Infravermelha como uma das Ferramentas para a Avaliação do Bem-Estar de Equinos Soltos e Estabulados.**

Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2020, 61p, Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos; foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Azevedo, Débora Rodrigues de Oliveira Eleutério de

Utilização da Termografia Infravermelha como uma das Ferramentas para a Avaliação do Bem-Estar de Equinos Soltos e Estabulados

Orientação de Francisco Ernesto Moreno Bernal

Brasília, 2020. 61p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2020.

1. Parâmetros fisiológicos 2. Estabulação 3. Termografia infravermelha
4. Comportamento.

I. Bernal, F. E. M. II. Doutor

CDU

Agris/FAO

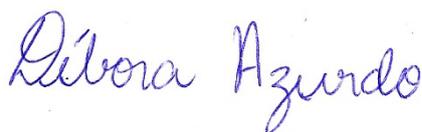
Declaração de Originalidade de Dissertação de Mestrado ou Tese de Doutorado

Declaro que a presente dissertação é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifico e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 20 de novembro de 2020

Assinatura da discente:



Programa: Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

Nome completo: Débora Rodrigues de Oliveira Eleutério de Azevedo

Título do trabalho: Utilização da Termografia Infravermelha como uma das Ferramentas para a Avaliação do Bem-Estar de Equinos Soltos e Estabulados

Nível: (x) Mestrado () Doutorado

Orientador: Francisco Ernesto Moreno Bernal

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos nossos amigos que, por tantos anos, ajudaram a humanidade a se deslocar, a lutar, a se alimentar e defender, mas que não têm voz e, portanto, não têm como dizer se sentem fome, dor, sede, calor, tristeza, tédio... Dedico este trabalho a eles que precisam de um olhar atento e cuidadoso para se fazerem compreender pelos humanos. Dedico este trabalho aos cavalos!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder saúde, vontade e perseverança para prosseguir, tranquilidade para refletir, curiosidade para procurar, humildade para reconhecer os bons exemplos de outros e da Natureza, persistência para resistir e discernimento para escolher. Agradeço também pelas facilidades que me foram colocadas nesta caminhada, bem como pelas dificuldades e adversidades que precisei enfrentar.

Ao Prof. Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal pela oportunidade, pela orientação, pela paciência, pela compreensão, pela amizade, pela disponibilidade, mesmo em momentos especiais como o isolamento social, e pelos conhecimentos transmitidos. Agradeço pela chance de realizar este experimento sobre o Bem-Estar de equinos, animais que tanto amo, e de trabalhar no Laboratório de Bem-Estar Animal/FAV/UnB, com os equipamentos de alta tecnologia e os profissionais capacitados que lá estão.

Ao Professor Dr. Bruno Dallago por ter sido um ponto de apoio nos momentos de maior dificuldade, por ter tido a boa vontade de me atender sempre que busquei ajuda, por ter auxiliado na realização das análises estatísticas. Sem a sua colaboração, professor, este trabalho não se teria concretizado.

Agradeço a todos os professores que me acompanharam nesta jornada, em especial ao Professor Dr. Antônio Raphael Teixeira e à Professora Dra. Giane Regina Paludo

A todos os policiais do Comando de Policiamento Montado da Polícia Militar do Distrito Federal, em especial ao Major Renato Fonseca, por ter possibilitado a realização deste estudo com os cavalos da corporação.

Obrigada a todos os membros dos 1º e 2º Regimentos de Polícia Montada do Distrito Federal que nos ajudaram durante as coletas pela presteza e disponibilidade.

Aos estagiários Amanda Carvalho, Amanda de Oliveira e Júlio Rafael Pereira pela amizade, empenho e zelo com o experimento. Muito obrigada!

Ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária/UnB por disponibilizar os equipamentos e o pessoal, possibilitando o processamento das amostras. Em

especial, aos residentes, técnicos e estagiários do laboratório, que pronta e pacientemente auxiliaram neste processo.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal por financiar o experimento.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, MUITO OBRIGADA!!!

“Os cavalos nos emprestam as asas que nos faltam”

Autor desconhecido

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de comparar o grau de bem-estar animal e a condição térmica dos membros (aferida por TIV) entre cavalos mantidos soltos e aqueles sob estabulação contínua. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e doze repetições. Para tal, utilizaram-se 24 equinos machos castrados, da raça Brasileiro de Hipismo, com idade entre 5 e 9 anos e peso médio de 500 ± 50 kg, divididos em 2 grupos experimentais: 1) RPMon, com 12 equinos mantidos em piquetes e que exerciam exclusivamente patrulha urbana; 2) Choque, com 12 animais que exerciam exclusivamente patrulha urbana e eram mantidos em regime de estabulação contínua, alojados em cocheiras com 12 m^2 ($3 \text{ m} \times 4 \text{ m}$), de concreto e sem cama. Todos eles foram alimentados com feno de gramínea e de alfafa (*Cynodon spp.* e *Medicago sativa*) além de 5 quilos de ração/animal/dia. Os animais foram avaliados uma vez por semana, ao longo de seis semanas e foram coletados dados comportamentais, térmicos (das extremidades distais dos membros e dos olhos) e amostras sanguíneas. Observaram-se comportamentos estereotipados, concentrações séricas de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatino quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), lactato, magnésio (Mg^{2+}), cortisol, temperaturas oculares máximas e temperaturas máximas e médias periféricas para quatro regiões anatômicas (carpo/tarso, metacarpo/metatarso, boleto e casco) de cada membro. Os equinos confinados tiveram comportamentos estereotipados e apresentaram alta concentração sérica de cortisol, indicando que eles tinham menor grau de bem-estar animal quando comparados aos manejados em piquetes de pasto, que só executaram comportamentos próprios da espécie. A termografia infravermelha de membros apresentou potencial preditivo na identificação de estresse crônico em equinos, pois a capacidade discriminante de algumas variáveis térmicas foi considerável (74,5%). No entanto, a temperatura máxima ocular não se mostrou um método eficiente na detecção de estresse para equinos, pois não se observou correlação com a concentração sérica de cortisol ($p > 0,05$). Porém, ainda são necessários mais estudos para comprovar esses achados.

Palavras chave: Parâmetros fisiológicos, estabulação, termografia infravermelha comportamento.

ABSTRACT

The effects of housing on equine welfare and thermal conditions of limbs were investigated using 24 gelding horses, of Brasileiro de Hipismo breed, aging between 5 and 9 years old, with average weight of $500 \pm 50\text{Kg}$. These animals were divided into two groups: 1) RPMon, with 12 horses kept in paddocks and ridden exclusively on urban patrol; 2) Choque, with 12 horses kept in 12m^2 (3m x 4m) box stalls, ridden exclusively on urban patrol. All of them were feed with grass hay and alfafa hay (*Cynodon spp.* e *Medicago sativa*), plus 5Kg/animal/day of concentrated food. The sample collections took place once a week for 6 weeks. Behavior data, thermal data (from eyes, forelegs and hindlegs) and blood samples were also collected. Stereotypic behaviors, maximum eye temperature (MET), maximum and average temperatures of carpus/tarsus, metacarpus/metatarsus, fetlock and hoof of each limb were assessed. Serum concentrations of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), lactate, magnesium (Mg^{2+}) and cortisol were also measured. The housed horses presented stereotypic behaviours as crib-biting, lip-licking and random head movements. Their cortisol serum concentration was really high, although the enzymes were inside the reference values. It shows that these horses were in a distress condition and the housing without time in paddock is an unsuitable management. In other way, the RPMon horses displayed only normal behaviors, but their serum cortisol concentration was also high. It, probably, reveals that the relationship between the handlers and the horses is not so kind at that facility. The MET didn't seem to be a good index of stress, because it had no correlation ($p > 0,05$) with serum cortisol concentration. Some limb temperatures had a high discriminant value (74,5%), what could mean that these thermal data should be used as an index of chronic stress, although, to confirm this, further essays are necessary.

Key-words: Physiological Parameters, Housing, Infrared Thermography, Behavior.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO.....	1
JUSTIFICATIVA.....	2
OBJETIVOS.....	2
3.1 Objetivo geral	2
3.2 Objetivos específicos.....	2
REFERENCIAL TEÓRICO	3
4.1 Bem-estar animal	3
4.2 O cavalo (<i>Equus caballus</i>).....	4
4.3 A interação humano-cavalo	5
4.4 A estabulação e suas implicações.....	5
4.5 Mensuração do grau de bem-estar animal	8
4.6 Termografia infravermelha.....	12
4.7 Bioquímica sérica para avaliação muscular.....	15
Capítulo Único	18
RESUMO	19
ABSTRACT.....	20
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1 Aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal.....	23
2.2 Local	23
2.3 Animais, manejo e instalações	23
2.4 Duração da coleta de dados.....	24
2.5 Caracterização do ambiente térmico	24
2.6 Coleta e processamento das amostras	24
2.7 Termografias de membros e olhos	25

2.8 Soro sanguíneo	27
2.9 Análises bioquímicas do sangue	27
2.10 Cortisol	27
2.11 Observações comportamentais	27
2.12 Delineamento experimental e análise estatística.....	28
RESULTADOS	31
3.1 Temperaturas de membros	31
3.2 Temperatura máxima ocular (TMO)	34
3.3 Bioquímica sérica	34
3.4 Observação comportamental.....	37
3.5 Análise discriminante.....	38
DISCUSSÃO.....	40
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS.....	61
Anexo I	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma para a colheita de amostras	25
Figura 2. Exemplo de imagem térmica de membro anterior	26
Figura 3. Exemplo de imagem térmica do olho direito.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Diferenças de temperatura entre membros de acordo com a temperatura ambiente em equinos estabulados.....	32
Tabela 2. Diferenças de temperatura entre membros de acordo com a temperatura ambiente em equinos mantidos em pastagem.....	33
Tabela 3. Análise de correlação para os componentes sanguíneos dos animais no grupo RPMon.	35
Tabela 4. Análise de correlação para os componentes sanguíneos dos animais no grupo Choque.....	35
Tabela 5. Valores médios (\pm desvio padrão) dos componentes séricos pesquisados por grupo e dia experimental.....	36
Tabela 6. Descrição dos comportamentos observados no grupo Choque.....	37
Tabela 7. Análise de correlação para os comportamentos anotados dos animais do grupo Choque.....	37
Tabela 8. Número de observações e percentuais de classificação, considerando-se todas as variáveis.....	38
Tabela 9. Contagem de erro estimada por grupo experimental considerando-se todas as variáveis.	38
Tabela 10. Número de observações e percentuais de classificação, considerando-se variáveis térmicas selecionadas.....	39
Tabela 11. Contagem de erro estimada por grupo experimental considerando-se variáveis térmicas selecionadas.....	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

$\mu\text{g}/100\text{mL}$	Micrograma por cem mililitros
1° RPMon-DF	Primeiro Regimento de Polícia Montada do Distrito Federal
2° RPMon-DF	Segundo Regimento de Polícia Montada do Distrito Federal
A	Do membro anterior
A/P	Comparação de estruturas dos membros anterior e posterior
AD	Membro anterior direito
AE	Membro anterior esquerdo
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
AWIN	<i>Animal Welfare Indicators</i>
<i>b</i>	Boleto
Bol A	Boleto do membro anterior
Bol P	Boleto do membro posterior
<i>carp</i>	Carpó
CEUA	Comitê de Ética e Uso Animal
CK	Creatino quinase
CK-BB	Isoforma cerebral da creatino quinase
CK-MB	Isoforma híbrida da creatino quinase
CK-MM	Isoforma muscular da creatino quinase
CS	<i>Component simetry</i>
D/E	Comparação de estruturas dos membros direito e esquerdo
ELISA	Ensaio imunossorvente ligado a enzima

FEI.....	Federação Equestre Internacional
g	Força gravitacional
h	Hora
Kg.....	Quilograma
Km.....	Quilômetro
LAC	Lactato
LDH	Lactato desidrogenase
LL	Lamber lábio
m	Metro
<i>M</i>	Média aritmética das temperaturas entre parênteses nas equações 4 a 9
m ²	Metro quadrado
<i>MÁX</i>	Valor máximo
MC.....	Movimentos aleatórios com a cabeça
MET.....	Maximum eye temperature
<i>meta</i>	Metacarpo ou metatarso dependendo do membro de referência (anterior ou posterior)
Metac	Metacarpo
Metat	Metatarso
mg/100mL	Miligrama por cem mililitros
Mg ²⁺	Íon magnésio
<i>MÍN</i>	Valor mínimo
mm	Milímetro
mmol/L	Milimol por litro
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
O ₂	Oxigênio

OD..... Olho direito
 OE..... Olho esquerdo
 OIE..... Organização Internacional de Saúde Animal
 ORVA..... Obstrução Recorrente das Vias Aéreas
 P..... Do membro posterior
 PD..... Membro posterior direito
 PE..... Membro posterior esquerdo
 pH..... Potencial hidrogeniônico
 r ... Região anatômica de interesse (casco, boleto, carpo/tarso, metacarpo/metatarso)
 R² .. Proporção da variância explicada pelo modelo gerado pela análise discriminante
 SAS..... *Statistical Analysis System*
 SNA..... Sistema nervoso autônomo
 t_LL..... Duração da apresentação do comportamento de lambe o lábio
 t_MC..... Duração da apresentação de movimentos aleatórios com a cabeça
 t_Morder..... Duração da apresentação do comportamento morder
 TIV..... Termografia infravermelha
 Tm..... Média das temperaturas registradas para um membro ou região anatômica
 Tmax ... Temperatura máxima registrada para as equações 1 a 3 ou média das
 temperaturas máximas observadas para as equações 4 a 9
 TMO..... Temperatura máxima ocular
 UI/L..... Unidade internacional por litro
 UnB..... Universidade de Brasília

INTRODUÇÃO

Os recentes questionamentos sobre o uso dos animais em diversos setores da agroindústria têm colocado em foco a questão do bem-estar na produção animal. Com os equinos se dá de maneira semelhante, pois se percebem movimentos na sociedade que vão desde a criação de certificação envolvendo o bem-estar dos cavalos até o posicionamento de ativistas contra a atividade equestre.

Nesse sentido, os pontos passíveis de dúvida são muitos. No entanto, as pesquisas científicas no campo do bem-estar animal apresentam capacidade de comprovar quais práticas são, de fato, prejudiciais à saúde física e mental dos equinos. Um exemplo é o uso contínuo de baias no alojamento dos cavalos, pois esse manejo impõe aos animais condições bastante distintas daquelas nas quais a espécie evoluiu, o que pode levar à condição de bem-estar pobre e culminar com a perda de saúde, ou até da própria vida.

Um outro desafio, porém, consiste na avaliação da saúde e na mensuração do grau de bem-estar sem que se configure uma situação estressante para o animal, pois a contenção, por mais simples que seja, pode representar uma fonte de estresse. Assim a possibilidade de utilização de um método preciso, não invasivo e que possa ser realizado à distância teria grandes implicações para a pesquisa e poderia ser uma ferramenta auxiliar ao diagnóstico e tratamento de afecções musculoesqueléticas. Nesse sentido, a termografia infravermelha (TIV), apresenta grande potencial, uma vez que, ao permitir a obtenção de imagens que representam a temperatura superficial dos animais sem a necessidade de contato com eles, parece cumprir os requisitos acima.

Portanto, o presente estudo tem por objetivo verificar as implicações da estabulação sobre as características termográficas dos membros de equinos adultos, comparar animais mantidos em pastagens com aqueles que permanecem a maior parte do dia em baias, tendo-se como foco o seu nível de bem-estar, e confirmar se a TIV pode ser utilizada como parâmetro para esta mensuração.

JUSTIFICATIVA

As restrições impostas pela estabulação, especialmente no tocante ao comportamento natural dos equinos, podem prejudicar o bem-estar animal e a higidez do aparelho locomotor. Sabe-se que a estabulação e o manejo imposto em consequência desse tipo de alojamento provocam graves consequências sobre a saúde dos membros de potros (LEPEULE, et al., 2010), porém pouco se conhece sobre seus efeitos no aparato locomotor dos equinos adultos. Ademais, diagnosticar ou medir o grau de estresse, bem como avaliar o grau de higidez do aparelho locomotor exige, por si só, contenção e manipulação do animal, que invariavelmente são fatores causadores de estresse. Logo, a termografia se apresenta como possível alternativa aos métodos atualmente empregados por ser não invasiva e não envolver a manipulação direta do animal.

OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Comparar o grau de bem-estar animal e condição térmica dos membros (aferida por TIV) entre cavalos mantidos soltos e aqueles sob estabulação contínua.

3.2 Objetivos específicos

Este experimento tem por objetivos específicos:

- Determinar o ambiente térmico no recinto das coletas;
- Aferir a temperatura superficial das extremidades distais dos membros (dos cascos à articulação rádio-cárpica/ tíbio-társica) utilizando o termógrafo;
- Aferir a temperatura dos globos oculares (direito e esquerdo) e relacionar com o grau de bem-estar;
- Coletar sangue para quantificação sérica de lactato, magnésio (Mg^{2+}), creatino quinase (CK), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH)
- Identificar estereotípias e sua prevalência nos animais.

REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Bem-estar animal

Segundo a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), bem-estar animal é o estado físico e mental de um animal em relação às circunstâncias em que ele vive e morre (OIE, 2008). Broom (2008), por sua vez, definiu como o nível de equilíbrio físico, psicológico e comportamental de um indivíduo em relação às suas tentativas de se adaptar ao ambiente. Ou seja, refere-se ao quão bem ele passa por determinadas fases da vida. Uma das primeiras discussões acadêmicas sobre esse tema ocorreu em 1965, no Comitê Brambell, no qual foram estabelecidas “As 5 Liberdades”, que delimitam quais são as necessidades mínimas para um estado basal de bem-estar animal: (I) livre de fome e de sede; (II) livre de desconforto; (III) livre de dor, injúria ou doença; (IV) livre de medo e estresse (V) e livre para expressar seu comportamento natural (BROOM, 2008)

O bem-estar dos animais pode ser medido, porém todas as avaliações devem ser isentas de considerações morais por parte do observador (BROOM & MOLENTO, 2004). Essas mensurações devem ser sustentadas pelo conhecimento da biologia da espécie animal estudada e, em particular, pelo que é conhecido dentre os métodos utilizados por esses animais para tentar superar adversidades, observando-se seus sinais de sucesso e de fracasso durante as tentativas de adaptação. Desse modo, essas determinações podem ser realizadas através de uma série de parâmetros, sejam eles comportamentais, fisiológicos ou pela constatação de um evento patológico (BROOM, 2008).

O ambiente, por sua vez, é considerado adequado quando permite ao animal satisfazer suas exigências para a obtenção de determinados recursos ou a expressão de determinadas condutas ou respostas comportamentais aos variados estímulos ambientais ou fisiológicos. Dessa maneira, pode-se inferir que a escolha de uma determinada raça esteja na dependência da rapidez da adaptação ao local onde foram inseridos, tendo como parâmetros de avaliação desse processo adaptativo, as condições fisiológica e corporal, produção, produtividade e reprodução, estado sanitário e de saúde e finalmente longevidade ou perspectiva de vida dos animais no processo (BROOM, 2008). Fornecer água e alimento em qualidade, quantidade e frequência adequadas, condições sanitárias com prevenção do aparecimento de doenças e atendimento veterinário imediato em situações de emergência são

características ambientais que podem engrandecer qualquer produção animal, que são, necessariamente, oferecidas por um humano em atendimento ao fato de ser responsável pelos animais e de ter repercussão direta no nível de bem-estar animal (BROOM & MOLENTO, 2004).

4.2 O cavalo (*Equus caballus*)

Cavalo é o termo popularmente utilizado para designar os animais pertencentes à espécie *Equus caballus*, à ordem Perissodactyla, à sub-ordem Hippomorpha, à superfamília Equoidea e à família Equidae. O gênero *Equus* contém sete espécies espalhadas pelo planeta: *E. przewalskii*, *E. hemionus*, *E. grevyi*, *E. burchelli*, *E. zebra*, *E. asinus* e *E. caballus* (MCGREEVY, 2012), sendo que somente as duas últimas, respectivamente, o asno e o cavalo, estão presentes no Brasil de maneira doméstica. As demais são selvagens ou não são encontradas no país (ALMEIDA & SILVA, 2010).

São animais herbívoros e altamente sociáveis que evitam dispersar-se e defendem seus territórios. Como são desprovidos de chifres e cornos, eles permanecem sempre atentos ao ambiente e a fuga é o seu principal mecanismo de sobrevivência. Disso, decorre sua preferência por alimentarem-se em planícies, pois seu crânio longo e seus olhos lateralmente posicionados na cabeça permitem manter a vigilância enquanto comem (MCGREEVY, 2012).

Sua organização social lhes permite trocar informações através de sinais visuais, auditivos e olfativos (BEAVER, 2019). Dessa forma, a permanência em grupo favorece a detecção dos melhores locais de alimentação ou de eventuais predadores (MCGREEVY, 2012).

Diferentemente dos ruminantes, que têm bolsas fermentativas pré-estomacais e regurgitam para digerir os carboidratos complexos de origem vegetal, os equinos possuem um estômago pequeno, quando comparado ao seu tamanho corporal e ao tamanho de seu aparato digestivo, e uma grande câmara fermentativa pós-estomacal, o ceco (DAVIES, 2018). Devido à sua anatomia, eles ingerem pequenas porções de forrageiras ao longo de todo o dia e buscam sempre por plantas de alto valor nutricional, porque necessitam de uma força muscular tremenda para desenvolver a fuga com agilidade e velocidade, sempre que o ambiente lhes apresentar uma situação ameaçadora (MCGREEVY, 2012).

4.3 A interação humano-cavalo

Há evidências de que a domesticação dos equinos tenha se iniciado há cerca de 6000 anos por povos nômades da Ásia Central (BROWN et al., 2003). Embora a produção de carne represente a primeira motivação para esse processo, seus maiores impactos relacionam-se à equitação e ao transporte. Isso, porque os povos equestres deslocavam-se mais rapidamente, ocupando primeiro as novas áreas e, em situações de conflito, eles dispunham de maior velocidade, agilidade e força, o que lhes garantia sucesso tanto militar quanto nas suas migrações (MCGREEVY, 2012)

No Brasil atual, o mais importante emprego dos equinos é o manejo de grandes rebanhos bovinos para a produção de carne (LIMA & CINTRA, 2015). No entanto, suas principais atribuições urbanas incluem propósitos recreativos como as competições de diversas modalidades esportivas e as seleções raciais (MCGREEVY, 2012). Apesar da redução nas atribuições militares dos cavalos, a manutenção das cavalarias é fundamental para algumas situações específicas como o patrulhamento urbano e o controle de multidões. Como o ambiente das cidades apresenta grande restrição espacial, a interface com as baias se faz necessária (LEAL, 2007).

4.4 A estabulação e suas implicações

As diversas razões para se utilizar uma cocheira podem ser resumidas em proteção para o equino e conveniência para o proprietário. Ela protege do frio, do vento e da umidade durante os meses de inverno e representa abrigo contra o calor, o sol e as moscas durante o verão. Para o proprietário, as vantagens encontram-se na plena disponibilidade de um cavalo limpo e seco, no controle nutricional preciso e individualizado, na possibilidade de manter um equino em área reduzida e em ausência completa de pasto. Prática, esta, adotada por alguns criatórios por opção e por proprietários urbanos, por necessidade (BROWN, et al., 2003).

Algumas das características mais marcantes da estabulação são a restrição de espaço, a dieta balanceada, fornecida em horários determinados e o isolamento. A definição de horários para fornecer o alimento, seja ele volumoso ou concentrado, atende mais à conveniência do tratador do que às necessidades dos cavalos, pois em condições selvagem ou soltos em pastagens, eles dedicam cerca de 70% de seu tempo à alimentação, com curtos intervalos de jejum, que não chegam a 3 horas. Porém, toda a comida fornecida em um dia para um equino encocheirado,

atendendo ao conceito de dieta balanceada, pode ser consumida em menos de duas horas. Os longos períodos de jejum, principalmente após o fornecimento da ração concentrada, têm sido associados à queda do pH gástrico, com consequente formação de úlceras gástricas e esofágicas (MCGREEVY, 2012). Alguns estudos têm associado a ocorrência de distúrbios digestivos aos manejos alimentar e nutricional (ARCHER & PROUDMAN, 2006; COHEN, et al., 2006), o que leva a crer que isso represente, por si só, um desafio para os cavalos.

Sob o aspecto da locomoção, a área disponível limitada impede o ocupante da baia de exercer seu comportamento cinético, que consiste em deslocamentos ao longo de todo o dia em busca de alimentos mais nutritivos e para evitar permanecer próximo de suas fezes e urina, uma vez que esses odores atraem predadores (MCGREEVY, 2012). Segundo Hampson, et al. (2010), os equinos percorrem, em média, 7,5 Km por dia em piquetes e 17,9 Km por dia em condições selvagens. Visando minimizar os efeitos deletérios da reclusão, muitos proprietário buscam manter seus cavalos sob uma rígida rotina de exercícios (WARAN, et al., 2003), embora o súbito contraste da atividade muscular durante o exercício e durante o ócio favoreça o desenvolvimento de alterações como a rabdomiólise (VALBERG, 2017).

Sob a justificativa de prevenir lesões causadas por brigas entre os equinos, a maioria dos modelos de cocheira preconiza o isolamento, especialmente, diante da escassa literatura científica sobre o assunto (HARTMANN, et al., 2012). No entanto, os equinos são seres naturalmente sociáveis e a solidão parece ser aversiva para eles (CHRISTENSEN, et al., 2002). Corroborando os achados de Christensen et al. (2002), outros estudos indicam que o confinamento e a falta de contato social, dentre outros fatores do manejo, estão associados ao desenvolvimento de estereotipias, como movimentos laterais repetitivos, caminhar na baia e morder estruturas do ambiente (BACHMANN & STAUFFACHER, 2002; COOPER & ALBENTOSA, 2005; HENDERSON, 2007; VISSER, et al., 2008; HARTMANN, et al., 2012). Por outro lado, Feh (2005) observou que comportamentos estereotípicos nunca foram observados em cavalos selvagens.

Não obstante, a estabulação prolongada pode apresentar efeitos graves também sobre a saúde física dos equinos. Sabe-se que a qualidade do ar dentro dos pavilhões de baias tende a ser baixa, uma vez que há acúmulo de excretas dos

animais nos recintos, a maioria deles, com pouca circulação de ar e, conseqüentemente, poucas trocas de ar. Desse modo, as vias aéreas de equinos alojados nesses ambientes costumam apresentar inflamação e, não raro, há casos de doenças tal como a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) e a pneumonia fúngica (DAVIS, 2017).

Há relação, também, entre a incidência de doenças do trato gastrointestinal e a estabulação. De acordo com Cohen et al. (2006), o fornecimento de grandes quantidades de ração favorece a inflamação de porções do intestino delgado. No mesmo estudo, foi observado que o pastejo se apresenta como uma medida protetiva, uma vez que teve forte associação negativa à enfermidade pesquisada, ou seja, a prevalência de doença chegou a ser quatro vezes menor nos animais com acesso livre à pastagem adequada a espécie. Scantlebury et al. (2015) também apontaram como fatores de risco ao desenvolvimento da síndrome cólica a reclusão, a falta de acesso a pastagens e a presença de comportamentos esterotipados como aerofagia e morder estruturas do ambiente. Nesse sentido, Leal (2007) aventou que a estratégia nutricional frequentemente utilizada no manejo de estabulação contínua seja danosa, porque a ração concentrada fermenta rapidamente e o volumoso, com frequência, é desidratado (feno), favorecendo gastrites e impactações. Além disso, há efeito adicional dos carboidratos sobre a circulação sanguínea de membros: a sobrecarga desse componente na dieta pode provocar redução da perfusão sanguínea nos capilares dos cascos, culminando com um quadro de laminite aguda (BAXTER, 2011).

A literatura disponível sobre os efeitos da restrição de movimento sobre a saúde do aparato locomotor dos equinos demonstra apenas que a carga contínua sobre o membro propicia a redução do fluxo sanguíneo culminando, em alguns casos, em estase sanguínea (HOFFMANN, et al., 2001). Contudo, nenhum dos trabalhos consultados abordou as possíveis repercussões clínicas dessa condição a longo prazo. No entanto, Lepeule et al. (2010) citaram a reclusão como fator de risco para o aparecimento de doenças ortopédicas do desenvolvimento em potros.

Como a estabulação apresenta condições muito distintas daquelas vivenciadas pelos equinos em estado selvagem ou mesmo em piquetes, acredita-se que ela possa ser causa de estresse e enfermidades, culminando com a supressão

de algumas das 5 liberdades e com a redução no nível de bem-estar dos animais submetidos a esse sistema.

4.5 Mensuração do grau de bem-estar animal

A condição de bem-estar animal pode ser medida a partir do conhecimento da biologia da espécie estudada, tendo-se como referência os métodos utilizados por eles para tentar superar adversidades, observando-se seus sinais de sucesso e de falha durante as tentativas de adaptação. Essas determinações podem, portanto, ser realizadas pela análise em conjunto de uma série de parâmetros, sejam eles comportamentais, fisiológicos ou pela constatação de um evento patológico (BROOM, 2008).

Nesse sentido, muitos protocolos de avaliação de bem-estar animal utilizam medidas padronizadas e objetivas como critérios de avaliação, incluindo nutrição, sanidade, ambiente, expressão de comportamentos naturais e inferência de sentimentos (WELFARE QUALITY® , 2009; AWIN, 2015), primariamente baseadas nos animais e no ambiente e depois integradas em um sistema geral de análise. Logo, o modelo dos “Cinco Domínios” do bem-estar animal proposto por Mellor & Reid (1994), apresenta-se como um método sistemático, estruturado e abrangente de avaliação e gerenciamento do bem-estar dos animais. No entanto, como se trata de uma interpretação feita pelo observador de um conjunto de experiências do animal pesquisado, ele não deve ser considerado como uma representação fidedigna da relação entre estrutura e função do organismo animal, tampouco como uma definição de bem-estar animal. São considerados quatro domínios que contemplam os estados internos ou físico-funcionais do animal, sendo eles “Nutrição” (Domínio 1), “Ambiente” (Domínio 2), “Saúde” (Domínio 3) e “Comportamento” (Domínio 4). O comprometimento dos domínios físicos (Domínios 1 a 4) é usado para inferir cautelosamente quaisquer experiências afetivas associadas ao domínio “Mental” (Domínio 5). Recentemente, esse modelo foi atualizado com a inclusão dos estados mentais positivos (MELLOR & BEAUSOLEIL, 2015; MELLOR, 2017).

Com o intuito de garantir a fidedignidade da avaliação, especialmente para o ambiente de pesquisa, é interessante observar também parâmetros séricos hormonais e enzimáticos. Contudo, sua interpretação deve ser cuidadosa e considerar aquilo que é normal para cada espécie. Como cuidado adicional, cabe lembrar que em virtude da existência de variação das respostas fisiológicas e comportamentais

entre indivíduos, qualquer avaliação do bem-estar animal deve envolver sempre mais de uma determinação (BROOM, 2008).

Diante do exposto, é importante ressaltar que o estresse pode ser entendido como a percepção do organismo de que o ambiente lhe impõe um desafio capaz de ameaçar sua homeostase, que, de acordo com Guyton e Hall (2011), significa a manutenção de condições quase constantes no meio interno do corpo, considerando-se todas as variáveis e os respectivos equilíbrios possíveis. As respostas adaptativas consistem, então, nas suas tentativas biológicas de contratar o estressor e re-estabelecer a homeostase (BARTOLOMÉ & COCKRAM, 2016).

Como se trata de um mecanismo fisiológico que os animais desenvolveram para superar desafios rotineiros, o estresse nem sempre tem efeitos negativos sobre a homeostase corporal. Nesses casos, o custo biológico da resposta ao estressor é menor do que as reservas já destinadas a esse fim. Mas, se esse equilíbrio é quebrado, torna-se necessário utilizar energia de outras fontes do organismo, prejudicando-as. Nesse caso, o animal entra em uma condição pré-patológica ou patológica e há uma situação de distresse (MORBERG & MENCH, 2000). Sanford et al. (1986) fizeram uma distinção mais ampla entre estresse e distresse: enquanto no primeiro o animal sequer se dá conta de que teve de fazer uma adaptação homeostática, o segundo representa um esforço consciente para vencer um desafio. Essa diferença se mostra importante para estudos de bem-estar animal, porque o distresse implica estado emocional negativo, ou seja, uma piora no nível de bem-estar (BARTOLOMÉ & COCKRAM, 2016).

Uma vez que o sistema nervoso central percebe a potencial ameaça, ele desenvolve uma reação biológica que consiste em uma combinação de defesas, envolvendo sistemas específicos, que trabalharão em conjunto para driblar os efeitos do estressor. Nesse sentido, a resposta biológica pode se dar em nível comportamental e fisiológico, afetando o sistema nervoso autônomo (SNA) tanto em seu canal mediado pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal como no que acessa diretamente as glândulas adrenais (MORBERG & MENCH, 2000).

O sistema nervoso autônomo é associado à reação de “luta ou fuga” (CANNON, 1929). Dessa forma, suas duas vias, a parassimpática e a simpática, são ativadas perante estímulos de movimento, como um exercício físico. O sistema

nervoso parassimpático é acionado ao início da atividade, impelindo a ação do sistema nervoso simpático, que promove a liberação sistêmica de catecolaminas. Essas, por sua vez, potencializam a resposta corporal, aumentando o aporte sanguíneo à musculatura estriada esquelética e mobilizando glicogênio e ácidos graxos como combustíveis, em nível celular, para o esforço. Portanto, quando estimulado, o SNA afeta uma variedade de outros sistemas do organismo animal, como o cardiovascular, o gastrointestinal, as glândulas exócrinas e a medula das adrenais (GUYTON & HALL, 2011).

Em seguida, a resposta neuroendócrina, mediada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, leva à liberação de glicocorticoides na corrente sanguínea, cujo papel é inicialmente protetivo, porque busca reestabelecer as condições normais de sistemas metabólicos de carboidratos, proteínas e lipídeos (GUYTON & HALL, 2011). Seus efeitos sobre o organismo têm capacidade para serem amplos e duradouros uma vez que afetam diversas funções biológicas como imunocompetência, reprodução, metabolismo e comportamento (BARTOLOMÉ & COCKRAM, 2016). Nesse sentido, a quantificação sérica dessa substância é uma das maneiras de se avaliar a presença de estresse agudo (MORBERG & MENCH, 2000).

A resposta comportamental, por sua vez, tende a ser a de menor custo biológico e, comumente, é a primeira que se utiliza. Por exemplo, um predador pode ser evitado por meio da fuga, ou pode-se buscar uma sombra se a temperatura corporal estiver elevada (MORBERG & MENCH, 2000). Dessa forma, o comportamento pode ser definido como a resposta de um indivíduo ao ambiente. Demonstrados pelas escolhas perante situações específicas, os indicadores comportamentais fornecem impressões sobre as preferências e necessidades dos animais (MCGREEVY, 2012). No entanto, há uma série de desafios para os quais esse tipo de reação é ineficiente e o animal pode se encontrar numa condição na qual suas opções de conduta sejam limitadas ou até frustrantes. Nesse sentido, mesmo que não reduzam o estressor, alguns componentes comportamentais podem ainda fazer parte da resposta ao estresse, o que torna o comportamento uma importante fonte de informações sobre a presença de distresse (MORBERG & MENCH, 2000) e faz com que possa ser usado como um parâmetro para a mensuração do grau de bem-estar (YOUNG, et al., 2012). Dessa forma, quando os equinos não conseguem se adaptar às condições que os cercam, podem começar a realizar as chamadas

estereotípias (HOTHERSALL & CASEY, 2012), que consistem em comportamentos repetitivos, invariáveis e sem objetivo óbvio ou funcional (HOUPPT, 2018). Elas não só podem ser consideradas indicativas de piora do nível de bem-estar, como estão associadas a consequências deletérias, como cólicas (WICKENS & HELESKI, 2010).

Conduitas como escoicear a baia, chutar a porta da baia, movimentos laterais repetitivos (*weaving*) e caminhar na baia são consideradas estereotípias locomotoras, cuja observação é frequente antes de atividades cotidianas, como o fornecimento de ração. Há indícios de que são causadas por uma sub-estimulação (o que muitos designam como “tédio”) ou pelo impedimento de atender aos estímulos para se mover livremente (MCGREEVY, 2012).

Os movimentos laterais repetitivos consistem na oscilação lateral de cabeça, pescoço e membros anteriores. A longo prazo, pode haver o desenvolvimento de problemas físicos, em decorrência desse comportamento, como estiramentos ligamentares (BEAVER, 2019). De acordo com Leal (2007), os cavalos afetados podem apresentar também desenvolvimento irregular da musculatura do pescoço, desgaste excessivo dos cascos e sobrecarga dos membros, causando, em casos extremos, claudicação. Sobre a sua origem, Beaver (2019) destacou, em concordância a McGreevy (2012), que parece estar relacionada à reclusão e ao contato social limitado (apenas visual) ou à ausência de contato social.

Outra estereotípiia locomotora comum consiste em caminhar na baia. Trata-se de percorrer a baia mantendo uma rota fixa, que frequentemente é circular. Esse comportamento realizado em apenas uma direção pode favorecer à hipertrofia e à atrofia contralateral da musculatura lombar (MCGREEVY, 2012). Assim como acontece em outras alterações comportamentais, essa relaciona-se a questões de manejo, como mínimo contato social e necessidade de exercitar-se (BEAVER, 2019).

Por outro lado, práticas como morder e lambe estruturas do ambiente, realizar movimentos variados com a língua e com o lábio, sugar ar e coprofagia (ingerir fezes) são chamadas de estereotípias orais (LEAL, 2007). Elas parecem ser influenciadas pela baixa ingestão de volumoso e pela impossibilidade de pastejo, que, além de prejudicar o consumo de fibras longas, elimina o deslocamento e a busca pelo melhor alimento. Não obstante, a restrição de fibras tem sido associada ao consumo de substratos incomuns, como serragem, palha de arroz, areia e fezes (BUDZYNSKA, 2014).

A estereotipia do “cavalo mordedor” pode ser descrita como o hábito do animal de fixar seus dentes incisivos superiores em algumas estruturas do ambiente, estender o pescoço suavemente, empurrando o objeto para baixo, tensionando a musculatura ventral do pescoço e puxando-o para trás, de maneira que aumente a pressão sobre o objeto. A força aplicada pelo bordo ventral do pescoço, às vezes, é forte o suficiente para levantar 50Kg (BEAVER, 2019). Nesse sentido, alguns animais o fazem com tanta força que produzem um som característico, um grunhido que significa a passagem do ar para o esôfago proximal. Estes são os sugadores de ar (MCGREEVY, 2012).

Esse comportamento era descrito anteriormente como aerofagia, porque acreditava-se que os cavalos afetados engolissem o ar enquanto mordiam algum objeto. No entanto, estudos com fluoroscopia e endoscopia mostraram que a prática de morder estruturas do ambiente pode progredir para a sucção de ar, o que leva a ser considerada uma variação do primeiro hábito e não uma estereotipia distinta. Em adição, alguns estudos observaram que quase todo o ar sugado até o esôfago proximal retorna à faringe, descaracterizando a aerofagia (MCGREEVY, et al., 1995; COOPER & MCGREEVY, 2007; MCGREEVY, 2012; BEAVER, 2019). Ainda assim, essas práticas têm sido associadas a condições indesejáveis como o desgaste excessivo dos dentes incisivos, que em casos mais graves pode impedir a correta oclusão e prejuízo à apreensão de alimento, cólicas, perdas de peso corporal e de bom desempenho atlético (SARRAFCHI & BLOKHUIS, 2013).

O consumo de materiais de cama (serragem, palha de arroz ou areia), por fim, pode desencadear um quadro de abdômen agudo por impactação. Já a ingestão de fezes reinicia o ciclo de parasitos gastro-intestinais (MCGREEVY, 2012), o que pode culminar com o óbito do hospedeiro, o equino (THOMASSIAN, 2005).

4.6 Termografia infravermelha

De acordo com a lei de Stefan-Boltzmann, qualquer objeto cuja temperatura seja maior que o zero absoluto emitirá energia radiante, proporcionalmente à sua temperatura absoluta, em Kelvins. Nesse sentido, a lei termodinâmica da transferência de calor por radiação suporta a moderna termografia infravermelha. Esta, por sua vez, é a representação pictórica direta da temperatura superficial de um objeto, captada por uma câmera térmica, que consiste em um equipamento capaz de focar a energia radiante em uma matriz bidimensional de

detectores que geram um resultado elétrico proporcional ao poder radiante recebido. Uma versão modificada da lei de Stefan-Boltzmann é, então, usada para calcular a temperatura de cada parte do campo de visão e o resultado é expresso em uma imagem colorida, codificada para temperaturas e denominada termograma. Concomitante à inspeção visual, este pode ser interpretado com o auxílio de programas de computador para análise termográfica, que extraem informações importantes da imagem, como a temperatura máxima de uma região de interesse (REDAELLI, et al., 2014; SOROKO & HOWELL, 2018).

Dessa forma, sua aplicação começou a ser estudada na medicina equina, especialmente nos campos do bem-estar animal e do monitoramento da saúde dos membros em equinos atletas (TURNER, 2001; EDDY, et al., 2001; COOK, et al., 2001; REDAELLI, et al., 2014; SOROKO, et al., 2017a; SOROKO & HOWELL, 2018; TRINDADE, et al., 2019). Na primeira situação, a temperatura máxima ocular (TMO), obtida por TIV, seria uma forma de se inferir o nível de estresse, pois estudos apontam haver correlação positiva entre a TMO e a concentração sérica de cortisol em equinos (COOK, et al., 2001; VALERA, et al., 2012; DAI, et al., 2015; FENNER, et al., 2016). Acredita-se que, devido aos efeitos termogênicos do cortisol sobre o metabolismo dos tecidos, quais sejam, glicólise, proteólise, lipólise e gliconeogênese, haja elevação da temperatura ocular em função do estresse. Nesse sentido, essa técnica permite uma massiva inspeção à distância, o que leva alguns pesquisadores a considerá-la uma ferramenta remota, precisa e não invasiva (VALERA, et al., 2012; REDAELLI, et al., 2014). No entanto, em organismos animais, a temperatura superficial pode refletir diferentes tipos de fenômenos internos. Então, não é fácil a distinção entre processos fisiológicos e emocionais, ou mesmo entre problemas agudos e crônicos (DE SANTIS, et al., 2017). Portanto, permanece questionável a confiabilidade desse método para avaliar a presença de estresse, pois ainda há pesquisas que divergem quanto aos resultados encontrados, tanto em equinos quanto em outras espécies (SOROKO, et al., 2016; SOROKO & HOWELL, 2018; GÓMEZ, et al., 2018).

Na segunda situação para a qual a TIV parece adequada, considera-se que tecidos lesionados apresentam a temperatura alterada, por causa da mudança no fluxo sanguíneo e isso pode ser observado em uma imagem térmica do corpo, permitindo a localização anatômica da anormalidade. Aumentos na temperatura

superficial estão relacionados à elevação do aporte sanguíneo local, seja por acréscimo na atividade metabólica ou por alteração vascular. Clinicamente, isso está associado à inflamação, portanto, é uma reação secundária à alguma injúria. Por outro lado, reduções na temperatura superficial são resultado de menor perfusão tecidual, por causa de desvios vasculares, trombozes, isquemias, anomalias do sistema nervoso autônomo (TUNLEY & HENSON, 2004) ou redução no bombeamento sanguíneo secundário (HOFFMANN, et al., 2001). Nesse sentido, a termografia se apresenta como uma ferramenta de triagem na identificação de lesões, porém ela não é capaz de apontar a natureza dessas lesões (REDAELLI, et al., 2014). Turner (2001), Soroko, et. al (2013) e Redaelli, et al. (2014) corroboraram essa idéia afirmando que a termografia é uma eficiente ferramenta de triagem. Ainda sob essa lógica, Basile (2012) e Soroko e Howell (2018) sugerem que a termografia infravermelha também possa ser uma ferramenta de acompanhamento da recuperação de injúrias em membros, ao permitir o monitoramento da redução do processo inflamatório e da eficácia de medicações anti-inflamatórias.

Atualmente, a Federação Equestre Internacional (FEI), buscando preservar o jogo justo e o bem-estar dos animais durante as competições, aprova a termografia como ferramenta auxiliar para o diagnóstico de uso de substâncias ilegais que potencializam o desempenho animal, com consequente modificação de temperatura nos membros de cavalos de salto¹. Sua regulamentação contém um protocolo detalhado da inspeção termográfica junto com o suporte de testes clínicos necessários. Uma vez que se sabe que a hipersensibilidade e a hipossensibilidade podem ser decorrentes de condições normais, como um acidente, ou que não representam ilegalidade dentro do evento, o exame termográfico é utilizado como primeiro passo antes de conduzir um cavalo para investigação mais avançada, que pode culminar em desclassificação (SOROKO, et al., 2017a; FEI, 2018).

Para se obter imagens térmicas confiáveis, são necessários alguns cuidados como a contenção mínima do animal, restrição da energia radiante externa, mensuração da temperatura ambiente e a remoção de artefatos, como lama, poeira ou suor. A contenção pode ser facilmente realizada por um manejador habilidoso ou

¹ Estudos apontam que o uso substâncias analgésicas tópicas, como a bupivacaína, em membros de equinos, provoca alterações de fluxo sanguíneo local suficientes para elevar a sua temperatura por até 24 horas, de forma que a assimetria térmica seja perceptível por meio do termógrafo (VAN HOOGMOED & SNYDER, 2002; FIGUEIREDO, et al., 2013; SOROKO & MOREL, 2016).

em um brete. A energia radiante pode ter seus efeitos reduzidos se a termografia for captada sob abrigo da luz solar. Idealmente, a temperatura ambiente deve estar na faixa dos 20°C, embora qualquer temperatura seja aceitável, desde que os animais não estejam suando (TURNER, 2001). A fim de se evitar artefatos na imagem, pode-se realizar escovação do campo a ser termografado, desde que se aguarde um período, cerca de 10 minutos, para a dissipação do calor gerado (SOROKO et al., 2013), além de assegurar que os membros estão devidamente enxutos e sem bandagens, por, pelo menos, 2 horas (TURNER, 2001).

4.7 Bioquímica sérica para avaliação muscular

No sentido de avaliar se os animais estão adaptados à sua rotina de exercícios e se o manejo interfere nessa adaptação, a mensuração de componentes sanguíneos que tenham relação com a atividade da musculatura estriada esquelética pode ser de grande valor (FERREIRA II, 2017). Para avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a musculatura, a atividade sérica das enzimas creatino quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) tem sido utilizada, posto que a ruptura de miofibrilas pode causar extravasamento enzimático aumentando a concentração sérica dessas enzimas (HARRIS & MAYHEW, 1998), de forma que a sua permanência em patamares elevados pode refletir lesão muscular clínica ou subclínica (ALLEN, et al., 2016). Sob essa mesma ótica, chama a atenção também, a alanina aminotransferase (ALT) os íons magnésio (Mg^{2+}) e lactato (LATIMER, 2011).

A CK é uma enzima músculo-esquelética relativamente específica, que consiste em um dímero composto por duas subunidades (B e M) que são separadas em três formas moleculares diferentes (isoenzimas): CK-BB encontrada principalmente no cérebro; CK-MB, forma híbrida, no miocárdio e CK-MM, no músculo esquelético. Sua principal atividade é fosforilar a forma reversível da creatina, consumindo uma adenosina trifosfato (ATP) para a formação da creatina fosfato, durante períodos de repouso. Em atividade muscular, a reação processa-se no sentido inverso, gerando ATP. Trata-se de uma enzima associada à estrutura das miofibrilas, cujo cofator é o íon magnésio (Mg) e que extravasa para o meio extracelular quando há ruptura das membranas musculares (CRUZ, 2011). Uma importante característica da relação entre essa enzima e o sarcolema é que o esforço físico pode causar microlesões que permitem a referida vazão, porém em quantidades

menores do que uma ruptura completa (SHARKEY, 2017). Nesse sentido, a CK pode ser usada para avaliar a presença de injúria muscular após atividade física (TRINDADE, et al., 2019).

A AST é a enzima que catalisa a transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato, estando presente tanto no líquido citoplasmático quanto no interior de mitocôndrias. Por causa de sua localização, é necessária uma lesão intensa para que ela chegue à corrente sanguínea em quantidades significantes (CRUZ, 2011). A elevação da sua concentração sérica tem sido relatada em uma série de desordens musculares caracterizadas por necrose das fibras musculares. Embora a determinação da AST seja uma valorosa ferramenta diagnóstica, essa enzima apresenta baixa especificidade quanto ao órgão de origem, uma vez que ela está presente em concentrações elevadas não só na musculatura estriada (esquelética e cardíaca), mas também no fígado e nos eritrócitos (VALBERG, 2008). Assim, mensurações combinadas de CK e AST podem ser importantes para avaliar a extensão de danos musculares.

A atividade da LDH é alta em vários tecidos do corpo. Trata-se de uma molécula tetramérica formada por quatro subunidades de duas moléculas-mãe, M (músculo) e H (*heart*/coração) (VALBERG, 2008). As diversas combinações dessas peças resultam em 5 isoenzimas da LDH, muito embora, ela apresente baixa especificidade tecidual isoladamente (VALBERG, 2008). Sua função é catalisar a conversão reversível do lactato em piruvato. Este, por sua vez, é produto final da glicólise e pode seguir 3 rotas: na primeira alternativa, que ocorre sob condições aeróbias, ele é oxidado e descarboxilado na mitocôndria, para gerar Acetil-Coenzima A (ciclo do ácido cítrico); na segunda, que acontece em situações de anaerobiose, como a hipóxia muscular, ele é reduzido a lactato, recebendo os elétrons do NADH produzido na primeira fase da respiração celular; na terceira opção, ele pode servir como precursor de outros compostos, como aminoácidos e glicose (NELSON & COX, 2011). Apesar de sua ampla distribuição nos diversos tecidos, ela também é utilizada como um parâmetro na identificação de injúrias musculares (KANECO, et al., 2008).

A ALT é uma enzima citoplasmática que catalisa a transaminação reversível de L-alanina e 2-oxiglutarato em piruvato, que se torna disponível para a gliconeogênese ou para o ciclo do ácido cítrico (NELSON & COX, 2011) Embora em cães e gatos a elevação de sua concentração sérica seja considerada específica para

lesões hepáticas (LATIMER, 2011), nos equinos ela é utilizada para monitorar a integridade muscular, pois, como sua atividade no fígado é mínima, sua contribuição para a concentração sérica também o é. Apesar dessa especificidade, é comum não ser um elemento solicitado nos perfis bioquímicos de grandes animais (BILLINGS, 2013).

O íon magnésio (Mg^{2+}) é um importante componente em diversas reações celulares, participando ainda de ações catabólicas e anabólicas como, por exemplo, a glicólise e o metabolismo proteico e lipídico (LUKASKI, 2004). Além disso, como a perda de massa muscular parece estar relacionada ao aumento de magnésio sérico logo após o exercício, a ruptura de fibras musculares foi sugerida como a causa do aumento da concentração de magnésio sérico observado após o exercício (STENDING-LINDBERG et al., 1999).

O lactato é o bioproduto da glicólise anaeróbia que acontece principalmente nos eritrócitos, onde não há mitocôndrias, na musculatura estriada esquelética sob condições de exercícios intensos, e em bactérias anaeróbicas do trato intestinal (STOCKHAM & SCOTT, 2007). Sua concentração sérica reflete o equilíbrio entre sua produção, o metabolismo hepático que o consome na gliconeogênese e sua eliminação pela urina (KANECO, et al., 2008). Nos equinos, são basicamente três as condições que podem levar a uma hiperlactatemia: distúrbios de ordem gastrointestinal, como torções ou estrangulações entéricas, em que a baixa perfusão tecidual leva ao metabolismo anaeróbico; sobrecarga de carboidratos, condição na qual a microbiota cecal aumenta sua produção de lactato e reduz o pH cecal, elevando a permeabilidade da mucosa intestinal e levando à absorção dessa molécula e, por fim, exercícios extenuantes nos quais a distribuição de O_2 para os sarcômeros é insuficiente para atender à demanda de energia, acionando o metabolismo anaeróbio (STOCKHAM & SCOTT, 2007). Conseqüentemente, a mensuração do lactato é utilizada para determinar a tolerância aos exercícios e a adequada função cardíaca (KANECO, et al., 2008).

Capítulo Único

Utilização de Termografia infravermelha como uma das ferramentas para avaliação do bem-estar de equinos soltos e estabulados

Utilização de Termografia infravermelha como uma das ferramentas para avaliação do bem-estar de equinos soltos e estabulados

D.R.O.E. AZEVEDO¹, B.S.L. DALLAGO¹, A.C. SILVA¹, J.R.M. PEREIRA³, T.S. BORGES², T.O. FERNANDES², L.V. SOBRINHO², T.B. BISOL², R.F. FERREIRA II⁴, F.E.M. BERNAL¹.

¹Laboratório de Bem-estar Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, CEP 70910-900, Brasília-DF, Brasil

²Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, CEP 70910-900, Brasília-DF, Brasil

³Faculdade de Medicina Veterinária, União Pioneira de Integração Social, CEP 70390-125, Planaltina-DF, Brasil

⁴Departamento Veterinário, I Regimento de Polícia Montada do Distrito Federal, Polícia Militar do Distrito Federal, CEP 71805-731, Riacho Fundo-DF, Brasil

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de comparar o grau de bem-estar animal e a condição térmica dos membros (aferida por TIV) entre cavalos mantidos soltos e aqueles sob estabulação contínua. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e doze repetições. Para tal, utilizaram-se 24 equinos machos castrados, da raça Brasileiro de Hipismo, com idade entre 5 e 9 anos e peso médio de 500 ± 50 kg, divididos em 2 grupos experimentais: 1) RPMon, com 12 equinos mantidos em piquetes e que exerciam exclusivamente patrulha urbana; 2) Choque, com 12 animais que exerciam exclusivamente patrulha urbana e eram mantidos em regime de estabulação contínua, alojados em cocheiras com 12 m² (3 m x 4 m), de concreto e sem cama. Todos eles foram alimentados com feno de gramínea e de alfafa (*Cynodon spp.* e *Medicago sativa*) além de 5 quilos de ração/animal/dia. Os animais foram avaliados uma vez por semana, ao longo de seis semanas e foram coletados dados comportamentais, térmicos (das extremidades distais dos membros e dos olhos) e amostras sanguíneas. Observaram-se comportamentos estereotipados, concentrações séricas de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatino quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), lactato, magnésio (Mg²⁺), cortisol, temperaturas oculares máximas e temperaturas máximas e médias periféricas para quatro regiões anatômicas (carpo/tarso, metacarpo/metatarso, boleto e casco) de cada membro. Os equinos confinados tiveram comportamentos estereotipados e apresentaram alta

concentração sérica de cortisol, indicando que eles tinham menor grau de bem-estar animal quando comparados aos manejados em piquetes de pasto, que só executaram comportamentos próprios da espécie. A termografia infravermelha de membros apresentou potencial preditivo na identificação de estresse crônico em equinos, pois a capacidade discriminante de algumas variáveis térmicas foi considerável (74,5%). No entanto, a temperatura máxima ocular não se mostrou um método eficiente na detecção de estresse para equinos, pois não se observou correlação com a concentração sérica de cortisol ($p>0,05$). Porém, ainda são necessários mais estudos para comprovar esses achados.

Palavras chave: Parâmetros fisiológicos, Estabulação, Termografia Infravermelha, Comportamento.

Infrared Thermography as a tool in welfare assessment of equines handled in paddock and stall

ABSTRACT

The effects of housing on equine welfare and thermal conditions of limbs were investigated using 24 gelding horses, of Brasileiro de Hipismo breed, aging between 5 and 9 years old, with average weight of $500 \pm 50\text{Kg}$. These animals were divided into two groups: 1) RPMon, with 12 horses kept in paddocks and ridden exclusively on urban patrol; 2) Choque, with 12 horses kept in 12m^2 (3m x 4m) box stalls, ridden exclusively on urban patrol. All of them were feed with grass hay and alfafa hay (*Cynodon spp. e Medicago sativa*), plus 5Kg/animal/day of concentrated food. The sample collections took place once a week for 6 weeks. Behavior data, thermal data (from eyes, forelegs and hindlegs) and blood samples were also collected. Stereotypic behaviors, maximum eye temperature (MET), maximum and average temperatures of carpus/tarsus, metacarpus/metatarsus, fetlock and hoof of each limb were assessed. Serum concentrations of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), lactate, magnesium (Mg^{2+}) and cortisol were also measured. The housed horses presented stereotypic behaviours as crib-biting, lip-licking and random head movements. Their cortisol serum concentration was really high, although the enzymes were inside the reference values. It shows that these horses were in a distress condition and the housing without time in

paddock is an unsuitable management. In other way, the RPMon horses displayed only normal behaviors, but their serum cortisol concentration was also high. It, probably, reveals that the relationship between the handlers and the horses is not so kind at that facility. The MET didn't seem to be a good index of stress, because it had no correlation ($p>0,05$) with serum cortisol concentration. Some limb temperatures had a high discriminant value (74,5%), what could mean that these thermal data should be used as an index of chronic stress, although, to confirm this, further essays are necessary.

Key-words: Physiological Parameters, Housing, Behavior, Infrared Thermography.

INTRODUÇÃO

O bem-estar animal pode ser definido como o nível de equilíbrio físico, psicológico e comportamental de um indivíduo em relação às suas tentativas de se adaptar ao ambiente (BROOM, 1986; BROOM & JOHNSON, 1993; BROOM, 2001; BROOM & MOLENTO, 2004; BROOM, 2008). Embora hoje já existam métodos mais práticos na avaliação do nível de bem-estar animal, “As 5 Liberdades” são ainda uma importante referência (MELLOR, 2017). Não satisfazê-las frequentemente acarreta prejuízos ao bem-estar e leva a condições de estresse que impossibilitam a expressão adequada do desempenho animal (MCGREEVY & MCLEAN, 2010) ou alteraram a condição de saúde do indivíduo (BROOM & MOLENTO, 2004). Nesse sentido, a escolha das práticas de manejo que favorecem a aplicação do conceito de bem-estar animal, pode representar uma atenuação de gastos com insumos e procedimentos veterinários.

As razões pelas quais há ampla aceitação das baias como ferramenta de manejo dos equinos são inúmeras. Por exemplo, podem ser citadas a redução da área necessária à criação, o adensamento populacional e o controle nutricional preciso e individualizado (BROWN et al., 2003). Entretanto, estabular os animais pode culminar com a supressão de algumas das 5 liberdades, pois implica restrição ao pastejo e ao convívio social (YARNELL et al., 2015), imposição de regime de atividade física de maior intensidade e menor frequência, além de menor ingestão de alimento volumoso, entre outras características que podem prejudicar a qualidade de vida do cavalo (MCGREEVY, 2012). Não obstante, a estabulação prolongada pode apresentar efeitos ainda mais graves, especialmente no tocante ao aparato locomotor

dos equinos: a influência do manejo nutricional de cavalos estabulados sobre a microcirculação dos membros é bem conhecida (MARTINS FILHO et al., 2007), porém há dúvidas acerca do papel desempenhado pela limitação de movimento imposta pela estabulação sobre o estresse e susceptibilidade às doenças osteoarticulares dos membros dos cavalos.

Contudo, diagnosticar ou mensurar o grau de estresse, bem como avaliar a higidez do aparelho locomotor exigem contenção e manipulação do animal, fatores incontestavelmente geradores de estresse (BROOM e MOLENTO, 2004). Assim, por si só, a contenção e a manipulação do animal podem criar viés científico e prejudicar a obtenção de dados fidedignos. Nesse sentido, a possibilidade de utilização de um método preciso, não invasivo e passível de ser realizado à distância no intuito de avaliar o sistema locomotor e mensurar o grau de conforto e bem-estar teria grandes implicações para o manejo animal e a pesquisa nessa área, bem como poderia ser uma ferramenta auxiliar ao diagnóstico e tratamento de afecções musculoesqueléticas. Nesse sentido, a termografia infravermelha (TIV) apresenta grande potencial uma vez que permite a obtenção de imagens à distância que, por sua vez, representam a temperatura superficial dos animais (SOUZA et al., 2008). Existem evidências de que essa técnica pode ser uma valiosa ferramenta para o reconhecimento de eventos fisiológicos e patológicos (BOUZIDA et al., 2009).

Portanto, o presente estudo teve por objetivo descrever as implicações da estabulação sobre as características termográficas dos membros de equinos adultos, comparar o nível de bem-estar animal dos grupos pesquisados e averiguar se a TIV pode ser uma ferramenta eficaz na avaliação do bem-estar de equinos.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília (CEUA/UnB) sob protocolo n° 20/2018 (ANEXO I).

2.2 Local

O experimento foi desenvolvido no 1° Regimento de Polícia Montada - Regimento Coronel Rabelo da Polícia Militar do Distrito Federal (1° RPMon-DF), localizado no quilômetro 8, DF-075, Área Especial 1, Riacho Fundo I, nas latitude de -15,88 e longitude de -48,03 e no 2° Regimento de Polícia Montada – Regimento General Egêo (2° RPMon-DF), situado no Parque Sarah Kubitschek, nas latitude de -15,79 e longitude de -47,91, em Brasília/DF. O clima da região é do tipo AW pela classificação de Köppen, com temperatura média anual de 21,8 °C, tendo 13 °C e 31 °C como mínima e máxima absolutas, respectivamente. A precipitação anual média é de 1041,3 mm e a média anual de umidade relativa do ar é de 59,6%.

2.3 Animais, manejo e instalações

Foram utilizados 24 equinos machos castrados, da raça Brasileiro de Hipismo, com idade entre 5 e 9 anos e peso médio de 500 ± 50 kg, divididos em 2 grupos experimentais: 1) RPMon, com 12 equinos mantidos em piquetes e que exerciam exclusivamente patrulha urbana; 2) Choque, com 12 animais mantidos em regime de estabulação contínua, alojados em cocheiras com 12 m² (3 m x 4 m), de concreto, com paredes laterais e do fundo completas e parede frontal ocupando 3/4 da altura total, piso de concreto, sem cama. Esses animais exerciam exclusivamente patrulha urbana e todos eles foram alimentados com feno de gramínea e de alfafa (*Cynodon spp.* e *Medicago sativa*) além de 5 quilos de ração/animal/dia, sendo que nos dois grupos experimentais o alimento concentrado era dividido em três refeições de 1,7 Kg aproximadamente, com fornecimento pela manhã, ao meio-dia e à noite. Água foi ofertada *ad libitum* para ambos os grupos, porém o volumoso do grupo Choque também era dividido em três refeições, enquanto o do grupo RPMon ficava sempre disponível para os animais. O grupo RPMon teve acesso livre a pasto composto por *Brachiaria spp.* e sua rotina de trabalho consistiu em saídas para patrulha às 17h com retorno entre 1h e 2h do dia seguinte (8 a 9 horas de atividade),

permanecendo em repouso por 39 horas até a próxima patrulha. O grupo Choque foi submetido a 12 horas de trabalho intercalado por 36 horas de repouso. É importante ressaltar que, salvo em casos de ocorrência policial, as patrulhas representam um trabalho de longa duração, porém de baixa intensidade, pois são cumpridas, de maneira geral, a passo (FERREIRA II, 2017). Dessa forma, as três horas de trabalho do grupo Choque que excederam o tempo de patrulha do grupo RPMon são compensadas pela locomoção dos animais que permanecem em liberdade, porque estes se deslocam, comumente, a passo (BEAVER, 2019).

2.4 Duração da coleta de dados

Os animais foram avaliados uma vez por semana, ao longo de seis semanas. As visitas semanais tiveram por objetivo a coleta de amostras sanguíneas, aquisição das imagens térmicas e a colheita de dados comportamentais. As coletas foram realizadas sempre no mesmo horário, entre às 08:30 e 11 horas da manhã.

2.5 Caracterização do ambiente térmico

Durante o período experimental foram obtidos os dados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar mensuradas com o auxílio de uma estação meteorológica digital, portátil (Instrutemp®, ITWH-1080), montada sempre a 2 metros do brete de contenção, onde foram realizadas as coletas.

2.6 Coleta e processamento das amostras

A coleta de amostras respeitou o fluxograma descrito na Figura 1, de tal forma que o procedimento de contenção dos animais ocorreu após as coletas de dados comportamentais. A colheita de amostras sanguíneas foi realizada após a obtenção das imagens termográficas, para que o estresse do manejo não interferisse nos parâmetros avaliados.

Inicialmente, os equinos tiveram seu comportamento registrado por uma filmadora digital (Sony®, HDR CX-130) durante 5 minutos (MCBRIDE & CUDDEFORD, 2001; SMULDERS, et al., 2006; LESIMPLE, et al., 2019), nos locais em que são comumente alojados, ou seja, o grupo Choque nas baias e o RPMon no campo. Em seguida, foram encaminhados a uma área de sombra, protegida de correntes de ar onde a região distal dos membros foi escovada para a remoção de poeira ou lama que pudessem estar nas superfícies-alvo da termografia. Após esse procedimento, foram cronometrados 10 minutos sem qualquer intervenção sobre o

animal visando a estabilização do calor transitório gerado pela escovação. As imagens térmicas foram obtidas em seguida, conforme orientação de SOROKO et al. (2013), considerando distância de 2 m entre a câmera e os membros (para a aquisição das imagens infravermelhas dos membros) e 1 m entre a câmera e os olhos (para a aquisição das imagens infravermelhas dos olhos). Todas as imagens térmicas foram obtidas em ângulo perpendicular (90°) à região-alvo.

2.7 Termografias de membros e olhos

Imagens termográficas dos animais foram adquiridas sempre no mesmo horário durante as manhãs, entre 07:00h e 12:00h. Elas focaram as extremidades distais dos membros (dos cascos à articulação rádio-carpal/ tíbio-tarsal) e os globos oculares de cada animal. Para tanto utilizou-se um termógrafo modelo T420 (FLIR®), com resolução de 320 x 240 pixels, sensibilidade térmica de 0,04 °C e faixa de captura de temperaturas entre -20 °C e 650 °C (FLIR, 2014).

A demarcação das áreas para registro das temperaturas de interesse foi feita com uso do *software* Flir Tools® (v5.13, FLIR Systems) por meio das ferramentas *elipse* (*ellipse measurement*) e *caixa* (*box measurement*). Foram mensuradas as temperaturas máxima e média de cada região, como se pode ver nas figuras 2 e 3.



Figura 1. Fluxograma para a coleta de amostras

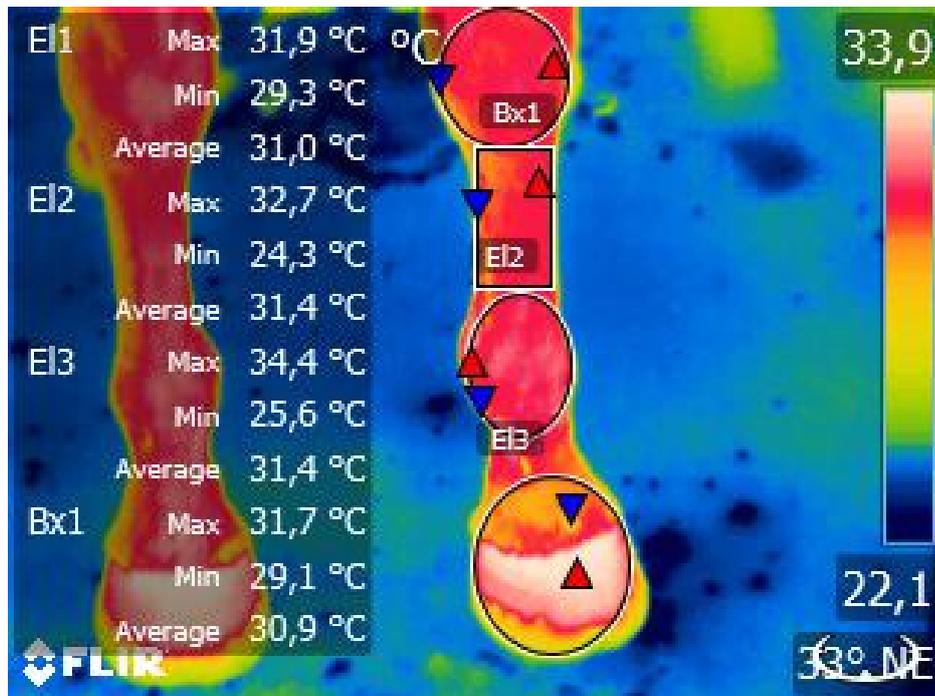


Figura 2. Exemplo de imagem térmica de membro anterior

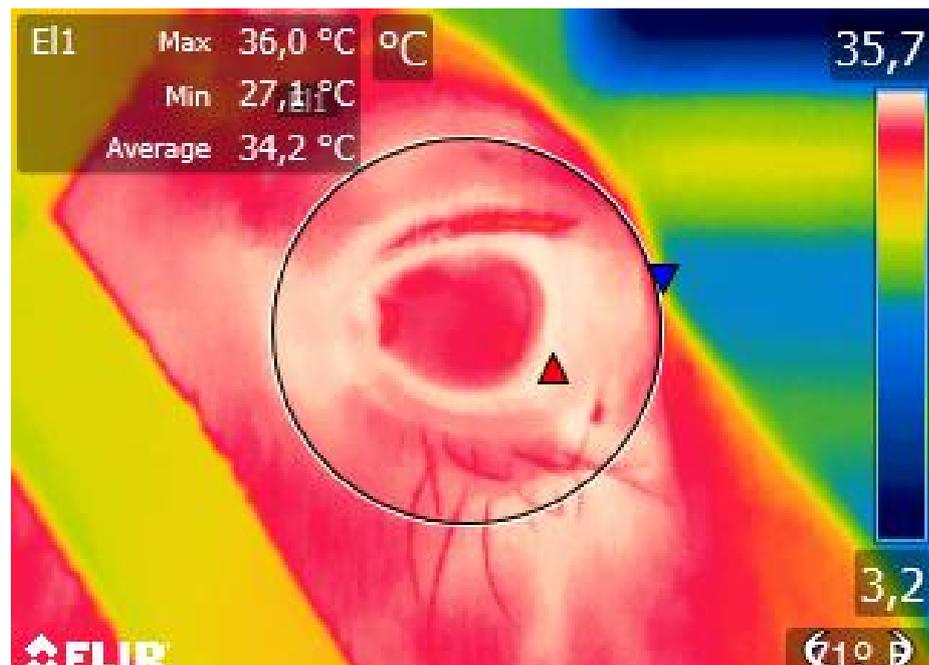


Figura 3. Exemplo de imagem térmica do olho direito

2.8 Soro sanguíneo

As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular uma vez por visita enquanto durou o experimento. Para colheita utilizaram-se tubos à vácuo (Vacuplast®) com a presença de fator ativador de coágulo. Imediatamente após a colheita o sangue foi armazenado em recipiente isotérmico contendo gelo e transportado até o laboratório de Patologia Clínica Veterinária/UnB para as análises subsequentes. As amostras foram centrifugadas a 1420g por 5 minutos para que ocorresse a separação entre o soro e os demais componentes sanguíneos. O soro foi congelado a -20°C para as análises posteriores.

2.9 Análises bioquímicas do sangue

O soro colhido foi utilizado para quantificação de lactato, Magnésio (Mg^{+2}), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatino quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) utilizando kits comerciais para o analisador bioquímico automático (COBAS® C111).

2.10 Cortisol

As mensurações de cortisol sérico foram realizadas pela técnica de ELISA utilizando kits comerciais de ensaio competitivo imunoenzimático (AccuBind® ELISA). Todas as amostras foram processadas pós-descongelamento, em duplicata e de acordo com as orientações do fabricante do teste.

2.11 Observações comportamentais

Foi utilizado o método de observação focal direta proposto por Altmann (1974) para a avaliação comportamental dos animais. Suas atividades foram anotadas em uma planilha, após observação de cada seção de 5 minutos por animal, sempre pelo mesmo observador (SMULDERS, et al., 2006; AWIN, 2015; LESIMPLE, et al., 2019), totalizando 60 minutos de observação para cada indivíduo ao final do experimento. Apenas os comportamentos patológicos foram registrados em termos de quantidade, duração e qualidade de apresentação, da mesma maneira que já se tem utilizado para pesquisas em outras espécies domésticas (HAVERBEKE, et al., 2009).

2.12 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois grupos experimentais (Choque e RPMon). A análise estatística foi realizada utilizando o Statistical Analysis System (SAS[®], v9.4, Cary, North Carolina), considerando-se 5% de nível de significância ($p < 0,05$). Foi realizada análise de medidas repetidas no tempo, tendo como fatores fixos o grupo experimental e o dia experimental e como covariáveis temperatura do ar e umidade relativa do ar. A matriz de covariância utilizada foi do tipo CS (component simetry). Em seguida as médias foram submetidas a o teste de Tukey.

Para avaliar se as diferenças das temperaturas entre os membros do mesmo animal tiveram influência da temperatura do ar, foi realizada análise de regressão, considerando todos os animais da pesquisa separados pelo grupo experimental. Para tanto, foi utilizado o comando PROC REG do Statistical Analysis System (SAS[®] v9.4, Cary, North Carolina) e os cálculos de variação de temperatura para cada região anatômica pesquisada, de acordo com a comparação à qual se destinava foram realizados conforme as fórmulas abaixo:

- (1) para membros contralaterais

$$\Delta r_{ADE} = \sqrt{(Tmax_{rAD} - Tmax_{rAE})^2}$$

- (2) para membros pélvicos e torácicos

$$\Delta r_{AP} = \sqrt{[MÁX(Tmax_{rAD}, Tmax_{rAE}) - MÁX(Tmax_{rPD}, Tmax_{rPE})]^2}$$

(3) para todos os membros do mesmo animal

$$\Delta r_T = M\acute{A}X (Tmax_{rAD}, Tmax_{rAE}, Tmax_{rPD}, Tmax_{rPE}) - M\acute{I}N (Tmax_{rAD}, Tmax_{rAE}, Tmax_{rPD}, Tmax_{rPE}).$$

Em que:

r = regi\~ao anat\~omica de interesse (casco, boleto, carpo/tarso, metacarpo/metatarso);

AD = membro anterior direito;

AE = membro anterior esquerdo;

PD = membro posterior direito;

PE = membro posterior esquerdo;

$M\acute{A}X$ = valor m\~aximo;

$M\acute{I}N$ = valor m\~inimo;

$Tmax$ = temperatura m\~axima registrada.

Al\~em disso, foi realizada an\~alise discriminante com o intuito de verificar a rela\~ao entre as termografias, os componentes clim\~aticos e as vari\~aveis sangu\~ineas estudadas. A capacidade discriminante dos dados para diferentes manejos foi avaliada e um subgrupo de vari\~aveis selecionadas foi utilizado para a distin\~cao entre os dois tratamentos. As an\~alises foram conduzidas usando os comandos PROC STEPDISC e PROC DISCRIM do Statistical Analysis System (SAS[®] v9.4, Cary, North Carolina). No sentido de constatar se os par\~ametros aferidos pela termografia seriam suficientes, isoladamente, para a distin\~cao de indiv\~duos de grupos experimentais diferentes, foram criadas novas vari\~aveis obtidas a partir das temperaturas aferidas por termografia. Essa opera\~ao foi feita como se segue nas equa\~oes descritas abaixo:

$$(4) Tmax_{casco} = M(Tmax_{cascoAD}, Tmax_{cascoAE}, Tmax_{cascoPD}, Tmax_{cascoPE})$$

$$(5) Tm_{casco} = M(Tm_{cascoAD}, Tm_{cascoAE}, Tm_{cascoPD}, Tm_{cascoPE})$$

$$(6) Tmax_A = M(Tmax_{carpAD}, Tmax_{carpAE}, Tmax_{metaAD}, Tmax_{metaAE}, Tmax_{bAD}, Tmax_{bAE})$$

$$(7) TmA = M(Tm_{carpAD}, Tm_{carpAE}, Tm_{metaAD}, Tm_{metaAE}, Tm_{bAD}, Tm_{bAE})$$

$$(8) TmaxP = M(Tmax_{tarPD}, Tmax_{tarPE}, Tmax_{metaPD}, Tmax_{metaPE}, Tmax_{bPD}, Tmax_{bPE})$$

$$(9) TmP = M(Tm_{tarPD}, Tm_{tarPE}, Tm_{metaPD}, Tm_{metaPE}, Tm_{bPD}, Tm_{bPE})$$

Em que:

Tmax = média das temperaturas máximas observadas;

Tm = média das temperaturas registradas para um membro ou região anatômica;

M = média aritmética das temperaturas entre parênteses;

AE = anterior esquerdo;

AD = anterior direito;

PE = posterior esquerdo;

PD = posterior direito;

carp = carpo;

meta = metacarpo ou metatarso dependendo do membro de referência (anterior ou posterior);

b = boleto;

casco = casco.

Não obstante, a fim de evidenciar as correlações entre as variáveis estudadas, foi realizada análise de correlação utilizando o comando PROC CORR do SAS® (v9.4, Cary, North Carolina), considerando todos os parâmetros sanguíneos pesquisados, as variáveis ambientais (temperatura do ar e umidade relativa do ar), as temperaturas máximas oculares e as variáveis obtidas por meio das equações (4) a (9), para cada grupo experimental.

Os dados comportamentais foram submetidos à estatística descritiva e à análise de correlação, considerando-se, para cada comportamento anotado, a duração e a frequência de apresentação. Para tal, utilizaram-se os comandos PROC MEANS e PROC CORR do SAS® (v9.4, Cary, North Carolina).

RESULTADOS

3.1 Temperaturas de membros

Apesar da extensão da pesquisa quanto à temperatura da extremidade distal dos membros em quatro regiões anatômicas distintas (face dorsal do casco, articulação metacarpo/metatarso-falangeana, metacarpo/metatarso e articulação rádio-carpo-metacarpo/ tibia-tarso-metatarso), a análise de medidas repetidas no tempo não demonstrou diferença significativa entre os dois tratamentos (Choque e RPMon).

Por outro lado, as tabelas 1 e 2 apresentam as diferenças de temperatura entre os membros do mesmo animal. A Tabela 1 evidencia as observações do grupo Choque e a Tabela 2, as do grupo RPMon.

No grupo Choque, as temperaturas de membros apresentaram correlação significativa entre si ($p < 0,05$) com intensidade elevada, cujos valores estiveram entre 0,89 e 0,99. A correlação também foi forte, com os valores acima de 0,54, e significativa ($p < 0,0001$) com a temperatura do ar. Curiosamente, neste grupo, as temperaturas médias e máximas de membros apresentaram correlação negativa e significativa ($p < 0,05$) com a concentração sanguínea de cortisol.

No grupo RPMon, as temperaturas de membros tiveram correlação significativa ($p < 0,0001$) e intensa entre si, variando de 0,84 a 0,97. Também houve forte, 0,61 a 0,79, e significativa ($p < 0,0001$) correlação com a temperatura do ar. Por outro lado, apenas as temperaturas máximas de casco e de membros posteriores apresentaram correlação negativa, -0,25 e -0,26 respectivamente, e significativa ($p < 0,05$) com a concentração sérica de cortisol.

Tabela 1. Diferenças de temperatura entre membros de acordo com a temperatura ambiente em equinos estabulados.

Região	Comp	Temperatura do ar (°C)				EP	Regressão	
		18	21	24	26		Linear	Quadrática
Carpo	D/E							
Tarso	D/E	1,3	< 1	< 1	< 1	0,039	0,0014	ns
Metac	D/E	1,2	1,1	< 1	< 1	0,001	ns	0,0337
Metat	D/E	1,3	1	< 1	< 1	0,037	0,0037	ns
Bol A	D/E	1	< 1	< 1	< 1	0,001	ns	0,0393
Bol P	D/E	-	-	-	-	-	ns	ns
Casco A	D/E	-	-	-	-	-	ns	ns
Casco P	D/E	1,7	1,2	< 1	< 1	0,002	ns	0,0238
Carpo/Tarso	A/P	2,7	2	1,2	< 1	0,001	ns	0,0001
Metac/ Metat	A/P	-	-	-	-	-	ns	ns
Boleto	A/P	2,8	1,2	< 1	1	0,021	ns	0,0021
Casco	A/P	1,3	1	< 1	< 1	0,061	0,0353	ns
Carpo/Tarso	T	3,4	2,6	1,6	1	0,065	<0,0001	ns
Metac/ Metat	T	-	-	-	-	-	ns	ns
Boleto	T	2,6	2	1,3	< 1	0,069	0,0021	ns
Casco	T	2,8	2	1,2	< 1	0,003	ns	0,0083

Comp= comparação; EP= Erro Padrão; D/E= direito e esquerdo; A/P= anterior e posterior; T= todos os membros; Metac= metacarpo; Metat= metatarso; Bol= boleto; A= anterior; P= posterior, ns= não significante.

Tabela 2. Diferenças de temperatura entre membros de acordo com a temperatura ambiente em equinos mantidos em pastagem.

Região	Comp	Temperatura do ar(°C)				EP	Regressão	
		18	21	24	26		Linear	Quadrática
Carpo	D/E	-	-	-	-	-	ns	ns
Tarso	D/E	1,3	< 1	< 1	< 1	0,741	0,0014	ns
Metac	D/E	1,2	1	< 1	< 1	0,001	ns	0,0337
Metat	D/E	1,3	1	< 1	< 1	0,370	0,0037	ns
Bol A	D/E	1	< 1	< 1	< 1	0,001	ns	0,0393
Bol P	D/E	-	-	-	-	-	ns	ns
Casco A	D/E	-	-	-	-	-	ns	ns
Casco P	D/E	1,7	1,3	< 1	< 1	0,002	ns	0,0238
Carpo/Tarso	A/P	2,7	2	1,2	< 1	0,001	ns	0,0001
Metac/ Metat	A/P	-	-	-	-	-	ns	ns
Boleto	A/P	2,8	1,2	< 1	1,1	0,021	0,0003	0,0021
Casco	A/P	1,3	1	< 1	< 1	0,061	0,0353	ns
Carpo/Tarso	T	3,4	2,6	1,6	1	0,065	< 0,0001	ns
Metac/ Metat	T	-	-	-	-	-	ns	ns
Boleto	T	2,6	2	1,4	< 1	0,069	0,0021	ns
Casco	T	2,8	2	1	< 1	0,003	ns	0,0083

Comp= comparação; EP= Erro Padrão; D/E= direito e esquerdo; A/P= anterior e posterior; T= todos os membros; Metac= metacarpo; Metat= metatarso; Bol= boleto; A= anterior; P= posterior, ns= não significante

3.2 Temperatura máxima ocular (TMO)

A análise de medidas repetidas no tempo não demonstrou diferença significativa de temperatura entre os dois tratamentos (Choque e RPMon) ou entre os olhos direito e esquerdo de cada animal. Portanto, os referidos achados não estão descritos no presente trabalho.

A análise de correlação, por sua vez, revelou, tanto para o grupo Choque, quanto para o RPMon, que não houve correlação significativa entre as temperaturas máximas oculares e a concentração sanguínea de cortisol. Por outro lado, ficou evidente, nos dois grupos experimentais, a correlação ($p < 0,05$) entre as temperaturas de membros e as máximas oculares, sendo que sua intensidade variou entre 0,3 e 0,4 no grupo Choque e oscilou entre 0,47 e 0,63 no grupo RPMon.

3.3 Bioquímica sérica

As concentrações dos parâmetros sanguíneos pesquisados estão evidenciadas na Tabela 6, contudo a análise de medidas repetidas no tempo revelou que não houve diferença significativa entre os valores observados nos dois diferentes grupos experimentais.

As informações relativas à análise de correlação para os componentes sanguíneos estudados encontram-se representadas nas Tabela 4 e 5. Contudo, cabe destacar que esse teste estatístico revelou que, no grupo Choque, houve correlações significantes ($p < 0,05$) entre as concentrações de alguns parâmetros, que estão descritos a seguir, ao lado de suas respectivas intensidades: cortisol – AST, 0,57; cortisol – LDH, -0,38; ALT – AST, 0,51; ALT – LDH, 0,25; ALT – Mg^{2+} , 0,29; CK – LDH, 0,52; LDH – Mg^{2+} , 0,26. Para o grupo RPMon, essa mesma análise revelou as seguintes correlações entre os componentes séricos: cortisol – ALT, -0,25; Cortisol – CK, 0,26; ALT – AST, 0,59; ALT – CK, 0,32; AST – CK, 0,58; AST – LDH, 0,60; CK – LDH, 0,60; Lac⁻ - Mg^{2+} , 0,50.

Tabela 3. Análise de correlação para os componentes sanguíneos dos animais no grupo RPMon.

	Cortisol	ALT	AST	CK	LDH	Lac
ALT	-0,25 0,0474*	1				
AST	-0,03 0,8056*	0,59 <.0001*	1			
CK	0,26 0,0414*	0,32 0,01*	0,58 <.0001*	1		
LDH	0,16 0,2272*	0,14 0,2948*	0,60 <.0001*	0,60 <.0001*	1	
Lac	0,20 0,1236*	0,01 0,9237*	0,08 0,5519*	0,17 0,1816*	0,14 0,2903*	1
Mg	0,13 0,3101*	-0,20 0,1223*	-0,22 0,0892*	-0,01 0,9641*	0,02 0,8693*	0,50 <.0001*

*Valor de P

Tabela 4. Análise de correlação para os componentes sanguíneos dos animais no grupo Choque.

	Cortisol	ALT	AST	CK	LDH	Lac
ALT	0,12 0,3228*	1				
AST	0,57 <.0001*	0,51 <.0001*	1			
CK	-0,06 0,5979*	0,22 0,0652*	0,05 0,6741*	1		
LDH	-0,38 0,0009*	0,25 0,0367*	-0,05 0,6476*	0,52 <.0001*	1	
Lac	-0,1 0,359*	-0,14 0,2504*	-0,02 0,89*	0,13 0,2655*	0,05 0,7004*	1
Mg	-0,04 0,7408*	0,30 0,0116*	0,05 0,6857*	-0,05 0,6992*	0,26 0,0246*	-0,14 0,2276*

*Valor de p.

Tabela 5. Valores médios (\pm desvio padrão) dos componentes séricos pesquisados por grupo e dia experimental.

CS	Grupo	D1	D2	D3	D4	D5	D6	Valor de P
ALT (UI/L)	RPMon	7,1 \pm 1,7	8,8 \pm 2,4	8,2 \pm 2	8,6 \pm 1,9	6,7 \pm 2,5	8,6 \pm 1,7	ns
	Choque	10,5 \pm 2,2	11,3 \pm 2,6	10,8 \pm 5	9,9 \pm 1,8	9,7 \pm 1,2	9,1 \pm 2,6	ns
AST (UI/L)	RPMon	283,2 \pm 36,7	281,7 \pm 46,5	295,7 \pm 85,7	291,8 \pm 64,9	279,5 \pm 43,1	310,9 \pm 41,9	ns
	Choque	288,9 \pm 50,8	286,6 \pm 49,9	343,1 \pm 126,4	280,1 \pm 50,8	286,3 \pm 55,6	268,5 \pm 76,1	ns
CK (UI/L)	RPMon	278,3 \pm 212	226,6 \pm 70,7	258,6 \pm 126,5	274,1 \pm 69,8	310,2 \pm 165,6	281,7 \pm 100,5	ns
	Choque	237,4 \pm 117	278 \pm 90,3	292,7 \pm 125,7	212,1 \pm 46,4	222,3 \pm 58,8	265,5 \pm 124,8	ns
Lac (mmol/L)	RPMon	1,5 \pm 0,2	1,2 \pm 0,2	1,6 \pm 0,2	1,5 \pm 0,3	1,7 \pm 0,5	1,9 \pm 0,3	ns
	Choque	0,9 \pm 0,3	1,3 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2	1,7 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	ns
LDH (UI/L)	RPMon	301,4 \pm 74,3	295,1 \pm 57,4	264,7 \pm 74,2	280,5 \pm 60,7	289,8 \pm 65,5	314,5 \pm 65,7	ns
	Choque	277,4 \pm 82,7	298,2 \pm 71,8	297,4 \pm 89,2	291,6 \pm 80,8	300,4 \pm 90,7	308 \pm 93,6	ns
Mg (mg/100mL)	RPMon	1,8 \pm 0,2	2 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	2 \pm 0,2	2 \pm 0,2	2,12 \pm 0,2	ns
	Choque	1,7 \pm 0,1	2 \pm 0,2	2 \pm 0,1	2,2 \pm 0,2	2,2 \pm 0,2	2,1 \pm 0,2	ns
Cortisol (μ g/100mL)	RPMon	13,2 \pm 6,6	12,7 \pm 6,7	13,7 \pm 7	13,5 \pm 6,4	16,1 \pm 7,4	13,9 \pm 4,9	ns
	Choque	10,9 \pm 2,3	10,6 \pm 2,3	13,5 \pm 3,2	10,2 \pm 3,3	11,8 \pm 4,2	15 \pm 6,4	ns

CS = componentes séricos; D1 a D6 = dias das coletas de amostras; ns= não significativa.

3.4 Observação comportamental

Os animais do grupo experimental RPMon não apresentaram comportamentos estereotipados, porém os do grupo Choque, sim. As condutas, suas frequências e tempos de apresentação encontram-se descritos na Tabela 7.

Tabela 6. Descrição dos comportamentos observados no grupo Choque.

Comportamentos	Morbidade (%)	Frequência	Duração (s)
Morder	9,72	9,71 ± 6,97	16,14 ± 13,11
Lamber	5,56	2,75 ± 0,96	3,5 ± 1,73
MC	26,39	8 ± 9,48	11,26 ± 20,53
Aerofagia	4,17	2 ± 1	3,67 ± 2,08
Lamber lábio	16,67	30,67 ± 50,6	28,58 ± 37,59
Caminhar na baía	11,11	2,62 ± 2,07	17,37 ± 10,34
Cavar	2,78	24,5 ± 27,58	18 ± 21,21
Weaving	1,39	1,00	1,00

MC = movimentos aleatórios de cabeça.

A Tabela 8, abaixo, apresenta os resultados da análise de correlação para os comportamentos observados no grupo Choque e a concentração sérica de cortisol. Embora o teste tenha utilizado todos os dados colhidos sobre este tema, o conteúdo da tabela é referente apenas àqueles cujo número de observações foi suficiente para se obter um resultado conclusivo.

Tabela 7. Análise de correlação para os comportamentos anotados dos animais do grupo Choque.

	Cortisol	Morder	t_Morder	MC	t_MC	LL
Morder	-0,77 0,0407*	1				
t_Morder	-0,33 0,47*	0,60 0,1569*	1			
MC	-0,13 0,597*	0,66 0,5425*	0,24 0,8461*	1		
t_MC	-0,12 0,6283*	0,73 0,4778*	0,34 0,7815*	0,85 <.0001*	1	
LL	0,30 0,3512*	- -	- -	0,29 0,581*	0,31 0,5473*	1
t_LL	0,16 0,6106*	- -	- -	0,84 0,038*	0,87 0,0238*	0,93 <.0001*

*Valor de p. t_Morder = duração da apresentação do comportamento morder; MC = movimentos aleatórios com a cabeça; t_MC = duração da apresentação de movimentos aleatórios com a cabeça; LL= lamber o lábio; t_LL = duração da apresentação do comportamento de lamber o lábio.

3.5 Análise discriminante

As variáveis que influenciaram a distinção entre os manejos de estabulação (contínua ou ausente) foram $T_{max_{bolPE}}$ ($R^2=23\%$), Tar (0,26%), Cortisol (3,27%), ALT (9,25%), Lac (11,03%), T_{mP} (13,88%), $T_{max_{carpAD}}$ (19,68%), $T_{max_{bolPD}}$ (20,32%) e CK (1,72%). A análise discriminante cuja seleção de variáveis considerou todas utilizadas na pesquisa foi capaz de classificar corretamente os animais em 88,3% dos casos (Tabelas 9 e 10). Por outro lado, a análise que se iniciou considerando apenas os parâmetros termográficos acertou em 74,53% (Tabelas 11 e 12), tendo sido influenciada por $T_{max_{bolPE}}$ ($R^2=21,08\%$), T_{mA} (19,3%), T_{mP} (13,68%), $T_{max_{casco}}$ (17,46%).

Tabela 8. Número de observações e percentuais de classificação, considerando-se todas as variáveis.

Grupo		Choque	RPMon	Total
Choque	(n)	23	6	29
	(%)	79,31	20,69	100
RPMon	(n)	5	60	65
	(%)	7,69	92,31	100
Total	(n)	28	66	94
	(%)	29,79	70,21	100

Tabela 9. Contagem de erro estimada por grupo experimental considerando-se todas as variáveis.

Proporções	Choque	RPMon	Total
Observado	0,2069	0,0769	0,117
Probabilidade a priori	0,3085	0,6915	-

Tabela 10. Número de observações e percentuais de classificação, considerando-se variáveis térmicas selecionadas.

Grupo		Choque	RPMon	Total
Choque	(n)	24	17	41
	(%)	58,54	41,46	100
RPMon	(n)	10	55	65
	(%)	15,38	84,62	100
Total	(n)	34	72	106
	(%)	32,08	67,92	100

Tabela 11. Contagem de erro estimada por grupo experimental considerando-se variáveis térmicas selecionadas.

Proporção	Choque	RPMon	Total
Observado	0,4146	0,1538	0,255
Probabilidade <i>a priori</i>	0,3868	0,6132	-

DISCUSSÃO

Como já está consolidado o conhecimento de que equinos estabulados continuamente se deslocam menos do que aqueles que vivem em piquetes ou em condição selvagem (HAMPSON, et al., 2010), seria pertinente esperar que houvesse menor circulação sanguínea nos membros daqueles animais, pois o casco, que, durante o deslocamento funciona como bomba sanguínea secundária (BACK & PILLE, 2013), sofre menos expansões e contrações, propiciando a estase. Nesse sentido, Hoffmann, et al. (2001) observaram que o sangue, de fato, circulava menos nos membros anteriores quando estes eram submetidos à carga de peso do próprio animal, ou seja, quando estavam apoiados ao solo, suportando o próprio peso. Assim, se os membros dos animais mantidos em baias estivessem com menor fluxo sanguíneo, recebendo menos calor central e, portanto, mais frios do que os membros dos animais mantidos em piquetes, os resultados encontrados estariam de acordo com essas observações anteriores. No entanto, não se verificou diferença estatística de temperatura periférica entre os membros dos equinos dos dois grupos experimentais.

Contudo, Piccione et al. (2011), quando estudaram a influência do treinamento físico, com atividades 6 vezes por semana e duração de uma hora por sessão, sobre o ritmo circadiano da temperatura periférica, aferida por mensuração retal, de equinos estabulados, não observaram diferença significativa entre os grupos teste (submetido à atividade física) e o controle (não submetido à atividade física). Os resultados apresentados neste trabalho, portanto, coincidem com os descritos no trabalho de Piccione et al (2011). Mesmo assim, mais estudos sobre a temperatura periférica nos membros são necessários para esclarecer sua interação com o repouso e as atividades físicas.

Houve significativa ($p < 0,0001$) correlação positiva entre as temperaturas dos membros e a temperatura ambiente para os dois grupos, o que concorda com os achados de Rosenmeier, et al. (2012), nos quais para cada grau da temperatura ambiente que se elevou, a temperatura da banda coronária dos cascos subiu $0,62^{\circ}\text{C}$, e com as observações de Palmer (1981), que notou que quando a temperatura ambiente chega a valores muito baixos (menor que 12°C) a vasoconstrição periférica

nos membros é suficiente para reduzir sua temperatura superficial, prejudicando a observação de possíveis eventos patológicos.

Por outro lado, as diferenças de temperatura entre regiões análogas (cascos, boletos, carpos, tarsos, metacarpos e metatarsos, comparados conforme apresentados nas tabelas 1 e 2), também tenderam a acompanhar a temperatura ambiente, como foi observado nas tabelas 1 e 2. Tais resultados concordam com Soroko et al. (2017b), pois, embora no trabalho deles a correlação tenha sido fraca, ela existiu e foi significativa, com Mogg e Pollitt (1992), porque observaram, de maneira mais contundente, que o gradiente de temperatura entre os membros aumentava à medida em que a temperatura ambiente diminuía, e com Palmer (1983), pois ele aferiu as variações de temperatura nos membros sob três condições térmicas do ar (5°C, 15°C e 25°C) e, embora em 88% das comparações contralaterais a diferença tenha sido $\leq 1^\circ\text{C}$, algumas leituras diferiram em mais de 5,5°C, especialmente nas situações em que o ar estava mais frio. Da mesma forma, Soroko et al. (2017b) encontraram um equino cujo gradiente térmico entre membros anteriores chegou a 14°C, com ar a aproximadamente 14,6°C. Curiosamente, na presente pesquisa, entre os 18°C e os 21°C de temperatura ambiente, o gradiente térmico para regiões análogas comportou-se de maneira aleatória, com algumas comparações excedendo os 2,5°C e outras menores ou iguais a 1°C, como descrito nas tabelas 1 e 2. No entanto, esses achados são parecidos aos encontrados por Mogg e Pollitt (1992), quando perceberam esse mesmo padrão aparentemente fortuito numa faixa térmica do ar entre 18°C e 20°C e propuseram, em concordância com o descrito por Webbon (1978), que, sob temperaturas ambientes maiores, essa assimetria tenderia a diminuir. Nesse sentido, os achados da presente pesquisa suportam a proposta dos referidos cientistas, pois, com o ar a 24°C, quase a totalidade das comparações apresentou diferença $\leq 1^\circ\text{C}$ em ambos os grupos experimentais, e aos 26°C apenas um dos gradientes foi de 1,1°C e todos os outros $\leq 1^\circ\text{C}$.

Essas diferenças térmicas para regiões análogas podem ser explicadas, porque os equinos são homeotérmicos, ou seja, mantêm uma temperatura corporal constante, e endotérmicos, geram calor para manter essa temperatura, o que dá à termorregulação importante papel na manutenção da homeostase desses animais (GUTHRIE & LUND, 1998). Nesse sentido, uma das formas de realizar a regulação da temperatura corpórea é por meio de vasoconstricções e vasodilatações, que serão

utilizadas dependendo das condições externas para diminuir ou aumentar a perda de calor (GUYTON & HALL, 2011). Assim sendo, já foi comprovado que as anastomoses artério-venosas são vasos terminais de fundamental importância termorregulatória e que há grande concentração delas na extremidade distal dos membros dos equinos (MOGG & POLLITT, 1992). Com isto, as vasoconstricções podem gerar padrões térmicos irregulares e assimétricos, quando a temperatura ambiente está reduzida (SOROKO & MOREL, 2016).

Por outro lado, as comparações cujos gradientes alcançaram os maiores valores compararam membros ipsilaterais (A/P e T, vide tabelas 1 e 2). Acredita-se que essa diferença maior seja devida à proporção de peso suportada pelos membros anteriores, em relação aos posteriores. Enquanto os primeiros sustentam cerca de 60% do peso do animal, os posteriores são responsáveis por apenas 40% do peso (MCGREEVY, et al., 2018). Nesse sentido, Baxter e Morrison (2008) ressaltaram que, quando um cavalo é forçado a permanecer com a maioria do peso corporal apoiado continuamente sobre um membro, a biomecânica normal do casco impede o fluxo sanguíneo, resultando em maior perda de calor na extremidade distal e favorecendo, em casos extremos, o aparecimento de fadiga tecidual, injúria e necrose. No mesmo trabalho, foi destacado também que cavalos saudáveis em estação ainda realizam constantes movimentos, trocando, contralateralmente, o par de membros que suporta a maior parte do peso corporal, no movimento conhecido como quase estático, e assim possibilitando a continuidade do fluxo sanguíneo nas suas extremidades distais.

Contudo, como a termografia infravermelha é sensível o suficiente para detectar doença em estados iniciais (SCHAEFER, et al., 2007; TURNER, 2001), Soroko e Howell (2018) recomendaram não descartar a possibilidade de a assimetria dos padrões térmicos de regiões análogas ser devida à uma inflamação subclínica, sugerindo a necessidade de mais investigações para garantir a hígidez dos animais. Nesse sentido, o presente trabalho foi realizado ao longo de seis semanas, sempre com os mesmos animais e com o suporte da equipe veterinária da Polícia Militar do Distrito Federal, o que permitiu acompanhar esses cavalos de maneira precisa o suficiente para assegurar a ausência de doenças ou condições debilitantes dos membros. Portanto, no tocante à saúde das extremidades distais, a estabulação parece não configurar um grande desafio, apesar de representar uma condição distinta daquela experimentada por equinos em estado selvagem. Por outro lado, em

concordância com Turner (2001), Redaelli, et al. (2014), Soroko, et al. (2017b) e Soroko e Howell (2018), a termografia infravermelha parece ser um método de triagem confiável no dia-a-dia do equino de patrulha urbana.

Em ambos os grupos experimentais, os valores séricos registrados, vide Tabela 6, não indicaram injúria muscular. Embora os valores de CK observados nesse estudo tenham ultrapassado a faixa de normalidade para a espécie, que fica entre 2,4 UI/L e 23,4 UI/L (KANECO, et al., 2008), eles encontram-se abaixo do que é comum quando há algum tipo de lesão (acima de 5000 UI/L) (SHARKEY, 2017). Nesse sentido, as concentrações de AST reforçam a hipótese de que os animais estavam hígidos, porque encontram-se dentro do esperado para animais saudáveis, entre 226 UI/L e 366 UI/L (KANECO, et al., 2008), o que indica a ausência de dano à musculatura. Dessa forma, é possível que essa elevação seja um reflexo do aumento da permeabilidade do sarcolema, decorrente da intensidade e da duração das atividades de patrulha urbana, o que está de acordo com Kingston (2008). Corroborando esta hipótese, Valberg (2018) destaca que pequenas elevações na concentração sérica de CK podem ser consequência de treinamento, de transporte ou de exercício extenuante. Como exemplo, pode ser citado que cavalos competidores das modalidades enduro e concurso completo de equitação chegam a apresentar, após as provas, concentrações séricas de CK maiores que 1000 UI/L e menores que 4000 UI/L sem a presença de lesão e com o retorno rápido, em até 24 horas, aos valores basais. Por conseguinte, o curto intervalo entre as atividades de patrulha e as coletas (menos que 24 horas) ratifica, de acordo com Teixeira-Neto, et al. (2008), Ferraz, et al. (2010) e Padilha, et al. (2017), a hipótese de que o aumento na concentração sérica de CK seja consequência do esforço muscular e de sua adaptação física ao exercício a que os animais são submetidos. Logo, no tocante à capacidade musculoesquelética, é possível inferir que as patrulhas urbanas não constituem um entrave para a manutenção daquilo que se considera um nível mínimo aceitável de bem-estar animal, o que está de acordo com Ferreira II (2017).

Em compensação, os valores observados para o cortisol chamam a atenção em ambos os grupos, pois encontram-se muito acima do considerado normal para a espécie, que seria entre 1,3 µg/100mL e 2,93 µg/100mL (KANECO, et al., 2008). Uma vez que se sabe que a concentração sérica dessa substância apresenta um ritmo de variação diária tanto em equinos (BEECH, 2013) como em humanos

(SILVA, et al., 2017), suínos (EKKEL, et al., 1996) e bovinos (THUN, et al., 1981), poder-se-ia imaginar que a elevada concentração do hormônio fosse um viés resultante do horário em que se realizaram as coletas. Porém, se já está sedimentado o conhecimento de que suas maiores concentrações na corrente sanguínea acontecem pela manhã (BOHÁK, et al., 2013; PAWLUSKI, et al., 2017), fica evidente que o período em que as coletas foram realizadas no presente experimento favoreceu a observação dos maiores valores de cortisol sérico, o que está de acordo com o realizado por Peeters e colaboradores (2011), que em sua pesquisa realizou pela manhã as coletas de sangue para mensuração de cortisol. Entretanto, Bohák, et al. (2013) e Giannetto, et al. (2015) buscaram traçar o ritmo circadiano do cortisol em equinos e observaram que a concentração máxima de cortisol sérico não ultrapassava 5µg/100mL, o que diverge dos dados obtidos no atual trabalho, no qual houve registros de média acima de 14 µg/100mL para os grupos Choque e RPMon. Curiosamente, as médias do grupo RPMon para o hormônio pesquisado foram superiores em quase todos os dias do experimento refletindo, provavelmente, um stress agudo decorrente da captura para a realização das coletas e de uma relação pouco amistosa com o ser humano que se observou pela reação de fuga dos animais na presença dos tratadores e dos pesquisadores, interpretação que concorda com Dalla Costa, et al. (2014). Essa hipótese coincide, ainda, com Popescu e Diugan (2013) que conduziram um estudo com equinos de trabalho rural a fim de avaliar, com base nas reações dos animais à presença humana, se as relações humano-cavalo eram afáveis naquele ambiente. Embora os pesquisadores não tenham demonstrado quais práticas de manejo eram responsáveis por condutas aversivas dos equinos, deixaram claro que a relação pouco ou nada empática com esses animais pode ser evidenciada pela fuga ou pelo comportamento defensivo.

Contudo, a ausência de comportamentos estereotipados observados nos cavalos do RPMon aponta para o estresse normal experimentado por esses animais, pois eles não precisaram desenvolver condutas anormais para tentar se adaptar a um contexto sobre o qual eles não têm controle algum, para o qual parece estão adaptados. Ao contrário, tinham energia, nível de bem-estar e condições suficientes para desempenhar atividades comuns à espécie e evitar situações indesejáveis. Tal suposição concorda com o descrito por Henderson (2007), Kiley-Worthington (2011) e Beaver (2019).

Por outro lado, os valores elevados de cortisol também do grupo Choque, com registro de concentração sérica acima dos 15 µg/100mL, associados à presença de estereotípias indicam que esses animais estavam vivenciando uma condição de distresse e de bem-estar abaixo do ótimo. Embora seja clara a relação orgânica de aumento do cortisol sérico, pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, diante de um estressor agudo, que não necessariamente representa um evento negativo (MORBERG & MENCH, 2000), há controvérsias acerca da reação desse hormônio em situações de estresse crônico (PAWLUSKI, et al., 2017). Para tanto, Ladewig (2000) propôs que um estressor crônico seja, na verdade, uma sequência de exposições a um, ou vários, estressores agudos e que, diante desses repetidos estímulos estressores, é esperada uma resposta inicialmente exacerbada e que, com o tempo, haja uma modulação desse reflexo, de maneira que ele se alterne entre sensibilização e dessensibilização, caso não aconteça uma adaptação real. Dessa forma, as possíveis reações diante do desafio biológico se dão de acordo com a duração, a intensidade e o intervalo entre esses eventos adversos, além da sensibilidade individual, sendo variados os resultados observados em diferentes estudos com mamíferos, nos quais se observa similaridade entre as respostas de concentração sérica de cortisol (MUNKSGAARD & SIMONSEN, 1996; CASAMASSIMA, et al., 2001), aumento dessa concentração (OTTEN, et al., 2004; KANITZ, et al., 2005) e até diminuição (VAN REENEN, et al., 2000; CYR & MICHAEL ROMERO, 2007; PAWLUSKI, et al., 2017). Talvez, sejam reflexos de momentos de maior ou menor adaptação, dentro de um intervalo de tempo e em um ambiente, sem dúvida, desafiador. Assim, os resultados aqui expostos parecem concordar com a hipótese de Ladewig (2000), na medida em que as concentrações séricas de cortisol estavam acima dos valores de referência e o ambiente propõe um cenário bastante diferente daquele no qual a espécie aparenta se adaptar melhor, sugerindo que esses animais experimentavam uma condição estressante. Portanto, a presença das estereotípias reforça a hipótese acima, pois acredita-se que essas alterações de comportamento sejam uma tentativa de adaptação em consequência do ambiente inadequado e de experiências emocionais negativas, como frustração, tédio ou ansiedade (HENDERSON, 2007; MCGREEVY, 2012). Outro fato da presente pesquisa que parece coadunar com essa tese é a correlação ($p < 0,05$) negativa da concentração sérica de cortisol com o hábito de morder estruturas do ambiente. Nesse

sentido, Freymond, et al. (2015) relatam que cavalos mordedores apresentaram concentração salivar de cortisol variável (maior, menor e igual) em relação àqueles que não tinham esse hábito. Porém, quando foram impedidos de realizar o comportamento estereotipado, esses animais alcançaram picos altíssimos de concentração salivar do hormônio. Da mesma forma, McBride e Cuddeford (2001) observaram que o uso de colares antiaerofagia em cavalos mordedores levava a picos significantes da concentração sérica do cortisol.

Logo, a observação de estereotípias orais, como morder e lambe estruturas do ambiente, movimentos aleatórios com o lábio e aerofagia indicam que os animais do grupo Choque não são capazes de cumprir um comportamento alimentar natural, para o qual são altamente motivados pela sua biologia: a ingestão de várias porções de plantas forrageiras, com pequenos volumes e fibras longas, durante, pelo menos, 16 das 24 horas do dia (HENDERSON, 2007; WICKENS & HELESKI, 2010). McGreevy (2012) e Rochais, et al. (2018), por sua vez, relataram que equinos submetidos a longos períodos de jejum são mais susceptíveis a começarem a apresentar estereotípias orais, mesmo que suas exigências nutricionais estejam atendidas e seu escore de condição corporal seja satisfatório, condição que parece se adequar ao observado na presente pesquisa, pois a alimentação dos cavalos estabulados era fornecida apenas três vezes ao dia.

Não obstante, a presença das estereotípias locomotoras indica que o ambiente também impede os cavalos do grupo Choque de realizar outra conduta inerente à natureza da espécie: deslocar-se ao longo do dia, em grupos, em busca dos melhores locais para alimentação, dessedentação e repouso, além de ter sempre a possibilidade de fugir de um eventual predador (BEAVER, 2019; LESIMPLE, et al., 2020). Nesse sentido, os achados de Hampson, et al. (2010) reforçam essa hipótese, pois os pesquisadores observaram que, enquanto os equinos mantidos em piquetes de 4 hectares percorriam cerca de 6 Km por dia, aqueles mantidos em solários de 6 m de largura por 6 m de comprimento percorriam apenas 1 Km aproximadamente. Fica claro, portanto, que a restrição de movimento imposta pelo alojamento em baias prejudica o bem-estar desses animais. Nessa lógica de investigação, Hausberger et al. (2007), Parker et al. (2008) e Hausberger, et al. (2019) notaram que cavalos que apresentam comportamentos estereotipados possuem maior dificuldade de aprendizagem durante exercícios de equitação além de dispersarem sua atenção

mais facilmente (ROCHAIS, et al., 2016), demandando mais habilidade de seu equitador (MCGREEVY, et al., 2018). Por outro lado, Hockenhull e Creighton (2014) observaram alta correlação entre a estabulação prolongada e comportamentos agressivos, direcionados ao ser humano. No presente estudo, isso se traduz em uma potencial fonte de risco desnecessário e evitável, não só para os tratadores e cavaleiros, como para qualquer pessoa que venha a se aproximar desses animais, que têm contato com o público durante a realização das patrulhas. Da mesma maneira, Leme et al. (2014) observaram que cavalos manejados em condições antinaturais para a espécie estão mais propensos a apresentarem estereotípias, feridas e outros problemas de saúde, que podem ser interpretados como custos adicionais à manutenção dos animais (MCGREEVY, 2012; KIBLER & PENDELL, 2018; BEAVER, 2019).

Quanto à temperatura máxima ocular (TMO) como ferramenta não invasiva de mensuração do grau de estresse, as presentes observações parecem coadunar com o que se notou em estudos anteriores (SOROKO, et al., 2016; GÓMEZ, et al., 2018), nos quais ela não apresentou correlação com a concentração sérica de cortisol. De maneira contrastante, Fenner, et al. (2016), Dai, et al. (2015) e Valera, et al. (2012) obtiveram resultados sugerindo o oposto, que a TMO possa ser um parâmetro para predição do grau de estresse, uma vez que houve correlação com a concentração salivar de cortisol (VALERA, et al., 2012) e com a elevação da frequência cardíaca (FENNER, et al., 2016; DAI, et al., 2015). De Santis e colaboradores (2017), então, tentaram explicar esses resultados divergentes ao propor que a TMO possa refletir tanto eventos fisiológicos como emocionais, crônicos ou agudos, tornando difícil a interpretação do dado. Nesse sentido, Trindade et al. (2019) sustentam a hipótese de De Santis et al. (2017), porque observaram que a TMO apresentou correlação positiva não só com os valores séricos de CK, mas também com a concentração de cortisol em cavalos de fazenda. Assim, o recomendável é que se realizem mais estudos para esclarecer como e se a TMO pode ser usada como parâmetro preditivo do nível de estresse.

Por fim, a capacidade discriminante das informações pesquisadas foi elevada (88,3%), o que significa que em 88,3% dos resultados obtidos, foi possível distinguir corretamente a que grupo experimental os animais pertenciam, quando se consideraram todas as variáveis. Contudo, a praticidade da coleta das amostras foi

baixa, uma vez que envolveu procedimentos invasivos e testes laboratoriais, demandando pessoal capacitado para a adequada obtenção dos materiais biológicos e muito tempo para uso cotidiano a campo. Portanto, a aplicação dessa metodologia com o uso dessas variáveis torna a análise, em si, impraticável no contexto cotidiano. Contudo a capacidade discriminante das variáveis térmicas selecionadas também se mostrou alta (74,53%). Se por um lado, ela demandou tratamentos matemáticos para a obtenção das variáveis, por outro, sua acurácia e a facilidade de obtenção das amostras podem viabilizar seu uso cotidiano, desde que se desenvolva tecnologia computacional que chegue automaticamente às variáveis utilizadas

CONCLUSÃO

A estabulação contínua parece não interferir diretamente na capacidade de adaptação física às atividades de patrulha em ambiente urbano, nem na termorregulação periférica distal dos membros de equinos. No entanto, ela configura uma condição adversa para esses animais, podendo levá-los a uma experiência de distresse. Ou seja, a estabulação representa um desafio biológico suficiente para prejudicar o grau de bem-estar dos cavalos submetidos a esse tipo de manejo. Por outro lado, a interação com o ser humano também pode representar uma fonte de estados emocionais negativos, sendo fundamental dedicar-lhe atenção para evitar que, apesar de um ambiente favorável, como o observado no 1º Regimento de Polícia Montada do DF, essa relação prejudique a obtenção de níveis satisfatórios de bem-estar animal.

São ainda necessários mais estudos para garantir a confiabilidade de interpretação da temperatura máxima ocular como método de verificação da presença de estresse. Em contrapartida, as variáveis térmicas de membros, obtidas a partir de termografias, parecem apresentar potencial preditivo no diagnóstico de estresse crônico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, K. J., VAN ERCK-WESTERGREN, E. & FRANKLIN, S. H., 2016. Exercise testing in the equine athlete. *Equine Veterinary Education*, doi: 10.1111/eve.12410, 28(2), pp. 89-98.

ALMEIDA, F. Q. & SILVA, V., 2010. Progresso científico em equideocultura na 1a década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Volume 39, pp. 119-129.

ARCHER, D. C. & PROUDMAN, C. J., 2006. Review Epidemiological clues to preventing colic. *The Veterinary Journal*, Volume 172, pp. 29-39.

AWIN, 2015. *AWIN Welfare Assessment Protocol for Horses*. [Online] Available at: <https://air.unimi.it/retrieve/handle/2434/269097/384836/AWINProtocolHorses.pdf> [Acesso em 08 Dezembro 2019].

BACHMANN, I. & STAUFFACHER, M., 2002. Housing and use of horses in Switzerland: a representative analysis of the status quo. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 144(7), pp. 331-347.

BACK, W. & PILLE, F., 2013. The role of the hoof and shoeing. Em: W. BACK & H. M. CLAYTON, eds. *Equine Locomotion*. 2ª ed. s.l.:Saunders Ltd., pp. 147-174.

BARTOLOMÉ, E. & COCKRAM, M. S., 2016. Review Article Potential Effects of Stress on the Performance of Sport Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 40, pp. 84-93.

BASILE, R. C., 2012. *Metodologia de avaliação e análise de termografia em equinos*. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária): Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/118231>>.

BAXTER, G. M., 2011. *Adams and Stashak's lameness in horses*. 6ª ed. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd.

BAXTER, G. M. & MORRISON, S., 2008. Complications of Unilateral Weight Bearing. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.10.006>, 24(3), pp. 621-642.

BEAVER, B. V., 2019. Chapter 10 - Equine Behavior Problems. Em: *Equine Behavioral Medicine*. London, UK: Academic Press, pp. 311-346.

- BEAVER, B. V., 2019. Chapter 2 - Equine Behavior of Sensory and Neural Origin. Em: *Equine Behavioral Medicine*. London, UK: Academic Press, pp. 31-64.
- BEAVER, B. V., 2019. Chapter 8 - Equine Locomotive Behavior. Em: *Equine Behavioral Medicine*. London, UK: Academic Press, pp. 237-276.
- BEECH, J., 2013. Endocrine Evaluation. Em: R. M. WALTON, ed. *Equine Clinical Pathology*. Oxford: Wiley Blackwell, pp. 181-201.
- BILLINGS, A., 2013. Skeletal Muscle. Em: R. M. WALTON, ed. *Equine Clinical Pathology*. Oxford: Wiley Blackwell, pp. 153-169.
- BOHÁK, Z. et al., 2013. Monitoring the circadian rhythm of serum and salivary cortisol concentrations in the horse. *Domestic Animal Endocrinology*, Volume 45, pp. 38-42.
- BOUZIDA, M., BENDADA, A. & MALDAGUE, X. P., 2009. Visualization of body thermoregulation by infrared imaging. *Journal Thermal Biology*, Volume 34, pp. 120-126.
- BROOM, D. M., 1986. Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, Volume 142, pp. 524-526.
- BROOM, D. M., 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, pp. 5-19.
- BROOM, D. M., 2001. *Coping with challenge: welfare in animals including humans*. 1^a ed. Berlim: Dahlem University Press.
- BROOM, D. M., 2008. Welfare Assessment and Relevant Ethical Decisions: Key Concepts. *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*, Volume 10, pp. 79-90.
- BROOM, D. M. & JOHNSON, K. G., 1993. *Stress and Animal Welfare*. 1^a ed. London: Chapman and Hall.
- BROOM, D. M. & MOLENTO, C. F. M., 2004. Bem-Estar Animal: Conceito e Questões Relacionadas – Revisão. *Archives of Veterinary Science*, 9(2), pp. 1-11.
- BROWN, J. H., PILLINER, S. & DAVIES, Z., 2003. *Horse and Stable Management*. 4^a ed. Oxford: Blackwell Publishing.
- BUDZYNSKA, M., 2014. Review Article Stress Reactivity and Coping in Horse Adaptation to Environment. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 34, pp. 935-941.

CANNON, W. B., 1929. *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: An account of recent researches into the function of emotional excitement*. New York and London: D. Appleton & Company.

CASAMASSIMA, D. et al., 2001. Effects of two different housing systems on behavior, physiology and milk yield of Comisana ewes. *Small Ruminant Research*, 41(2), pp. 151-161.

CHRISTENSEN, J. W., LADEWIG, J., SØDENGAARD, E. & MALMKVIST, J., 2002. Effects of individual versus group stabling on social behaviour in domestic stallions. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 75, pp. 233-248.

COHEN, N. D. et al., 2006. Are feeding practices associated with duodenitis-proximal jejunitis?. *EQUINE VETERINARY JOURNAL*, 38(6), pp. 526-531.

COOK, N. J. et al., 2001. Adrenocortical and metabolic responses to ACTH injection in horses: an assessment by salivary cortisol and infrared thermography of the eye. *Canadian Society of Animal Science*, Volume 81, p. 621.

COOPER, J. J. & ALBENTOSA, M. J., 2005. Behavioural adaptation in the domestic horse: potential role of apparently abnormal responses including stereotypic behaviour. *Livestock Production Science*, 92(2), pp. 177-182.

COOPER, J. & MCGREEVY, P., 2007. Stereotypic Behaviour in the Stabled Horse: Causes, Effects and Prevention without Compromising Horse Welfare. Em: N. WARAN, ed. *The Welfare of Horses. Animal Welfare*. Dordrecht: Springer, pp. 99-124.

CRUZ, J., 2011. INDICADORES BIOQUÍMICOS DA FUNÇÃO MUSCULAR.

CYR, N. E. & MICHAEL ROMERO, L., 2007. Chronic stress in free-living European starlings reduces corticosterone concentrations and reproductive success. *General and comparative endocrinology*, 151(1), pp. 82-89.

DAI, F. et al., 2015. Validation of a fear test in sport horses using infrared thermography. *Journal of Veterinary Behavior*, Volume 10, pp. 128-136.

DALLA COSTA, E. et al., 2014. Equine on-farm welfare assessment: a review of animal-based indicators. *Animal Welfare*, Volume 23, pp. 323-341.

DAVIES, Z., 2018. The Digestive System. Em: *Equine Science*. 3^a ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 123-144.

DAVIS, E., 2017. CHAPTER 8, Disorders of the Respiratory System. Em: S. M. REED, W. M. BAYLY & D. C. SELLON, eds. *Equine Internal Medicine*. 4^a ed. St. Louis, Missouri: Saunders, pp. 313-386.

DE SANTIS, M. et al., 2017. Equine Assisted Interventions (EAls): Methodological Considerations for Stress Assessment in Horses. *Veterinary Sciences*, 4(3), p. 44.

EDDY, A. L., VAN HOOGMOED, L. M. & SNYDER, J. R., 2001. The Role of Thermography in the Management of Equine Lameness. *The Veterinary Journal*, 162(3), pp. 172-181.

EKKEL, E. D. et al., 1996. The circadian rhythm of cortisol in the saliva of young pigs. *Physiology & Behavior*, 60(3), pp. 985-989.

FEH, C., 2005. Relationships and communication in socially natural horse herds. Em: D. S. MILLS & S. M. MCDONNELL, eds. *The Domestic Horse: The Evolution, Development and Management of its Behaviour*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 83-109.

FEI, 2018. 2020 VETERINARY REGULATIONS. [Online] Available at: <https://inside.fei.org/sites/default/files/FEI%20Rules/FEI%20Veterinary%20Regulations%202020%20-%20Clean%20Version.pdf>

[Acesso em 03 fevereiro 2020].

FENNER, K. et al., 2016. The Effect of Noseband Tightening on Horses' Behavior, Eye Temperature, and Cardiac Responses. *PLoS One*, 11(5).

FERRAZ, G. C. et al., 2010. The workload and plasma ion concentration in a training match session of high-goal (elite) polo ponies. *EQUINE VETERINARY JOURNAL*, 42(38), pp. 191-195.

FERREIRA II, R. F., 2017. *Perdas hídricas e as implicações no bem-estar de equinos de policiamento no Distrito Federal*. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.

FIGUEIREDO, T. et al., 2013. Use of Infrared Thermography to Detect Intrasynovial Injections in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2012.07.003>, 33(4), pp. 257-260.

FLIR, 2014. *User's manual FLIR T4XX series*. Wilsonville: FLIR Systems .

FREYMOND, S. B. et al., 2015. The physiological consequences of crib-biting in horses in response to an ACTH challenge test. *Physiology & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.07.015>, Volume 151, pp. 121-128.

GIANNETTO, C. et al., 2015. Different daily patterns of serum cortisol and locomotor activity rhythm in horses under natural photoperiod. *Journal of Veterinary Behavior*, Volume 10, pp. 118-121.

GÓMEZ, Y. et al., 2018. Evaluation of visible eye white and maximum eye temperature as noninvasive indicators of stress in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 198, pp. 1-8.

GOTELLI, N. J. & ELLISON, A. M., 2011. *Princípios de Estatística em Ecologia*. Edição brasileira ed. Porto Alegre/RS: Artmed Editora S.A..

GUTHRIE, A. J. & LUND, R. J., 1998. Thermoregulation: Base mechanisms and Hyperthermia. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 14(1), pp. 45-59.

GUYTON, A. C. & HALL, J. E., 2011. *Tratado de Fisiologia Médica*. 12ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier.

HAMPSON, B. A. et al., 2010. Monitoring distances travelled by horses using GPS tracking collars. *Australian Veterinary Journal*, maio, Volume 88, pp. 176-181.

HARTMANN, E., SONDEGAARD, E. & KEELING, L. J., 2012. Keeping horses in groups: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 136(2 - 4), pp. 77-87.

HAUSBERGER, M., GAUTIER, E., MÜLLER, C. & JEGO, P., 2007. Lower learning abilities in stereotypic horses. *Applied Animal Behaviour Science*, 107(3-4), pp. 299-306.

HAUSBERGER, M. et al., 2019. Mutual interactions between cognition and welfare: The horse as an animal model. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Volume 107, pp. 540-559.

HAYERBEKE, A. et al., 2009. Assessing undesired aggression in military working dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, 117(1-2), pp. 55-62.

HENDERSON, A. J. Z., 2007. Don't Fence Me In: Managing Psychological Well Being for Elite Performance Horses. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 10(4), pp. 309-329.

HOCKENHULL, J. & CREIGHTON, E., 2014. Management practices associated with owner-reported stable-related and handling behaviour problems in UK leisure horses. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 155, pp. 49-55.

HOFFMANN, K. L. et al., 2001. Doppler sonographic measurements of arterial blood flow and their repeatability in the equine foot during weight bearing and non-weight bearing. *Research in Veterinary Science*, Volume 70, p. 199–203.

HOTHERSALL, B. & CASEY, R., 2012. Undesired behaviour in horses: A review of their development, prevention, management and association with welfare. *Equine Veterinary Education*, 24(9), pp. 479-485.

HOUPT, K., 2018. *Domestic Animal Behavior for Veterinarians and Animal Scientists*. 6^a ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.

KANECO, J. J., HARVEY, J. W. & BRUSS, M. L., 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6^a ed. s.l.:Academic Press.

KANITZ, E., OTTEN, W. & TUCHSCHERER, M., 2005. Central and peripheral effects of repeated noise stress on hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in pigs. *Livestock Production Science*, 94(3), pp. 213-224.

KIBLER, M. L. & PENDELL, D. L., 2018. An Investigation Into Equine Daily Use Values and the Impacts of Equine Competitions. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 69, pp. 53-58.

KILEY-WORTHINGTON, M., 2011. Equine Psychological Needs and Quality of Life. Em: W. MCILWRAITH & B. E. ROLLIN, eds. *Equine Welfare*. Chicester, UK: Willey Blackwell Publishing, pp. 94-112.

KINGSTON, J. K., 2008. Chapter 7.1 - Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. Em: K. W. HINCHCLIFF, R. J. GEOR & A. J. KANEPS, eds. *Equine Exercise Physiology*. Edinburg, UK: Saunders Elsevier, pp. 398-409.

LADEWIG, J., 2000. Chronic Intermittent Stress: A Model for the Study of Long-term Stressors. Em: G. P. MORBERG & J. A. MENCH, eds. *The Biology of Animal Stress*. Davis, CA: CABI Publishing, pp. 159-169.

LATIMER, K. S., 2011. *DUNCAN & PRASSE'S VETERINARY LABORATORY MEDICINE: CLINICAL PATHOLOGY*. 5^a ed. s.l.:Wiley-Blackwell.

LEAL, B. B., 2007. Belo Horizonte(Minas Gerais): Escola de Veterinária da UFMG.

LEMASSON, A. et al., 2009. Horse (*Equus caballus*) whinnies: a source of social information. *Animal Cognition*, 12(5), pp. 693-704.

LEME, D. P., PARSEKIAN, A. B. H., KANAAN, V. & HÖTZEL, M. J., 2014. Management, health, and abnormal behaviors of horses: A survey in small equestrian centers in Brazil. *Journal of Veterinary Behavior*, 9(3), pp. 114-118.

LEPEULE, J. et al., 2010. Risk factors for the presence and extent of Developmental Orthopaedic Disease in the limbs of young horses: Insights from a count model. *Preventive Veterinary Medicine*, Volume 101, pp. 96-106.

LESIMPLE, C. et al., 2019. Stall architecture influences horses' behaviour and the prevalence and type of stereotypies. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 219, p. 104833.

LESIMPLE, C. et al., 2020. Free movement: A key for welfare improvement in sport horses?. *Applied Animal Behaviour Science*, <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2020.104972>.

LIMA, R. A. S. & CINTRA, A. G., 2015. *Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo*, s.l.: Câmara de Equideocultura do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

LUKASKI, H. C., 2004. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*, Volume 20, pp. 632-644.

MARTINS FILHO, L. P. et al., 2007. Estudo clínico e laboratorial da fase prodrômica da laminite equina induzida por sobrecarga de carboidrato. *ARS VETERINARIA*, Volume 23, pp. 32-39.

MASON, G. J., 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behavior*, Volume 41, pp. 1015-1037.

MCBRIDE, S. D. & CUDDEFORD, D., 2001. The putative welfare-reducing effects of preventing equine stereotypic behaviour. *Animal Welfare*, Volume 10, pp. 173-189.

MCGREEVY, P., CHRISTENSEN, J. W., BORSTEL, U. K. & MCLEAN, A., 2018. *Equitation Science*. 2^a ed. Hoboken, NJ.: Wiley.

MCGREEVY, P. D., 2012. *Equine Behavior: a Guide for Veterinarians and Equine Scientists*. 2^a ed. Londres: Elsevier.

MCGREEVY, P. D. & MCLEAN, A. N., 2010. *Equitation Science*. 1^a ed. s.l.:Wiley-Blackwell.

MCGREEVY, P. D., RICHARDSON, J. D., NICOL, C. J. & LANE, J. G., 1995. Radiographic and endoscopic study of horses performing an oral based stereotypy. *Equine Veterinary Journal*, Issue 27, pp. 92-95.

MELLOR, D. J., 2017. Operational Details of the Five Domains Model and Its Key Applications to the Assessment and Management of Animal Welfare. *Animals*.

MELLOR, D. J. & BEAUSOLEIL, N. J., 2015. Extending the 'Five Domains' model for animal welfare assessment to incorporate positive welfare states. *Animal Welfare*, Volume 24, pp. 241-253.

MELLOR, D. J. & REID, C. S. W., 1994. *Concepts of animal well-being and predicting the impact of procedures on experimental animals*. [Online] Available at: <https://org.uib.no/dyreavd/harm-benefit/Concepts%20of%20animal%20well-being%20and%20predicting.pdf> [Acesso em 08 Dezembro 2019].

MOGG, K. C. & POLLITT, C. C., 1992. Hoof and distal limb surface temperature in the normal pony under constant and changing ambient temperatures. *Equine Veterinary Journal*, 24(2), pp. 134-139.

MORBERG, G. & MENCH, J., 2000. *The Biology of Animal Stress - Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. 1ª ed. Davis, CA: CABI Publishing.

MUNKSGAARD, L. & SIMONSEN, H. B., 1996. Behavioral and pituitary adrenal-axis responses of dairy cows to social isolation and deprivation of lying down. *Journal of Animal Science*, Volume 74, pp. 769-778.

NELSON, D. & COX, M. M., 2011. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 5ª ed. s.l.:Artmed.

OIE, 2004. *Animal Welfare*. [Online] Available at: <https://www.oie.int/en/animal-welfare/animal-welfare-at-a-glance/> [Acesso em 16 Outubro 2019].

OTTEN, W. et al., 2004. Acute and long term effects of chronic intermittent noise stress on hypothalamic-pituitary-adrenocortical and sympathoadrenomedullary axis in pigs. *Animal Science*, 78(2), pp. 271-283.

PADILHA, F. G. F., DIMACHE, L. A. G., ALMEIDA, F. Q. & FERREIRA, A. M. R., 2017. Blood biochemical parameters of Brazilian sport horses under training in tropical climate. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(8), pp. 678-682.

PALMER, S. E., 1983. Effect of ambient temperature upon the surface temperature of the equine limb. *American Journal of Veterinary Research*, 44(6), pp. 1098-1101.

PARKER, M., GOODWIN, D. & REDHEAD, E. S., 2008. Impaired instrumental choice in crib-biting horses (*Equus caballus*). *Behavioural Brain Research*, 1(191), pp. 137-140.

PAWLUSKI, J. et al., 2017. Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). *PLoS ONE*, 12(9), p. e0182257. <https://doi.org/10.1371/journal..>

PEETERS, M. et al., 2011. Comparison between blood serum and salivary cortisol concentrations in horses using an adrenocorticotrophic hormone challenge. *EQUINE VETERINARY JOURNAL*, 43(4), pp. 487-493.

PICCIONE, G. et al., 2011. Daily rhythms of rectal temperature and total locomotor activity in trained and untrained horses. *Journal of Veterinary Behavior*, Volume 6, pp. 115-120.

POPESCU, S. & DIUGAN, E.-A., 2013. The Relationship Between Behavioral and Other Welfare Indicators of Working Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 33, pp. 1-12.

REDAELLI, V. et al., 2014. Use of Thermography Techniques in Equines: Principles and Applications. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 34, pp. 345-350.

ROCHAIS, C., HENRY, S., FUREIX, C. & HAUSBERGER, M., 2016. Investigating attentional processes in depressive-like domestic horses (*Equus caballus*). *Behavioural Processes*, Volume 124, pp. 93-96.

ROCHAIS, C., HENRY, S. & HAUSBERGER, M., 2018. "Hay-bags" and "Slow feeders": Testing their impact on horse behaviour and welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 198, pp. 52-59.

ROSENMEIER, J. G., STRATHE, A. B. & ANDERSEN, P. H., 2012. Evaluation of coronary band temperatures in healthy horses. *American Journal of Veterinary Research*, 73(5), pp. 719-723.

SANFORD, J. et al., 1968. Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals. *Veterinary Record*, 118(12), pp. 334-338.

SARRAFCHI, A. & BLOKHUIS, H. J., 2013. Review - Equine stereotypic behaviors: Causation, occurrence, and prevention. *Journal of Veterinary Behavior*, Issue 8, pp. 386-394.

SCANTLEBURY, C. E., ARCHER, D. C., PROUDMAN, C. J. & PINCHBECK, G. L., 2015. Management and horse-level risk factors for recurrent colic in the UK general equine practice population. *Equine Veterinary Journal*, Volume 47, pp. 202-206.

SCHAEFER, A. L. et al., 2007. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Research in Veterinary Science*, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.01.008>, 83(3), pp. 376-384.

SHARKEY, L., 2017. Enzymes. Em: N. PUSTERLA & J. HIGGINS, eds. *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*. 1ª ed. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell, pp. 33-38.

SILVA, A. M. B. d., SILVA, M. L. B. d. & ENUMO, S. R. F., 2017. Relações entre o hormônio cortisol e comportamentos de adolescentes: Uma revisão sistemática. *PSICOLOGIA REVISTA*, 26(2), pp. 337-362.

SMULDERS, D., VERBEKE, G., MORMÈDE, P. & GEERS, R., 2006. Validation of a behavioral observation tool to assess pig welfare. *Physiology & Behavior*, 89(3), pp. 438-447.

SOROKO, M., DAVIES MOREL, M. C. G. & HOWELL, K., 2017a. Chapter 11 - The Application of Infrared Thermography in Equestrian Sport. Em: J. I. P. QUESADA, ed. *Application of Infrared Thermography in Sports Science, Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, pp. 265-296.

SOROKO, M. & HOWELL, K., 2018. Infrared Thermography: Current Applications in Equine Medicine. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 60, pp. 90-96.

SOROKO, M., HOWELL, K. & DUDEK, K., 2017b. The effect of ambient temperature on infrared thermographic images of joints in the distal forelimbs of healthy racehorses. *Journal of Thermal Biology*, doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.03.018, Volume 66, pp. 63-67.

SOROKO, M. et al., 2016. Maximum Eye Temperature in the Assessment of Training in Racehorses: Correlations With Salivary Cortisol Concentration, Rectal Temperature, and Heart Rate. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 45, pp. 39-45.

SOROKO, M. & MOREL, M. C. G. D., 2016. *Equine Thermography in Practice*. 1ª ed. Wallingford, UK: CABI.

SOUZA, B. B. et al., 2008. Temperaruta superficial e índice de tolerância ao calor de caprinos de diferentes grupos raciais no semi-árido nordestino. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Volume 32, pp. 275-280.

STEWART, A. J. & CUMING, R. S., 2015. Update on fungal respiratory disease in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 31(1), pp. 43-62.

STOCKHAM, S. L. & SCOTT, M. A., 2007. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2ª ed. s.l.:Blackwell Publishing Professional.

TEIXEIRA-NETO, A. R. et al., 2008. Alterations in muscular enzymes of horses competing long-distance endurance rides under tropical climate. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(3), pp. 543-549.

THOMASSIAN, A., 2005. *Enfermidades dos cavalos*. 4ª ed. São Paulo: Editora Verela.

THUN, R. et al., 1981. Twenty-Four-Hour Secretory Pattern of Cortisol in the Bull: Evidence of Episodic Secretion and Circadian Rhythm. *Endocrinology*, 109(6), pp. 2208-2212.

TRINDADE, P. H. E., FERRAZ, G. C., LIMA, M. L. .. P. & NEGRÃO, J. A., 2019. Eye Surface Temperature as a Potential Indicator of Physical Fitness in Ranch Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, Issue 75, pp. 1-8.

TUNLEY, B. V. & HENSON, F. M. D., 2004. Reliability and repeatability of thermographic examination and the normal thermographic image of the thoracolumbar region in the horse. *Equine Veterinary Journal*, Volume 36, pp. 306-312.

TURNER, T. A., 2001. Diagnostic Thermography. *VETERINARY CLINICS OF NORTH AMERICA: EQUINE PRACTICE*, Volume 17, pp. 95-113.

VALBERG, S. J., 2008. Chapter 15, Skeletal Muscle Function. Em: J. KANECO, J. W. HARVEY & M. L. BRUSS, eds. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6ª ed. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00015-5>: Academic Press, pp. 459-484.

VALBERG, S. J., 2018. CHAPTER 10, Disorders of the Musculoskeletal System. Em: S. REED, W. BAYLY & D. SELLON, eds. *Equine Internal Medicine*. 4ª ed. St. Louis, Missouri: Saunders, pp. 542-579.

VALERA, M. et al., 2012. Changes in Eye Temperature and Stress Assessment in Horses During Show Jumping Competitions. *Journal of Equine Veterinary Science*, Volume 32, pp. 827-830.

VAN HOOGMOED, L. M. & SNYDER, J. R., 2002. Use of Infrared Thermography to Detect Injections and Palmar Digital Neurectomy in Horses. *The Veterinary Journal*, doi:10.1053/tvjl.2002.0719, 164(2), pp. 129-141.

VAN REENEN, C. G. et al., 2000. Social isolation may influence responsiveness to infection with bovine herpes virus 1 in veal calves. *Veterinary Microbiology*, 75(2), pp. 135-143.

VISSER, E. K., ELLIS, A. D. & VAN REENEN, C. G., 2008. The effect of two different housing conditions on the welfare of young horses stabled for the first time. *Applied Animal Behaviour Science*, 114(3-4), pp. 521-533.

WARAN, N., MCGREEVY, P. D. & CASEY, R. A., 2003. *The Welfare of Horses*. London: Kluwer Academic Publishers.

WEBBON, P. M., 1978. Limb Skin Thermometry in Racehorses. *Equine Veterinary Journal*, <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1978.tb02253.x>, 10(3), pp. 180-184.

WELFARE QUALITY® , 2009. *Welfare quality® assessment protocol for cattle*. Lelystad: Welfare Quality® Consortium.

WICKENS, C. L. & HELESKI, C. R., 2010. Crib-biting behavior in horses: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 128, pp. 1-9.

YARNELL, K., HALL, C., ROYLE, C. & WALKER, S. L., 2015. Domesticated horses differ in their behavioural and physiological responses to isolated and group housing. *Physiology & Behavior*, Issue 143, pp. 51-57.

YOUNG, T., CREIGHTON, E., SMITH, T. & HOSIE, C., 2012. A novel scale of behavioural indicators of stress for use with domestic horses. *Applied Animal Behaviour Science*, Volume 140, pp. 33-43.

ANEXOS

Anexo I



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 29 de agosto de 2018.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "BEM-ESTAR EM EQUINOS SUBMETIDOS A DIFERENTES REGIMES DE ESTABULAÇÃO," Protocolo n.º 20/2018, sob responsabilidade do Professor Francisco Ernesto Moreno Bernal foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *equus caballus* (24 machos). A presente aprovação é válida pelo período de: 30/04/2018 a 04/07/2018.



Prof. Dr. Cássio José da Silva
Coordenador da CEUA – UnB

