FABRÍCIO BRAGA RASSY

Determinação da concentração expirada de isofluorano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

São Paulo

2020

FABRÍCIO BRAGA RASSY

Determinação da concentração expirada de isofluorano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutorado em Ciência.

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Silvia Renata Gaido Cortopassi

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3907
FMVZ

Rassy, Fabrício Braga
Determinação da concentração expirada de isoflurano frente a estímulo nociceptivo
supramáximo em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) / Fabrício
Braga Rassy. – 2020.
77 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2020.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Sílvia Renata Gaido Cortopassi.

1. Anestesia inalatória. 2. Primatas. 3. Calitriquídeos. 4. Primatas neotropicais. 5.
Animais silvestres. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Determinação da concentração expirada de isoflurano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)", protocolada sob o CEUA nº 5744280116 (ID 002675), sob a responsabilidade de **Silvia Renata Gaido Cortopassi e equipe; Fabrício Braga Rassy** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 15/08/2016.

We certify that the proposal "Determination of expired isoflurane concentration after supramaximal nociceptive stimulus in golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*)", utilizing 10 Brazilian wild species (males and females), protocol number CEUA 5744280116 (ID 002675), under the responsibility of **Silvia Renata Gaido Cortopassi and team; Fabrício Braga Rassy** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/15/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **04/2016** a **04/2019**

Área: **Anestesiologia**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Espécies silvestres brasileiras**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 8 anos**

N: **10**

Linhagem: **Mico-leão-de-cara-dourada**

Peso: **600 a 850 g**

Registro IBAMA/Sisbio/Etc:

Método de Captura: **Animais mantidos em cativeiro, passrão por contenção física e química. Autorização SISBIO solicitada.**

Local do experimento: **Fundação Parque Zoológico de São Paulo**

São Paulo, 08 de janeiro de 2020

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenador

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54541-3	Data da Emissão: 17/12/2019 17:34:22	Data da Revalidação*: 24/08/2018
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FABRÍCIO BRAGA RASSY	CPF: 899.437.403-53
Título do Projeto: Determinação da concentração expirada de isoflurano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em Mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>)	
Nome da Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP	CNPJ: 63.025.530/0019-33

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Redação e defesa de tese	12/2019	02/2020
2	Execução experimento: Anestésias	01/2017	11/2017
3	análise de dados e redação de tese	01/2018	05/2018

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	SILVIA RENATA GAIDO CORTOPASSI	Orientadora/Pesquisadora	179.464.048-75	Brasileira

Observações e ressalvas

1	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/ogen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0545410320191217

Página 1/3

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: RASSY, Fabrício Braga

Título: **Determinação da concentração expirada de isofluorano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

À minha amada esposa, Bruna Yolanda Bons, pelo amor, parceria, dedicação e incentivo, que se traduz no total apoio e ajuda que obtive durante esta fase e que foi abrilhantada com a chegada da nossa querida filha.

À minha linda filha, Mariah Bons Rassy, que nestes poucos meses já me ensina, a cada dia, quais são as coisas mais importantes da vida.

À Prof^a. Dr^a. Silvia Renata Gaido Cortopassi por ter aceitado esta jornada, confiando e me ajudando com toda sua experiência profissional e simpatia que tanto admiro e respeito. Muito Obrigado!

À minha mãe Ana Lúcia Braga Rassy, pelo eterno apoio em minhas decisões e torcida.

Ao meu irmão Fábio Braga Rassy por sempre me lembrar que eu deveria ter estudado. Kkk.

Ao Dr. Paulo Magalhães Bressan e ao Dr. João Batista da Cruz, por acreditarem e possibilitarem a realização deste trabalho.

À Fundação Parque Zoológico de São Paulo, em nome de todos seus trabalhadores, que se dedicam a esta instituição de forma incondicional. Todos foram muito importantes para a execução deste trabalho, sem exceção. Muito obrigado!

Aos meus colegas Mario Ferraro, Andressa Kotleski, Luciano Cacciari e Paula Finkensieper que me ajudaram demais durante a execução deste projeto.

A todos da Divisão de Veterinária (DV) que me ajudaram dividindo as responsabilidades em alguns momentos durante esta fase e que tornam viável o atendimento da grande rotina que temos diariamente. Obrigado!

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ-USP) pela oportunidade de engrandecimento profissional.

RESUMO

RASSY, F. B. **Determinação da concentração expirada de isofluorano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)**. 2020. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

As técnicas anestésicas têm papel importante na clínica de primatas devido à sua agilidade e/ou temperamento agressivo, necessitando rotineiramente de sedação ou anestesia para serem submetidos a procedimentos clínicos ou experimentais. São escassos os estudos com anestesia em primatas neotropicais e raras as citações envolvendo micos-leões, espécies listadas como ameaçadas de extinção e com programas de conservação tanto *in situ* quanto *ex situ*. O objetivo deste estudo foi determinar a concentração expirada de isofluorano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) e os efeitos do agente inalatório sobre os parâmetros fisiológicos estudados. Foram utilizados 17 animais, sendo que sete em um estudo piloto e 10 no protocolo experimental, machos ou fêmeas, adultos, com peso entre 545 e 762 gramas, clinicamente hígidos, mantidos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. A concentração expirada média de isofluorano foi determinada pelo método *up-and-down*, no qual os animais foram mantidos numa concentração expirada de isofluorano desejada para cada animal, durante 15 minutos, a fim de garantir o equilíbrio anestésico, e foram avaliadas a frequência e ritmo cardíacos, a frequência respiratória, a temperatura corpórea, a pressão arterial sistólica, a saturação da oxi-hemoglobina periférica e a concentração inspirada e expirada de dióxido de carbono nos momentos M5 (5 min) M10 (10 min) e M15 (15 min), sendo o M15 o momento que antecede o estímulo nociceptivo supramáximo. Em razão das respostas aos estímulos, os animais foram reagrupados em grupo positivo, formado pelos animais que apresentaram resposta positiva, e o grupo negativo por aqueles que apresentaram resposta negativa. Os dados paramétricos foram avaliados pelo teste *T de Student* e o teste de Análise de Variância (ANOVA) e os dados não paramétricos, pelo teste de *Wilcoxon* e teste de Friedman para comparação entre os momentos e grupos. Não foram encontradas diferenças significativas para nenhum parâmetro avaliado entre os momentos e grupos avaliados. Concluiu-se que a concentração

expirada média de isoflurano em micos-leões-de-cara-dourada encontrada neste estudo foi de 1,25 V% e em relação aos parâmetros fisiológicos, o isoflurano desencadeou redução da frequência respiratória, diminuição da temperatura corporal e hipotensão arterial.

Palavras-chave: Anestesia Inalatória. Primatas. Calitriquídeos. Primatas Neotropicais. Animais Silvestres.

ABSTRACT

RASSY, F. B. **Determination of end-tidal concentration for isoflurane in response to supramaximal nociceptive stimulus in golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*)**. 2020. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Anesthetic techniques have an important role in primate clinic due to their agility and/or aggressive temperament, requiring routine sedation or anesthesia to undergo clinical or experimental procedures. Studies with anesthesia in neotropical primates are scarce and citations involving lion tamarins are rare, species that are listed as endangered and with conservation programs both in situ and ex situ. The aim of this study was to determine the end-tidal concentration of isoflurane against supramaximal nociceptive stimulus in golden-faced lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and the effects of the inhalation agent on the studied physiological parameters. 17 animals participated in this study, seven in a pilot study and 10 in the experimental protocol, males or females, adults, weighing between 545 and 762 grams, clinically healthy, kept at the Fundação Parque Zoológico de São Paulo. The mean end-tidal concentration of isoflurane was determined by the *up-and-down* method, in which the animals were kept in a desired end-tidal concentration of isoflurane for each animal, for 15 minutes, to ensure anesthetic balance, and the frequency and cardiac rhythm, respiratory rate, body temperature, systolic blood pressure, peripheral oxyhemoglobin saturation, inspired and end-tidal carbon dioxide concentration at M5 (5 min), M10 (10 min) and M15 (15 min)), M15 being the moment before the supramaximal nociceptive stimulus. Due to the responses to the stimuli, the animals were regrouped in a positive group, formed by the animals that presented a positive response, and the negative group by those that presented a negative response. Parametric data were evaluated by Student's T test and the Analysis of Variance test (ANOVA) and nonparametric data by Wilcoxon test and Friedman test for comparison between moments and groups. No significant differences were found for any parameter evaluated between the moments and groups evaluated. It was concluded that the mean end-tidal concentration of isoflurane in golden-headed lion tamarins found in this study was 1.25 V% and in relation to physiological parameters, isoflurane triggered a reduction in respiratory rate, decreased body temperature and arterial hypotension.

Keywords: Inhalation anesthesia. Primates. Callitrichids. Neotropical primates. Wild animals.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	graus Celsius
BPM	batimentos por minuto
EtCO ₂	concentração expirada de dióxido de carbono
Et _{iso}	concentração expirada de isofluorano
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
FiCO ₂	concentração inspirada de dióxido de carbono
g	gramas
kg	quilograma
mg	miligrama
min	minutos
mL	mililitro
MRPM	movimentos respiratórios por minuto
PAS	pressão arterial sistólica
s	segundos
SpO ₂	saturação da oxi-hemoglobina periférica
V%	volume por cento

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) sob monitoramento anestésico durante primeira fase do estudo piloto	28
Figura 2 – Realização de estímulo supramáximo por pinçamento cutâneo em região proximal de cauda, no estudo piloto, em mico-leão-da-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>)	29
Figura 3 – Indução da anestesia com a utilização de máscara facial em mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>)	30
Figura 4 – Material utilizado na intubação traqueal: (A) laringoscópio adaptado utilizado. (B) Intubação orotraqueal em mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) utilizando laringoscópio adaptado	31
Figura 5 – Traqueotubo adaptado a partir de uma sonda uretral calibre 6 FR e guia metálico. Adaptação em terço médio para vedação na laringe (seta).....	32
Figura 6 - Mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) sob ventilação controlada durante anestesia	33
Figura 7 – (A) Detalhe da conexão do capnógrafo ao traqueotubo adaptado por meio de uma agulha hipodérmica. (B) Mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) intubado com sonda uretral adaptada e capnógrafo conectado à sonda por meio de uma agulha hipodérmica	35
Figura 8 - Agulhas hipodérmicas (26G) inseridas no tecido subcutâneo do terço médio da porção lateral da tíbia (SETA) de mico-leão-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) e conectadas aos eletrodos para condução do estímulo elétrico.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos dos micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) utilizados no estudo piloto.....	38
Tabela 2 - Dados demográficos dos micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) utilizados no estudo experimental.....	39
Tabela 3 – Valores médios e respectivos desvios-padrão da frequência cardíaca (batimentos por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	40
Tabela 4 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	41
Tabela 5 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da temperatura corpórea (°C – graus Celsius) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	42
Tabela 6 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da pressão arterial sistólica (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	43
Tabela 7 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da saturação da oxihemoglobina periférica (%) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	44
Tabela 8 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração inspirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	45
Tabela 9 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração expirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	46
Tabela 10 - Valores médios, desvios-padrões (DP), mínimos e máximos dos períodos de relaxamento (segundos), latência (segundos), recuperação parcial (minuto) e recuperação total (minuto).....	50

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da frequência cardíaca (batimentos por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	40
Gráfico 2 – Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	41
Gráfico 3 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da temperatura corpórea (°C) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>)	42
Gráfico 4 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da pressão arterial sistólica (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>)....	43
Gráfico 5- Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da saturação da oxihemoglobina periférica (%) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	44
Gráfico 6 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da concentração inspirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	45
Gráfico 7 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da concentração expirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	46
Gráfico 8 - Representação gráfica das concentrações expiradas de isoflurano, evidenciando os quatro <i>crossovers</i> (destaque vermelho) e da concentração expirada média obtida por média aritmética (traço) em micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	47

Gráfico 9 - Representação gráfica da concentração expirada média de isoflurano, determinada por regressão logística, em micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	48
Gráfico 10 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil do período de relaxamento e do período de latência da anestesia com isoflurano em micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	49
Gráfico 11 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil do período de recuperação parcial e do período de recuperação total da anestesia com isoflurano em micos-leões-de-cara-dourada (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>).....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA (<i>Leontopithecus chrysomelas</i>) ...	20
2.2	ANESTESIA EM PRIMATAS	21
2.3	ANESTESIA INALATÓRIA.....	22
2.3.1	Método <i>bracketing</i>	24
2.3.2	Método <i>up-and-down</i>	24
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	OBJETIVO GERAL	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4	MATERIAL E MÉTODO.....	27
4.1	ESTUDO PILOTO	27
4.1.1	Primeira Fase	27
4.1.2	Segunda Fase	29
4.2	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	30
4.2.1	Frequência cardíaca.....	33
4.2.2	Frequência respiratória.....	34
4.2.3	Temperatura corpórea	34
4.2.4	Pressão arterial sistólica.....	34
4.2.5	Saturação da oxi-hemoglobina periférica	34
4.2.6	Concentração inspirada e expirada de dióxido de carbono	34
4.2.7	Concentração expirada média de isoflurano	34
4.2.8	Períodos da Anestesia.....	37
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5	RESULTADOS	38
5.1	Estudo piloto	38

5.2	ESTUDO EXPERIMENTAL.....	38
5.2.1	Parâmetros fisiológicos.....	39
5.2.1.1	Frequência cardíaca	40
5.2.1.2	Frequência respiratória	41
5.2.1.3	Temperatura corpórea	42
5.2.1.4	Pressão arterial sistólica	43
5.2.1.5	Saturação da oxi-hemoglobina periférica.....	44
5.2.1.6	Concentração inspirada e expirada de dióxido de carbono ...	45
5.2.2	Concentração expirada média de isoflurano	47
5.2.3	Períodos anestésicos	48
6	DISCUSSÃO.....	51
7	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	ANEXOS	69

1 INTRODUÇÃO

A captura e contenção química de animais selvagens geralmente são conduzidas sob circunstâncias difíceis envolvendo a necessidade de técnicas e equipamentos adequados, além desse manejo provocar estresse dos indivíduos contidos. O acesso e melhoria de tais procedimentos são partes importantes na conservação e no manejo de animais, tanto em vida livre quanto em cativeiro (KARESH; COOK, 1995; FAHLMAN, 2005).

A ordem dos primatas é um grande e diversificado grupo de mamíferos composto por 233 espécies, com portes variando de 120g do sagui-pigmeu (*Cebuella pygmaea*) aos gorilas de 180kg (*Gorilla gorilla*). A maioria dos primatas é arborícola e vive em florestas tropicais. A principal ameaça aos indivíduos de vida livre é a destruição do habitat de forma generalizada. As populações de primatas também estão em declínio devido ao comércio inapropriado, à caça ilegal de animais para alimentação e sua perseguição como pragas agrícolas (DAVIES, 1986).

Na rotina de manejo destas espécies, a utilização de anestesia injetável pode apresentar riscos, principalmente por causar, com algumas associações de fármacos, bradicardia e hipotensão conforme preocupação citada em estudo com mico-leão-de-cara-dourada (SELMÍ et al., 2004). Além disso, a indução e a recuperação rápidas podem minimizar o estresse e o risco de lesões aos animais (FAHLMAN, 2005), sendo estas características encontradas com o uso dos anestésicos inalatórios (EGER, 2001).

A anestesia de pequenas primatas é pouco descrita e, portanto, na maioria das vezes, é realizada de forma empírica, com protocolos extrapolados de outras espécies de portes variados. Em relação às espécies de micos-leões, há um incremento nos projetos de conservação, sendo necessária também a evolução nos protocolos anestésicos utilizados a fim de obter maior segurança no manejo com menor tempo de indução e recuperação e redução de efeitos indesejáveis, sendo importante o conhecimento prático e específico dos efeitos farmacológicos, doses e concentrações seguras.

Apesar de alguns autores citarem a utilização de anestésicos inalatórios em primatas neotropicais, não existe relato de detalhamento tanto de parâmetros fisiológicos, concentrações padronizadas utilizadas ou dos efeitos observados nos pequenos primatas do novo mundo pertencentes ao grupo dos calitriquídeos.

Assim, a descrição de dosagens e dos efeitos de alguns protocolos anestésicos para a espécie deste estudo pode ser encarada como um passo fundamental para os estudos de conservação, que incluem atividades a campo. Além disso, a similaridade anatômica e fisiológica com as outras espécies do gênero trazem a possibilidade destes resultados serem extrapolados para as demais do mesmo grupo filogenético que se encontram em situação de *status* mais críticos de conservação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA (*Leontopithecus chrysomelas*)

Os micos-leões, gênero *Leontopithecus*, são os maiores *Callitrichidae*, com os adultos podendo atingir mais de 650g. Quatro espécies de distribuição alopátrica são reconhecidas, todas endêmicas da Mata Atlântica: mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) que ocorre no sul da Bahia e extremo norte de Minas Gerais; mico-leão-dourado (*L. rosalia*) encontrado na região costeira do Rio de Janeiro; mico-leão-preto (*L. chrysopygus*) que ocorre no oeste de São Paulo; e mico-leão-da-cara-preta (*L. caissara*) com distribuição no litoral norte do Paraná e litoral sul de São Paulo, sendo a destruição da Mata Atlântica a principal ameaça (RYLANDS; KIERULFF; PINTO, 2002). Todas as quatro espécies de *Leontopithecus* estão incluídas em listas brasileiras e internacionais de espécies ameaçadas (MMA, 2014; KIERULFF et al., 2008). Elas já tiveram seus cariótipos descritos e a análise citogenética realizada por Seuánez, Forman e Alvez (1988) em três espécies (*L. rosalia*, *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus*) encontrou os três cariótipos iguais, o que os levou a sugerir uma classificação de subespécies para os três taxa estudados. A espécie *L. caissara* foi analisada posteriormente, mas apresentou um cariótipo igual ao das demais.

Estes primatas são distinguidos dos outros macacos do Novo Mundo por seu tamanho pequeno, pelas garras modificadas (em vez de unhas em todos os dígitos, exceto o dedo grande do pé), pela presença de dois em vez de três molares em cada lado do maxilar e pela ocorrência de nascimento de gêmeos. Comem frutas, flores, néctar, exsudatos de plantas (gomos) e presas animais (incluindo rãs, caracóis, lagartos, aranhas e insetos) (KIERULFF et al., 2008).

A espécie *Leontopithecus chrysomelas* está listada como “Em perigo” pela IUCN *Red List of Threatened Species*, devido principalmente a redução intensa de população e pela taxa elevada de desmatamento florestal e fragmentação da população remanescente (KIERULFF et al., 2008).

2.2 ANESTESIA EM PRIMATAS

As técnicas anestésicas têm papel importante na Medicina Veterinária de primatas, pois, rotineiramente, os primatas não humanos precisam de sedação ou mesmo anestesia para serem submetidos a procedimentos clínicos ou experimentais, devido à sua agilidade e/ou temperamento agressivo (VASCONCELLOS et al., 2000). Os anestésicos podem ser usados simplesmente para contenção química em primatas não humanos, a fim de minimizar o risco para os operadores e o estresse ou possível lesão aos animais (FORTMAN; HEWETT; HALLIDAY, 2018).

A maioria dos relatos existentes em anestesia com primatas foi realizado com os do Velho Mundo (infraordem: *Catharrini*), principalmente dos gêneros *Macaca* e *Papio* (SAINSBURY; EATON; COOPER, 1989). Em chimpanzés (*Pan troglodytes*) já foram relatadas as utilizações das associações de detomidina e cetamina (MELIS et al., 2012), medetomidina e cetamina (LEWIS, 2008), medetomidina, cetamina, isoflurano, com e sem midazolam e pré-medicados com zuclopentixol (ADAMI et al., 2013).

Os estudos com primatas neotropicais ainda são escassos e raros são os que detalham aspectos de doses/concentrações e efeitos relacionados aos micos-leões. Recentemente foi relatada a comparação de três protocolos de contenção química com associações parenterais de cetamina S(+) com midazolam ou dexmedetomidina e cetamina racêmica com dexmedetomidina em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) (FERRARO et al., 2018). Também nesta espécie, Selmi et al. (2004) publicaram um estudo avaliando doses distintas da associação entre cetamina e dexmedetomidina.

Para outras espécies de calitriquídeos, como o sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*), foi relatada a comparação de três protocolos envolvendo cetamina isolada, e as associações de cetamina, medetomidina e cetamina, medetomidina e alfaxalone (BAKKER et al., 2013) e em outro estudo foi relatada a efetividade da associação de midazolam, butorfanol, cetamina e sevoflurano quando comparada à associação cetamina e sevoflurano (ISHIBASHI, 2016)

Ressalta-se também a realização de pesquisas e trabalhos com conservação das espécies que necessitam, em algumas situações, fazer a contenção química ou anestesia dos animais e para isso a informação de protocolos seguros poderia evitar riscos desnecessários.

Segundo o Guia de manejo para calitriquídeos (RUIVO, 2010), a anestesia prolongada em calitriquídeos pode ser obtida com anestésicos inalatórios, após a indução com um agente anestésico pela via intramuscular; entretanto, a anestesia inalatória pode ser também realizada com uma máscara facial ou com auxílio de uma caixa de indução, métodos que promovem recuperação de boa qualidade.

A utilização de anestésicos inalatórios, como isofluorano, também é citada em alguns relatos de casos em primatas neotropicais, como em macaco-prego (*Sapajus nigritus*) onde se utilizou a concentração de 1 V% para manutenção anestésica após a associação de dexmedetomidina, cetamina e propofol (DISARZ et al., 2019) e indicações em capítulos de livros e bulários sem as devidas citações bibliográficas. Para o mico-leão-da-cara-dourada (*L. chrysomelas*), há a indicação do emprego de isofluorano via máscara facial para a realização de manobra obstétrica em distocia e retenção de placenta (BRONSON et al., 2005).

O isofluorano também foi utilizado como fármaco exclusivo para a contenção química em mico-leão-preto (*L. chrysopygus*) sendo citada a utilização desse anestésico para a colheita de amostras com uma concentração de 2 a 5 V% tanto em animais mantidos em cativeiro quanto animais em vida livre (AYALA-BURBANO et al., 2017) e também em um grupo de saguis híbridos (*Callithrix* sp.) na concentração de 4 V% para indução e 2 V% para manutenção objetivando a biometria e marcação individual com duração aproximada de 5 minutos para estas ações (BRAZ et al., 2019).

2.3 ANESTESIA INALATÓRIA

O isofluorano é um anestésico inalatório amplamente empregado em medicina veterinária devido ao seu baixo coeficiente de solubilidade sangue/gás, o que permite alterações rápidas no plano anestésico e um período de recuperação anestésica relativamente curto (EGER, 2001). No sistema nervoso central, o isofluorano atua predominantemente nos receptores GABA_A (agonista) e, em menor grau, nos receptores NMDA (antagonista), o que pode explicar sua ação anestésica, embora o mecanismo preciso de ação não seja totalmente compreendido. Sistemáticamente, o isofluorano causa vasodilatação direta por meio da inibição da mobilização de cálcio e da sensibilidade ao cálcio no miofilamento do músculo liso vascular (AKATA et al., 2003; AKATA, 2007).

É um agente muito utilizado em primatas não humanos (COOK; CLARKE, 1985), sendo considerado o anestésico de eleição para a maioria das aplicações. Uma vantagem do isofluorano sobre o anestésico halotano é que ele é minimamente biotransformado devido à sua estabilidade química e baixa solubilidade, e consequentemente exalado essencialmente inalterado. Esta característica faz com que o isofluorano seja um agente particularmente seguro em casos de deficiências hepáticas ou renais, ou se o objetivo do estudo é comprometido por um agente que tem metabólitos potencialmente nocivos (POPILSKIS; LEE; ELMORE, 2008, 2008).

O conhecimento de concentrações específicas é de grande importância para se reduzir possíveis efeitos depressores do sistema nervoso e cardiorrespiratório (STEFFEY; MAMA, 2013).

A concentração alveolar mínima (CAM) é um método de avaliação de potência dos anestésicos inalatórios, sendo definida como a concentração alveolar mínima de um anestésico em 1 atmosfera que produz imobilidade em 50% dos indivíduos expostos a um estímulo nociceptivo supramáximo (STEFFEY; MAMA; BROSNAN, 2015). Assim, a CAM corresponde à Dose Efetiva 50 ou DE_{50} , onde a metade dos indivíduos é anestesiada e para a outra metade esta dose não seria efetiva. Desta forma, esta definição traria para o anestesista a referência de dose anestésica mais baixa para manter os pacientes inconscientes. A dose que corresponde ao DE_{95} (a qual 95% dos indivíduos são anestesiados) pode ser de 5% a 40% maior que a CAM em homens (DE JONG; EGER, 1975) e concentrações de 2,0 CAM representam plano profundo de anestesia e, em alguns casos, até mesmo uma sobredose de anestésico (STEFFEY; MAMA; BROSNAN, 2015).

Brunson (2008) afirma que a CAM (DE_{50}) é importante por três razões. Primeiro, é uma medida da eficácia dos anestésicos inalatórios no contexto do uso clínico. Esses fatores são os pontos finais usados para determinar a CAM. Segundo aspecto, a CAM pode ser aplicada a todos os anestésicos inalatórios e é importante porque permite comparações diretas para vários animais ou episódios anestésicos sequenciais, garantindo que sejam realizados na mesma profundidade da anestesia. A capacidade de medir as concentrações anestésicas expiradas, a cada respiração, garante que cada animal tenha aproximadamente a mesma magnitude de comprometimento anestésico. Terceiro, a CAM é importante porque o monitoramento contínuo das concentrações alveolares ajuda a manter o animal em uma profundidade anestésica conhecida e estável.

A determinação da CAM (ou DE₅₀) pode ser realizada por dois métodos: *método bracketing* e *método up-and-down*. Ambos já estão bem difundidos e neste estudo serviram de fundamento para a estruturação da metodologia. A seguir serão descritos os dois métodos.

2.3.1 Método *bracketing*

Com o método *bracketing* determina-se a CAM para cada indivíduo (SONNER, 2002). Os animais devem ser anestesiados, com auxílio de uma máscara ou câmara, apenas com o anestésico inalatório pois outros sedativos e anestésicos injetáveis podem afetar a concentração necessária do agente inalatório para causar imobilidade. A concentração do anestésico é medida e mantida constante por pelo menos 15 minutos para garantir o equilíbrio entre o gás alveolar, o sangue arterial e o sistema nervoso central. As medições feitas no final da expiração (concentração expirada) fornecem a estimativa mais precisa da concentração anestésica no sangue que é exteriorizada pelos pulmões. Um estímulo nocivo é então aplicado e o animal é monitorado quanto aos movimentos intencionais brutais ou a ausência de movimento. Durante as determinações da CAM, alongamento, aumento da ventilação ou movimento espontâneo, não são considerados como um indicador de movimento. Classicamente, uma pinça hemostática grande pressionando a região de cauda ou dígitos do animal (geralmente por 1 minuto) ou a passagem de uma corrente elétrica através do tecido subcutâneo podem ser utilizados como estímulo nocivo. Se nenhuma resposta for observada, a concentração alveolar é reduzida em 20% da configuração anterior e, após um intervalo de 15 minutos para o equilíbrio, o estímulo é repetido. O procedimento de abaixamento é continuado até que seja observado um movimento intencional em resposta ao estímulo nocivo. A concentração alveolar é então aumentada em 10% até que o animal deixe de responder ao estímulo nocivo. A CAM (DE₅₀) é a concentração média entre as concentrações onde o animal responde ou não (QUASHA et al., 1980; BRUNSON, 2008).

2.3.2 Método *up-and-down*

No método *up-and-down*, cada indivíduo é exposto a uma concentração anestésica por no mínimo 15 minutos para garantir o equilíbrio entre o gás alveolar, o

sangue arterial e o sistema nervoso central. Um estímulo nociceptivo é aplicado e é observado movimento (resposta positiva) ou falta de movimento (resposta negativa). Após este resultado, interrompe-se a anestesia com consequente recuperação do animal e este só é anestesiado uma única vez. O animal seguinte é exposto a uma concentração maior ou menor dependendo se a resposta do anterior foi positiva ou negativa, respectivamente. A mudança no padrão de resposta é considerada um *crossover* e o experimento é encerrado com a definição de quatro (ou mais) *crossovers*. A CAM (DE50) é obtida pela média de todos os *crossovers*. Esta abordagem é vantajosa porque permite uma redução no número de indivíduos estudados e do tempo de anestesia individual quando comparado ao método bracketing (DIXON, 1965; PAUL; FISHER, 2001; SONNER, 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a concentração expirada de isofluorano frente a estímulo nociceptivo supramáximo em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a concentração expirada de isofluorano em mico-leão-da-cara-dourada capaz de manter resposta negativa ao estímulo nociceptivo em 50% da população, seguindo o método *up-and-down*.

Avaliar os efeitos do isofluorano na espécie alvo considerando o monitoramento de parâmetros fisiológicos.

4 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi autorizado pelo SISBIO-IBAMA sob o nº 54541-1 em 22 de junho de 2016, e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ).

Para a execução do estudo foram utilizados 17 micos-leões-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*), sendo sete no estudo piloto, que foi dividido em duas fases, e 10 animais no protocolo experimental. Foram empregados machos e fêmeas, adultos, com peso entre 545 e 762 gramas, clinicamente hígidos, mantidos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Todos os animais eram mantidos em grupos familiares em recintos que cumprem as recomendações pela IN 07/2015 IBAMA. Eram alimentados com dieta diversificada, contendo frutas, verduras, insetos e ração própria para primatas com nível proteico de 25% e mantidos com acesso a água *ad libitum*.

4.1 ESTUDO PILOTO

O estudo piloto foi desenvolvido em duas fases: a primeira relacionada ao treinamento da instrumentação e a segunda, ao ajuste da metodologia.

4.1.1 Primeira Fase

Na primeira fase foram realizados procedimentos iniciais em quatro animais para ajustes de instrumentação.

Os animais passaram por contenção física utilizando uma toalha e a indução da anestesia foi realizada com auxílio de máscara facial; a intubação orotraqueal foi feita com o emprego de sonda uretral adaptada. Na indução da anestesia, utilizou-se isoflurano¹ a 1,5 V% em um fluxo de 1,5L de O₂. Para a administração dos gases, empregou-se o sistema Mapleson A para pequenos animais acoplado a aparelho de anestesia convencional². A anestesia foi monitorada com equipamento multiparamétrico³ (Figura 1). Nesta fase, a manutenção da concentração expirada de

¹ Forane®, Abbott, São Paulo, São Paulo, Brasil.

² Conquest, HB Hospitalar, Mogi Mirim, SP, Brasil

³ Digicare - LifeWindow™ Lite, USA

isoflurano foi obtida com auxílio do método *bracketing* e a estimulação nociceptiva supramáxima foi realizada por meio de pinçamento da pele da base da cauda com uma pinça hemostática com as pontas emborrachadas (Figura 2).

Figura 1 - Mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) sob monitoramento anestésico durante primeira fase do estudo piloto

Fonte: Rassy (2019)

Figura 2 – Realização de estímulo supramáximo por pinçamento cutâneo em região proximal de cauda, no estudo piloto, em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

Os animais foram mantidos em respiração espontânea sendo que, em alguns momentos, foram submetidos à ventilação assistida com uma média de 7 a 10 movimentos por minuto, objetivando manter a normocapnia.

4.1.2 Segunda Fase

Nesta fase, foram utilizados outros três animais visando a padronização completa de toda a sequência de pontos descritos no protocolo experimental e a definição da concentração expirada inicial de isoflurano para a sequência do experimento.

A metodologia estipulada para a definição concentração expirada média de isoflurano individual ainda era obtida pelo método *bracketing*.

4.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Previamente a etapa experimental, os animais foram submetidos à privação alimentar de 12 horas e hídrica de 2 horas.

Os animais foram contidos fisicamente e imediatamente foi realizada a indução da anestesia com a utilização de máscara facial (Figura 3) com 1,5 V% de isofluorano¹ diluído em 1L/min de oxigênio a 100% até a perda total dos reflexos protetores (reflexos posturais, de retirada e palpebral). Em seguida, foi realizada a tricotomia e antisepsia da área da veia lateral da cauda com álcool etílico 70°⁴ e cateterização da mesma utilizando cateter 24G⁵ e manteve-se uma infusão de solução de Ringer com lactato⁶ na taxa de 5 ml/kg/h.

Figura 3 – Indução da anestesia com a utilização de máscara facial em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

Em seguida, foi realizada a intubação orotraqueal, utilizando como laringoscópio adaptado um limpador de cera de ouvido com transiluminação⁷ (Figura 4) para visualização da laringe, com o animal posicionado em decúbito dorsal e uma sonda uretral calibre 06 FR⁸ adaptada. A sonda foi seccionada cerca de 4 cm próximo à extremidade de encaixe e os bordos da região do corte foram arredondados por

⁴ Álcool Etílico 70° INPM Itajá, Jalles Machado S/A, Goianésia, Goiás, Brasil

⁵ Cateter IV 24G, Nipro Medical Ltda., Sorocaba, São Paulo, Brasil.

⁶ Fresenius Kabi, Barueri, São Paulo, Brasil.

⁷ Xinyan, Flashlight earpick, xy3188, China.

⁸ Mark Med, Bragança Paulista, São Paulo, Brasil.

passagem em uma chama e foi realizada uma adaptação em região média também com a utilização de chama e compressão das extremidades visando a vedação da laringe (Figura 5). Com o intuito de reduzir o risco de laringoespasma e facilitar a intubação, foi realizada dessensibilização da laringe por meio da aplicação tópica de lidocaína *spray* 10%⁹ embebida em um suabe plástico e aplicação desta solução na porção distal do tubo traqueal.

Figura 4 – Material utilizado na intubação traqueal: (A) laringoscópio adaptado utilizado. (B) Intubação orotraqueal em mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) utilizando laringoscópio adaptado

Fonte: Rassy (2019)

⁹ Lidocaína, Hipolabor Farmacêutica Ltda., Borges Sabará, Minas Gerais, Brasil.

Figura 5 – Traqueotubo adaptado a partir de uma sonda uretral calibre 6 FR e guia metálico. Adaptação em terço médio para vedação na laringe (seta)

Fonte: Rassy (2019)

A sonda foi conectada a um sistema sem reinalação de gases convencional para pequenos animais – Mapleson A com isoflurano diluído em 100% de oxigênio. Inicialmente, o *dial* do vaporizador e o fluxo de gás fresco foram ajustados em 1,5 V% e 1,5L/min, respectivamente. Os animais foram mantidos em ventilação assistida ou controlada¹⁰ no intuito de manter normocapnia (Figura 6). Os ajustes empregados na ventilação controlada foram, frequências entre 8 e 12 movimentos por minuto, relação I:E de 1:2 e pressão inspiratória entre 8 e 14 mmH₂O. Posteriormente, os animais foram posicionados em decúbito lateral.

¹⁰ RZ equipamentos veterinários - VentPet Plus, São Paulo, SP, Brasil.

Figura 6 - Mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) sob ventilação controlada durante anestesia

Fonte: Rassy (2019)

Para manutenção da normotermia (36 a 38 °C) foi utilizado aquecedor elétrico digital direcional¹¹ e bolsas aquecidas.

Durante os 15 minutos, a fim de garantir o equilíbrio anestésico na concentração expirada de isoflurano desejada para cada animal, foram avaliadas a frequência e ritmo cardíacos, a frequência respiratória, a temperatura corpórea, a pressão arterial sistólica, a saturação da oxi-hemoglobina periférica, a concentração inspirada e expirada de dióxido de carbono e a concentração expirada de isoflurano nos momentos M5 (5 min) M10 (10 min) e M15 (15 min), sendo o M15 o momento que antecede o estímulo nociceptivo supramáximo.

4.2.1 Frequência cardíaca

Os valores de frequência cardíaca (FC - batimentos por minuto) foram obtidos por meio do traçado eletrocardiográfico em derivação II de Eithoven, do monitor multiparamétrico³.

¹¹ DeLongui - DCH2590ER –, São Paulo, SP, Brasil.

4.2.2 Frequência respiratória

Os valores de frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto - MRPM) foram obtidos pela visualização dos movimentos torácicos.

4.2.3 Temperatura corpórea

A temperatura corpórea (°C) foi mensurada, em graus centígrados, por um sensor do monitor multiparamétrico³, posicionado na ampola retal do animal.

4.2.4 Pressão arterial sistólica

Os valores de pressão arterial sistólica (PAS), em mmHg, foram obtidos por método não invasivo com auxílio de *doppler* vascular¹² e um manguito neonatal com largura de 40 a 50% do diâmetro do membro torácico, posicionado em região distal de úmero.

4.2.5 Saturação da oxi-hemoglobina periférica

A saturação da oxi-hemoglobina periférica (SpO₂) foi obtida com auxílio do oxímetro de pulso do monitor multiparamétrico³, tendo o sensor tipo “Y” posicionado em região metatársica esquerda que apresenta menor densidade de pelos e ausência de pigmentação.

4.2.6 Concentração inspirada e expirada de dióxido de carbono

Para determinação da concentração inspirada e expirada do dióxido de carbono (respectivamente FiCO₂ e EtCO₂) foi utilizado um analisador de gases anestésicos vinculado a um monitor multiparamétrico¹³.

4.2.7 Concentração expirada média de isofluorano

¹² Parks Medical Eletronics - Model 812, Oregon, USA.

¹³ RZ equipamentos veterinários - RM1000 VET, São Paulo, SP, Brasil.

Para a leitura da concentração expirada de isoflurano (Et_{iso}) empregou-se um analisador de gases anestésicos vinculado a um monitor multiparamétrico¹³ que foi conectado ao sistema anestésico por meio de uma agulha hipodérmica 20 x 5,5 mm acoplada ao lúmen do traqueotubo (Figura 7).

Figura 7 – (A) Detalhe da conexão do capnógrafo ao traqueotubo adaptado por meio de uma agulha hipodérmica. (B) Mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) intubado com sonda uretral adaptada e capnógrafo conectado à sonda por meio de uma agulha hipodérmica

Fonte: Rassy (2019)

Após os ajustes metodológicos descritos no estudo piloto, a concentração expirada média de isoflurano foi determinada pelo método *up-and-down*, que é um modelo de delineamento caracterizado pela única exposição de cada indivíduo a uma concentração expirada de isoflurano específica e constante, durante 15 minutos, seguido por uma sucessão de estímulos elétricos conduzidos por duas agulhas (26G) inseridas no tecido subcutâneo do terço médio da porção lateral da tíbia (Figura 8). A estimulação nociceptiva supramáxima foi realizada por meio de estímulo elétrico originado por um estimulador de nervo periférico¹⁴ e a voltagem da corrente elétrica administrada foi de 15V, com frequência de estimulação de 50 Hz e duração de 6,5ms (LASTER et al., 1993). O protocolo consistia na aplicação de dois estímulos simples seguidos de dois estímulos contínuos aplicados por 2 a 3 segundos, com 5 segundos de intervalos entre os 4 estímulos (VALVERDE et al., 2003).

Foi considerada resposta positiva movimentos propositais grosseiros da cabeça, membros ou extremidades, deglutição ou tosse e resposta considerada

¹⁴ S48 stimulator – Grass - Warwick, Rhode Island, USA.

negativa na ausência destas respostas. Após uma resposta negativa, o próximo animal foi anestesiado e a concentração expirada reduzida em 0,1 V% e no caso de resposta positiva, aumentada em 0,1 V%. A concentração expirada de isoflurano inicial neste experimento foi de 1,3 V%.

Figura 8 - Agulhas hipodérmicas (26G) inseridas no tecido subcutâneo do terço médio da porção lateral da tíbia (SETA) de mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) e conectadas aos eletrodos para condução do estímulo elétrico

Fonte: Rassy (2019)

A concentração expirada média de isoflurano foi calculada a partir da média aritmética das concentrações obtidas em quatro *crossovers*, sendo estes definidos como alterações na resposta ao estímulo nociceptivo entre dois animais consecutivos, sendo uma resposta positiva seguida por uma resposta negativa no animal seguinte ou vice-versa. Cada animal só é considerado em apenas um único *crossover*.

Após determinada a resposta ao estímulo, foi interrompido o fornecimento do agente halogenado e continuado com oxigênio até a extubação do animal. Neste momento, foi realizada a administração de anti-inflamatório, meloxicam¹⁵ (0,2mg/kg, via intramuscular), como forma de garantir um conforto após a manipulação realizada.

¹⁵ Maxicam® 0,2% - Ourofino, São Paulo, SP, Brasil.

4.2.8 Períodos da Anestesia

Foram registrados os seguintes períodos ao longo do procedimento anestésico: período de relaxamento, período de latência e período de recuperação.

O período de relaxamento foi considerado o intervalo de tempo entre o início da indução até os primeiros sinais de relaxamento muscular.

O período de latência foi considerado o intervalo de tempo entre o início da indução da anestesia e a perda total dos reflexos protetores (reflexos posturais, de retirada e palpebral).

O período de recuperação foi avaliado em duas etapas:

-Recuperação parcial: período entre a interrupção do oferecimento do isoflurano e os primeiros movimentos.

-Recuperação total: período entre a interrupção do oferecimento do isoflurano e retorno à posição quadrupedal com deambulação.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados relacionados aos parâmetros analisados foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, e ao teste de *Bartlett* para verificar se os valores apresentavam variâncias iguais, e posteriormente decidir o teste estatístico adequado.

Para os dados referentes aos parâmetros que apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste *T de Student* para realizar as comparações entre os grupos, e o teste de Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, a fim de realizar as comparações entre os momentos.

Os dados referentes aos parâmetros que não seguiram as premissas, passaram pelo teste de *Wilcoxon* para realizar as comparações entre os grupos, e o teste de Friedman para comparação entre os momentos.

Foi realizada a média aritmética dos valores obtidos de concentração expirado de isoflurano dos animais que compuseram os quatro *crossovers*, e os mesmos foram submetidos à regressão logística, para a obtenção da concentração expirado de isoflurano necessária para gerar uma resposta ao estímulo elétrico.

Para os dados dos períodos anestésicos foi realizada uma análise descritiva.

Os testes estatísticos foram realizados em um programa de computador¹⁶.

¹⁶ R – A language and environment for statistical computing., Viena, Austria. 2011.

5 RESULTADOS

5.1 ESTUDO PILOTO

Durante os procedimentos com os sete animais (Tabela 1) nas duas fases do estudo piloto, foram evidenciadas algumas dificuldades referentes principalmente ao controle da temperatura corporal, ausência de equipamento de ventilação mecânica, que se mostrou necessário para manter a normocapnia em alguns animais, necessidade de ajustes para a intubação orotraqueal e viabilidade da colheita das amostras de sangue arterial para hemogasometria.

Tabela 1 - Dados demográficos dos micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) utilizados no estudo piloto

Animal	Sexo	Peso (g)
EP-1	Fêmea	690
EP-2	Fêmea	625
EP-3	Fêmea	615
EP-4	Macho	620
EP-5	Macho	655
EP-6	Macho	640
EP-7	Fêmea	695
Média ± DP		648,6 ± 32,9
Peso Mínimo		615
Peso Máximo		695

Fonte: Rassy (2019)

Os dados referentes às duas fases do estudo piloto encontram-se em pontos da discussão e detalhados por animal no item *Anexos*.

5.2 ESTUDO EXPERIMENTAL

Seguindo a metodologia proposta, foram necessários 10 animais para a obtenção de quatro *crossovers* de concentrações expiradas de isoflurano. Os dados demográficos individuais dos animais empregados no estudo encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 - Dados demográficos dos micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) utilizados no estudo experimental

Animal	Sexo	Peso (g)
1	Fêmea	589
2	Macho	692
3	Fêmea	762
4	Fêmea	545
5	Fêmea	630
6	Macho	685
7	Macho	610
8	Fêmea	650
9	Macho	725
10	Fêmea	585
Média ± DP		647 ± 68
Peso Mínimo		545
Peso Máximo		762

Fonte: Rassy (2019)

5.2.1 Parâmetros fisiológicos

Relacionado aos parâmetros analisados, foram analisados os dados considerando os três momentos que imediatamente antecederam o estímulo nociceptivo (M5, M10 e M15) e também foi realizado um reagrupamento considerando as respostas aos estímulos nociceptivos apresentadas por cada animal, sendo o grupo positivo formado pelos animais que apresentaram resposta positiva e o grupo negativo por aqueles que apresentaram resposta negativa ao estímulo.

5.2.1.1 Frequência cardíaca

Os dados referentes à frequência cardíaca apresentaram distribuição normal e não foram encontradas diferenças significativas entre os momentos e grupos avaliados (Tabela 3 e Gráfico 1).

Tabela 3 – Valores médios e respectivos desvios-padrão da frequência cardíaca (batimentos por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	211 ± 56	215 ± 49	227 ± 50	0,89
Negativo	207 ± 53	210 ± 61	214 ± 60	0,749
Valor de p	0,9104	0,8993	0,7227	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 1 – Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da frequência cardíaca (batimentos por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.1.2 Frequência respiratória

Os dados referentes à frequência respiratória apresentaram distribuição normal e não foram encontradas diferenças significativas entre os momentos (M5, M10 e M15) e grupos avaliados (resposta positiva ou negativa ao estímulo nociceptivo) (Tabela 4 e Gráfico 2).

Tabela 4 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	14 ± 7	14 ± 5	14 ± 6	0,853
Negativo	9 ± 2	10 ± 2	9 ± 2	1
Valor de p	0,1964	0,1175	0,1503	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 2 – Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.1.3 Temperatura corpórea

Os dados referentes à temperatura retal apresentaram distribuição normal e não houve diferença significativa entre os momentos (M5, M10 e M15) e grupos avaliados (resposta positiva ou negativa ao estímulo nociceptivo) (Tabela 5 e Gráfico 3).

Tabela 5 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da temperatura corpórea (°C – graus Celsius) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	36,96 ± 1,06	36,92 ± 1,1	37 ± 1,12	0,936
Negativo	36,84 ± 0,69	36,88 ± 0,49	36,96 ± 0,49	0,462
Valor de p	0,838	0,9436	0,9443	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 3 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da temperatura corpórea (°C) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.1.4 Pressão arterial sistólica

Os dados referentes à pressão arterial sistólica não apresentaram distribuição normal e embora não tenham sido evidenciadas diferenças significativas entre os momentos e grupos avaliados, pode-se notar uma tendência à diminuição da pressão arterial entre os grupos e também progressivamente aos momentos, onde os animais que responderam de forma negativa ao estímulo supramáximo apresentaram os valores de PAS menores comparado aos animais que tiveram resposta positiva (Tabela 6 e Gráfico 4).

Tabela 6 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da pressão arterial sistólica (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	104 ± 21,3	101 ± 19	89 ± 4	0,5769
Negativo	82 ± 11	76 ± 15	75 ± 19	0,45
Valor de p	0,05394*	0,05456	0,2316	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 4 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da pressão arterial sistólica (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.1.5 Saturação da oxi-hemoglobina periférica

Os dados referentes à saturação da oxi-hemoglobina periférica não apresentaram distribuição normal e não houve diferença significativa entre os momentos (M5, M10 e M15) e grupos avaliados (resposta positiva ou negativa ao estímulo nociceptivo) (Tabela 7 e Gráfico 5).

Tabela 7 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da saturação da oxi-hemoglobina periférica (%) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	97 ± 1	97 ± 1	96 ± 1	0,4385
Negativo	97 ± 2	97 ± 2	97 ± 2	0,4931
Valor de p	1	0,6513*	0,4925	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 5- Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da saturação da oxihemoglobina periférica (%) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.1.6 Concentração inspirada e expirada de dióxido de carbono

Os dados referentes à concentração inspirada de dióxido de carbono não apresentaram distribuição normal e não foram encontradas diferenças significativas entre os momentos (M5, M10 e M15) e grupos avaliados (resposta positiva ou negativa ao estímulo nociceptivo) (Tabela 8 e Gráfico 6).

Tabela 8 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração inspirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	7,4 ± 1,7	7,2 ± 1,6	7,6 ± 1,5	0,905
Negativo	7,2 ± 0,8	6,8 ± 0,8	6,6 ± 0,9	0,1473
Valor de p	0,8192	0,645	0,2733*	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 6 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da concentração inspirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

Já os dados relacionados à concentração expirada de dióxido de carbono (EtCO_2), apresentaram distribuição normal, porém não foram encontradas diferenças significativas entre os momentos (M5, M10 e M15) e grupos avaliados (resposta positiva ou negativa ao estímulo nociceptivo) (Tabela 9 e Gráfico 7).

Tabela 9 - Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração expirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Grupos	Momentos de avaliação			Valor de p
	M5	M10	M15	
Positivo	32,4 ± 6,1	30,6 ± 7	29,2 ± 9,4	0,611
Negativo	35,6 ± 8,3	33,2 ± 8,8	34,2 ± 6,5	0,814
Valor de p	0,5086	0,6192	0,358	

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 7 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil da concentração expirada de dióxido de carbono (mmHg) nos diferentes momentos de avaliação dos dois grupos de micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.2 Concentração expirada média de isofluorano

A partir dos valores obtidos da concentração expirada de isofluorano dos animais que compuseram os quatro *crossovers*, foi calculada a média aritmética, e os mesmos foram submetidos à regressão logística, para a obtenção da concentração de isofluorano expirado necessária para gerar uma resposta ao estímulo elétrico. Os valores de Et_{iso} obtidos pelos dois métodos foram de $1,25 \pm 0,108$ V%. O Gráfico 8 e o Gráfico 9 apresentam as curvas correspondentes às Et_{iso} determinadas pela média aritmética e regressão logística, respectivamente.

Gráfico 8 - Representação gráfica das concentrações expiradas de isofluorano, evidenciando os quatro *crossovers* (destaque vermelho) e da concentração expirada média obtida por média aritmética (traço) em micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

Gráfico 9 - Representação gráfica da concentração expirada média de isoflurano, determinada por regressão logística, em micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

5.2.3 Períodos anestésicos

O período de relaxamento variou entre 60 e 120s com tempo médio de $72 \pm 25,3s$ (Gráfico 10). O período de latência variou entre 80 e 270s apresentando média de $190,8 \pm 49,2s$ (Gráfico 10).

Após a indução, foram realizadas as ações de paramentações e estabilização da fração expirada alvo. Os períodos deste o início da indução até esta estabilização foi bastante variado, ficando com uma média de $50 \pm 30min$ e variando de 16 min a 119 min.

Gráfico 10 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil do período de relaxamento e do período de latência da anestesia com isoflurano em micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

Os dados referentes ao período de recuperação parcial apresentaram uma média de $6,7 \pm 5,5$ min e variaram entre 1 min e 20 min (Gráfico 11). Já o período de recuperação total teve uma média de $18,9 \pm 12,9$ min e variaram de 4 min a 44 min (Gráfico 11).

Gráfico 11 - Representação gráfica demonstrando os valores de mediana e intervalo interquartil do período de recuperação parcial e do período de recuperação total da anestesia com isoflurano em micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*)

Fonte: Rassy (2019)

Tabela 10 - Valores médios, desvios-padrões (DP), mínimos e máximos dos períodos de relaxamento (segundos), latência (segundos), recuperação parcial (minuto) e recuperação total (minuto)

	Períodos			
	Relaxamento (s)	Latência (s)	Recuperação Parcial (min)	Recuperação total (min)
Média ± DP	72 ± 25,3	190,8 ± 49,2	6,7 ± 5,5	18,9 ± 12,9
Valor Min.	60	80	1	4
Valor Máx.	120	270	20	44

Fonte: Rassy (2019)

6 DISCUSSÃO

O estudo piloto foi importante para a realização dos devidos ajustes em pontos cruciais da metodologia como a intubação orotraqueal e tipo de ventilação, provendo as adequações dos materiais e equipamentos envolvidos. Também foi definida nesta fase a Et_{Iso} de 1,3 V% para o início do protocolo experimental. Segundo Quasha, Eger e Tinker (1980), a concentração expirada do agente inalatório que se inicia a sequência deste tipo de experimento deve ser selecionada por meio de um estudo piloto.

Outro ponto relevante do estudo piloto foi a exclusão da análise de hemogasometria. Como não foi possível a padronização de repetição da colheita de sangue arterial mantendo a integridade física do animal, esta análise foi excluída do protocolo experimental. A obtenção de amostras de sangue arterial no estudo piloto foi dificultada, e em alguns casos impossibilitada, devido à dificuldade ao acesso e calibre da artéria femoral nesta espécie que por vezes ocasionou múltiplas tentativas sem sucesso de colheita ou um volume muito reduzido de sangue. Segundo Murphy, Baxter e Flecknell (2012), amostras de sangue arterial para análise podem ser obtidas com relativa facilidade em primatas maiores por punção percutânea ou canulação de artérias, mas o acesso cirúrgico pode ser necessário em primatas pequenos.

Os parâmetros fisiológicos basais em animais silvestres são de difícil determinação e padronização, haja vista que a obtenção dos mesmos ocorre por meio de algum tipo de contenção, seja física ou química, e isto já causa alteração dos valores.

Em relação à pressão arterial sistólica, embora não tenham sido evidenciadas diferenças significativas entre os momentos e grupos avaliados neste estudo, pode-se notar uma diferença entre os grupos, onde os animais que responderam de forma negativa ao estímulo supramáximo apresentaram os valores de PAS menores comparado aos animais que tiveram resposta positiva e nos dois grupos foi evidenciada uma diminuição dos valores no decorrer dos momentos. Além disso, os animais que apresentaram resposta negativa ao estímulo nociceptivo apresentaram hipotensão arterial em todos os momentos. Os anestésicos inalatórios deprimem a função cardiovascular e causam diminuição da pressão arterial de forma concentração-dependente, sendo possível recorrer a associações de fármacos pré-anestésicos que reduzem a concentração de anestésico inalatório necessária para

manter a anestesia, minimizando o efeito negativo sobre a pressão arterial (FORTMAN; HEWETT; HALLIDAY, 2018). O isoflurano promove depressão no débito cardíaco, mas há diminuição da pressão arterial dependente da concentração devido à diminuição na resistência vascular sistêmica. A hipotensão é especialmente pronunciada se a anestesia com isoflurano for induzida por máscara em concentrações inspiradas de 3 a 4 V% ou quando os animais são mantidos em 2 V% ou acima (POPILSKIS; LEE; ELMORE, 2008). No presente estudo, este parâmetro foi avaliado por método indireto com auxílio de *doppler* e manguito posicionado sobre a artéria braquial, o que pode subestimar os valores encontrados. Lewis et al. (1994) descreveram que, em humanos, a pressão arterial avaliada por método indireto e com manguito de tamanho adequado, pode apresentar um valor de 20 mmHg menor que o método direto. Em macaco-rhesus (*Macaca mulatta*) foi relatado que este dado pode ser subestimado de 5 a 20 mmHg entre os métodos direto e indireto (CHESTER; DORR; LUND, 1992). Desta forma, considerando os dados absolutos e médios encontrados no presente estudo, é possível caracterizar que houve hipotensão entre os grupos estudados; no entanto, este dado pode ter sido subestimado.

Já foi evidenciado que o isoflurano tem efeitos depressores, dependentes da concentração, na pressão arterial e frequência cardíaca em macaco-rhesus (*Macaca mulatta*) (LI et al., 2013, 2014), embora não tenham sido encontradas alterações nas frequências cardíacas nos momentos analisados neste estudo.

Quanto à frequência respiratória, não houve diferença significativa entre os momentos e grupos avaliados; no entanto, observou-se que os valores encontrados foram baixos, e inferiores aos relatados em outros estudos como os realizados por Selmi et al. (2004) e Ferraro et al. (2018) onde utilizaram protocolos parenterais em mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*). É relatada que a ventilação espontânea diminui progressivamente à medida que se aumenta a concentração do anestésico inalatório, visto que, já em baixas concentrações, o volume corrente é reduzido, mesmo havendo algum incremento na frequência respiratória, e à medida que a concentração do anestésico seja elevada, a frequência respiratória tende a diminuir (STEFFEY; MAMA; BROSANAN, 2015). Este fato foi evidenciado por Vasconcellos et al. (2000), que anestesiou macaco-prego (*Sapajus apella*) com isoflurano e não observou a diminuição da frequência respiratória, no entanto, ocorreu um aumento não-significativo da frequência respiratória, associado à queda significativa do volume corrente e do volume minuto. Os anestésicos inalatórios

deprimem a função do sistema respiratório, diminuindo a ventilação de acordo com o fármaco, concentração e a espécie empregada e em animais anestesiados exclusivamente com agentes voláteis, ocorre parada respiratória com o emprego de 1,5 a 3 CAM (STEFFEY; MAMA; BROSNAN, 2015). Diante do exposto, é possível inferir que micos-leões-da-cara-dourada possam ser mais sensíveis aos efeitos da anaestesia inalatória em relação aos efeitos respiratórios, quando comparados a outras espécies, pois as concentrações aplicadas neste estudo não são consideradas altas e foi observada tanto baixas frequências quanto diminuição acentuada da amplitude respiratória nos animais em ventilação espontânea.

Considerando os dados encontrados de saturação de oxi-hemoglobina periférica, não houve nenhum achado significativo e com todos os momentos apresentando uma média acima de 96% mesmo apresentando frequências respiratórias relativamente baixas, tanto os animais mantidos em respiração espontânea quanto sob ventilação assistida ou controlada. Konoike et al. (2017), em estudo utilizando a associação cetamina, xilazina e atropina comparado com alfaxalone, sugerem que as funções respiratórias do sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) são sensíveis em comparação com outros primatas e podem resultar em hipoxemia durante a anestesia e com base no estudo realizado, recomendam a anestesia inalatória ou o uso de um ventilador para esses protocolos.

A reinalação, evidenciada nos valores encontrados de FiCO_2 em todos os momentos e grupos, pode ser atribuída ao espaço morto proporcionalmente elevado, considerando o comprimento e o diâmetro do sistema comercialmente disponível, que prejudicou a difusão dos gases no sistema.

Os valores reduzidos de dióxido de carbono expirados podem ser justificados em decorrência do porte dos animais, com baixo volume corrente, que pode ter prejudicado a leitura do capnógrafo pelo sistema *sidestream* utilizado. Este resultado pode também ter relação com a ausência de vedação perfeita do traqueotubo à traqueia e pelo alto fluxo de gases que foi empregado no sistema. Segundo Epstein, Reznik e Epstein (1980), no mecanismo de funcionamento do sistema *sidestream*, o gás expirado pode ser diluído com ar ambiente arrastado sempre que a vazão do gás cair abaixo do volume aspirado de forma constante pelo capnógrafo. O design do tubo de amostragem e seu posicionamento no circuito respiratório ou nas narinas (se for usado um cateter nasal) podem afetar a quantidade de ar circundante que é arrastado junto com o gás expirado. Dentro do próprio tubo de amostra, pode ocorrer dispersão

devido aos efeitos do perfil de velocidade e difusão. No presente estudo, o fluxo de oxigênio foi mantido em 1L/min durante todo o experimento e pode ter sido responsável pelos achados discutidos acima; no entanto, mesmo sendo considerado um fluxo relativamente alto para o peso médio dos animais ($647\text{g} \pm 68$), esta decisão foi fundamentada considerando o espaço morto mecânico elevado que o sistema apresentava e assim poderia trazer prejuízos para a ventilação dos animais com fluxos menores de O_2 .

Em relação à hipocapnia, os primatas toleram a manutenção prolongada de CO_2 expirado de 25 mmHg (a normocapnia é de 35 a 40 mmHg), desde que a normotensão seja mantida; no entanto, se o CO_2 expirado for inferior a 25 mmHg, será alcançada uma redução muito pequena no volume cerebral e a vasoconstrição induzida pode ser prejudicial (MURPHY; BAXTER; FLECKNELL, 2012). Considerando os valores encontrados na capnometria, foi evidenciada a necessidade em algumas situações de ventilação mecânica ou assistida a fim de se estabelecer uma normocapnia.

O controle da temperatura corporal é um fator muito importante que neste estudo exigiu a observação constante e utilização tanto de aquecedor elétrico direcional quanto a manutenção de uma toalha sobre o corpo dos animais no intuito de manter o calor propagado pelo aquecedor. A dificuldade na manutenção da temperatura pode estar relacionada à duração do procedimento e ao reduzido porte do animal. Durante procedimentos anestésicos e cirúrgicos, é comum que o primata não humano tenha uma perda significativa de calor corporal. Os animais muito jovens e de tamanho pequeno, como saguis (*Callithrix* sp.) e mico-de-cheiro (*Saimiri* sp.), podem se tornar hipotérmicos com relativa frequência. O monitoramento da temperatura corporal durante a anestesia deve ser realizado rotineiramente, inserindo uma sonda de temperatura no esôfago ou no reto e conectando-a ao monitor. A desvantagem da temperatura retal é que ela não reflete com precisão o sangue ou a temperatura “central” quando as mudanças de temperatura são muito rápidas (POPILSKIS; LEE; ELMORE, 2008). Entretanto, a temperatura retal é uma forma prática e rápida de obtenção do dado de temperatura corporal, pois segundo Kunkle, Nicklin e Sullivan-Tamboe (2004), a temperatura central é a temperatura do sangue na artéria pulmonar ou no cérebro e em humanos as temperaturas esofágica e timpânica também são consideradas equivalentes à central. Desta forma, seriam necessárias técnicas invasivas para esta aferição.

A intubação orotraqueal em espécies de porte muito pequeno, como a espécie do presente estudo, por vezes apresenta-se como fator complicador durante a anestesia. Isto decorre das características anatômicas da espécie, como grande desenvolvimento do palato mole e traqueia curta e de diâmetro reduzido, que dificulta o acesso à laringe e diminui o comprimento viável de inserção do traqueotubo. Além disso, não existe um tubo endotraqueal comercialmente disponível adequado para o uso nesta espécie e tampouco laringoscópio apropriado. Dessa forma, o emprego de materiais adaptados é citado na intubação de calitriquídeos, como o sagui-do-tufobranco (*Callithrix jacchus*), onde foi utilizado cateter vesical 5Fr (MORRIS et al., 1997) e cateter intravenoso de silástico 12G (THOMAS; LEACH; FLECKNELL, 2012). No presente estudo, a intubação orotraqueal também foi possibilitada com a utilização de materiais adaptados. Como traqueotubo, utilizou-se uma sonda uretral Nº 6 adaptada no comprimento e também em uma estrutura no terço médio que visava a diminuição do escape aéreo que poderia ocorrer entre o traqueotubo e a traqueia. Já para a função laringoscópica, foi utilizado um limpador de cera de ouvido novo com transiluminação que possibilitou o acesso, a iluminação e a visualização adequada da glote.

Foram necessárias algumas tentativas para a efetivação da intubação orotraqueal em 50% dos micos (variando de duas a quatro tentativas), pois em alguns casos foi encontrada uma reação exacerbada ao toque da sonda na laringe, impossibilitando a progressão da sonda mesmo com a dessensibilização prévia com lidocaína, e em outras momentos episódios de tosse e espirros promoveram a extubação. Estes fatos podem ser devido à taxa metabólica elevada da espécie estudada que propiciou uma diminuição rápida da concentração expirada de isoflurano durante as tentativas de intubação, mesmo havendo a manutenção da saída de gases do sistema anestésico na região da narina durante as tentativas. Vasconcellos et al. (2000), em estudo com isoflurano em macaco-prego (*Sapajus apella*), também observaram tosse e espasmos durante a intubação orotraqueal em alguns animais, mesmo utilizando lidocaína spray a 10% tópica.

A concentração expirada média encontrada no presente estudo (1,25 V%) é semelhante à CAM relatada no único estudo em primatas encontrado nesta revisão, sendo descrita a CAM do isoflurano para o macaco-cinomo (*Macaca fascicularis*) de 1,28 V% (TINKER; SHARBROUGH; MICHENFELDER, 1977). Não existe referência para nenhuma espécie de primatas do novo mundo sendo importante esta

avaliação, pois de acordo com Eger (1974), a CAM de um anestésico inalatório pode variar de espécie para espécie aproximadamente na mesma proporção que varia de indivíduo para indivíduo. A maioria dos mamíferos domésticos tem uma CAM de isoflurano relatada entre 1,2 V% e 1,6 V%. No entanto, de acordo com a literatura consultada, não há relatos de concentrações expiradas ou de CAM para nenhuma espécie de mico-leão e algumas referências específicas e manuais acabam sugerindo valores de indução e manutenção muito acima destes valores (AYALA-BURBANO et al., 2017; BRAZ et al., 2019), sendo imprescindível a realização de um monitoramento intensivo em todas as fases da anestesia, principalmente no que se refere à frequência e qualidade respiratória e à hipotensão arterial que podem resultar em riscos graves aos animais.

O método *up-and-down* foi utilizado para a determinação da concentração alveolar mínima (CAM) em outras espécies como cão e gato (BARLETTA; QUANDT; HOFMEISTER, 2016), galinha (*Gallus gallus domesticus*) (DA ROCHA et al., 2017) e jacu – *Penelope obscura* (LUNARDELI et al., 2019). No entanto, no estudo em questão, as limitações técnicas relacionadas à manutenção de uma ventilação completamente controlada sem escapes, dificuldade no controle da temperatura corporal e ausência de dados de hemogasometria impedem a caracterização desta determinação, sendo então trabalhado o resultado da concentração expirada média, conforme descrito na metodologia, e seus efeitos nos parâmetros fisiológicos.

O método *up-and-down* foi selecionado após o estudo piloto por apresentar um menor tempo de anestesia e menor quantidade de estímulos para cada animal quando comparado a outros métodos (SONNER, 2002), pois cada animal só é testado para uma concentração específica, diferentemente do outro método que realiza um teste contínuo de várias concentrações e com uma sequência de estímulos para cada concentração.

A realização de quatro *crossovers* teve o objetivo de otimização do método, com a diminuição de animais testados, conforme descrito por Dixon (1965). Segundo Paul e Fisher (2001), a partir de quatro *crossover* os dados de obtenção de CAM são praticamente iguais aos com número maior de *crossovers*. No entanto, estes autores também sugerem que a realização de seis ou mais *crossovers*, em vez de quatro, diminui a probabilidade de relatar uma estimativa imprecisa e incorre em custos adicionais mínimos.

São escassas as referências que indicam concentrações baixas de isofluorano na rotina de anestesia de primatas. No entanto, Johnson-Delaney (1994) recomenda uma concentração para indução entre 1 e 2 V% e uma concentração entre 0,5 a 1,5 V% para a manutenção anestésica.

Devido à proximidade taxonômica entre as espécies de micos-leões, a concentração expirada de isofluorano encontrada no presente estudo, possivelmente, pode servir de referência para atividades que envolvam contenções químicas/anestésias tanto *ex situ* e *in situ* de espécies com maior grau de ameaça como o mico-leão-preto, mico-leão-dourado e mico-leão-da-cara-preta e outros calitriquídeos. Desta forma, este trabalho apresenta uma possibilidade de melhoria para os manejos destes animais com foco na conservação destas espécies.

O período de latência variou entre 80 e 270s apresentando média de $190,8 \pm 49,2$ s ($3,2 \pm 0,8$ min). É relatado que a indução geralmente leva menos de 2 minutos em macacos-de-cheiro (*Saimiri sciureus*) (POPILSKIS; LEE; ELMORE, 2008), não havendo mais dados referentes a outras espécies de primatas com utilização exclusiva de isofluorano. Bentler, Gossett e Root (2012) utilizaram em guaxinins (*Procyon lotor*) uma concentração de 5 V% de isofluorano diluído em 4L/min de oxigênio a 100%, em quatro modelos de caixas de indução diferentes, e obtiveram um período médio de indução variando entre 2,8 min e 5,4 min.

Os efeitos da anestesia observados neste estudo ao fim do período de latência foram relaxamento muscular profundo, ausência de reflexo palpebral e diminuição da frequência e da amplitude respiratória. Segundo Popilskis, Lee e Elmore (2008), a profundidade anestésica é geralmente avaliada monitorando alguns parâmetros, sendo a perda de reflexos palpebrais e corneais, o grau de relaxamento muscular, a frequência e a profundidade da respiração e a falta de resposta somática a estímulos cirúrgicos os mais comumente utilizados para determinar a adequação da anestesia.

A concentração de isofluorano sugerida na literatura para a indução e manutenção anestésica de primatas calitriquídeos aparenta ser maior do que a necessária para atingir os efeitos desejáveis e ainda pode potencializar o efeito hipotensor nestas espécies que apresentam pequeno porte e alto metabolismo. Um exemplo disso é descrito por Popilskis, Lee e Elmore (2008) onde recomendam o emprego de isofluorano nas anestésias prolongadas (acima de uma hora) em macacos-de-cheiro (*Saimiri sciureus*), bem como em animais debilitados, indicando a indução por máscara com isofluorano com 4 a 5 V% (menos para animais debilitados),

sob contenção física manual. Já para a manutenção, estes mesmos autores sugerem a concentração de isoflurano entre 0,5 e 3,0 V%, diluídos em oxigênio. Há também recomendações da utilização de isoflurano em primatas entre 3 e 5 V% para indução e 2 e 3 V% para manutenção (VERONA; PISSINATTI, 2014) e são encontradas recomendações de utilização de isoflurano em primatas sem as indicações das concentrações, tanto para indução quanto para manutenção (FRENCH; FITE, 2005).

Os períodos de recuperação parcial e total encontrados neste estudo foram $6,7 \pm 5,5$ min e $18,9 \pm 12,9$ min, respectivamente, sendo menores que os tempos de recuperação parcial e total observados por Ferraro et al. (2018), utilizando protocolos com anestésicos injetáveis na mesma espécie deste estudo, que variou entre 16,73 min ($\pm 10,43$) e 56,88 min ($\pm 22,91$), respectivamente.

Foi evidenciado um intervalo variado e prolongado em alguns animais, entre o início da indução e a estabilização da Et_{iso} na concentração alvo. Estes intervalos tiveram uma média de 50 min ($\pm 30,3$) e variaram entre 16 e 119 min. Desta forma o tempo total de anestesia foi bastante heterogêneo entre todos os animais e esta situação pode ter uma relação direta com a manutenção da temperatura corporal dos animais durante o experimento e também com a recuperação anestésica.

Considerando que o tempo prolongado de anestesia pode interferir no tempo de recuperação, foi também realizada a análise com dados apenas dos animais que alcançaram a estabilização na Et_{iso} alvo em menos de 60 min. Desta forma, foram excluídos dados de recuperação de três animais e os dados referentes ao período de recuperação parcial e total apresentaram uma média de $6,7 \pm 6,4$ min e $13,4 \pm 8,3$ min.

Com relação aos tempos de indução e recuperação, a anestesia inalatória com isoflurano parece ter uma vantagem sobre os agentes injetáveis para o trabalho de campo. No entanto, é importante salientar que os tempos de recuperação observados neste ou em outros estudos devem ser avaliados com cautela, haja visto que em uma situação de ambiente de campo, o animal após a soltura entrará em contato com os mais diversos riscos, como ataques de predadores, disputas por território, intempéries, dentre outros e isso poderia ser fatal se a condição do animal não for idêntica à encontrada prévia à anestesia. Desta forma, alguns poucos sinais observados e definidos como recuperação podem não ser suficientes nesta situação.

Diante de todo o exposto, a utilização da anestesia inalatória é muito interessante; no entanto, deve ser sugerida a utilização de equipamentos de vaporização calibrados que propiciam melhor controle das concentrações ofertadas,

quando comparado ao vaporizador universal, tanto nas atividades *in situ* quanto para as *ex situ*. A desvantagem seria em situações de campo com a necessidade de um transporte cuidadoso de um cilindro de oxigênio e um vaporizador calibrado. No entanto, já existem no mercado materiais de baixo peso/volume e resistência. Além disso, há necessidade de monitoração intensa e isso contrasta com as dificuldades na obtenção de dados fidedignos em organismos de pesos tão reduzidos quanto os deste estudo, inclusive pela ausência de equipamentos apropriados no mercado.

Após 29 dias do procedimento, o animal de número 1 apresentou quadro de dispneia com esforço inspiratório e sangue em cavidade oral. Ao exame radiográfico foi observada opacidade em terço cranial da traqueia compatível com estenose traqueal. Foi realizado tratamento suporte e durante o preparo para vídeotraqueoscopia o animal apresentou parada cardiorrespiratória sem respostas às manobras de ressuscitação. Na necropsia foi possível identificar obstrução por material fibroso avermelhado em quase todo o lúmen do terço cranial da traqueia. No exame microbiológico do material coletado não foi evidenciado crescimento bacteriano e foi diagnosticado fungo filamentoso com estruturas compatíveis com *Aspergillus* sp. Esta situação trouxe a discussão sobre quais fatores seriam os predisponentes a esta situação e dentre as possibilidades levantadas foram ressaltadas duas situações: uma possível predisposição individual com alguma comorbidade não aparente; ou a condição da intubação com a metodologia e material utilizados não seria segura. No entanto, esta segunda possibilidade apresenta uma baixa evidência, pois na rotina clínica da Fundação Parque Zoológico de São Paulo, muitos outros micos foram intubados da mesma forma e até meses após a realização deste experimento, sem registros de quadro semelhante. Contudo, existem relatos demonstrando que a intubação orotraqueal promove lesões traqueais em animais que passam por intubações orotraqueais múltiplas, como já descrito em coelhos (PHANEUF et al., 2006), em babuíno (ASSELIN; CARLSON SCHOLZ; ZEISS, 2011) e, em cães da raça beagle (SU et al., 2017), concluiu-se que a pressão mantida no balonete e o diâmetro superestimado da sonda traqueal são fatores de risco para estenose traqueal pós-intubação.

Diante do exposto, devem ser ressaltadas as limitações do presente estudo: a dificuldade da intubação orotraqueal em animal de porte reduzido e principalmente a indisponibilidade de materiais e equipamentos adequados; a dificuldade na manutenção da normotermia; a complexidade na colheita de sangue arterial para a

realização de hemogasometria, que poderia trazer dados relevantes para melhor discussão referente à qualidade da ventilação dos animais; por fim, a ocorrência de possíveis sequelas decorrentes do procedimento.

7 CONCLUSÃO

A concentração expirada média de isoflurano em micos-leões-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) encontrada neste estudo foi de 1,25 V%.

Em relação aos parâmetros fisiológicos, o isoflurano causou, nos animais estudados, diminuição da frequência respiratória, diminuição da temperatura corporal e hipotensão arterial.

Os tempos para recuperação foram menores quando comparados com protocolos anestésicos injetáveis.

REFERÊNCIAS

ADAMI, C.; WENKER, C.; HOBY, S.; MORATH, U.; BERGADANO, A. Anaesthesia with medetomidine-ketamine-isoflurane in chimpanzees anaesthesia with medetomidine-ketamine-isoflurane with and without midazolam, in eight captive chimpan zees (*Pan troglodytes*) premedicated with oral zuclopenthixol. **Schweiz Arch Tierheilkd**, v. 155, p. 471–476, 2013.

AKATA, T.; KANNA, T.; YOSHINO, J.; TAKAHASHI, S. Mechanisms of direct inhibitory action of isoflurane on vascular smooth muscle of mesenteric resistance arteries. **Anesthesiology**, v. 99, p. 666–677, 2003.

AKATA, T. General anesthetics and vascular smooth muscle. **Anesthesiology**, v. 106, p. 365–391, 2007.

ASSELIN, K. A.; CARLSON SCHOLZ, J. A.; ZEISS, C. Tracheal stenosis and adenocarcinoma in an olive baboon (*Papio cynocephalus anubis*). **Comparative Medicine**, v. 61, n. 6, p. 546–551, 2011.

AYALA-BURBANO, P. A.; CALDANO, L.; JUNIOR, P. M. G.; PISSINATTI, A.; MARQUES, M. C.; WORMELL, D.; DOMINGUES DE FREITAS, P. Genetic assessment for the endangered black lion tamarin *Leontopithecus chrysopygus* (Mikan, 1823), Callitrichidae, Primates. **American Journal of Primatology**, v. 79, n. 12, p. 1 -13, 2017.

BAKKER, J.; UILENREEF, J. J.; PELT, E. R. J.; BROK, H. P. M.; REMARQUE, E. J.; LANGERMANS, J. A. M. Comparison of three different sedative-anaesthetic protocols (ketamine, ketamine-medetomidine and alphaxalone) in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **BMC Veterinary Research**, v. 9, 13p., 2013.

BARLETTA, M.; QUANDT, J.; HOFMEISTER, E. Determination of minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs and cats using the up-and-down method. A preliminary study. **Research in Veterinary Science**, v. 106, p. 81-83, 2016.

BENTLER, K. T.; GOSSETT, D. N.; ROOT, J. J. A novel isoflurane anesthesia induction system for raccoons. **Wildlife Society Bulletin**, v. 36, p. 807-812, 2012.

BRAZ, B. A.; FOGAÇA, M. D.; VICTORIO, G. G.; FERREIRA, L. G.; DA SILVA, V. N.; BIJJENI, A. F. A. B.; ACHOA FILHO, K.; HINGST-ZAHER, E. Método de captura e sedação utilizado em um grupo de híbridos de *Callithrix penicillata* e *Callithrix*

jacchus (Primates: Callitrichidae) em uma floresta urbana no Instituto Butantan, São Paulo. **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, v. 80, p. 16-19, 2019.

BRONSON, E.; DEEM, S. L.; SANCHEZ, C.; MURRAY, S. Placental retention in a golden lion tamarin (*Leontopithecus Rosalia*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 4, p. 716–718, 2005.

BRUNSON, D. B. Pharmacology of inhalation anesthetics. In: FISH, R. E.; BROWN, M. J.; DANNEMAN, P. J.; KARA, A. Z. **Anesthesia and analgesia in laboratory animals**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 335–363.

CHESTER, A. E.; DORR, A. E., LUND, K. R. Noninvasive measurement of blood pressure in conscious cynomolgus monkeys. **Fundam Appl Toxicol**, v. 19, p. 64–68, 1992.

COOK, R. A.; CLARKE, D. A. The use of isoflurane as a general anesthetic in the western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*). **J Zoo Anim Med**, v. 16, p. 12-124, 1985.

DA ROCHA, R. W.; ESCOBAR, A.; PYPENDOP, B. H.; ZANGIROLAMI FILHO, D.; THIESEN, R.; GAVA, F. N. Effects of a single intravenous bolus of fentanyl on the minimum anesthetic concentration of isoflurane in chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Vet. Anaesth. Analg**, v. 44, p. 546-554, 2017.

DAVIES, G. The orangutan in Sabah. **Oryx**, v. 20, p. 40-45, 1986.

DE JONG, R. H.; EGER, E. I. MAC expanded. AD50 and AD95 values of common inhalation anesthetics in man. **Anesthesiology**, v. 42, n. 4, p. 384–389, 1975.

DISARZ, P.; ADAMS, P. P.; CARVALHO, A. L.; WU, S.; LIMA, C. L.; FUKUSHIMA, F. B. General anesthesia in *Sapajus nigritus* (black capuchin). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. February, p. 1–5, 2019.

DIXON, W. J. The up-and-down method for small samples. **J Am Statist Assoc.**, v. 60, p.967–78, 1965.

EGER, E. I. II. **Anesthetic Uptake and Action**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1974. 371 p.

EGER, E. I. II. Age, minimum alveolar concentration, and minimum alveolar anesthetic concentration-awake. **Anesth Analg**, v. 93, n. 4, p. 947- 953, 2001.

EPSTEIN, R. A.; REZNIK, A. M.; EPSTEIN, M. A. F. Determinants of distortions in CO₂ catheter sampling systems: A mathematical model. **Respiration Physiology**, 1980.

FAHLMAN, A. **Anaesthesia of wild carnivores and primates**. 2005. 36p. Dissertação - Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. 2005.

FERRARO, M. A.; MOLINA, C. V.; CATÃO-DIAS, J. L.; KIERULFF, M. C. M.; PISSINATTI, A.; BUENO, M. G.; CORTOPASSI, S. R. G. Evaluation of three chemical immobilization protocols in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) undergoing vasectomy surgery. **Journal of Medical Primatology**, v. 47, n. 2, p. 101–109, 2018.

FORTMAN, J. D.; HEWETT, T. A.; HALLIDAY, L. C. **The Laboratory Nonhuman Primate**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. 366 p.

FRENCH, J. A.; FITE, J. E. **Enrichment for Nonhuman Primates**: Marmosets and tamarins. Bethesda, MD: National Institutes of Health publication number 05-5747, 2005. 14p.

ISHIBASHI, H. More effective induction of anesthesia using midazolam-butorphanol-ketamine-sevoflurane compared with ketamine-sevoflurane in the common marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 78, n. 2, p. 317–319, 2016.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015-3. Disponível em <www.iucnredlist.org> acesso em novembro de 2015.

JOHNSON-DELANEY, C. A. Primates. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 24, n. 1, p. 121-156, 1994.

KARESH, W. B.; COOK, R. A. Applications of veterinary medicine to in situ conservation efforts. **Oryx**, v. 29, p. 244-252, 1995.

KIERULFF, M. C. M.; RYLANDS, A. B.; MENDES, S. L.; DE OLIVEIRA, M. M. 2008. *Leontopithecus chrysomelas*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: Disponível em <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T40643A10347712.en>> Acesso em Setembro de 2019.

KONOIKE, N.; MIWA, M.; ISHIGAMI, A.; NAKAMURA, K. Hypoxemia after single-shot anesthesia in common marmosets. **Journal of Medical Primatology**, v. 46, n. 3, p. 70–74, 2017.

KUNKLE, G. A.; NICKLIN, C. F.; SULLIVAN-TAMBOE, D. L. Comparison of Body Temperature in Cats Using a Veterinary Infrared Thermometer and a Digital Rectal Thermometer. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, No. 1, p. 42-46, 2004.

LASTER, M. J.; LIU, J.; EGER, E. I.; TAHERI, S. Electrical stimulation as a substitute for the tail clamp in the determination of minimum alveolar concentration. **Anesthesia and analgesia**, v. 76, n. 6, p. 1310-1312, 1993.

LEWIS, R. R.; EVANS, P. J.; MCNABB, W. R.; PADAYACHEE, T. S. Comparison of indirect and direct blood pressure measurements with Osler's manoeuvre in elderly hypertensive patients. **J Hum Hypertens**, v. 8, p. 879–885, 1994.

LEWIS, J. C. M. Medetomidine-ketamine anaesthesia in the chimpanzee (*Pan Troglodytes*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 20, p. 18 – 20, 2008.

LI, C. X.; PATEL, S.; AUERBACH, E. J.; ZHANG, X. Dose-dependent effect of isoflurane on regional cerebral blood flow in anesthetized macaque monkeys. **Neuroscience Letters**, v. 541, p. 58–62, 29 abr. 2013.

LI, C. X.; PATEL, S.; WANG, D. J. J.; ZHANG, X. Effect of high dose isoflurane on cerebral blood flow in macaque monkeys. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 32, n. 7, p. 956–960, 2014.

LUNARDELI, B.; MORAES, A. N.; BACH, E. C.; KUCI, C. C.; COSTA, A.; COSTA, A.; BALDINI, M. H. M.; ANTONELLI, M. Influence of social stress on value of minimal anesthetic concentration of isoflurane in guan (*Penelope obscura*) captured in wildlife **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 655–662, 2019.

MELIS, S.; SCHAUVLIEGE, S.; VAN BOLHUIS, H.; HOYER, M.; GASTHUYS, F. Chemical immobilization of chimpanzees (*Pan troglodytes*) using a combination of detomidine and ketamine. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 39, p. 520-528, 2012.

MMA, PORTARIA Nº 444, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. Disponível em < http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/biodiversidade/fauna-brasileira/avaliacao-do-risco/PORTARIA_N%C2%BA_444_DE_17_DE_DEZEMBRO_DE_2014.pdf> acesso em Novembro de 2015.

MURPHY, K. L.; BAXTER, M. G.; FLECKNELL, P. A. Anesthesia and analgesia in nonhuman primates. In: Abee, CR, Mansfield, K, Tardif, S (eds). **Nonhuman primates in biomedical research: biology and management**. 2nd ed. London: Academic Press, 2012. p. 403–435.

MORRIS, H.; JACKSON, R. K.; ACKER, W. R.; SPENCER, C. K.; DRAG, M. D. An illustrated guide to endotracheal intubation in small non-human primates. **Lab Anim**, v. 31, n. 2, p. 157–162, 1997.

PAUL, M.; FISHER, D. M. Are estimates of MAC reliable? **Anesthesiology**, v. 95, p. 1362–1370, 2001.

PHANEUF, L. R.; BARKER, S.; GROLEAU, M. A.; TURNER, P. V. Tracheal injury after endotracheal intubation and anesthesia in rabbits. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 45, n. 6, p. 67–72, 2006.

POPILSKIS, S. J.; LEE, D. R.; ELMORE, D. B. Anesthesia and analgesia in nonhuman primates. In: FISH, R. E.; BROWN, M. J.; DANNEMAN, P. J.; KARA, A. Z. **Anesthesia and analgesia in laboratory animals**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 335–363.

QUASHA, A. L.; EGER, E. I.; TINKER, J. H. Determination and application of MAC. **Anesthesiology**, v. 53, p. 315–334, 1980.

RUIVO, E. B. **Guia de manejo para calitriquídeos**: Associação Européia de Zoológicos e Aquários (EAZA). 2 ed. Amsterdam – Holanda, Zoo Beauval, 2010. 218 p.

RYLANDS, A. B.; KIERULFF, M. C. M.; PINTO, L. P. S. Distribution and status of lion tamarins. In: KLEIMAN, D.G.; RYLANDS, A.B. (Eds.). **Lion tamarins biology and conservation**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2002. p. 42-70.

SAINSBURY, A. W.; EATON, B. D.; COOPER, J. E. Restraint and anaesthesia of primates. **Veterinary Record**, v. 125, n. 26/7, p. 640-643, 1989.

SELMÍ, A. L.; MENDES, G. M.; BOERE, V.; COZER, L. A.; FILHO, E. S.; SILVA, C. A. Assessment of dexmedetomidine/ketamine anesthesia in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 31, p. 138–145, 2004.

SEUÁÑEZ, H. N.; FORMAN, L.; ALVEZ, G. Comparative chromosome morphology in three callitrichid genera: *Cebuella*, *Callithrix* and *Leontopithecus*. **Journal of Heredity**, v. 79, p. 418–424, 1988.

SONNER, J. M. Issues in the design and interpretation of minimum alveolar anesthetic concentration (MAC) studies. **Anesthesia and Analgesia**, v. 95, p. 609–614, 2002.

STEFFEY, E. P.; HOWLAND, D, Jr. Isoflurane potency in the dog and cat. **American Journal Veterinary Research**, v. 38, p. 1833–1836, 1977.

STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R. Anestésicos inalatórios. In: THURMON, J. C.; TRANQUILLI, W. J.; GRIMM, K. A. (Eds.). **Lumb & Jones' Anestesiologia e Analgesia Veterinária**. 4ª ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 385–417.

STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R.; BROSNAN, R. J. Inhalation anesthetics. In: GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREEN, S. A.; ROBERTSON, S. A. (Eds.). **Veterinary anesthesia and analgesia: the fifth edition of Lumb and Jones**. Ames: Wiley Blackwell, 2015. p. 297–331.

SU, Z.; LI, S.; ZHOU, Z.; CHEN, X.; GU, Y.; CHEN, Y. A canine model of tracheal stenosis induced by cuffed endotracheal intubation. **Sci. Rep.**, n. 7, 9 p., 2017.

THOMAS, A. A.; LEACH, M. C.; FLECKNELL, P. A. Original Article An alternative method of endotracheal intubation of common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Lab Anim**, v. 46, n. 1, p. 71–76, 2012.

TINKER, J. H.; SHARBROUGH, F. W.; MICHENFELDER, J. D. Anterior shift of the dominant EEG rhythm during anesthesia in the Java monkey: correlation with anesthetic potency. **Anesthesiology**, v. 46, p. 252–259, 1977.

VALVERDE, A.; MOREY, T. E.; HERNÁNDEZ, J.; DAVIES, W. Validation of several types of noxious stimuli for use in determining the minimum alveolar concentration for inhalation anesthetics in dogs and rabbits. **Am J Vet Res**, v. 64, n. 8, p. 957–962, 2003.

VASCONCELLOS, C. H. C.; MÁRSICO FILHO, F.; GOMEZ SEGURA, I. A.; NASCIMENTO, P. R. L.; MONTEIRO, R. V. Utilização do isoflurano em macacos-prego (*Cebus apella* - Cebidae, Primata). **Braz J Vet Res Anim Sci**, v. 37, n. 1, p. 65-69, 2000.

VERONA, C. E. D.; PISSINATTI, A. Primates: primatas do novo mundo (Sagui, Macaco-Prego, Macaco-Aranha, Bugio e Muriqui). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2014. p. 723-730.

ANEXO A – ESTUDO PILOTO

Os dados dos procedimentos em cada animal nas duas fases do estudo piloto estão escritos a seguir:

FASE 1 - Avaliação da Instrumentação

Animal Estudo Piloto 1

Após intubação orotraqueal, o analisador de gases foi ligado ao sistema anestésico por meio de uma agulha à base da sonda uretral n° 8 adaptada para a intubação orotraqueal.

A concentração expirada de isoflurano (Et_{iso}) inicial escolhida foi de 1,8 V% e só foi estabilizada após 50 minutos pós intubação, sendo obtido respostas negativas com o pinçamento da base da cauda em 1,8 V%, 1,7 V%, 1,4 V%, 1,3 V% e resposta positiva com 1,2 V% tendo transcorrido 2h:57min (Tabela EP1).

Tabela EP1 - Parâmetros fisiológicos do animal 1. Tempo- (min); FC-frequência cardíaca (BPM); FR-frequência respiratória (MRPM); SpO₂- saturação da oxihemoglobina periférica (%); PAS-pressão arterial sistólica (mmHg); FI_{iso}-fração inspirada de isofluorano (V%); Et_{iso}-concentração expirada de isofluorano (V%); EtCO₂-concentração de dióxido de carbono no final da expiração; T °C-temperatura corpórea (°C)

Tempo	FC	FR	SpO ₂	FiO ₂	PAS	FI _{iso}	Et _{iso}	EtCO ₂	T °C
0	224	40	99		75				39,1
00:10	215	16	95		70				38,2
00:20	215	16	93	70	80	1,4	1,4	29	37,4
00:30	245	6	93	79	62	1,5	1,3	27	36,6
00:40	230	16	99	78	80	2,1	1,6	21	36,5
00:50	203	15	98	78	78	2,3	1,8	34	36,7
01:00	170	3	98	82	76	2,1	1,8	43	36,9
01:10	157	4	97	82	70	2,1	1,8	50	36,9
01:20	174	5	97	83	76	1,9	1,7	49	37
01:30	177	7	97	81	70	1,8	1,7	37	37,1
01:40	167	7	98	81	72	1,8	1,8	40	37,3
01:50	160	8	95	84	72	1,8	1,7	46	37,3
02:00	174	10	98	78	84	1,4	1,4	39	37,4
02:10	226	11	97	80	81	1,6	1,4	32	37,7
02:20	213	11	97	77	74	1,4	1,4	32	37,8
02:30	199	8	98	76	76	1,2	1,3	34	37,5
02:40	185	10	99	84	78	1,3	1,3	38	37,1
02:50	112	12	99	86	76	1,2	1,2	34	36,7

Fonte: Rassy (2019)

Foi realizada a colheita de amostra de sangue arterial (artéria femoral) no momento da interrupção do oferecimento do anestésico inalatório, porém a amostra apresentou coágulo no momento da análise impossibilitando a obtenção deste dado.

Animal Estudo Piloto 2

Após intubação utilizando sonda uretral n° 6 adaptada, foram realizadas tentativas de estabilizar a concentração expirada de isoflurano em 1,4 V% porém sem sucesso, havendo grande oscilação deste parâmetro (TabelaEP2) durante 1h16min, sendo optado pelo fim do procedimento.

Houve diminuição importante da temperatura corporal do animal. Foram realizadas tentativas de estabilização da temperatura utilizando aquecedor direcional tipo ventilador e bolsas de água quente em contato com o animal, sem sucesso.

Tabela EP2- Parâmetros fisiológicos do animal 2. Tempo- (min); FC-frequência cardíaca (BPM); FR-frequência respiratória (MRPM); SpO₂- Saturação da oxihemoglobina periférica (%); PAS-pressão arterial sistólica (mmHg); FI_{iso}-Fração inspirada de isoflurano (V%); Et_{iso}- concentração expirada de isoflurano (V%); EtCO₂- concentração de dióxido de carbono no final da expiração; T °C-temperatura corpórea (°C)

Tempo	FC	FR	SpO ₂	FI _{O₂}	PAS	FI _{iso}	Et _{iso}	EtCO ₂	T °C
00:00	252	10				1,2	1,6	37	36,8
00:11	231	18	99	75		2,4	1,2	34	36
00:16	222	7	98	76	90	2,6	1,2	30	36
00:21	229	15	98	80	90	1,9	1,6	30	35,9
00:26	223	10	98	81	90	1,9	1,4	38	36
00:31	246	8	98	82	90	1,9	1,3	30	36,1
00:36	236	9	99	82	90	2	1,6	41	36,3
00:41	231	8	98	82	85	2	1,5	44	36,2
00:46	247	8	98	82	90	2	1,7	43	36,3
00:51	225	12	98	83	90	1,3	1,3	63	36,3
00:56	243	10	98	82	90	1,4	1,5	33	36,1
01:01	240	10	98	82	90	1,4	1,3	44	36
01:06	225	8	98	83	100	1,4	1,2	46	35,8
01:11	248	12	98	83	90	1,6	1,4	49	35,6
01:16	234	11	98	85	100	1,2	1,4	34	35,5

Fonte: Rassy (2019)

Devido à instabilidade no procedimento foi decidido por não realizar colheita de amostra de sangue arterial para hemogasometria.

Animal Estudo Piloto 3

A intubação foi efetivada após cinco tentativas que representaram 50 min de procedimento utilizando sonda uretral n° 6 adaptada. Após 10min da intubação, foi realizada estabilização da Et_{iso} em 1,4 V% sendo obtido respostas negativas com o pinçamento da base da cauda em 1,4 V%, 1,3 V%, 1,2 V% e 1,1 V% e resposta positiva com 1 V%, tendo transcorrido 1h50min após intubação (Tabela EP3).

Tabela EP3 - Parâmetros fisiológicos do animal 3. Tempo- (min); FC-frequência cardíaca (BPM); FR-frequência respiratória (MRPM); SpO₂- Saturação da oxihemoglobina periférica (%); PAS-pressão arterial sistólica (mmHg); FI_{iso}-Fração inspirada de isofluorano (V%); Et_{iso}-concentração expirada de isofluorano (V%); EtCO₂-concentração de dióxido de carbono no final da expiração; T °C-temperatura corpórea (°C)

Fonte: Rassy (2019)

Tempo	FC	FR	SpO ₂	FiO ₂	PAS	FI _{iso}	Et _{iso}	EtCO ₂	T °C
00:00	204	15	98	74		2,4	1,5	33	37,4
00:05	205	20	98	74		1,9	1,3	30	37,6
00:10	183	21	96	78	90	1,7	1,4	34	37,6
00:15	176	21	96	79	85	1,6	1,4	34	37,6
00:20	176	22	98	78	85	1,7	1,4	33	37,4
00:25	174	18	98	79	85	1,7	1,4	32	37,6
00:30	176	20	98	81	85	1,6	1,4	34	37,4
00:35	171	22	97	80	85	1,3	1,3	33	37,1
00:40	171	18	100	81	85	1,3	1,3	32	37,1
00:45	167	16	97	81	80	1,4	1,3	33	37,3
00:50	184	16	98	81	85	1,4	1,3	32	37,3
00:53	165	14	98	82	85	1,3	1,2	32	37,2
00:58	151	13	96	83	75	1,2	1,2	35	36,7
01:03	151	10	96	83	75	1,2	1,2	37	36,7
01:09	151	12	95	83	75	1,2	1,2	39	36,7
01:15	150	12	96	83	70	1,2	1,2	40	36,6
01:20	148	14	96	83	60	1	1,1	41	36,7
01:25	167	12	96	83	75	1	1,1	38	35,8
01:30	147	11	95	83	85	1	1,1	38	35,9
01:35	146	11	95	83	90	1	1,1	39	35,7
01:40	145	11	96	83	80	0,9	1	37	
01:45	145	13	96	83	80	0,9	1	37	35,9
01:50	144	12	96	83	80	1	1	37	35,7

Fonte: Rassy (2019)

Após a resposta positiva, o procedimento foi finalizado uma vez que houve a extubação (ocorrência de tosse na resposta).

Houve diminuição importante da temperatura corporal do animal com 1h20min pós intubação. Foram realizadas tentativas de estabilização da temperatura utilizando, colchão térmico, aquecedor direcional tipo ventilador e bolsas de água quente em contato com o animal, sem sucesso.

Para hemogasometria, foi realizada colheita de amostra de sangue arterial pela artéria femoral ao fim do procedimento sendo encaminhado imediatamente para análise (Tabela EP4).

Tabela EP4 - Resultado de hemogasometria do animal 3. pH; PO₂ (mmHg); PCO₂ (mmHg); HCO₃ (mmol/L); SO₂ (%); Osm (mOsm/kg); BE (mmol/L) ; AG (mmol/L); Na⁺ (mmol/L); K⁺ (mmol/L), Cl⁻ (mmol/L), Ca⁺² (mmol/L)

Parâmetros	Resultado
pH	7,232
PO ₂	202,1
PCO ₂	56,8
HCO ₃ ⁻	23,3
SO ₂	99,5
Osm	286,8
BE	-5,0
AG	8,2
Na ⁺	144,2
K ⁺	3,76
Cl ⁻	116,4
Ca ⁺²	1,177

Fonte: Rassy (2019)

Animal Estudo Piloto 4

Após 5 min da intubação utilizando sonda uretral n° 6 adaptada, foi realizada estabilização inicial da concentração expirada de isoflurano em 1,4 V% sendo obtido respostas negativas com o pinçamento da base da cauda apenas com 1,4 V%. Após estabilização da fração expirada em 1,2% foi obtida resposta positiva ao pinçamento, sendo seguido novo aumento da Et_{iso} para 1,4 V% quando se obteve nova resposta negativa tendo transcorrido 01h:12min após a intubação (Tabela EP5). Foi então realizada a interrupção do oferecimento do anestésico inalatório e acompanhada a recuperação.

Tabela EP5 - Parâmetros fisiológicos do animal 4. Tempo- (min); FC-frequência cardíaca (BPM); FR-frequência respiratória (MRPM); SpO₂- saturação da oxihemoglobina periférica (%); PAS-pressão arterial sistólica (mmHg); FI_{iso}-concentração inspirada de isoflurano (V%); Et_{iso}- concentração expirada de isoflurano (V%); EtCO₂-concentração de dióxido de carbono no final da expiração; T °C-temperatura corpórea (°C)

Tempo	FC	FR	SpO2	FiO2	PAS	FI _{iso}	Et _{iso}	EtCO2	T °C
00:00	283	13	99	83		1,9	1,6	34	38
00:05	237	9	99	81	85	1,7	1,4	47	38
00:10	206	16	96	81	85	1,7	1,4	46	38,1
00:15	195	7	95	82	90	1,8	1,4	40	38,1
00:20	189	11	98	83	85	1,6	1,4	43	38,3
00:25	190	9	99	83	90	1,4	1,3	41	38,2
00:30	186	8	100	84	90	1,4	1,2	40	38,2
00:35	183	7	100	84	90	1,3	1,2	39	38
00:40	182	8	97	84	92	1,3	1,2	43	38
00:42	185	8	97	80	92	1,3	1,2	41	37,7
00:47	183	21	96	85	105	1,4	1,2	31	37,9
00:52	200	21	96	78	115	1,6	1,3	34	37,9
00:57	191	13	96	80	115	1,7	1,1	37	37,9
01:02	180	20	96	80		1,6	1,4	35	37,8
01:07	180	16	96	78		1,6	1,4	32	37,7
01:12	160	21	96	86	110	1,6	1,4	40	37,7

Fonte: Rassy (2019)

Para a hemogasometria, foi realizada colheita de amostra de sangue arterial pela artéria femoral ao fim do procedimento, porém a amostra se mostrou inviável por apresentar coágulo no momento da análise.

FASE 2 - Ajuste da metodologia

Animal Estudo Piloto 5

Após uma indução da anestesia (235s), foram realizadas cinco tentativas de intubação bastante dificultosas com o animal apresentando ora depressão respiratória pré tentativas e reflexos como tosse, náusea e regurgitação durante as tentativas; devido a estes fatos, foi decidido o cancelamento do procedimento.

Animal Estudo Piloto 6

Após uma indução da anestesia (360s) foram realizadas tentativas de estabilização da concentração expirada de isoflurano por cerca de 55min e durante este período o animal apresentou hipotermia, hipotensão e não estabilização da concentração expirada (Tabela EP6). Durante este tempo foram realizadas tentativas de elevação da temperatura corporal e da pressão arterial sistólica sem sucesso, por estes motivos o procedimento foi descontinuado.

Tabela EP6 - Parâmetros fisiológicos do animal 6. Tempo- (min); FC-frequência cardíaca (BPM); FR-frequência respiratória (MRPM); SpO₂- saturação da oxihemoglobina periférica (%); PAS-pressão arterial sistólica (mmHg); FI_{iso}-concentração inspirada de isoflurano (V%); Et_{iso}- concentração expirada de isoflurano (V%); EtCO₂-concentração de dióxido de carbono no final da expiração; T °C-temperatura corpórea (°C)

Tempo	Fiiso (%)	Etiso (%)	Vap (%)	FC (bpm)	FR (mrpm)	TRetal (°C)	SpO₂ (%)	Fico₂	ETco₂	PAS (mmHg)	Vent. mec.	Pressão Insp.
00:00	1,4	1,4	1,6	240	9	37,1		8	43		S	11
00:05	1,7	1,4	1,5	212	9	36,4		8	36		S	11
00:10	1,5	1,4	1	220	9	36,2		8	36	60	S	11
00:15	1,6	1,5	0,8	212	9	36	96	9	34		S	11
00:25	1,6	1,5	0,6	220	9	35,3	98	9	35	85	S	11
00:30	0,8	0,6	0,5	212	9	35,1	94	7	30	85	S	11
00:35	1,3	1,1	0,4	212	9	34,9	96	6	30	85	S	11
00:40	1,4	1,2	0,6	220	9	34,5	96	6	31		S	11
00:45	1,4	1,4	1,6	220	9	34,4	94	6	31	60	S	11

Fonte: Rassy (2019)

Animal Estudo Piloto 7

Após uma indução da anestesia (180s), foram realizadas seis tentativas de intubação bastante dificultosas com o animal apresentando ora depressão respiratória pré tentativas e reflexos como tosse, náusea e regurgitação durante as tentativas, devido a estes fatos, foi decidido por cancelar o procedimento e realizar o acompanhamento da recuperação do animal