



Avaliação de diferentes protocolos anestésicos para a realização de ovariossalpingohisterectomia em Wistar

Evaluation of different anesthetic protocols for ovariossalpingohysterectomy in rats

Evaluación de diferentes protocolos anestésicos para la realización de ovariossalpingohisterectomía en ratas

Pedro Pastorini Franco¹, Wilson Ribeiro da Silva Junior¹, Tomaz José Aquino Vasconcelos do Carmo¹, Maria Helena Moutinho Marta¹, Hanna Caroline Duarte Paraense², Ellen Yasmin Eguchi Mesquita³, Daniel Alves Figueiredo da Silva⁴, Ismari Perini Furlaneto⁵, Rosa Helena de Figueiredo Chaves⁵.

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos de protocolos anestésicos na ovariossalpingohisterectomia (OSH) em ratas, avaliando frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR), temperatura (T^o), tempo de indução e manutenção. **Métodos:** Foram utilizadas 28 ratas Wistar, distribuídas em 5 grupos com 7 animais cada, denominados grupos QX (Quetamina 80mg/Kg + Xilazina 20mg/Kg), QXF (Quetamina 60 mg/Kg + Xilazina 8 mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg), QM (Quetamina 70 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg) e QMF (Quetamina 60 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg). Foi realizada OSH e monitorização dos animais. **Resultados:** No transoperatório, o grupo QMF apresentou os maiores valores de FC em todos os tempos, enquanto QXF apresentou os menores valores e os grupos com xilazina (QX e QXF) tiveram valores abaixo do fisiológico, fato também observado na FR. No pós-operatório, o QMF teve maior média e foi o único com valor normal de FC, sendo QX o único com valores abaixo da normalidade. Para a FR, o QM teve maior média, enquanto QXF e QX apresentaram valores abaixo do fisiológico em alguns momentos. **Conclusão:** O protocolo QMF manteve os valores de FC, FR e T^o mais próximos dos valores fisiológicos.

Palavras-chave: Protocolos anestésicos, Monitorização, Cirurgia, Analgesia.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the effects of anesthetic protocols on ovariossalpingohysterectomy (OSH) in rats, evaluating HR, RR, T^o, induction and maintenance time. **Methods:** 28 Wistar rats were used, divided into 5 groups with 7 animals each: Group QX: Ketamine 80mg/Kg + Xylazine 20mg/Kg; QXF Group: Ketamine 60 mg/kg + Xylazine 8 mg/kg + Fentanyl 0.03 mg/kg; QM Group: Ketamine 70 mg/kg + Midazolam 5mg/kg; QMF Group: Ketamine 60 mg/kg + Midazolam 5mg/kg + Fentanyl 0.03 mg/kg. OSH and animal monitoring were performed. **Results:** Intraoperatively: In CF, QMF was the one that presented the highest values at all times, while QXF presented the lowest values, and the groups with xylazine (QX and QXF) had values below physiological values, a fact also observed in RP. Postoperatively: QMF had the highest mean and was the only one with a normal HR value, with QX being the only one with values below normal. In FR, QM had a higher average, while QXF and QX presented values below physiological levels at times. **Conclusion:** The QMF protocol maintained HR, RR and T^oC values as close to physiological values.

Keywords: Anesthetic protocols, Monitoring, Surgery, Analgesia.

¹ Universidade da Amazônia (UNAMA), Belém – Pará.

² Universidade Metropolitana da Amazônia (UNIFAMAZ), Belém – Pará.

³ Universidade do Estado do Pará (CESUPA), Belém – Pará.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar los efectos de los protocolos anestésicos en la ovariopalingohisterectomía (OSH) en ratas, evaluando FC, RR, T^o, tiempo de inducción y mantenimiento. **Métodos:** Se utilizaron 28 ratas Wistar, divididas en 5 grupos de 7 animales cada uno: Grupo QX: Ketamina 80 mg/Kg + Xilazina 20 mg/Kg; Grupo QXF: Ketamina 60 mg/kg + Xilazina 8 mg/kg + Fentanilo 0,03 mg/kg; Grupo QM: Ketamina 70 mg/kg + Midazolam 5 mg/kg; Grupo QMF: Ketamina 60 mg/kg + Midazolam 5 mg/kg + Fentanilo 0,03 mg/kg. Se realizaron controles de SST y de animales. **Resultados:** Intraoperatoriamente: En FQ, QMF fue el que presentó mayores valores en todo momento, mientras que QXF presentó los valores más bajos, y los grupos con xilazina (QX y QXF) tuvieron valores por debajo de los valores fisiológicos, hecho también observado en RP. Postoperatorio: QMF tuvo la media más alta y fue el único con valor de FC normal, siendo QX el único con valores por debajo de lo normal. En FR, QM tuvo un promedio superior, mientras que QXF y QX presentaron valores por debajo de los niveles fisiológicos en ocasiones. **Conclusión:** El protocolo QMF mantuvo los valores de FC, RR y T^oC lo más cercanos a los valores fisiológicos.

Palabras clave: Protocolos anestésicos, Monitoreo, Cirugía, Analgesia.

INTRODUÇÃO

O rato (*Rattus norvegicus*) é um dos animais mais utilizado em estudos de implementação e/ou aplicação de modelos experimentais, uma vez que representa um animal de fácil manipulação e algumas de suas características se assemelham com a dos seres humanos (FAUSTINO-ROCHA A, et al., 2019). Em muitos projetos de pesquisa a anestesia é recomendada ou até mesmo obrigatória, dependendo do procedimento, portando deve-se incluir alguns pré-requisitos para escolha do anestésico, como fácil manuseio, baixo estresse para indução e recuperação, mínimo impacto nos parâmetros fisiológicos do animal, facilidade em ajustar a dose ou aumentar o tempo da anestesia e rápida recuperação (DOBLER GH, et al., 2019).

Contudo, observa-se uma carência na literatura de estudos concretos e resolutivos sobre os diversos protocolos anestésicos existentes, ressaltando-se a falta de recomendações adequadas para manutenção da anestesia e alívio da dor do animal, sobretudo no trans e pós-operatório (BATISTA FA, et al., 2018; SARTORI AS e MELLO JR Bd, 2018; TSUKAMOTO A, et al., 2018). Várias classes de fármacos são utilizadas para realizar um protocolo anestésico, como os anestésicos propriamente ditos, hipnóticos, analgésico opióides e sedativos (SARTORI AS e MELLO JR Bd, 2018).

Dentre as técnicas citadas da literatura, encontram-se as associações de quetamina/xilazina, quetamina/xilazina/fentanil, etomidato/xilazina, midazolam/dexmedetomidina, propofol/fentanil; entre outras (FORTEA JI, et al., 2020; GREENFIELD EA, 2019; SEABRA DI, 2019; SARTORI AS e MELLO JR Bd, 2018)

Esses agentes podem ser administrados pela via intraperitoneal por ser uma via de fácil acesso para o pesquisar e por causar mínimo estresse para o animal, contudo essas técnicas produzem uma sedação prolongada e o animal só retorna à consciência plena após horas, podendo levar o animal a hipotermia e perda de fluidos (FORTEA JI, et al., 2020; TSUKAMOTO A, et al., 2018, ALBRECHT M, et al., 2014).

No contexto da cirurgia experimental, a laparotomia é o procedimento mais utilizado pelos pesquisadores, das mais variadas áreas, para experimentação de novas possibilidades terapêuticas.

Esse fato se deve a facilidade de acesso aos órgãos abdominais do rato, que em grande parte dos procedimentos experimentais precisam ser manipulados. por sua grande importância e vasto uso na pesquisa experimental, foi o procedimento de escolha para a avaliação dos protocolos anestésicos que serão testados (OGUZ A, et al., 2020; DERA-SZYMANOWSKA A, et al., 2020; CAO Y, et al., 2020; FONTOURA-ANDRADE JL, et al., 2020).

Para a utilização de animais em pesquisas, a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) estabelece princípios éticos básicos, dentro os quais o mais primordial é manter uma postura de respeito pelo animal, visto que é um ser dotado de sensibilidade, memória e sofrimento semelhante ao ser humano. Logo, qualquer procedimento que possa causar dor, como uma laparotomia, deve ser realizado com sedação, analgesia e/ou anestesia adequada (BRASIL, 2021).

Ressalta-se a importância da estratificação em Graus de Invasividade (GI) que a CEUA exige na hora de submissão de um projeto. Essa divisão varia em quatro graus (GI1 – GI4) que são classificados de acordo com desconforto, estresse, dor, sofrimento e traumas causados pelos experimentos.

A classificação é a seguinte: GI1 é referente a experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse; GI2 são procedimentos que causem estresse, desconforto ou dor de leve intensidade; GI3 refere-se a experimentos que causem desconforto, sofrimento ou dor de intermediária intensidade; GI4 são procedimentos que causam dor em alta intensidade (BRASIL, 2022).

A ovariosalpingohisterectomia proposta nesse trabalho é classificada como GI3 por ser realizada via laparotomia. Logo, necessita-se de um protocolo anestésico bem estabelecido para garantir o conforto do animal e evitar sofrimento desnecessário. Ademais, cabe ao pesquisador e ao veterinário responsável a responsabilidade de garantir o bem-estar animal durante todos os procedimentos empregados na pesquisa. (SOUZA VR, et al., 2019; SOPHOCLEOUS A e IDRIS AI, 2019; TSUKAMOTO A, et al., 2018; KHAJURIA DK, et al., 2012).

Contudo, ainda é carente a informação na literatura de um protocolo com consenso de doses de anestésicos para realização de tais procedimentos. Sendo assim, faz-se necessário a realização de pesquisas relacionadas a produção de um protocolo anestésico confiável e compatível para cada tipo de procedimento, evitando-se assim dor e sofrimento animal desnecessários (SEABRA DI, 2019; GREENFIELD EA, 2019; SARTORI AS e MELLO JRBd, 2018).

Por isso, verificou-se a necessidade de estabelecer protocolos anestésicos que possam ser realizados em procedimentos invasivos como laparotomias, e que mantenham os parâmetros fisiológicos compatíveis com a espécie do animal, promovendo analgesia e reduzindo o estresse cirúrgico. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes protocolos anestésicos na realização de OSH em ratas Wistar pela verificação dos parâmetros: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura (T°), tempo de indução e manutenção.

MÉTODOS

A pesquisa seguiu os preceitos da lei 11.794/08, e os Princípios Éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - CESUPA) sendo aprovado sob o protocolo nº02/2021. Caracteriza-se como um estudo experimental, prospectivo, longitudinal, com intervenção. Foram utilizadas 28 ratas da linhagem Wistar, adultas, com idade de aproximadamente 120 dias, pesando entre 260 a 330g, provenientes do Biotério de Reprodução do Instituto Evandro Chagas, Belém-PA.

Os animais foram distribuídos randomicamente em 5 grupos com diferentes protocolos anestésicos (descritos abaixo), contendo ratas 7 cada, submetidas à OSH e monitoradas durante todo o procedimento cirúrgico e nos primeiros 75 minutos do pós-operatório.

- Grupo Quetamina + Xilazina (**QX**): anestesiadas com a associação de Quetamina 80 mg/Kg + Xilazina 20mg/kg, pela via intraperitoneal; - Grupo Quetamina + Xilazina + Fentanil (**QXF**): anestesiadas com a associação de: Quetamina 60 mg/Kg + Xilazina 8 mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg. - Grupo Quetamina + Midazolam (**QM**): anestesiadas com a associação de: Quetamina 70 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg. - Grupo Quetamina + Midazolam + Fentanil (**QMF**): anestesiadas com a associação de: Quetamina 60 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg.

Os animais foram avaliados e monitorados após a administração da primeira dose anestésica de cada um dos protocolos de acordo com o tempo necessário para a perda dos reflexos caudal, movimentação de vibrissas e ausência de reflexo após preensão interdigital. Esse tempo foi denominado de tempo de indução.

A partir da indução anestésica foram avaliados a cada 5 minutos, até o fim da cirurgia, os seguintes dados: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura (T°), avaliados com uso do monitor multiparamétrico veterinário R1000 (RZVET). O tempo total de cirurgia também foi registrado. Para realização

da OSH os animais foram posicionados em decúbito dorsal, sendo feita a tricotomia, antissepsia e colocação de campo fenestrado. Foi realizada a laparotomia, seguida de exploração da identificação dos cornos uterinos e os ovários bilateralmente. A ligadura dos ovários e do corno uterino, assim como da musculatura e pele foram realizadas com fio de nylon 3-0.

Ao término da cirurgia, os animais foram acomodados em decúbito lateral em gaiolas individuais, sendo monitorados até 75 minutos após o procedimento (T75) e observados até apresentarem marcha com coordenação. Para a verificação da FC foi utilizado um estetoscópio neonatal, os batimentos foram verificados por 15 segundos e o valor obtido multiplicado por 4 para registro do parâmetro em batimentos por minuto (bpm). A monitorização da FR foi realizada contando visualmente o número de incursões respiratórias do animal, pela movimentação da caixa torácica, em um período de um minuto e registradas em incursões respiratórias por minuto (irpm). A temperatura foi verificada por meio de um termômetro digital por via intrarretal. Após o tempo de verificação do próprio aparelho os valores foram anotados em graus celsius (°C).

Foram avaliados a FC, FR e T° a cada 15 minutos após o término do procedimento operatório, até completar 75 minutos do fim da cirurgia. O tempo decorrido da indução anestésica até o início da movimentação do animal foi documentado e considerado como o tempo total de anestesia. O tempo decorrido da indução anestésica até a marcha com coordenação foi considerado o tempo total de recuperação.

Após o período de observação pós-operatória os animais foram submetidos à eutanásia com sobredose anestésica de Quetamina e Xilazina e as carcaças foram direcionadas ao lixo biológico da instituição. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (com pós-teste de Dunn, quando necessário) para comparar os parâmetros avaliados entre os diferentes grupos. As análises foram executadas com o auxílio do programa Graphpad Prism 9 2.0 e foi adotado o nível de significância igual a 0,05.

RESULTADOS

Com relação ao tempo total de anestesia e tempo de recuperação, não foi observada diferença estatística entre os grupos avaliados ($p > 0,05$), de modo que nas condições deste estudo não foi identificado um protocolo que se sobressaísse nesse aspecto, como apresentado na (Tabela 1).

Tabela 1 - Comparação do peso e dos parâmetros operatórios, segundo o grupo.

| Variável | Grupo | | | | p-valor* |
|----------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------|
| | QM | QMF | QX | QXF | |
| Peso (g) | | | | | |
| Mínimo – Máximo | 260 – 295 | 270 – 310 | 260 – 330 | 270 – 290 | 0,6704 |
| Média ± desvio padrão | 277,9 ± 13,5 | 287,1 ± 14,1 | 284,3 ± 22,25 | 282,1 ± 8,59 | |
| IC 95% | 265,4 – 290,3 | 274,1 – 300,2 | 263,7 – 304,9 | 274,2 – 290,1 | |
| Tempo de indução (min.) | | | | | |
| Mínimo – Máximo | 5 – 10 | 5 – 17 | 1 – 10 | 4 – 10 | 0,0507 |
| Média ± desvio padrão | 9,3 ± 3,7 | 8,6 ± 3,9 | 5,1 ± 3,0 | 5,7 ± 2,2 | |
| IC 95% | 5,9 – 12,7 | 5,0 – 12,2 | 2,4 – 7,9 | 3,7 – 7,8 | |
| Tempo de cirurgia (min.) | | | | | |
| Mínimo – Máximo | 10 – 27 | 12 – 19 | 9 – 20 | 12 – 15 | 0,7640 |
| Média ± desvio padrão | 16,6 ± 7,0 | 15,3 ± 2,4 | 13,9 ± 4,6 | 13,9 ± 1,2 | |
| IC 95% | 10,1 – 23,1 | 13,0 – 17,5 | 9,6 – 18,1 | 12,7 – 15,0 | |
| Tempo total de anestesia (min.) | | | | | |
| Mínimo – Máximo | 92 – 308 | 73 – 206 | 127 – 360 | 83 – 176 | 0,1095 |
| Média ± desvio padrão | 186,1 ± 93,3 | 137,1 ± 51,7 | 225,4 ± 75,9 | 147,7 ± 31,8 | |
| IC 95% | 99,9 – 272,4 | 89,3 – 185 | 155,2 – 295,6 | 118,3 – 177,1 | |
| Tempo total até recuperação (h) | | | | | |
| Mínimo – Máximo | 3 – 7,8 | 4 – 7 | 6,1 – 9,5 | 4,1 – 7,8 | 0,1187 |
| Média ± desvio padrão | 5,9 ± 1,6 | 5,8 ± 1,2 | 7,4 ± 1,1 | 5,7 ± 1,4 | |
| IC 95% | 4,4 – 7,4 | 4,8 – 6,9 | 6,3 – 8,4 | 4,4 – 7,1 | |

Legenda: *Teste de Kruskal-Wallis. min.: minutos. h: horas. **QX:** grupo quetamina + xilazina. **QXF:** grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM:** grupo quetamina + midazolam. **QMF:** grupo quetamina + midazolam + fentanil.

Fonte: Franco PP, et al., 2024.

Tabela 2 - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

| Grupo | Tempo | | | |
|-------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | T0 | T5 | T10 | T15 |
| QM | | | | |
| Mín. – Máx. | 296 – 448 | 262 – 410 | 240 – 428 | 280 – 312 |
| Média ± dp | 381,3 ± 53,71 | 325,3 ± 56,26 ^a | 313,7 ± 63,53 | 296 ± 22,63 |
| IC 95% | 331,6 – 431 | 273,3 – 377,3 | 247 – 380,3 | 92,7 – 499,3 |
| QMF | | | | |
| Mín. – Máx. | 240 – 470 | 256 – 488 | 184 – 400 | 317 – 430 |
| Média ± dp | 400,4 ± 78,74 ^a | 369,0 ± 76,98 ^b | 314,2 ± 72,88 ^a | 368,3 ± 57,2 ^a |
| IC 95% | 327,6 – 473,3 | 297,8 – 440,2 | 237,7 – 390,6 | 226,2 – 510,4 |
| QX | | | | |
| Mín. – Máx. | 260 – 420 | 220 – 312 | 214 – 276 | 216 – 248 |
| Média ± dp | 321,6 ± 60,23 | 262,3 ± 36,85 | 245,5 ± 25,79 | 234,7 ± 16,65 ^a |
| IC 95% | 265,9 – 377,3 | 228,2 – 296,4 | 204,5 – 286,5 | 193,3 – 276 |
| QXF | | | | |
| Mín. – Máx. | 140 – 356 | 120 – 280 | 120 – 304 | 192 – 264 |
| Média ± dp | 271,4 ± 87,1 ^a | 209,3 ± 58,13 ^{a,b} | 217,3 ± 75,08 ^a | 238,7 ± 40,46 |
| IC 95% | 190,9 – 352 | 155,5 – 263 | 138,5 – 296,1 | 138,1 – 339,2 |
| p-valor | 0,0020 [†] | 0,0025 [†] | 0,0424 [†] | 0,0055 [†] |

Legenda: Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. [†]Estatisticamente significativo. As letras sobrescritas indicam os grupos estatisticamente diferentes quando comparados entre si. **QX:** grupo quetamina + xilazina. **QXF:** grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM:** grupo quetamina + midazolam. **QMF:** grupo quetamina + midazolam + fentanil.

Fonte: Franco PP, et al., 2024.

A **Tabela 2** apresenta os dados da FC no período transoperatório. As medidas foram significativamente diferentes entre os grupos **QMF** e **QXF** em T0 (p=0,0020), entre **QM** e **QXF** e entre **QMF** e **QXF** em T5 (p=0,0025), entre **QMF** e **QXF** em T10 (p=0,0424) e entre **QX** e **QX** em T15 (p=0,0055).

O grupo **QMF** apresentou a maior FC em todos os tempos do transoperatório, enquanto o grupo **QXF** apresentou os menores valores, com exceção de T15, onde o grupo **QX** apresentou a menor média.

Apesar da diferença estatística observada, apenas os grupos **QX** e **QXF** apresentaram valores de FC abaixo dos valores considerados normais para a espécie (250-600 bpm) em T10 -T15 e T5 -T15 respectivamente.

Quanto às medidas da FR, dispostas na **Tabela 3**, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados em todo o período transoperatório, no entanto é importante ressaltar que as médias de FR foram menores que o parâmetro fisiológico padronizado para a espécie (<70 irpm) nos grupos **QX** e **QXF** em T5 e T10, e no grupo **QXF** em T15;

Tabela 3 - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

| Grupo | Tempo | | | |
|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| | T0 | T5 | T10 | T15 |
| QM | | | | |
| Mín. – Máx. | 34 – 127 | 70 – 104 | 59 – 122 | 75 – 85 |
| Média ± dp | 81,3 ± 34,0 | 82,9 ± 14,7 | 84,3 ± 22,2 | 80 ± 7,0 |
| IC 95% | 49,9 – 112,7 | 69,3 – 96,5 | 61,1 – 107,6 | 16,5 – 143,5 |
| QMF | | | | |
| Mín. – Máx. | 36 – 120 | 36 – 120 | 48 – 120 | 73 – 89 |
| Média ± dp | 86,6 ± 31,8 | 69,6 ± 31,1 | 79 ± 25,9 | 81 ± 8 |
| IC 95% | 57,2 – 116,0 | 40,8 – 98,3 | 51,8 – 106,2 | 61,1 – 100,9 |
| QX | | | | |
| Mín. – Máx. | 59 – 107 | 54 – 87 | 55 – 88 | 50 – 93 |
| Média ± dp | 84,7 ± 19,2 | 68,9 ± 13,0 | 68,8 ± 15,3 | 70,3 ± 21,6 |
| IC 95% | 67,0 – 102,4 | 56,8 – 80,9 | 44,4 – 93,1 | 16,7 – 124 |
| QXF | | | | |

| | | | | |
|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|
| Mín. – Máx. | 50 – 105 | 52 – 97 | 43 – 80 | 42 – 103 |
| Média ± dp | 70,6 ± 18,6 | 68,1 ± 15,0 | 62,2 ± 16,0 | 64,7 ± 33,4 |
| IC 95% | 53,4 – 87,7 | 54,3 – 82,0 | 45,3 – 79 | -18,3 – 147,6 |
| p-valor | 0,6786 | 0,2875 | 0,2452 | 0,8439 |

Legenda: Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. QX: grupo quetamina + xilazina. QXF: grupo quetamina + xilazina + fentanil. QM: grupo quetamina + midazolam. QMF: grupo quetamina + midazolam + fentanil.

Fonte: Franco PP, et al., 2024.

Na análise da T°C no período transoperatório também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Nesse aspecto todos os grupos mantiveram T°C dentro do esperado (35,9°C – 37,5°C) em T0. Já em T5, T10 e T15 todos os protocolos apresentaram temperatura abaixo do padronizado para a espécie. As temperaturas tenderam a queda a partir de T0 em todos os grupos. No pós-operatório, os valores de FC não apresentaram diferença estatisticamente significativa nos tempos T0, T15, T30 e T45, como mostrado na **Tabela 4**.

No entanto, quando comparados os grupos **QX** e **QMF** foi verificada significância estatística nos tempos T60 e T75 (p=0,0317 e p=0,0268 respectivamente). O grupo **QMF** apresentou maior média nos dois tempos, seguido por **QM**, **QXF** e **QX**.

É importante ressaltar que em T15, T30 e T45, o grupo **QMF** foi o único que apresentou valores considerados normais (maiores de 250bpm) para a espécie, sendo que em T60 e T75 o **QX** foi o único que apresentou valores abaixo da normalidade.

Tabela 4 - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

| Grupo | Tempo | | | | | |
|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| | T0 | T15 | T30 | T45 | T60 | T75 |
| QM | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 168 – 330 | 160 – 252 | 145 – 304 | 158 – 376 | 180 – 336 | 172 – 508 |
| Média ± dp | 262,3 ± 54,4 | 209,5 ± 39,6 | 220,7 ± 56,4 | 245 ± 79,7 | 261 ± 60,5 | 314,7 ± 128,6 |
| IC 95% | 205,3 – 319,4 | 168 – 251 | 161,5 – 279,8 | 161,4 – 328,6 | 197,6 – 324,4 | 179,7 – 449,7 |
| QMF | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 184 – 376 | 33,8 – 390 | 34 – 505 | 35,1 – 520 | 36,9 – 514 | 36,5 – 648 |
| Média ± dp | 278,2 ± 82,34 | 264 ± 132,6 | 323,8 ± 161,4 | 345 ± 180 | 339,7 ± 177,2 ^a | 360,1 ± 211,8 ^a |
| IC 95% | 191,8 – 364,6 | 124,8 – 403,2 | 154,5 – 493,2 | 156,1 – 533,9 | 153,7 – 525,6 | 137,8 – 582,3 |
| QX | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 212 – 280 | 152 – 252 | 128 – 236 | 116 – 248 | 128 – 212 | 156 – 204 |
| Média ± dp | 243,3 ± 27,2 | 214 ± 35,4 | 199 ± 38,9 | 185,3 ± 45,6 | 181,3 ± 28,1 ^a | 179,3 ± 16,5 ^a |
| IC 95% | 214,8 – 271,9 | 176,9 – 251,1 | 158,2 – 239,8 | 137,5 – 233,2 | 151,8 – 210,9 | 162 – 196,6 |
| QXF | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 120 – 320 | 128 – 250 | 124 – 292 | 144 – 328 | 196 – 368 | 196 – 348 |
| Média ± dp | 208,6 ± 74,1 | 199,7 ± 38,0 | 218 ± 53,3 | 230,9 ± 57,3 | 265,4 ± 62,8 | 269,1 ± 51,9 |
| IC 95% | 140 – 277,1 | 164,6 – 234,8 | 168,7 – 267,3 | 177,9 – 283,8 | 207,4 – 323,5 | 221,1 – 317,2 |
| p-valor | 0,3988 | 0,4583 | 0,1042 | 0,0745 | 0,0317 [†] | 0,0268 [†] |

Legenda: Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. [†]Estatisticamente significativo. As letras sobrescritas indicam os grupos estatisticamente diferentes quando comparados entre si. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil.

Fonte: Franco PP, et al., 2024.

Os dados de FR no pós-operatório estão apresentados nos Tabela 5, e não apresentaram diferença estatisticamente significativa em T0, T15 e T30. Nos tempos T45, T60 e T75 foi observada significância quando comparados **QM**, **QMF** e **QX** (p=0,0492; p=0,0347; p=0,0071).

Sendo o **QM** com maior média de FR nesses tempos, seguido por **QMF**, **QXF** e **QX**. Também foi verificado neste parâmetro, que em T0 o grupo **QXF** apresentou valores abaixo do padrão para ratos, enquanto em T15 e T30 tanto o grupo **QXF** quanto o grupo **QX** apresentaram valores menores que o preconizado. Esse parâmetro reduzido se manteve nos tempos T45, T60 e T75 no grupo **QX**.

Tabela 5 - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

| Grupo | Tempo | | | | | |
|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|------------------------|---------------------------|
| | T0 | T15 | T30 | T45 | T60 | T75 |
| QM | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 48 – 107 | 63 – 96 | 67 – 101 | 68 – 105 | 62 – 111 | 66 – 123 |
| Média ± dp | 84,5 ± 20,4 | 77,2 ± 13,7 | 80 ± 12,1 | 84,8 ± 15,5 | 86 ± 15,6 ^a | 85,8 ± 20,1 ^a |
| IC 95% | 63,1 – 105,9 | 62,8 – 91,53 | 67,3 – 92,68 | 68,6 – 101,1 | 69,6 – 102,4 | 64,7 – 106,9 |
| QMF | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 62 – 107 | 64 – 92 | 60 – 102 | 71 – 104 | 72 – 96 | 75 – 87 |
| Média ± dp | 78,3 ± 16,7 | 78,7 ± 9,8 | 82,7 ± 16,4 | 84,8 ± 12,9 ^a | 81,7 ± 9,1 | 81,2 ± 4,7 ^b |
| IC 95% | 60,8 – 95,9 | 68,4 – 88,9 | 65,5 – 99,8 | 71,3 – 98,3 | 72,1 – 91,2 | 76,2 – 86,1 |
| QX | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 55 – 101 | 48 – 83 | 46 – 90 | 40 – 86 | 54 – 72 | 46 – 61 |
| Média ± dp | 70,2 ± 17,4 | 64,7 ± 13,7 | 63 ± 15,1 | 60,2 ± 15,9 ^a | 60 ± 6,6 ^a | 56,2 ± 5,9 ^{a,b} |
| IC 95% | 51,9 – 88,4 | 50,3 – 79,0 | 47,1 – 78,9 | 43,5 – 76,9 | 53,1 – 66,9 | 50,0 – 62,4 |
| QXF | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 41 – 81 | 42 – 88 | 41 – 83 | 42 – 123 | 40 – 119 | 44 – 123 |
| Média ± dp | 64,3 ± 15,1 | 68,1 ± 15,9 | 67,1 ± 14,3 | 73,6 ± 26,2 | 75,4 ± 28,6 | 78,4 ± 28,0 |
| IC 95% | 50,3 – 78,3 | 53,4 – 82,9 | 53,9 – 80,4 | 49,3 – 97,8 | 49,0 – 101,9 | 52,6 – 104,3 |
| p-valor | 0,2078 | 0,3311 | 0,0876 | 0,0492 [†] | 0,0347 [†] | 0,0071 [†] |

Legenda: Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. [†]Estatisticamente significativo. As letras sobrescritas indicam os grupos estatisticamente diferentes quando comparados entre si. **QX:** grupo quetamina + xilazina. **QXF:** grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM:** grupo quetamina + midazolam. **QMF:** grupo quetamina + midazolam + fentanil.

Fonte: Franco PP, et al., 2024.

Os dados da T⁰ no pós-operatório estão dispostos na Tabela 6. Todos os grupos apresentaram valores menores do que o padrão (35,9°C) nos tempos T15, T30, T45, T60, sendo que em T75 o grupo **QMF** foi o único que apresentou temperatura considerada normal para a espécie. Não foi identificada diferença estatística em T0. Nos tempos T15 entre **QX** e **QMF** (p=0,0367); T30 e T45 entre **QMF**, **QXF** e **QX** (p=0,0032 e p=0,0019); T60 e T75 entre **QMF** e **QX** (p=0,0016; p=0,0022) foi verificada significância estatística. Sendo o **QMF** o grupo que apresentou maior média de T°C, seguido por **QM**, **QXF** e **QX**.

Tabela 6 – Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

| Grupo | Tempo | | | | | |
|-------------|-------------|-------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | T0 | T15 | T30 | T45 | T60 | T75 |
| QM | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 32,8 – 35,3 | 32,4 – 34,6 | 32 – 34,1 | 32 – 34 | 32 – 35,8 | 31,2 – 35,1 |
| Média ± dp | 34,3 ± 0,9 | 33,2 ± 0,9 | 32,9 ± 0,8 | 33,0 ± 0,8 | 33,4 ± 1,5 | 33,3 ± 1,5 |
| IC 95% | 33,4 – 35,2 | 32,3 – 34,1 | 32,1 – 33,7 | 32,1 – 33,8 | 31,8 – 34,9 | 31,7 – 34,8 |
| QMF | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 33,6 – 35,7 | 33,3 – 34,7 | 32,8 – 34,7 | 32,7 – 36,9 | 32,8 – 38,1 | 33,6 – 37,7 |
| Média ± dp | 34,67 ± 0,8 | 34,1 ± 0,5 ^a | 34,07 ± 0,7 ^{a,b} | 34,8 ± 1,5 ^{a,b} | 35,53 ± 2,0 ^a | 36,1 ± 1,4 ^a |
| IC 95% | 33,8 – 35,5 | 33,6 – 34,6 | 33,4 – 34,8 | 33,3 – 36,3 | 33,5 – 37,6 | 34,6 – 37,5 |
| QX | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 32 – 35 | 32,1 – 33,4 | 32 – 32,2 | 32 – 32,3 | 32 – 32,1 | 32 – 32 |
| Média ± dp | 33,0 ± 1,1 | 32,8 ± 0,5 ^a | 32,1 ± 0,1 ^a | 32,1 ± 0,1 ^a | 32,0 ± 0,0 ^a | 32 ± 0,0 ^a |
| IC 95% | 32,8 – 35,0 | 32,3 – 33,2 | 32,0 – 32,2 | 31,9 – 32,2 | 32,0 – 32,1 | 32 – 32 |
| QXF | | | | | | |
| Mín. – Máx. | 32,2 – 35 | 32 – 34,5 | 32 – 32,9 | 32 – 32,8 | 32 – 33,3 | 32 – 34,2 |
| Média ± dp | 34,1 ± 1,0 | 33,3 ± 0,8 | 32,4 ± 0,4 ^b | 32,3 ± 0,3 ^b | 32,5 ± 0,5 | 32,9 ± 0,9 |
| IC 95% | 33,2 – 35,0 | 32,6 – 34,0 | 32,1 – 32,7 | 32,0 – 32,6 | 32,0 – 33,0 | 32,1 – 33,8 |
| p-valor | 0,5474 | 0,0367 [†] | 0,0032 [†] | 0,0019 [†] | 0,0016 [†] | 0,0022 [†] |

Legenda: Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. [†]Estatisticamente significativo. As letras sobrescritas indicam os grupos estatisticamente diferentes quando comparados entre si. **QX:** grupo quetamina + xilazina. **QXF:** grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM:** grupo quetamina + midazolam. **QMF:** grupo quetamina + midazolam + fentanil.

Fonte: Franco PP, et al., 2024.

DISCUSSÃO

A utilização de protocolos anestésicos adequados na pesquisa experimental é essencial no cumprimento dos preceitos éticos que regem a legislação vigente. A anestesia, seguindo seus princípios, é fundamental para o sucesso de qualquer procedimento cirúrgico e interfere diretamente na recuperação pós-operatória.

Com relação à FC no período transoperatório, evidenciou-se valores abaixo da normalidade para a espécie (250-600 bpm) (Batista FA, et al., 2018) apresentadas pelo grupo **QXF** nos tempos T5, T10, T15 e do grupo **QX** em T10, T15. Como descrito por Gergye CH, et al., (2020) e Albrecht M, et al., 2014 a Xilazina tem importante efeito cronotrópico negativo. Tsukamoto A, et al., (2018) também descreveu que a associação entre Quetamina e Xilazina leva a bradicardia acentuada. A presença de bradicardia está relacionada com complicações como a hipoperfusão tecidual nos animais, o que não é desejado dentro do contexto descrito.

No período pós-operatório, apenas o grupo **QMF** apresentou valores de FC dentro do intervalo de normalidade para a espécie em todos os tempos. O grupo que apresentou menor FC no T30, T45, T60 e T75 foi o grupo **QX**. Tais dados como descrito por Tsukamoto A, et al., (2018) e Gergye CH, et al., (2020) pode ser explicado pelo uso da associação Quetamina e Xilazina. Apesar de não ter sido observada significância estatística na comparação das medias de FR dos grupos no período transoperatório, alguns deles obtiveram valores de média menores do que o fisiológico para a espécie (70-150 irpm) em alguns tempos. O grupo **QX** foi o que apresentou valores de FR mais baixos, corroborando com o descrito por Tsukamoto A, et al., (2018) doses mais altas de Quetamina estão associadas a maior depressão respiratória.

Gergye CH, et al., (2020) associou a Quetamina a um o maior tempo em bradipneia e levando a acidose respiratória desses animais, que também foi descrita por Cicero L., et al. (2018). No período pós-operatório, é importante citar que os grupos **QX** e **QXF** apresentaram valores de FR abaixo do esperado para a espécie, corroborando com a depressão respiratória causada pela dose de Quetamina com descrito por Tsukamoto A, et al., (2018) e Gergye CH, et al., (2020).

Os valores de T°C no período transoperatório se mantiveram com média dentro do esperado pela espécie (35,9°-37,5°C) (BATISTA FA, et al., 2018) em todos os grupos em T0, nos demais tempos todos os grupos mantiveram média abaixo do ideal para a espécie. Nos protocolos **QX** e **QXF** a hipotermia pode ser justificada pelo uso da Xilazina como descrito por Cicero et al. (2018), que descreve a relação da hipotermia com alterações no metabolismo cerebral dos ratos e presença de lesões em anestésias prolongadas.

No pós-operatório todos os grupos permaneceram com média de temperatura abaixo do esperado até o T75 quando o **QMF** apresentou média dentro do estabelecido para a espécie. A hipotermia pode retardar a recuperação anestésica e um fator de prognóstico ruim para o animal (CICERO L, et al., 2018).

O uso de recursos para controle da hipotermia favorece recuperação anestésica mais rápida dos animais. Albrecht M, et al. (2014) diz que o aquecimento até mesmo no período pré-operatório pode ser benéfico por reduzir o tempo de perda de calor do rato. Tashiro M, et al. (2020) estabeleceu que tempo necessário de aquecimento dos animais fosse de cinco horas para induções injetáveis e uma hora para induções inalatórias para chegar a normotermia. A análise clínica subjetiva dos animais no período de recuperação anestésica evidenciou reflexos de dor mais pronunciados nos grupos que não tinham analgésico opióide associados ao protocolo (**QXF** e **QMF**).

O uso do fentanil como descrito por Célèrier E, et al., (2000) e Lipiski M, et al., (2017) está associado a menor percepção do estímulo nociceptivo a curto prazo (até uma hora) e a longo prazo (5 horas). Tal efeito ainda é potencializado se o opióide for associado a Quetamina. O controle da dor nesse contexto é essencial por questões éticas e por impedir as alterações hemodinâmicas causadas por ela.

Uma alternativa na intenção de reduzir o efeito dos agentes anestésicos é utilizando drogas antagonistas como flumazenil e naloxone. Como descrito por Fleischman T, et al., (2016) a reversão da anestesia com o uso de antagonistas antecipa em muito o tempo de recuperação anestésica e o controle corporal de temperatura além de normalização de FC e FR. O menor tempo sob ação das drogas anestésicas é fator de melhor prognóstico e sobrevida do animal. Os esforços para encontrar melhores protocolos anestésicos que

favoreçam os resultados e interesses do pesquisador assim como promovam o bem-estar animal devem continuar. Cada hipótese científica, desenho experimental e intervenção a ser pesquisada demanda diferentes combinações de agentes, doses e vias de administração. Cabe a comunidade científica o empenho na pesquisa e validação de um protocolo anestésico que seja seguro e respeite as necessidades de cada espécie, de forma a garantir o bem-estar animal.

CONCLUSÃO

A análise dos resultados permitiu concluir que, apesar da pouca diferença entre os protocolos testados neste estudo, a associação Quetamina, Midazolam e Fentanil (**QMF**) foi a que manteve os parâmetros de FC, FR e T°C em valores mais próximos da normalidade considerada para a espécie. Além disso, a análise clínica subjetiva mostrou a importância do uso de analgésicos na redução dos reflexos álgicos na recuperação pós-anestésica, destacando-se os protocolos que utilizaram o Fentanil que levaram à menor expressão de reflexos dolorosos pelos animais.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Agradecemos ao Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA) pelo estímulo e apoio durante todas as etapas desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. ALBRECHT M, et al. Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in Wistar rats. *BMC veterinary research*. 2014; 10(1): 198.
2. BATISTA FA, et al. Animal Lab CAre. Version 1.0 [software]. Universidade do Estado do Pará. 2018.
3. BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Dispõe sobre os formulários unificados para solicitação de autorização para uso de animais em ensino ou pesquisa científica e sobre a autorização e certificação pelas Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUAs. Resolução Normativa CONCEA Nº52, Acessado em: 19 de maio de 2021.
4. BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica - DBCA. Resolução Normativa CONCEA Nº55. Acessado em: 5 de outubro de 2022.
5. CAO Y, et al. Neurofilament degradation is involved in laparotomy-induced cognitive dysfunction in aged rats. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12(24): 25643-57.
6. CÉLÉRIER E, et al. Long-lasting hyperalgesia induced by fentanyl in rats preventive effect of ketamine. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2000; 92(2): 465.
7. CICERO L, et al. Anesthesia protocols in laboratory animals used for scientific purposes. *Acta Biomed*. 2018; 89(3): 337-42.
8. DERA-SZYMANOWSKA A, et al. Immunomodulation inhibits the development of endometriosis in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2020; 71(1).
9. DOBLER, GH, et al. Considerações na Anestesia de Animais de Laboratório. *Revista Contexto & Saúde*, 2019; 19(36).
10. FAUSTINO-ROCHA, A, et al. O papel do rato na investigação biomédica. *Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária*, 2019; 10: 49-61.
11. FLEISCHMANN T, et al. Injection anaesthesia with fentanyl–midazolam–medetomidine in adult female mice: importance of antagonization and perioperative care. *Laboratory animals*. 2016; 50(4): 264-74.
12. FONTOURA-ANDRADE JL, et al. Effect of preconditioning and postoperative hyperbaric oxygen therapy on colonic anastomosis healing with and without ischemia in rats. *Acta Cir Bras*. 2020; 35(5): 202000503.
13. FORTEA JI, et al. Sevoflurane versus ketamine+diazepam anesthesia for assessing systemic and hepatic hemodynamics in rats with non-cirrhotic portal hypertension. *PLoS One*. 2020; 15(5): 0233778.
14. GERGYE CH, et al. A Comparison of Ketamine or Etomidate Combined with Xylazine for Intraperitoneal Anesthesia in Four Mouse Strains. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2020; 59(5): 519-30.
15. GREENFIELD EA. Administering Anesthesia to Mice, Rats, and Hamsters. *Cold Spring Harb Protoc*. 2019; 6.

16. KHAJURIA DK, et al. Descrição de um novo método de ooforectomia em ratas. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2012; 52(3): 466-70.
17. LIPISKI M, et al. Premedication with fentanyl-midazolam improves sevoflurane anesthesia for surgical intervention in laboratory mice. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017; 242(12): 1287-98.
18. OGUZ A, et al. Investigation of antioxidant effects of rosmarinic acid on liver, lung and kidney in rats: a biochemical and histopathological study. *Folia Morphol (Warsz)*. 2020; 79(2): 288-95.
19. SARTORI AS e MELLO JRBD. Anestesia em animais de laboratório: Revisão Bibliográfica. *Vet Foco*. 2018; 19-28.
20. SEABRA DI. Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019; 130.
21. SOPHOCLEOUS A e IDRIS AI. Ovariectomy/Orchiectomy in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2019; 1914: 261-7.
22. SOUZA VR, et al. Description of Ovariectomy Protocol in Mice. *Methods Mol Biol*. 2019; 1916: 303-9.
23. TASHIRO M, et al. Duration of thermal support for preventing hypothermia induced by anesthesia with medetomidine-midazolam-butorphanol in mice. *J Vet Med Sci*. 2020; 82(12): 1757-62.
24. TSUKAMOTO A, et al. The validity of anesthetic protocols for the surgical procedure of castration in rats. *Experimental animals*. 2018; 18-0003.