

Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica

Amanda Santos Sartori
João Roberto Braga de Mello

RESUMO

A anestesia em animais de laboratório deve ser realizada sempre que um procedimento implique dor ou desconforto aos animais. O sucesso da anestesia depende do tipo de drogas, doses e vias de administração utilizadas, além dos cuidados com a redução do estresse e controle da dor. O presente estudo revisa as principais técnicas anestésicas em animais de laboratório, os fármacos mais indicados para a realização da medicação pré-anestésica, indução e a manutenção anestésica, visando estabelecer um protocolo que melhore o bem-estar dos animais e os resultados dos procedimentos experimentais.

Palavras-chave: Anestésicos. Animais de experimentação. Fármacos.

Anesthesia in laboratory animals: Case report

ABSTRACT

Anesthesia in laboratory animals should be performed when a procedure involves pain or discomfort to animals. The success of anesthesia depends on the type of drugs, doses, routes of administration employed, in addition to the management of stress and pain control. This study reviews the main anesthetic techniques in laboratory animals, the most suitable drugs for the pre-anesthetic medication, induction and maintenance of anesthesia, aiming therefore to establish a protocol to improve the welfare of animals and the results of experimental procedures.

Keywords: Anaesthetic. Experimental animals. Drugs.

INTRODUÇÃO

A anestesia em animais de laboratório deve ser realizada sempre que o procedimento implique dor ou desconforto aos animais. A seleção adequada da anestesia deve refletir o julgamento profissional do médico veterinário, de modo a atender às necessidades dos protocolos de pesquisa. A seleção depende de muitos fatores, como espécie, linhagem e idade dos animais, nível de dor, natureza e duração da cirurgia ou procedimento que induza à dor, além da segurança dos agentes anestésicos (KONA-BOUN et al., 2005).

Amanda Santos Sartori – Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias na Universidade federal do Rio Grande do Sul.

João Roberto Braga de Mello – Professor Doutor no Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Farmacologia na Universidade federal do Rio Grande do Sul.

Veterinária em Foco	Canoas	v.15	n.2	p.19-28	jan./jun. 2018
---------------------	--------	------	-----	---------	----------------

DESENVOLVIMENTO

Anestesia em animais de laboratório é particularmente difícil devido aos seguintes fatores que se relacionam ao pequeno tamanho corporal dos animais: hipotermia, alta taxa metabólica e a ausência de sinais clínicos confiáveis das funções respiratórias e cardiovasculares (FUEGER et al., 2006). Além disso, muitos anestésicos causam depressão dose-dependente e as alterações podem variar consideravelmente com os diferentes agentes. O nível de consciência, o grau de antinocicepção (diminuição da capacidade de percepção ao estímulo doloroso) e o estado dos sistemas cardiovascular, respiratório, musculoesquelético e termorregulador devem ser observados na verificação da adequação do regime anestésico. A interpretação e as respostas apropriadas aos vários parâmetros aferidos requerem treinamento e experiência do médico veterinário com os diferentes protocolos anestésicos e as várias espécies animais (MASON; BOWN, 1997).

A preservação do calor do corpo é parte integrante da gestão do anestésico, pois a hipotermia é potencialmente letal. A temperatura corporal diminui subitamente após a indução e continua a diminuir durante o decurso da anestesia geral prolongada, especialmente em pequenos roedores. Portanto, a hipotermia deve ser evitada, fornecendo calor através das almofadas de aquecimento e lâmpadas infravermelhas (FUEGER et al., 2006).

A perda da consciência ocorre em um plano superficial de anestesia, antes da antinocicepção, e é suficiente para procedimentos menores, menos invasivos, porém estímulos dolorosos podem induzir ao retorno da consciência. As respostas individuais dos animais variam consideravelmente e uma simples resposta a um reflexo fisiológico ou nociceptivo talvez não seja adequado para avaliar o plano anestésico e o nível de analgesia (MASON; BOWN, 1997).

Segundo Pompeu (2009), planos de anestesia atingidos com uso de fármacos anestésicos são:

- Estágio I: excitação voluntária. É o estágio de analgesia sem perda da consciência e ocorre depressão do córtex sensorial. A respiração torna-se rápida e regular.
- Estágio II: excitação involuntária. A respiração é irregular, com pulso rápido, ocorrendo depressão do córtex cerebral.

Os estágios I e II constituem o período denominado indução.

– Estágio III: ação depressora estende-se ao córtex e mesencéfalo até a medula espinhal. A consciência, a sensação dolorosa e os reflexos são abolidos. Ocorre então relaxamento muscular e desaparecem os movimentos voluntários. Nesse estágio, há uma subdivisão de profundidade anestésica dividida em 4 planos, os quais são dificilmente distinguidos: plano superficial (1 e 2) e profundo (3 e 4). Se a anestesia aprofunda, chegando ao estágio IV, ocorre paralisia bulbar e a morte do animal.

A medicação pré-anestésica tem o objetivo de permitir a indução anestésica suave e segura, reduzir doses e efeitos colaterais de outros anestésicos, alcançar analgesia preventiva, bem como o estabelecimento da anestesia, equilibrando o animal e abolindo os reflexos de excitação e luta. As drogas previamente administradas aos anestésicos reduzem o estresse, a dor pós-cirúrgica e facilitam a recuperação. Os pré-anestésicos compreendem os anticolinérgicos, bloqueadores adrenérgicos, tranquilizantes, hipnóticos, neuroleptoanalgésicos e analgésicos narcóticos (POMPEU, 2009). A analgesia preemptiva (administração de analgesia pré e intraoperatória) aumenta a estabilidade do paciente durante a cirurgia e otimiza os cuidados pós-operatórios e o bem-estar animal, reduzindo a dor pós-operatória (HEDENQVIST et al., 2000).

A anestesia geral pode ser realizada através da utilização de agentes injetáveis, agentes inalatórios ou associação dos dois (MASSONE, 2011).

Anestésicos inalatórios

Anestésicos inalatórios são fármacos voláteis que podem ser utilizados em determinados procedimentos. Este tipo de anestesia proporciona as seguintes vantagens: maior controle do plano anestésico, retorno rápido da anestesia quando comparada à administração endovenosa e intramuscular, metabolização e eliminação do agente anestésico inalatório de modo rápido, além do baixo consumo de anestésico, resultando em uma anestesia financeiramente econômica (POMPEU, 2009).

Paddleford (2000) relata ainda que, em comparação com as técnicas injetáveis, a anestesia por inalação proporciona uma maior segurança, particularmente para procedimentos prolongados, devido à menor depressão cardiovascular, ao reduzido impacto sobre as funções hepáticas e renais, à facilidade na manutenção de um plano anestésico estável e à rápida recuperação, além de permitir ajustes rápidos. No entanto, os agentes inalantes podem promover depressão respiratória (particularmente na presença de doenças respiratórias), depressão do miocárdio, vasodilatação e hipotensão. Ainda, segundo Gargiulo (2012), este tipo de anestesia exibe efeitos analgésicos fracos.

A anestesia inalatória exige uma câmara anestésica ou a intubação endotraqueal, máscara e outros instrumentos, os quais ainda são pouco difundidos no Brasil para animais de laboratório (POMPEU, 2009). A intubação de roedores requer habilidade e equipamento especializado. Intubar camundongos, hamsters e porquinhos da Índia pode ser particularmente desafiador. Lâminas laringoscópicas confeccionadas conforme a necessidade ou espéculos otoscópicos de tamanho adequado podem ser usados para visualizar as cordas vocais (FUJIMOTO, 2004).

Os anestésicos inalatórios modernos requerem ainda equipamentos como vaporizadores de precisão, medidores de vazão e sistema de limpeza eficiente para evitar a poluição do ambiente (GARGIULO, 2012). Os vaporizadores de precisão e equipamentos de monitoramento (como oxímetro de pulso, para determinar a saturação do nível de

oxigenação no sangue arterial) aumentam a segurança no uso dos anestésicos em roedores e em outras espécies animais (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2014).

A concentração do agente volátil não depende do peso do animal, mas do próprio agente. Assim, animais maiores não necessitam de concentrações superiores de anestésico (ANDRADE et al., 2002).

Anestésicos injetáveis

Uma vantagem de alguns agentes anestésicos injetáveis é a sua reversibilidade por antagonistas específicos, como a ioimbina e atipamezole para os alfa-2 agonistas, flumazenil para os benzodiazepínicos e a naloxona para os opioides, minimizando a incidência de efeitos colaterais relacionados à recuperação prolongada e ao decúbito (GARGIULO, 2012; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2014). Os anestésicos injetáveis possuem desvantagens, como a dificuldade em escolher a dose inicial e modular com precisão a profundidade da anestesia prolongada, além da impossibilidade de remoção do fármaco injetado. Somado a isso, podem causar recuperação prolongada, alterações cardíacas e respiratórias acentuadas, além dos riscos da injeção deslocada para os órgãos abdominais, quando administrados por via intraperitoneal. Por estes motivos, os agentes reversíveis com alto índice terapêutico são preferíveis (GARGIULO, 2012).

A escolha da via de administração do fármaco deve ser baseada na característica química do composto. Os anestésicos injetáveis podem ser administrados por subcutânea (SC), intramuscular (IM), intravenosa (IV) e via intraperitoneal (IP). A via SC é imprevisível para indução anestésica, devido a sua taxa de absorção lenta e variável. A via IM pode ser difícil em roedores, em consequência da pequena massa muscular disponível no local da injeção. A via IV pode ser particularmente difícil em camundongos e cobaias; entretanto, é uma via de efeitos mais previsíveis e proporciona um rápido início de efeito. Em pequenos roedores, a via mais comumente utilizada é a IP, feita em dose única, mais confortável e segura para o animal e para o pesquisador; no entanto, é impossível o ajuste da dose baseada na resposta individual do animal (FLECKNELL, 1989; FUJIMOTO, 2004; FILHO, 2006; POMPEU, 2009).

Técnicas anestésicas em camundongos e ratos

Nas duas últimas décadas, o anestésico de eleição para camundongos e ratos tem sido o pentobarbital sódico a 3%, dada a moderada duração anestésica que o fármaco proporciona, visto que essas espécies apresentam um metabolismo rápido (MASSONE, 2011).

Atualmente, o que têm apresentado bons resultados na anestesia nessas espécies, sendo amplamente utilizadas no Brasil, são as associações anestésicas entre um agente dissociativo (cetamina) e um fármaco de ação miorrelaxante, analgésico e sedativo (xilazina), o que é proporcionado pela associação de ambas, característica da neuroleptoanalgesia. Para experimentos agudos, o pré-tratamento com atropina,

na dose de 0,04mg/kg, por via subcutânea, 10 minutos antes do procedimento, evita arritmias atrioventriculares. A dose de cetamina e xilazina recomendada é de 0,1mL para cada 100 g de camundongo ou rato, da mistura de 1mL de cetamina (50mg) e 1mL de xilazina a 2% (20mg), o que é suficiente para prostrar o animal, permitindo manipulações incruentas quando administradas por via intramuscular. Para uma boa anestesia, eleva-se a dose para 0,2mL da mistura, para cada 100 g de peso de rato ou camundongo, o que permite um período de latência de 5 a 7 minutos e uma anestesia que varia de 50 a 80 minutos, sem alteração drástica dos parâmetros fisiológicos e demais funções gerais. A grande vantagem dessa anestesia é a recuperação relativamente rápida (40 a 60 minutos), dispensando qualquer atenção pós-anestésica. Caso seja necessário um período anestésico maior, a complementação poderá ser feita administrando-se metade da dose inicial pela mesma via, tomando-se cuidado apenas em relação ao fato de que doses complementares sucessivas acarretam efeito cumulativo, retardando a recuperação (FILHO, 2006; MASSONE, 2011).

Nos Estados Unidos e Europa, a combinação preferencial para uso em ratos inclui fentanil/fluanisona, na dose de 0,6mL/kg do produto comercial Hipnorm® (contendo os dois ativos) associados ao diazepam, na dose de 2,5mg/kg. Outra opção bem aceita é a combinação de fentanil, na dose de 300 µg/kg, e medetomidina, na dose de 300 µg/kg. Quando a administração intravenosa não se constitui um óbice, o propofol é uma escolha como anestésico geral injetável em ratos, na dose de 10mg/kg (FILHO, 2006).

Os fármacos inalatórios mais utilizados em camundongos e ratos são o halotano e o isoflurano, com predominância do primeiro. Como medicação pré-anestésica preconiza-se o uso de atropina, na dose já citada, por sua ação estabilizadora da função cardíaca (FILHO, 2006; GARGIULO, 2012). Em geral, não se utiliza sedativos antes da indução anestésica inalatória em ratos. A indução para essa espécie pode ser feita com o próprio fármaco anestésico em caixa apropriada, na qual se tenha uma visão do animal. Em caso de opção de indução por agentes injetáveis, a combinação de cetamina e xilazina, na dose indicada como pré-medicação, oferece bons resultados quando seguida do uso de máscara com o agente halogenado. A manutenção da anestesia pode ser feita através de máscara ou por intubação endotraqueal (FILHO, 2006).

Para anestesia de camundongos e ratos neonatos, os anestésicos inalantes oferecem distinta vantagem. A indução e a recuperação são rápidas, os filhotes são providos de oxigênio e o nível da anestesia pode ser facilmente individualizado. Todavia, o uso de anestésicos inalantes requer equipamento apropriado para o agente usado e adequada filtração de gases anestésicos perdidos. Halotano e isoflurano têm sido utilizados com segurança e eficácia em neonatos. Os neonatos apresentam uma capacidade reduzida em biotransformar anestésicos injetáveis e sua resposta é bastante diferente da observada em roedores adultos. A mortalidade, em geral, é aumentada com uso de anestésicos injetáveis, mesmo que sejam administrados fármacos capazes de produzir reversão (FUJIMOTO, 2004).

Técnicas anestésicas em cobaias

As cobaias talvez sejam os roedores mais difíceis em se obter uma anestesia segura e eficaz. As respostas a muitos anestésicos injetáveis são variáveis e as complicações pós-anestésicas, como infecções respiratórias, depressão generalizada, distúrbios digestivos e inapetência são frequentemente vistos (POMPEU, 2009).

A administração intravenosa é bem difícil e as drogas devem ser administradas pelas vias intraperitoneal, subcutânea ou intramuscular (POMPEU, 2009; MASSONE, 2011).

Em cobaias, os agentes pré-anestésicos mais empregados são os derivados de fenotiazina, sendo os mais comuns a levomepromazina e a acepromazina, que podem ser usadas na dose de 0,5 a 1mg/kg, por via intramuscular, associadas ou não ao midazolam, na dose de 0,2mg/kg (POMPEU, 2009; MASSONE, 2011).

Segundo Pompeu (2009), quando necessário, algumas drogas podem ser usadas para produzir sedação:

- Fentanil/fluanisona: na dose de 1mL/kg de peso, por via intramuscular, pode produzir sedação e analgesia suficientes para pequenos procedimentos como biópsias de pele;
- Diazepam: na dose de 5mg/kg de peso, por via intraperitoneal, produz forte sedação e analgesia. Pode ser utilizado acompanhado de técnicas de anestesia local.
- Cetamina: na dose de 100mg/kg de peso, por via intramuscular, proporciona boa tranquilização, mas não produz boa analgesia.

Quando utilizamos cobaias em procedimentos cirúrgicos experimentais é importante o emprego da atropina, na dose de 0,5 a 1,0mg/kg de peso, por via subcutânea, para diminuição do volume de secreções salivar e bronquial. A atropina é particularmente útil devido às vias aéreas das cobaias serem estreitas, com propensão a obstruções (POMPEU, 2009).

Em animais pré-tratados com atropina, pode-se aplicar cloridrato de cetamina, na dose de 22 a 44mg/kg de peso, sendo que a primeira dose permite contenção, enquanto que a segunda permite a realização de laparotomia, com período de latência de 8 a 10 minutos, período anestésico de 15 a 25 minutos e recuperação de 30 a 45 minutos (POMPEU, 2009; MASSONE, 2011).

Para um tempo anestésico maior, pode-se empregar a associação de 44mg/kg de cetamina e 0,1mg/kg de diazepam, por via intramuscular, o que proporcionará uma anestesia de 40 a 50 minutos, com recuperação de, aproximadamente, 50 minutos. Ainda pode-se utilizar a associação de 25mg/kg de cetamina e 5mg/kg de cloridrato de xilazina, por via intramuscular, o que propiciará uma anestesia de cerca de 80 minutos, com um tempo proporcional de recuperação. Na prática da experimentação cirúrgica de cobaias,

a solução anestésica formada por 1mL de cetamina (50mg) com 1mL de cloridrato de xilazina (20mg), na dose de 0,1mL da mistura para cada 100 g de peso, tem demonstrado bons resultados. Essa anestesia tem um período hábil de 50 a 60 minutos, que pode ser elevado para 90 minutos, caso se empregue a dose de 0,2mL da mistura para cada 100 g de peso (POMPEU, 2009; MASSONE, 2011). O que se observa é que, em cobaias, o período de latência é bem menor do que em ratos, pois naquelas é de apenas 2 a 3 minutos, enquanto nos ratos é de 7 a 10 minutos, período semelhante aos de cães, quando anestesiados com os mesmos fármacos (MASSONE, 2011).

A anestesia barbitúrica em cobaias é obtida com pentobarbital sódico, na dose de 15 a 30mg/kg, por via intraperitonial (MASSONE, 2011).

A anestesia inalatória é utilizada quando se faz necessária uma recuperação precoce do animal. A indução da anestesia pode ser feita com uma câmara anestésica através de uma pequena máscara facial. A manutenção da anestesia deve ser feita sempre com máscara, pois a técnica de intubação endotraqueal é extremamente difícil em cobaias. Pode-se empregar a dose de 0,1mL da associação de cetamina e xilazina, como agente indutor, e a manutenção pode ser feita a partir de qualquer anestésico halogenado. O volume corrente da cobaia é de até 2mL, com fluxo diluente podendo ser de 50 a 100mL, empregando-se vaporizadores calibrados e, com a máscara, pode-se utilizar um cone proporcional ao tamanho do animal (POMPEU, 2009; MASSONE, 2011).

Técnicas anestésicas em coelhos

Segundo Pompeu (2009), os coelhos são modelos animais difíceis de anestésiar, pelos seguintes fatores: o seu centro respiratório é muito sensível a uma ação paralisante dos anestésicos, os limites entre doses anestésica e letal são muito próximos, e ainda, a variabilidade entre os coelhos à ação dos anestésicos convencionais é tão grande que as doses para anestésiar teoricamente deveriam ser individualizadas.

O anticolinérgico mais eficaz em coelhos é o glicopirrolato, uma vez que não só reduz as secreções salivar e brônquica, mas também é mais eficaz na proteção do coração à inibição vagal. Os efeitos da atropina podem ser imprevisíveis em coelhos, pois muitas linhagens apresentam um elevado nível de atropinase circulante, o que causa rápida degradação enzimática do fármaco (FUJIMOTO, 2004; UNIVERSITY OF SOUTH FLORIDA, 2009).

Para se obter uma tranquilização discreta para simples manipulação, usam-se os derivados de fenotiazina, tais como a levomepromazina ou clorpromazina, na dose de 0,5 a 1,0mg/kg de peso, por via intramuscular, aguardando-se um período de 30 a 40 minutos para eventual aplicação de qualquer outro fármaco anestésico complementar. Frequentemente são requeridos tranquilizantes mais potentes, tais como, bendodiazepínicos, que auxiliarão na aplicação de máscara, para indução por anestésicos voláteis ou mesmo aplicações de anestésicos locais que requeiram a completa quietude do animal, como é o caso das anestésias peridurais lombossacras. Tal associação pode ser

efetuada empregando-se 0,5mg/kg de levomepromazina e 0,01mg/kg de flunitrazepam ou 0,2mg/kg de midazolam, ambos na mesma seringa, por via subcutânea ou intramuscular (POMPEU, 2009; MASSONE, 2011).

Com as associações anestésicas, consegue-se desde uma boa manipulação com a imobilização medicamentosa até anestesia profunda. A simples imobilização pode ser obtida pela aplicação de 0,1mL para cada 200 g de peso da mistura de cetamina e xilazina, em partes iguais. Para a imobilização mais prolongada, emprega-se medicação pré-anestésica de 1mL/kg de levomepromazina associada a 0,2mg/kg de midazolam, por via endovenosa, ambas na mesma seringa, 15 a 30 minutos antes da aplicação de 0,1mL para cada 200 g de peso (0,5mL/kg), por via intramuscular profunda, da mistura em partes iguais de cetamina e cloridrato de xilazina. Essa imobilização perdura por um período mínimo de 60 a 90 minutos. Para uma anestesia mais profunda, emprega-se a mesma medicação pré-anestésica citada, aumentando-se a dose da associação de cetamina e xilazina para 0,5 a 1mL para cada quilo de peso, por via intramuscular profunda (MASSONE, 2011).

A anestesia barbitúrica é de uso consagrado em leporinos, recomendada na dose de 30 a 50mg/kg, na concentração de 3% por via endovenosa (MASSONE, 2011). Pompeu (2009) reporta o uso de pentobarbital na dose de 20 a 40mg/kg. Caso não tenha aplicado medicação pré-anestésica no animal, sugere-se a aplicação de metade da dose total, rapidamente, para evitar a fase de excitação, devendo-se aplicar, em seguida, o restante, gradativamente, até atingir o plano anestésico adequado para a intervenção proposta. A vantagem de tal aplicação é que se poderiam prever possíveis suscetibilidades individuais em relação ao fármaco (MASSONE, 2011). A duração normal da anestesia com pentobarbital é de 30 a 40 minutos. Se houver necessidade de prolongar o tempo anestésico, é aconselhável a suplementação com anestésico volátil. Embora esse método possa ser usado satisfatoriamente, um grande número de óbitos tem sido mencionado. As justificativas estão baseadas na grande variação de dose anestésica, acúmulo de tecido adiposo característico de coelhos adultos e a estreita margem entre dose anestésica e supressão letal do centro respiratório, determinando que o pentobarbital seja um anestésico de alto risco para coelhos (POMPEU, 2009).

A anestesia volátil em coelhos é recomendada em casos de cirurgia ou experimentos de longa duração e quando é desejável a manutenção dos parâmetros fisiológicos mais próximos dos valores basais. É possível realizar uma anestesia utilizando apenas anestésicos voláteis, mas a indução normalmente é estressante aos leporinos e para a equipe de anestesia, pelo perigo de excitação involuntária e consequente injúria. Por esse motivo, na grande maioria dos casos, é preferível induzir a anestesia com agente injetável e proceder à manutenção com anestésico inalatório. O metoxifluorano é o mais seguro e efetivo anestésico inalatório para utilização em coelhos, nas concentrações de 0,4% a 1%. O halotano também é um excelente agente inalatório para utilização na espécie, mas tem uma margem estreita de segurança e deve sempre ser administrado utilizando vaporizador calibrado. As concentrações de 1,5 a 2,0% são suficientes para manutenção da anestesia. O isofluorano e o enflurano possuem efeitos similares ao halotano e podem também ser utilizados (POMPEU, 2009).

Por causa das características fisiológicas específicas de coelhos, é necessário manter os animais aquecidos durante e após os procedimentos cirúrgicos, evitando casos de hipotermia grave, que dificultarão a recuperação pós-anestésica e pós-cirúrgica (POMPEU, 2009).

CONCLUSÃO

A anestesia em animais de laboratório exige conhecimento da fisiologia e farmacologia das espécies envolvidas. O protocolo anestésico deve ser adaptado de acordo com os objetivos dos experimentos, através do uso de anestésicos injetáveis e/ou inalatórios, tranquilizantes, entre outros. O monitoramento do paciente deve reduzir as taxas de complicações, melhorando o bem-estar dos animais e os resultados dos experimentos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. et al. *Animais de Laboratório: criação e experimentação* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 388 p., 2002. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869-30.pdf>>. Acesso em 13 maio 2016.
- FILHO, A. P. F. S. Sedação, Analgesia e Anestesia Geral em Ratos. In: RHODEN, E.L.; RHODEN, C.R. *Princípios e Técnicas em Experimentação Animal*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p.45-54, 2006.
- FLECKNELL, P.A. *Laboratory Animal Anaesthesia*. San Diego: Academic Press, 1989.
- FUEGER, B. J. et al. Impact of animal handling on the results of 18F-FDG PET studies in mice. *J Nucl Med*, v.47, p.999-1006, 2006. Disponível em: <<http://jnm.snmjournals.org/content/47/6/999.long>>. Acesso em 07 maio 2016.
- FUJIMOTO, J. Anestesia em Animais de Laboratório. In: GREENE, S. A. *Segredos em Anestesia Veterinária*. Porto Alegre: Artmed, p.369-377, 2004.
- GARGIULO, S. et al. Mice Anesthesia, Analgesia, and Care, Part I: Anesthetic Considerations in Preclinical Research. *ILAR*, v.53.1, p.55-69, 2012.
- HEDENQVIST, P. et al. Effects of repeated anaesthesia with ketamine/medetomidine and of pre-anaesthetic administration of buprenorphine in rats. *Lab Ani*, v.34, p.207-211, 2000.
- KONA-BOUN, J. et al. Immunologic aspects of veterinary anesthesia and analgesia. *JAVMA*, v.226, p.355-363, 2005.
- MASON, D.E.; BOWN, M.J. Monitoring of Anesthesia. In: KOHN D.F., WIXSON, S.K., WHITE W.J, BENSON, G.L., *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. San Diego: Academic Press. 1997.
- MASSONE, F. *Anestesiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório* traduzido por Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera. 8.ed. Porto Alegre : EDIPUCRS, p.267, 2014.

PADDLEFORD, R. *Small Animals Anesthesia*. Milano-Cremona, Italy: Masson, 2000.

POMPEU, E. Analgesia e Anestesia. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. *Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório*. São Paulo: Atheneu Editora, p.561-574, 2009.

SPINOSA, H. S, et al. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, p.897, 2006.

UNIVERSITY OF SOUTH FLORIDA. *Guidelines on Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*, 2009. Disponível em: <<http://www.southalabama.edu/researchcompliance/pdf/anesthanalgesia.pdf>> Acesso em: 7/05/2016.