



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO ESTADO DO PARÁ  
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO E EXTENSÃO  
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA

PEDRO PASTORINI FRANCO  
WILSON RIBEIRO DA SILVA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS ANESTÉSICOS PARA A  
REALIZAÇÃO DE OVARIOSALPINGOHISTERECTOMIA EM RATAS**

BELÉM-PARÁ  
2021

PEDRO PASTORINI FRANCO  
WILSON RIBEIRO DA SILVA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS ANESTÉSICOS PARA A  
REALIZAÇÃO DE OVARIOSALPINGOHISTERECTOMIA EM RATAS**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Centro Universitário do Estado  
do Pará, como requisito parcial para conclusão  
de graduação em Medicina.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Rosa Helena de  
Figueiredo Chaves

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ellen  
Yasmin Eguchi Mesquita.

BELÉM-PARÁ

2021

**Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)**  
**Biblioteca do CESUPA, Belém – PA**

---

Franco, Pedro Pastorini.

Avaliação de diferentes protocolos anestésicos para a realização de ovariosalpingohisterectomia em ratas / Pedro Pastorini Franco, Wilson Ribeiro da Silva Junior; orientadora Rosa Helena de Figueiredo Chaves, coorientadora Ellen Yasmin Eguchi Mesquita. – 2021.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Centro Universitário do Estado do Pará, Medicina, Belém, 2021.

1. Animais – Experimentação. 2. Anestesia. 3. Ovários. 4. Anestésicos. I. Silva Junior, Wilson Ribeiro da. II. Chaves, Rosa Helena de Figueiredo, orient. III. Mesquita, Ellen Yasmin Eguchi. IV. Título

---

“There are in fact two things, science and opinion;  
the former begets knowledge, the latter ignorance.”  
— Hippocrates

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Modelos experimentais são ferramentas úteis à compreensão e amplitude das alterações morfológicas e funcionais relacionadas a diversos sistemas. No contexto da cirurgia experimental, a laparotomia é o procedimento mais utilizado pelos pesquisadores, devido a possibilidade de fácil acesso aos órgãos abdominais por meio dessa cirurgia. Dependendo do procedimento, a anestesia é recomendada ou até mesmo obrigatória, portanto a escolha de um protocolo anestésico ideal para os procedimentos se torna essencial. **OBJETIVOS:** Avaliar os efeitos de diferentes protocolos anestésicos na realização de OSH em ratas pela avaliação de FC, FR, T°, tempo de indução e manutenção. **METODOLOGIA:** Trinta e um (n=31) animais foram aleatoriamente divididos em 5 grupos experimentais. No Grupo **GP**: os animais (n = 3) foram submetidos a OSH para treinamento da técnica. No Grupo **QX**: os animais (n = 7) foram anestesiados com Quetamina 80mg/Kg + Xilazina 20mg/Kg e submetidos a OSH. No Grupo **QXF**: os animais (n = 7) foram anestesiados com Quetamina 60 mg/Kg + Xilazina 8 mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg e submetidos a OSH. No Grupo **QM**: os animais (n = 7) foram anestesiados com Quetamina 70 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg e submetidos a OSH. No Grupo **QMF**: os animais (n = 7) foram anestesiados com Quetamina 60 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg e submetidos a OSH. A partir da indução os animais foram monitorados no trans e pós-operatório quanto aos parâmetros descritos acima. Também foram documentados o tempo que o animal levou para iniciar a movimentação e marchar com coordenação. Concluída a monitorização pós-anestésica, os animais foram submetidos à eutanásia. As variáveis foram apresentadas em média e desvio padrão. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (com pós-teste de Dunn, quando necessário) e adotado p-valor < 0,05. **RESULTADO:** a maioria dos dados coletados não apresentaram significância estatística, mas na análise das medias foi possível estabelecer que o protocolo **QMF** foi o que manteve os parâmetros avaliados próximo ao normal para a espécie. **CONCLUSÃO:** Pensando em manter sempre os valores de FC, FR e T°C dentro dos valores de normalidade para a espécie e dessa forma manter o animal o mais próximo possível da homeostase podemos considerar que o protocolo QMF foi o melhor cumpriu esse papel neste estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anestesia; Ovariectomia; Experimentação Animal.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Experimental models are useful tools for the understanding of a range morphological changes and those related to different systems. In the context of experimental surgery, laparotomy is the procedure most used by researchers, due to the possibility of easy access to abdominal organs through surgery. In research projects, anesthesia is recommended or even mandatory, depending on the procedure, therefore, choosing an ideal anesthetic protocol for the procedures becomes essential. **OBJECTIVES:** To evaluate the effects of different anesthetic protocols in the performance of OSH in female rats by evaluating HR, RR, T<sup>o</sup>, time of induction and maintenance. **METHODOLOGY:** Thirty-one (n = 31) animals were randomly divided into 5 experimental groups. In **GP:** animals (n = 3) underwent OSH for technique training. In **QX:** animals (n = 7) anesthetized with Ketamine 80mg / Kg + Xylazine 20mg / Kg and undergoing OSH. In **QXF:** animals (n = 7) anesthetized with Ketamine 60 mg / kg + Xylazine 8 mg / kg + Fentanyl 0.03 mg / kg and undergoing OSH. In **QM:** animals (n = 7) anesthetized with Ketamine 70 mg / kg + Midazolam 5 mg / kg and undergoing OSH. In **QMF:** animals (n = 7) anesthetized with Ketamine 60 mg / kg + Midazolam 5 mg / kg + Fentanyl 0.03 mg / kg and undergoing OSH. From the induction of the animals and trough trans and postoperative period the animal were monitored regarding the above parameters. The time it took the animal to start moving and walking with coordination was also documented. After post-anesthetic monitoring, the animals were euthanized. Variables were detected in mean and standard deviation. The Kruskal-Wallis test was used (with Dunn's post-test, when necessary) and p value <0.05 was adopted. **RESULT:** most of the data collected was not statistically classified, but in the analysis of the means it was possible to establish that the QMF protocol was the one that kept the parameters taken close to normal for the species. **CONCLUSION:** Considering always keeping the HR, FR and T<sup>o</sup>C values within the normal values for the species and thus keeping the animal as close as possible to homeostasis, we can consider that the QMF protocol was the best one that fulfilled this role in this study.

**KEYWORDS:** Anesthesia; Ovariectomy; Animal Experimentation.

## LISTA DE GRAFICOS

<b>Figura1</b> - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	20
<b>Figura2</b> - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	22
<b>Figura3</b> - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	24
<b>Figura4</b> - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	26
<b>Figura5</b> - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	28
<b>Figura6</b> - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela1</b> - Comparação do peso e dos parâmetros operatórios, segundo o grupo.	19
<b>Tabela2</b> - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	21
<b>Tabela3</b> - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	23
<b>Tabela4</b> - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	25
<b>Tabela5</b> - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	27
<b>Tabela6</b> - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	29
<b>Tabela7</b> - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.	31

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**BPM** – Batimentos por Minuto

**CESUPA** – Centro Universitário do Estado do Pará

**CEUA** – Comitê de Ética em Pesquisa e Uso de Animais

**COBEA** – Comissão Nacional de Bem-Estar Animal

**FC** – Frequência Cardíaca

**FR** – Frequência Respiratória

**GI** – Grau de Invasividade

**GP** – Grupo Piloto

**IRPM** – Incursões Respiratórias por Minuto

**OSH** - Ovariosalpingohisterectomia

**QM** – Grupo Quetamina/Midazolam

**QMF** – Grupo Quetamina/Midazolam/Fentanil

**QX** – Grupo Quetamina/Xilazina

**QXF** – Grupo Quetamina/Xilazina/Fentanil

**T°C** – Temperatura Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Aspectos Éticos .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2</b>	<b>Tipo De Estudo.....</b>	<b>15</b>
<b>3.3</b>	<b>Animais De Experimentação.....</b>	<b>15</b>
<b>3.4</b>	<b>Desenho Experimental .....</b>	<b>15</b>
<b>3.5</b>	<b>Monitorização Pré-operatória .....</b>	<b>16</b>
<b>3.6</b>	<b>Monitorização Transoperatória.....</b>	<b>16</b>
<b>3.7</b>	<b>Procedimento Cirúrgico .....</b>	<b>17</b>
<b>3.8</b>	<b>Monitorização Pós-operatória.....</b>	<b>18</b>
<b>3.9</b>	<b>Destino Dos Animais .....</b>	<b>18</b>
<b>3.10</b>	<b>Análise Dos Dados.....</b>	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>36</b>
	<b>APÊNDICE .....</b>	<b>39</b>

<b>ANEXO .....</b>	<b>40</b>
--------------------	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

Modelos experimentais são ferramentas úteis à compreensão e amplitude das alterações morfológicas e funcionais relacionadas a diversos sistemas. O acúmulo de informações provenientes desses modelos oferece oportunidade ao desenvolvimento de testes e novas intervenções terapêuticas. 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.<sup>(1, 2)</sup>

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.<sup>(3, 4)</sup> 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.<sup>(5-7)</sup>

Várias classes de fármacos são utilizadas para realizar um protocolo anestésico, como os anestésicos propriamente ditos, hipnóticos, analgésico opióides e sedativos.<sup>(6)</sup> Dentre as técnicas citadas da literatura, encontram-se as associações de quetamina/xilazina, quetamina/xilazina/fentanil, etomidato/xilazina, midazolam/dexmedetomidina, propofol/fentanil; entre outras.<sup>(4, 6, 8-10)</sup> 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.<sup>(7, 10-12)</sup>

Além disso, as questões éticas que visam o bem estar animal seguem os preceitos da lei 11.794/08, em que há alguns procedimentos que devem ser adotados quando houver utilização de animais em projetos de pesquisas, tais como: empregar sedação ou analgésicos para minimizar a dor resultante do procedimento cirúrgico; redução do numero de animais utilizados; realizar eutanásia para interromper intenso sofrimento causado pelo experimento; fiscalização pelo CEUA de projetos em que possa haver dor ou sofrimento animal, incluindo nas situações para fins acadêmicos.

Todas essas medidas possuem a finalidade de reduzir a o tempo de experimento, o número de animais utilizados e a dor que os procedimentos podem causar. <sup>(13)</sup>

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.<sup>(14-19)</sup>

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.<sup>(20)</sup>

Ressalta-se a importância da estratificação em Graus de Invasividade (GI) que o 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. <sup>(13)</sup>

A classificação é a seguinte: GI1 é referente a experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse (ex: observação e exame físico, administração de medicamentos via oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, ou intramuscular de substâncias que não causem reações adversas perceptíveis, entre outros); GI2 são procedimentos que causem estresse, desconforto ou dor de leve intensidade (ex: períodos breves de contenção em animais conscientes; procedimentos cirúrgicos pequenos, como biópsia, sob anestesia; exposição a agentes químicos que não causem reações adversas graves); G3 refere-se a experimentos que causem desconforto, sofrimento ou dor de intermediária intensidade (ex: procedimentos cirúrgicos invasivos sob anestesia, como uma laparotomia; exposição a choques localizados de intensidade leve; exposição a radiação ou elementos químicos que causem repercussões duradouras, entre outros); GI4 são procedimentos que causam dor em alta intensidade (ex: indução de traumas em animais não sedados). <sup>(13)</sup>

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 fiscalizar e garantir o bem estar animal durante todos os procedimentos empregados na pesquisa.<sup>(7, 21-23)</sup>

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.<sup>(4, 6, 8)</sup>

Portanto, verificou-se a necessidade de avaliar protocolos anestésicos que garantam que procedimentos invasivos como laparotomias, sejam realizados sem que o animal apresente dor ou desconforto durante a cirurgia.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- Avaliar os efeitos de diferentes protocolos anestésicos na realização de ovariosalpingohisterectomia em ratas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar os resultados dos protocolos testados nos diferentes parâmetros avaliados (FC, FR, PA, T°);

- Avaliar o tempo de indução e manutenção dos protocolos testados;

- Avaliar a recuperação anestésica dos animais nos diferentes protocolos testados;

- Identificar o melhor protocolo a ser utilizado nas ovariosalpingohisterectomias em ratas;

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Aspectos Éticos

A pesquisa seguiu os preceitos da lei 11.794/08, que normatiza a utilização e criação de animais para experimentação 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 no dia 14/01/2021 sob o protocolo nº02/2021.

#### 3.2 Tipo De Estudo

O projeto caracteriza-se como um estudo experimental, prospectivo, longitudinal, com intervenção, estatístico-comparativo, pesquisa em sujeitos, com dor ou desconforto para o sujeito, sem coleta de material biológico, em único centro, local, sem financiamento.

#### 3.3 Animais De Experimentação

Foram utilizadas 31 ratas (*Rattus norvegicus*) 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 adaptados ao Biotério do Centro Universitário do Pará (CESUPA) por um período de 15 dias.

Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar em torno de  $55 \pm 10\%$ , luminosidade artificial de um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro (considerando-se o período de luz das 6:00 às 18:00 horas) e ruído controlados. Acondicionados em gaiolas plásticas forradas com maravalha 5 animais por gaiola, de acordo com seu grupo, com água e ração oferecidos *ad libitum* durante todo o período. As gaiolas foram higienizadas a cada três dias.

#### 3.4 Desenho Experimental

Os 31 animais foram distribuídos randomicamente em 5 grupos, descritos a seguir:

- Grupo Piloto (**GP**): 03 (três) animais foram submetidos a ovasiosalpingohisterectomia para treinamento da técnica cirúrgica pelos participantes do estudo. A via de acesso para a infusão do anestésico também foi treinada nesses animais.

- Grupo Quetamina + Xilazina (**QX**): 7 (sete) animais foram submetidos a ovasiosalpingohisterectomia sendo anestesiados com combinação de: Quetamina 80 mg/Kg + Xilazina 20mg/kg. A via de administração foi a intraperitoneal e os animais foram monitorados durante todo o procedimento cirúrgico e nos primeiros 75 minutos do pós-operatório.
- Grupo Quetamina + Xilazina + Fentanil (**QXF**): 7 (sete) animais foram submetidos a ovasiosalpingohisterectomia sendo anestesiados com combinação de: Quetamina 60 mg/Kg + Xilazina 8 mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg. A via de administração foi a intraperitoneal e os animais foram monitorados durante todo o procedimento cirúrgico e nos primeiros 75 minutos do pós-operatório.
- Grupo Quetamina + Midazolam (**QM**): 7 (sete) animais foram submetidos a ovasiosalpingohisterectomia sendo anestesiados com combinação de: Quetamina 70 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg. A via de administração foi a intraperitoneal e os animais foram monitorados durante todo o procedimento cirúrgico e nos primeiros 75 minutos do pós-operatório.
- Grupo Quetamina + Midazolam + Fentanil (**QMF**): 7 (sete) animais foram submetidos a ovasiosalpingohisterectomia sendo anestesiados com combinação de: Quetamina 60 mg/Kg + Midazolam 5mg/kg + Fentanil 0,03 mg/Kg. A via de administração foi a intraperitoneal e os animais foram monitorados durante todo o procedimento cirúrgico e nos primeiros 75 minutos do pós-operatório.

### 3.5 Monitorização Pré-operatória

Os animais foram avaliados e monitorados após a infusão 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. (APÊNDICE A).

### 3.6 Monitorização Transoperatória

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). A necessidade de repique anestésico e tempo de duração da cirurgia

também foram documentados. Não houve necessidade de repique anestésico durante o ato cirúrgico, sendo que a manutenção do plano anestésico foi confirmada pela ausência de reflexos em movimentação do animal durante o ato operatório. O tempo total de cirurgia também foi registrado.

### **3.7 Procedimento Cirúrgico**

Os animais foram pesados e calculada a dose de cada agente conforme o protocolo anestésico do grupo o qual pertencem. A indução anestésica após a injeção intraperitoneal foi confirmada pela perda dos reflexos caudal (pinçamento caudal); podalico (preensão interdigital) e das vibrissas.

Para realização da ovasiosalpingohisterectomia os animais foram posicionados em decúbito dorsal em uma mesa cirúrgica com as patas traseiras fixadas para melhor exposição da região abdominal. Foi feita a tricotomia utilizando lâmina estéril, antissepsia utilizando PVPI e colocação de campo fenestrado. Para acesso a cavidade abdominal, foi utilizado bisturi cirúrgico (lâmina nº11), foi feita uma incisão mediana de três centímetros iniciando dois centímetros acima da genitália no sentido longitudinal. Em seguida foi realizada divulsão da musculatura abdominal para acesso a cavidade peritoneal.

Foi realizada a exploração da cavidade com a pinça anatômica na intenção de localizar os cornos uterinos e os ovários bilateralmente. O tecido adiposo foi afastado utilizando uma pinça anatômica para melhor visualização das estruturas. Foi realizada ligadura do ovário bilateralmente com um ponto simples utilizando fio de nylon 3-0. Depois de ligados os ovários foram seccionados e realizada revisão hemostática com compressão de possíveis sangramentos. Para a realização da salpingohisterectomia foi realizado uma ligadura dupla com fio de nylon 3-0 no corpo uterino. Com a dupla ligadura realizada os dois cornos foram seccionados com a ajuda de uma tesoura curva e foi realizada revisão hemostática da cavidade.

Foi utilizado fio nylon 3-0 para o fechamento da musculatura com chuleio simples e o mesmo fio foi utilizado para o fechamento da pele com pontos simples. Ao final do ato cirúrgico os animais foram colocados em gaiolas individuais em decúbito lateral para serem monitorizados.

### **3.8 Monitorização Pós-operatória**

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 pediátrico, 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. Todos os parâmetros avaliados foram anotados em uma ficha única para cada animal. (APÊNDICE A)

### **3.9 Destino Dos Animais**

Após o período de observação pós-operatória os animais foram submetidos à eutanásia com sobredose anestésica de 180mg/kg de Ketamina, 24mg/kg de Xilazina e 0,09 mg/kg de Fentanil. Após a confirmação da morte pela ausência de FC por cinco minutos os animais foram direcionados ao lixo biológico da instituição.

### **3.10 Análise Dos Dados**

Os dados das fichas individuais dos animais foram dispostos em uma planilha no programa Microsoft Excel 2019. Após a tabulação o teste de Kruskall-Wallis (com pós-teste de Dunn, quando necessário) foi utilizado para comparar os parâmetros avaliados entre os diferentes grupos. As análises foram executadas com o auxílio do programa Graphpad Prism9 2.0 e foi adotado o nível de significância igual a 0,05. Os gráficos e tabelas foram realizados utilizando o programa Microsoft Excel 2019.

#### 4 RESULTADOS

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

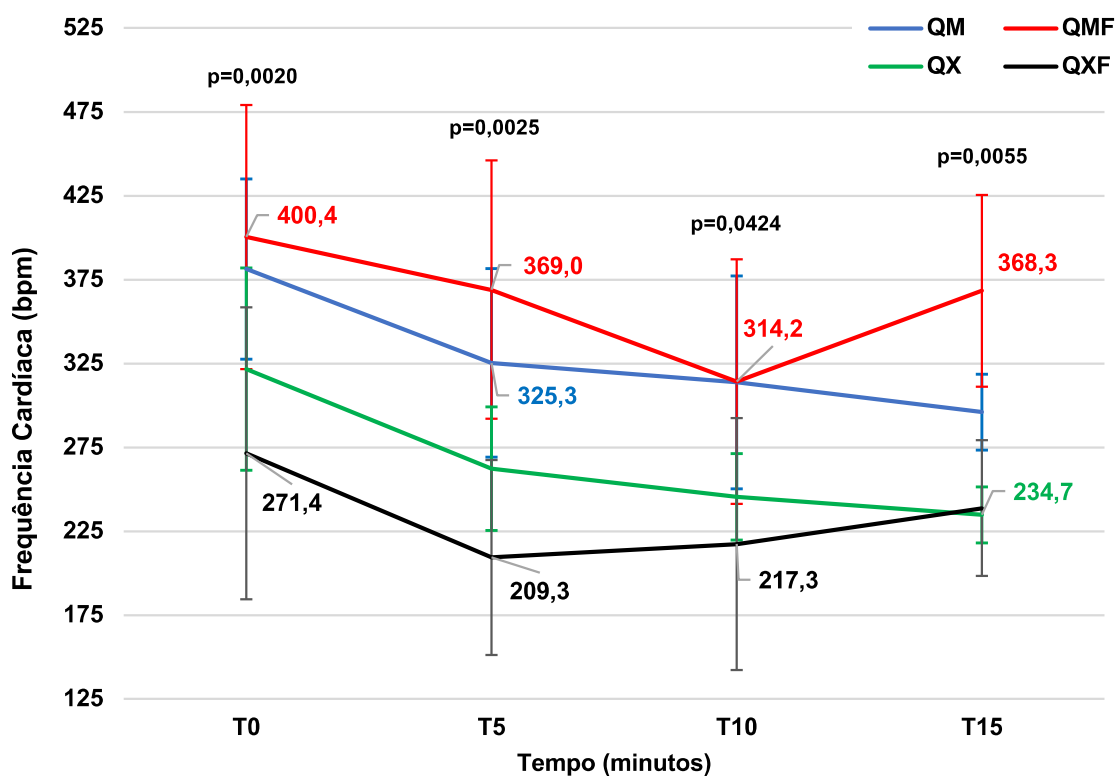
**Tabela1 - Comparação do peso e dos parâmetros operatórios, segundo o grupo.**

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

\*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: Análise Estatística, 2021.

No período transoperatório, as medidas de FC 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.

**Figura1 - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**



Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Apenas as médias significativamente diferentes quando comparadas estão apresentadas. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil. Fonte: Análise Estatística, 2021

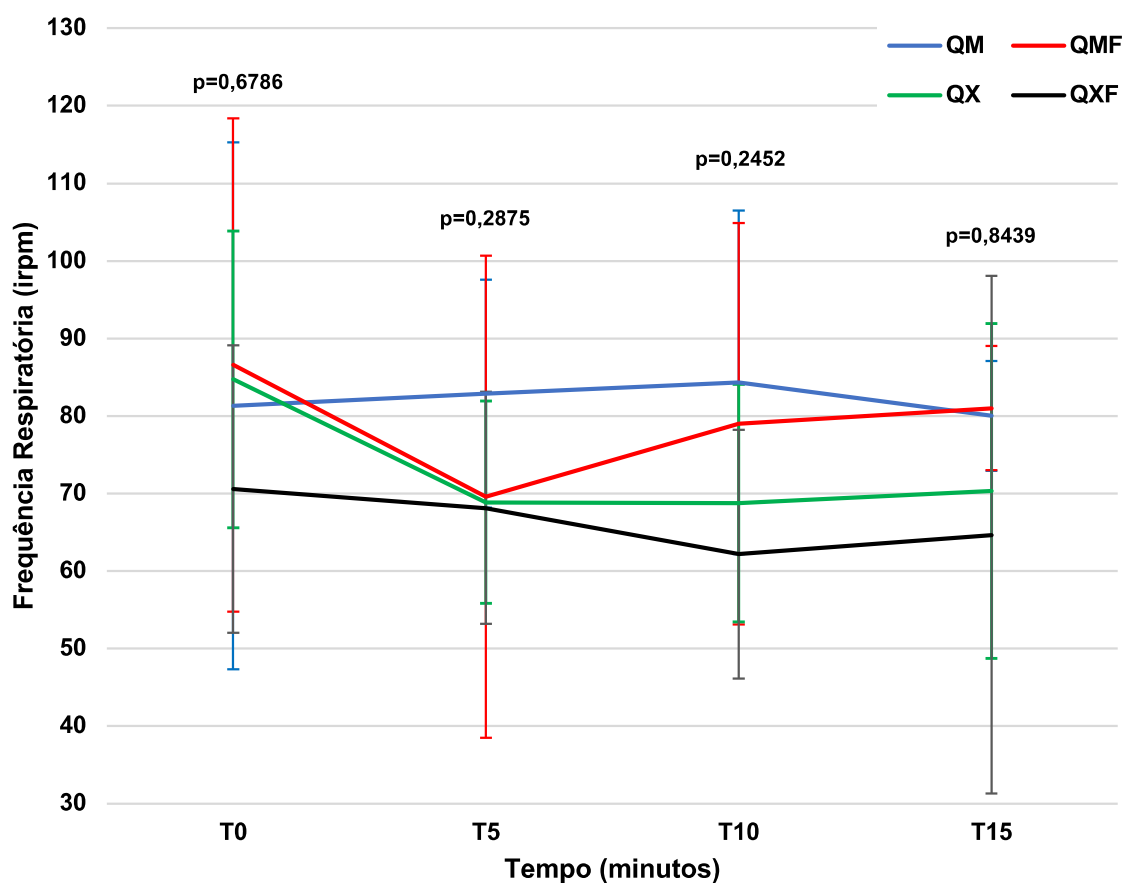
**Tabela2 - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**

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

Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. <sup>†</sup>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: Análise Estatística, 2021

Quanto às medidas da FR, 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;

**Figura2 - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**



Teste de Kruskal-Wallis. Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Apenas as médias significativamente diferentes quando comparadas estão apresentadas. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil. Fonte: Análise Estatística, 2021

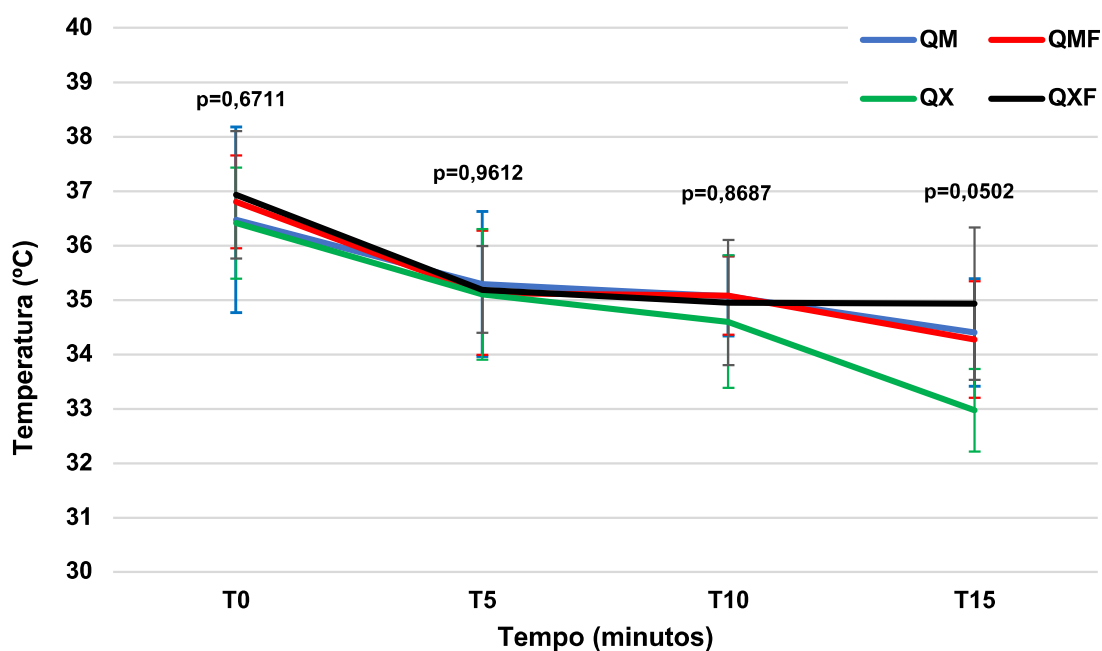
**Tabela 3. Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**

Grupo	Tempo			
	T0	T5	T10	T15
<b>QM</b>				
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
<b>QMF</b>				
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
<b>QX</b>				
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
<b>QXF</b>				
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
<b>p-valor</b>	<b>0,6786</b>	<b>0,2875</b>	<b>0,2452</b>	<b>0,8439</b>

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: Análise Estatística, 2021.

Na análise da T°C também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Entretanto, pode-se observar que 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.

**Figura3 - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**



Teste de Kruskal-Wallis. Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Apenas as médias significativamente diferentes quando comparadas estão apresentadas. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil. Fonte: Análise Estatística, 2021

**Tabela4 - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período transoperatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**

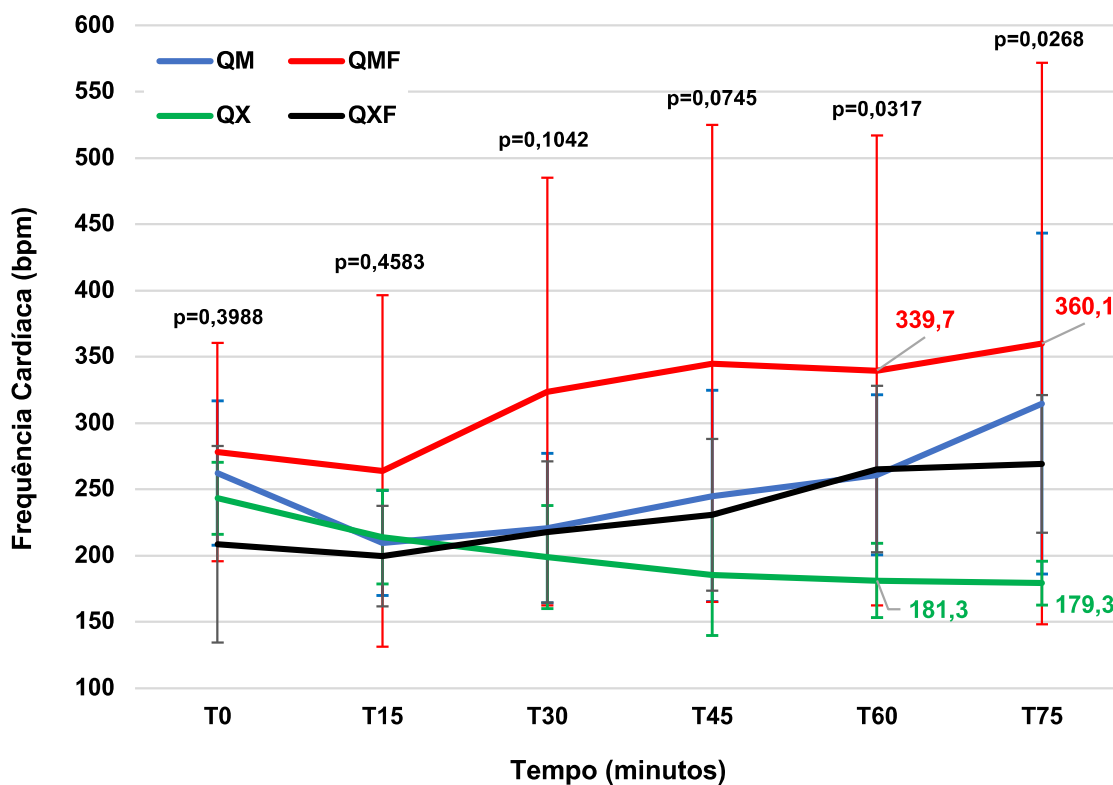
Grupo	Tempo			
	T0	T5	T10	T15
<b>QM</b>				
Mín. – Máx.	34 – 38,9	33,1 – 37	34,2 – 36,2	33,7 – 35,1
Média ± dp	36,5 ± 1,7	35,3 ± 1,3	35,1 ± 0,7	34,4 ± 1,0
IC 95%	34,9 – 38,1	34,1 – 36,5	34,3 – 35,8	25,5 – 43,3
<b>QMF</b>				
Mín. – Máx.	35,9 – 38	33 – 36,6	34,1 – 35,7	33,6 – 35,5
Média ± dp	36,8 ± 0,9	35,1 ± 1,1	35,1 ± 0,7	34,3 ± 1,1
IC 95%	36,0 – 37,6	34,1 – 36,2	34,3 – 35,8	31,6 – 36,9
<b>QX</b>				
Mín. – Máx.	35,2 – 37,6	33,7 – 36,9	33,4 – 36,3	32,1 – 33,5
Média ± dp	36,4 ± 1,0	39,0 ± 1,2	34,6 ± 1,2	33,0 ± 0,8
IC 95%	35,5 – 37,4	34 – 36,2	32,7 – 36,5	31,1 – 34,9
<b>QXF</b>				
Mín. – Máx.	35 – 38,5	34,4 – 36,5	33,6 – 36,6	33,8 – 36,5
Média ± dp	36,9 ± 1,2	35,2 ± 0,8	35,0 ± 1,2	34,9 ± 1,4
IC 95%	35,9 – 38,0	34,5 – 35,9	33,7 – 36,2	31,5 – 38,4
<b>p-valor</b>	<b>0,6711</b>	<b>0,9612</b>	<b>0,8687</b>	<b>0,0502</b>

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: Análise Estatística, 2021.

No pós-operatório, os valores de FC não apresentaram diferença estatisticamente significativa nos tempos T0, T15, T30 e T45. 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.

**Figura4 - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**



Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Apenas as médias significativamente diferentes quando comparadas estão apresentadas. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil. Fonte: Análise Estatística, 2021

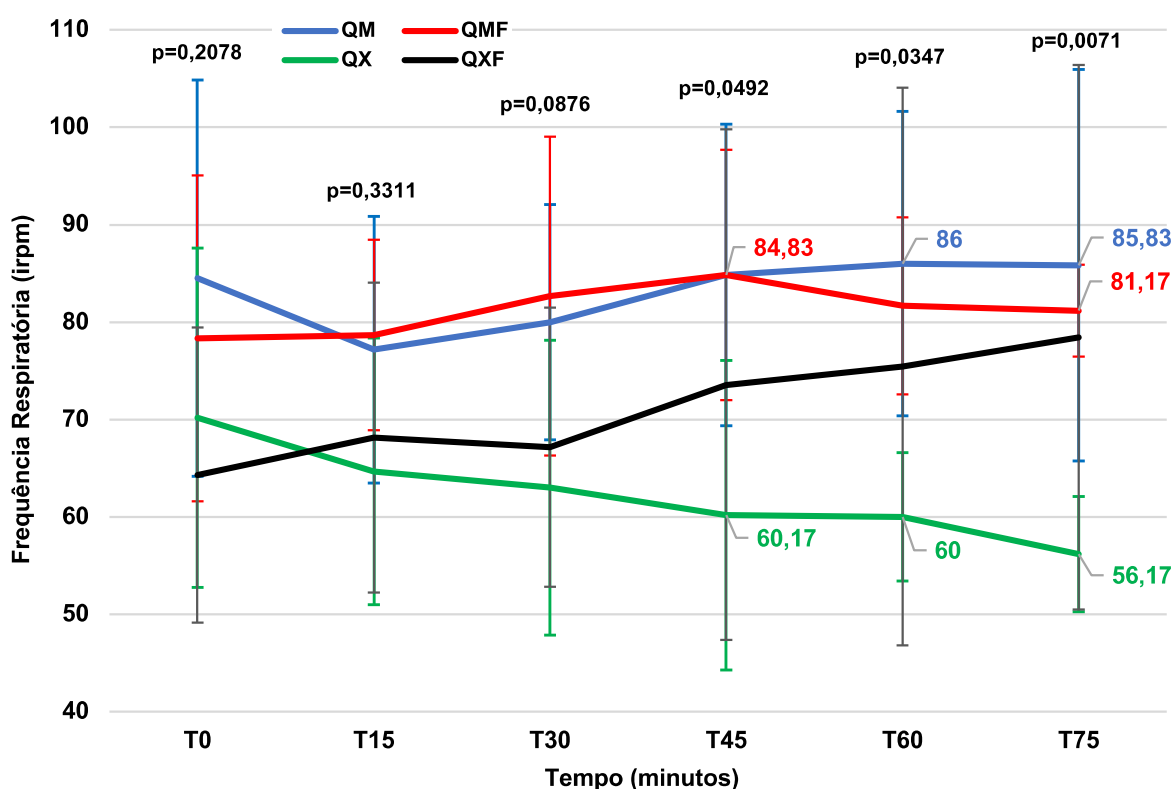
Tabela5 - Comparação da frequência cardíaca (bpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

Grupo	Tempo						
	T0	T15	T30	T45	T60	T75	
<b>QM</b>							
Min. – 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	
<b>QMF</b>							
Min. – 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 <sup>a</sup>	360,1 ± 211,8 <sup>a</sup>	
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	
<b>QX</b>							
Min. – 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 <sup>a</sup>	179,3 ± 16,5 <sup>a</sup>	
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	
<b>QXF</b>							
Min. – 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	
<b>p-valor</b>	<b>0,3988</b>	<b>0,4583</b>	<b>0,1042</b>	<b>0,0745</b>	<b>0,0317<sup>†</sup></b>	<b>0,0268<sup>†</sup></b>	

Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. <sup>†</sup>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: Análise Estatística, 2021

Os dados de FR no pós-operatório 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**.

**Figura5 - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**



Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Apenas as médias significativamente diferentes quando comparadas estão apresentadas. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil. Fonte: Análise Estatística, 2021

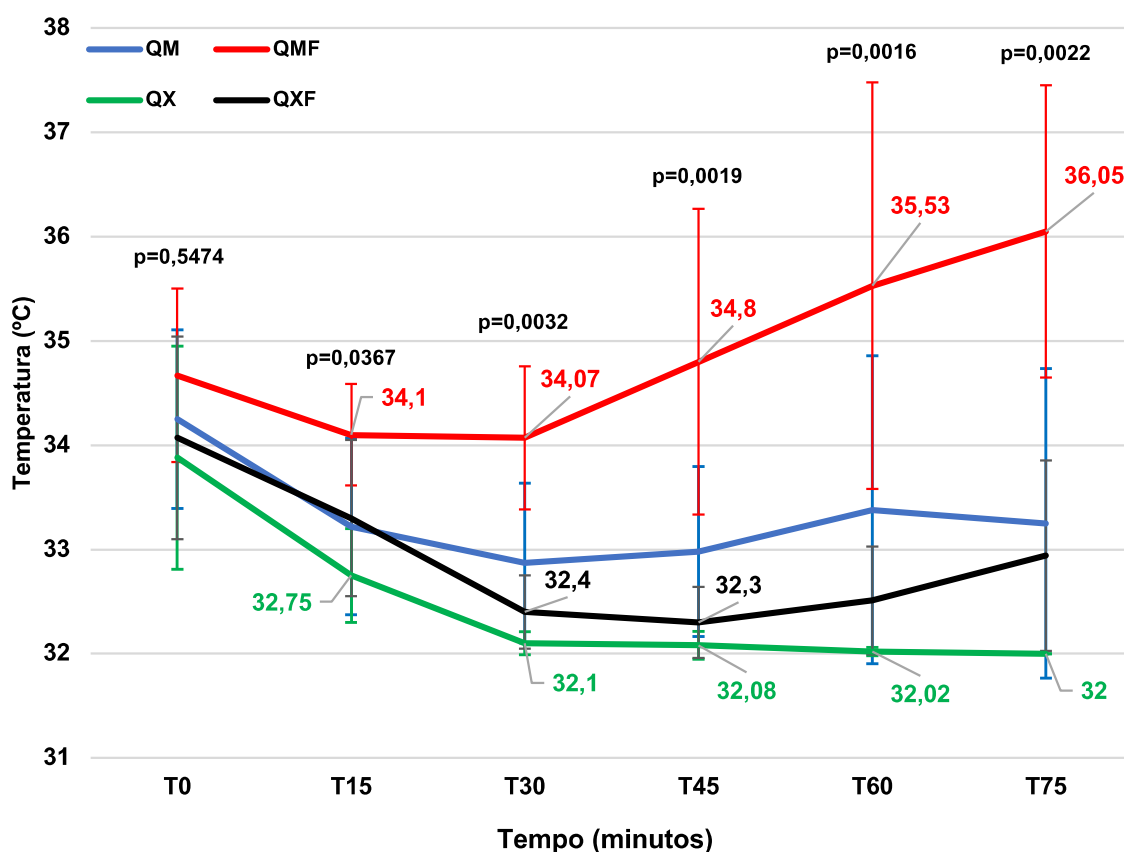
Tabela6 - Comparação da frequência respiratória (irpm) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.

Grupo	Tempo					
	T0	T15	T30	T45	T60	T75
<b>QM</b>						
Min. – 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 <sup>a</sup>	85,8 ± 20,1 <sup>a</sup>
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
<b>QMF</b>						
Min. – 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 <sup>a</sup>	81,7 ± 9,1	81,2 ± 4,7 <sup>b</sup>
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
<b>QX</b>						
Min. – 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 <sup>a</sup>	60 ± 6,6 <sup>a</sup>	56,2 ± 5,9 <sup>a,b</sup>
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
<b>QXF</b>						
Min. – 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
<b>p-valor</b>	<b>0,2078</b>	<b>0,3311</b>	<b>0,0876</b>	<b>0,0492<sup>†</sup></b>	<b>0,0347<sup>†</sup></b>	<b>0,0071<sup>†</sup></b>

Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. <sup>†</sup>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: Análise Estatística, 2021

Com relação à T°C, no pós-operatório 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**.

**Figura6 - Comparação da temperatura corporal (°C) mensurada no período pós-operatório entre os grupos estudados, segundo o tempo.**



Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Apenas as médias significativamente diferentes quando comparadas estão apresentadas. **QX**: grupo quetamina + xilazina. **QXF**: grupo quetamina + xilazina + fentanil. **QM**: grupo quetamina + midazolam. **QMF**: grupo quetamina + midazolam + fentanil. Fonte: Análise Estatística, 2021

Tabela7 - 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	
<b>QM</b>							
Min. – 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	
<b>QMF</b>							
Min. – 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 <sup>a</sup>	34,07 ± 0,7 <sup>a,b</sup>	34,8 ± 1,5 <sup>a,b</sup>	35,53 ± 2,0 <sup>a</sup>	36,1 ± 1,4 <sup>a</sup>	
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	
<b>QX</b>							
Min. – 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 <sup>a</sup>	32,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	32,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	32,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	32 ± 0,0 <sup>a</sup>	
IC 95%	32,8 – 35,0	32,3 – 33,2	32,0 – 32,2	31,9 – 32,2	32,0 – 32,1	32 – 32	
<b>QXF</b>							
Min. – 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 <sup>b</sup>	32,3 ± 0,3 <sup>b</sup>	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	
<b>p-valor</b>	<b>0,5474</b>	<b>0,0367<sup>†</sup></b>	<b>0,0032<sup>†</sup></b>	<b>0,0019<sup>†</sup></b>	<b>0,0016<sup>†</sup></b>	<b>0,0022<sup>†</sup></b>	

Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Dados apresentados como média ± desvio padrão. <sup>†</sup>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: Análise Estatística, 2021

## 5 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 a recuperação pós-operatória.

Encontrar o protocolo anestésico ideal para cada procedimento é de extrema importância não só por questões éticas, mas também pelo fato de que a anestesia sem a adequada sedação e analgesia levam o animal a um estado de estresse que impacta diretamente nos resultados encontrados.

Com relação à FC no período transoperatório, evidenciou-se valores abaixo da normalidade para a espécie (250-600 bpm)<sup>(5)</sup>apresentadas pelo grupo **QXF** nos tempos T5,T10,T15 e do grupo **QX** em T10, T15. Como descrito por Gergye <sup>(24)</sup> e Albrecht<sup>(12)</sup> a Xilazina tem importante efeito cronotrópico negativo. Tsukamoto <sup>(7)</sup> 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 <sup>(7)</sup> e Gergye <sup>(24)</sup> pode ser explicado pelo uso da associação Quetamina e Xilazina.

Na monitorização da FR, 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 (70-150irpm) em alguns tempos. O protocolo que incluía a maior dose de Quetamina (**QX**) foi o que apresentou valores de FR mais baixos, como descrito por Tsukamoto <sup>(7)</sup> doses mais altas de Quetamina estão associadas a maior depressão respiratória. Gergye <sup>(24)</sup> associou a Quetamina a um o maior tempo em bradipneia e levando a acidose respiratória desses animais, que também foi descrita por Cicero <sup>(9)</sup>.

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 <sup>(7)</sup>e Gergye <sup>(24)</sup>.

Os valores de T°C no período transoperatório se mantiveram com média dentro do esperado pela espécie (35,9°-37,5°C)<sup>(5)</sup> em todos os grupos em T0, nos demais tempos todos os grupos mantiveram média abaixo do ideal para a espécie exceto pelo grupo **QX** que em T5 apresentou média dentro do valor de normalidade. Nos protocolos **QX** e **QXF** a hipotermia se relaciona ao uso da Xilazina como descrito por Cicero <sup>(9)</sup> e Tashiro <sup>(25)</sup>. Em seu estudo, Cicero <sup>(9)</sup> relacionou a hipotermia à alterações no metabolismo cerebral dos ratos e causar 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 é fator de pior prognóstico para o animal, como descrito por Cicero.<sup>(9)</sup>

O uso de recursos para controle da hipotermia favorece a mais rápida recuperação anestésica dos animais. Albrecht <sup>(12)</sup> diz que o aquecimento até mesmo no período pré-operatório poderia ser benéfico por reduzir o tempo de perda de calor do rato. Tashiro <sup>(25)</sup> 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 <sup>(26)</sup> e Lipiski <sup>(11)</sup> 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 <sup>(27)</sup> 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.

## 6 CONCLUSÃO

A análise dos resultados permite concluir que os protocolos anestésicos utilizados para a realização da ovariosalpingohisterectomia apresentaram resultados diferentes dependendo do parâmetro e tempo considerados. Pensando em manter sempre os valores de FC, FR e T°C dentro dos valores de normalidade para a espécie e dessa forma manter o animal o mais próximo possível da homeostase podemos considerar que o protocolo **QMF** foi o melhor cumpriu esse papel neste estudo.

A análise clínica subjetiva mostrou a importância do uso de analgésicos na redução dos reflexos álgicos na recuperação pós anestésica. Por esse motivo destaca-se mais uma vez o protocolo **QMF** que levou à menor expressão de reflexos dolorosos pelos animais.

## REFERÊNCIAS

1. Wong SK, Chin K-Y, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & metabolism*. 2016;13(1):65.
2. Poulsen JL, Stubbe J, Lindholt J. Animal models used to explore abdominal aortic aneurysms: a systematic review. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2016;52(4):487-99.
3. Gargiulo S, Greco A, Gramanzini M, Esposito S, Affuso A, Brunetti A, et al. Mice anesthesia, analgesia, and care, Part I: anesthetic considerations in preclinical research. *ILAR J*. 2012;53(1):E55-69.
4. Seabra DI. Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters: Universidade de São Paulo; 2019.
5. Batista FA, Souza WC, Figueiredo RH, Yasojima EY. Animal Lab CAre. Version 1.0 [software]. Universidade do Estado do Pará. 2018 Mai 10 [download em 20 mai. 2021]. Disponível em: <https://paginas.uepa.br/mestrado/ceipe/Patentes.php>
6. Sartori AS, Mello JR Bd. Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica. *Vet Foco*. 2018:19-28.
7. Tsukamoto A, Niino N, Sakamoto M, Ohtani R, Inomata T. The validity of anesthetic protocols for the surgical procedure of castration in rats. *Experimental animals*. 2018:18-0003.
8. Greenfield EA. Administering Anesthesia to Mice, Rats, and Hamsters. *Cold Spring Harb Protoc*. 2019;2019(6).
9. Cicero L, Fazzotta S, Palumbo VD, Cassata G, Lo Monte AI. Anesthesia protocols in laboratory animals used for scientific purposes. *Acta Biomed*. 2018;89(3):337-42.
10. Fortea JI, Puerto M, Fernandez-Mena C, Asensio I, Arriba M, Almagro J, 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):e0233778.
11. Lipiski M, Arras M, Jirkof P, Cesarovic N. Premedication with fentanyl-midazolam improves sevoflurane anesthesia for surgical intervention in laboratory mice. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017;242(12):1287-98.
12. Albrecht M, Henke J, Tacke S, Markert M, Guth B. 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.

13. Brasil. Lein. 11794 de 8 de Outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário oficial da União, Brasília (2008 out.8)
14. Oguz A, Boyuk A, Ekinci A, Alabalik U, Turkoglu A, Tuncer MC, 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.
15. Dera-Szymanowska A, Chmaj-Wierzchowska K, Horst N, Stryjawska K, Wirlstein P, Andrusiewicz M, et al. Immunomodulation inhibits the development of endometriosis in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2020;71(1).
16. Cao Y, Liu T, Li Z, Yang J, Ma L, Mi X, et al. Neurofilament degradation is involved in laparotomy-induced cognitive dysfunction in aged rats. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(24):25643-57.
17. Fontoura-Andrade JL, Pinto LM, Carneiro FP, Sousa JB. Effect of preconditioning and postoperative hyperbaric oxygen therapy on colonic anastomosis healing with and without ischemia in rats. *Acta Cir Bras*. 2020;35(5):e202000503.
18. Hiratani S, Mori R, Ota Y, Matsuyama R, Kumamoto T, Nagashima Y, et al. A Simple and Easily Reproducible Model of Reversible Obstructive Jaundice in Rats. *In Vivo*. 2019;33(3):699-706.
19. Bento SV, Nunes TA, Araujo ID, Silva R, Vidigal PVT, Carvalhais RM. Hyperbaric oxygenation on adhesions prevention after laparotomy in rats. *Acta Cir Bras*. 2018;33(9):824-33.
20. 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 N°52, de 19 de maio de 2021.
21. Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra DR. Descrição de um novo método de ooforectomia em ratas. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2012;52(3):466-70.
22. Souza VR, Mendes E, Casaro M, Antiorio A, Oliveira FA, Ferreira CM. Description of Ovariectomy Protocol in Mice. *Methods Mol Biol*. 2019;1916:303-9.
23. Sophocleous A, Idris AI. Ovariectomy/Orchiectomy in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2019;1914:261-7.
24. Gergye CH, Zhao Y, Moore RH, Lee VK. 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.

25. Tashiro M, Hosokawa Y, Amao H, Tohei A. 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.
26. Célèrier E, Rivat C, Jun Y, Laulin J-P, Larcher A, Reynier P, 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-.
27. Fleischmann T, Jirkof P, Henke J, Arras M, Cesarovic N. Injection anaesthesia with fentanyl–midazolam–medetomidine in adult female mice: importance of antagonization and perioperative care. *Laboratory animals.* 2016;50(4):264-74.

**APÊNDICE A**  
**FICHA DE ACOMPANHAMENTO ANESTÉSICO**

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Identificação do Animal: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Kg

Grupo: \_\_\_\_\_

Anamnese: \_\_\_\_\_

**PRÉ-OPERATÓRIO:**

Hora da Indução: \_\_\_\_\_.

Repique anestésico na indução? \_\_\_\_\_. Quantos?! \_\_\_\_\_

Tempo de indução: \_\_\_\_\_ min

**TRANS – OPERATÓRIO**

Parâmetro	T0	T5	T10	T15	T20	T25
FC						
FR						
T°						

Início da Ooforectomia: \_\_\_\_\_

Término da Ooforectomia: \_\_\_\_\_

OBS da cirurgia: \_\_\_\_\_

Repique anestésico no trans-operatório? \_\_\_\_\_. Quantos?! \_\_\_\_\_

**PÓS – OPERATÓRIO**

Parâmetro	T0	T15	T30	T45	T60	T75
FC						
FR						
T°						

Início da movimentação: \_\_\_\_\_ OBS: \_\_\_\_\_

Marcha com coordenação: \_\_\_\_\_ OBS: \_\_\_\_\_

Tempo de recuperação: \_\_\_\_\_ min

Tempo de ação total dos anestésicos: \_\_\_\_\_ min

Intercorrências: \_\_\_\_\_

**ANEXO A**  
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO CEUA**



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado **“Avaliação de diferentes protocolos anestésicos para a realização de ovariossalpingohisterectomia em ratas”**, protocolo nº **02/2021** sob a orientação da **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosa Helena de Figueiredo Chaves** – 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) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO CESUPA, em 14/01/2021.

Vigência do Projeto	10/01/2021 à 10/12/2022.
Espécie/linhagem	Ratos ( <i>Rattus norvegicus</i> )
Nº de animais	31
Peso/idade	150-250 g / 60 dias
Sexo	Fêmea
Origem	Biotério de Reprodução do Instituto Evandro Chagas

Belém, 14 de janeiro de 2021.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosa Helena de Figueiredo Chaves

**Coordenadora  
CEUA - CESUPA**

**ANEXO B**  
**PARECER DO ORIENTADOR SOBRE A VERSÃO FINAL DO TC**



**PARECER DO ORIENTADOR SOBRE A VERSÃO DO TC PARA DEFESA**  
**PÚBLICA**

**PEDRO PASTORINI FRANCO**

**WILSON RIBEIRO DA SILVA JUNIOR**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS ANESTÉSICOS PARA A**  
**REALIZAÇÃO DE O EM RATAS**

Declaro junto a Coordenação do Trabalho de Curso do CESUPA que li a versão final do TC que tem como título : “**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS ANESTÉSICOS PARA A REALIZAÇÃO DE OVARIOSALPINGOHISTERECTOMIA EM RATAS**” e considero que a mesma se encontra em condições de submissão à banca examinadora durante a Jornada de Defesa de Trabalho de Curso do Curso de Bacharelado em Medicina do CESUPA.

Belém, 20/10/2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rosa Helena de Figueiredo Chaves', is written over a horizontal line.

Prof.(a) Dr( a) Rosa Helena de Figueiredo Chaves  
Orientador(a)

### Uncategorized References

1. Wong SK, Chin K-Y, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & metabolism*. 2016;13(1):65.
2. Poulsen JL, Stubbe J, Lindholt J. Animal models used to explore abdominal aortic aneurysms: a systematic review. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2016;52(4):487-99.
3. Gargiulo S, Greco A, Gramanzini M, Esposito S, Affuso A, Brunetti A, et al. Mice anesthesia, analgesia, and care, Part I: anesthetic considerations in preclinical research. *ILAR J*. 2012;53(1):E55-69.
4. Seabra DI. Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters: Universidade de São Paulo; 2019.
5. Sinais vitais app.
6. Sartori AS, Mello JR Bd. Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica. *Vet Foco*. 2018:19-28.
7. Tsukamoto A, Niino N, Sakamoto M, Ohtani R, Inomata T. The validity of anesthetic protocols for the surgical procedure of castration in rats. *Experimental animals*. 2018:18-0003.
8. Greenfield EA. Administering Anesthesia to Mice, Rats, and Hamsters. *Cold Spring Harb Protoc*. 2019;2019(6).
9. Cicero L, Fazzotta S, Palumbo VD, Cassata G, Lo Monte AI. Anesthesia protocols in laboratory animals used for scientific purposes. *Acta Biomed*. 2018;89(3):337-42.
10. Fortea JI, Puerto M, Fernandez-Mena C, Asensio I, Arriba M, Almagro J, 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):e0233778.
11. Lipiski M, Arras M, Jirkof P, Cesarovic N. Premedication with fentanyl-midazolam improves sevoflurane anesthesia for surgical intervention in laboratory mice. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017;242(12):1287-98.
12. Albrecht M, Henke J, Tacke S, Markert M, Guth B. 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.
13. Resolução Normativa CONCEA No 52, de 19 de maio de 2021, (2021).
14. Oguz A, Boyuk A, Ekinci A, Alabalik U, Turkoglu A, Tuncer MC, 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.
15. Dera-Szymanowska A, Chmaj-Wierzchowska K, Horst N, Stryjawska K, Wirlstein P, Andrusiewicz M, et al. Immunomodulation inhibits the development of endometriosis in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2020;71(1).

16. Cao Y, Liu T, Li Z, Yang J, Ma L, Mi X, et al. Neurofilament degradation is involved in laparotomy-induced cognitive dysfunction in aged rats. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(24):25643-57.
17. Fontoura-Andrade JL, Pinto LM, Carneiro FP, Sousa JB. Effect of preconditioning and postoperative hyperbaric oxygen therapy on colonic anastomosis healing with and without ischemia in rats. *Acta Cir Bras*. 2020;35(5):e202000503.
18. Hiratani S, Mori R, Ota Y, Matsuyama R, Kumamoto T, Nagashima Y, et al. A Simple and Easily Reproducible Model of Reversible Obstructive Jaundice in Rats. *In Vivo*. 2019;33(3):699-706.
19. Bento SV, Nunes TA, Araujo ID, Silva R, Vidigal PVT, Carvalhais RM. Hyperbaric oxygenation on adhesions prevention after laparotomy in rats. *Acta Cir Bras*. 2018;33(9):824-33.
20. Portaria CEUA.
21. Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra DR. Descrição de um novo método de ooforectomia em ratas. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2012;52(3):466-70.
22. Souza VR, Mendes E, Casaro M, Antiorio A, Oliveira FA, Ferreira CM. Description of Ovariectomy Protocol in Mice. *Methods Mol Biol*. 2019;1916:303-9.
23. Sophocleous A, Idris AI. Ovariectomy/Orchiectomy in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2019;1914:261-7.
24. Gergye CH, Zhao Y, Moore RH, Lee VK. 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.
25. Tashiro M, Hosokawa Y, Amao H, Tohei A. 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.
26. Célèrier E, Rivat C, Jun Y, Laulin J-P, Larcher A, Reynier P, 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-.
27. Fleischmann T, Jirkof P, Henke J, Arras M, Cesarovic N. Injection anaesthesia with fentanyl–midazolam–medetomidine in adult female mice: importance of antagonization and perioperative care. *Laboratory animals*. 2016;50(4):264-74.