



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Indicadores comportamentais, eletrocardiográficos e de
movimentação opercular na avaliação da segurança do
etomidato como anestésico em Tambaquis
(*Colossoma macropomum*)**

Thaysa de Sousa Reis

BELÉM-PA

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Indicadores comportamentais, eletrocardiográficos e de movimentação opercular na avaliação da segurança do etomidato como anestésico em Tambaquis (*Colossoma macropomum*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de atuação: Avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos.

Autora: Thaysa de Sousa Reis.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy.

BELÉM-PA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

R375i Reis, Thaysa de Sousa.
Indicadores comportamentais, eletrocardiográficos e de
movimentação opercular na avaliação da segurança do
etomidato como anestésico em Tambaquis (*Colossoma
macropomum*) / Thaysa de Sousa Reis. — 2025.
47 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Moisés Hamoy
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2025.

1. Anestesia. 2. Etomidato. 3. Tambaqui. 4.
Eletrocardiograma. 5. Respiração. I. Título.

CDD 615

THAYSA DE SOUSA REIS

Indicadores comportamentais, eletrocardiográficos e de movimentação opercular na avaliação da segurança do etomidato como anestésico em Tambaquis (*Colossoma macropomum*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de atuação: Avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos.

Data: / /

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Moisés Hamoy

Prof.^a Dr.^a Dielly Catrina Favacho Rêgo

Prof. Dr. Nilton Akio Muto

RESUMO

O uso de anestésicos é fundamental para minimizar o estresse e garantir o bem-estar de peixes durante o manejo. Com este foco, o presente estudo investigou a segurança e eficácia do etomidato como anestésico para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), avaliando seus efeitos sobre o comportamento e os sistemas cardiorrespiratório. O estudo foi realizado com tambaquis juvenis ($27,38 \pm 3,5\text{g}$; $n = 99$), em concentrações de etomidato de 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 mg.L^{-1} , analisando o comportamento de indução e recuperação anestésica e o movimento ocular (experimento I), eletrocardiograma (experimento II) e movimento opercular (experimento III). Observou-se que os peixes expostos a maiores concentrações atingiram mais rapidamente o estágio de anestesia geral; entretanto, o tempo de recuperação foi prolongado, evidenciando uma relação dose-dependente tanto para a indução quanto recuperação anestésica. A exposição ao anestésico causou acentuada depressão cardiorrespiratória, com reduções significativas na frequência cardíaca (até 69,19%) e ventilatória (até 40,70%). No entanto, todos os parâmetros fisiológicos retornaram à normalidade de forma gradual após a retirada do anestésico. Conclui-se que o etomidato é um anestésico seguro e eficaz para o tambaqui em concentrações de 2 a 3 mg.L^{-1} para procedimentos curtos. Doses mais altas, contudo, são desaconselhadas, pois há severa bradicardia e a lenta reversão do quadro representam um significativo risco hemodinâmico para a espécie.

Palavras-chave: Anestesia; Etomidato; Tambaqui; Eletrocardiograma; Respiração.

ABSTRACT

The use of anesthetics is essential to minimize stress and ensure the well-being of fish during handling. With this focus, the present study investigated the safety and efficacy of etomidate as an anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*), evaluating its effects on behavior and the cardiorespiratory systems. The study was conducted with juvenile tambaquis ($27.38 \pm 3.5\text{g}$; $n = 99$), at etomidate concentrations of 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 mg.L^{-1} , evaluating anesthetic induction and recovery behavior and eye movement (experiment I), electrocardiogram (experiment II), and opercular movement (experiment III). Fish exposed to higher concentrations reached the general anesthesia stage more rapidly; however, the recovery time was prolonged, demonstrating a dose-dependent relationship for both induction and recovery. Exposure to the anesthetic caused pronounced cardiorespiratory depression, with significant reductions in heart rate (up to 69.19%) and ventilatory rate (up to 40.70%). However, all physiological parameters gradually returned to baseline levels after withdrawal from the anesthetic. It is concluded that etomidate is a safe and effective anesthetic for tambaqui at concentrations of 2 to 3 mg.L^{-1} for short-term procedures. Higher doses, however, are not recommended, as the severe bradycardia and slow recovery from anesthesia pose a significant hemodynamic risk to the species.

Keywords: Anesthesia; Etomidate; Tambaqui; Electrocardiogram; Breathing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Latências médias para perda do reflexo postural durante banhos de imersão com diferentes concentrações de etomidato e recuperação do reflexo postural após contato com diferentes concentrações de etomidato.....	25
Figura 2. Registro fotográfico do movimento ocular do tambaqui.....	26
Figura 3. Latências médias para perda do movimento sacádico dos olhos durante banhos de imersão e recuperação do movimento sacádico dos olhos após contato com diferentes concentrações de etomidato.....	26
Figura 4. Traçado de registros eletrocardiográfico demonstrando atividade cardíaca em juvenis de <i>Colossoma macropomum</i>	27
Figura 5. Atividade cardíaca em juvenis de <i>Colossoma macropomum</i> , durante banho de imersão em diferentes concentrações de etomidato.....	29
Figura 6. Valores de média do intervalo P-Q (ms), duração do complexo QRS (ms) e intervalo ST (ms).....	30
Figura 7. Atividade cardíaca em juvenis de <i>Colossoma macropomum</i> , durante a recuperação após banho de imersão com diferentes concentrações de ETM.....	32
Figura 8. Valores médios dos parâmetros cardíacos durante a recuperação a exposição a diferentes concentrações de ETM em banho de imersão.....	33
Figura 9. Registro da atividade opercular em juvenis de <i>Colossoma macropomum</i> , durante banho de imersão em diferentes concentrações de ETM.....	35
Figura 10. Registro da movimentação opercular em juvenis de <i>Colossoma macropomum</i> , durante a recuperação após banho de imersão com diferentes concentrações de ETM.....	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Anestesia em peixe	11
2.2	Etomidato.....	14
2.3	Indicadores comportamentais	16
2.4	Eletrocardiografia em peixe	17
2.5	Movimentação opercular	19
3	OBJETIVOS.....	21
3.1	Objetivo geral.....	21
3.2	Objetivos específicos.....	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1	Animais experimentais	22
4.2	Aquisição do medicamento	22
4.3	Delineamento experimental.....	23
4.4	Análise comportamental.....	23
4.5	Análise do eletrocardiograma	23
4.6	Registro da atividade opercular.....	24
4.7	Gravação e análise dos registros	24
4.8	Análise estatística	25
5	RESULTADOS	25
5.1	Análise comportamental.....	25
5.2	Análise eletrocardiográfica.....	27
5.3	Análise opercular.....	25
6	DISCUSSÃO	36
7	CONCLUSÃO.....	39
8	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

Os animais aquáticos, especialmente os peixes, vivem em diversos ambientes onde é necessário garantir a promoção do seu bem-estar. Os peixes desempenham um papel importante em práticas laboratoriais, na piscicultura, em zoológicos e também como animais ornamentais (Brereton; Brereton, 2020; Schroeder et al., 2021; Smith, 2023). Em pesquisas laboratoriais, os peixes ocupam o segundo lugar entre os animais mais utilizados na União Europeia e na Noruega, com o uso de mais de 2 milhões de indivíduos registrados (Schroeder et al., 2021; Hobson, 2024). Em 2020, a pesca e a piscicultura em todo o mundo movimentaram mais de 214 milhões de toneladas de animais aquáticos e algas (FAO, 2023). Ademais, o comércio global de peixes ornamentais tornou-se uma indústria envolvendo mais de 125 países, com a maioria das espécies de água doce sendo comercializadas, principalmente para aquários amadores e, em menor escala, para aquários públicos e laboratórios de pesquisa (Evers; Pinnegar; Taylor, 2019; Jones et al., 2022). Dessa forma, é evidente a ampla presença dos peixes em diversos nichos.

Quando submetidos a estressores, esses animais podem apresentar respostas negativas que afetam sua homeostase. A captura, o transporte e outras formas de manipulação de peixes, usadas tanto na aquicultura quanto em outras práticas, são conhecidas como estresse de manuseio (Martins et al., 2019; Soldatov, 2021; Barreto et al., 2022). Dada a importância do bem-estar animal, o uso de anestésicos é muitas vezes necessário em práticas de manejo, para evitar o estresse causado por esses procedimentos e até para controlar a dor em peixes (Zahl; Samuelsen; Kiessling, 2012; Benovit et al., 2015; Stevens et al., 2017; Das; Thraya; Vijayan, 2018; Rajakumar; Senthilkumaran, 2020; Mirzargar et al., 2021; Sneddon; Roques, 2023). Dessa maneira, métodos de contenção química são utilizados para garantir o bem-estar dos animais, podendo prevenir e/ou minimizar os efeitos adversos associados à manipulação, conforme o objetivo da intervenção (Soldatov, 2021; Schroeder et al., 2021).

Em vista disso, diversos anestésicos são investigados para sua aplicação em animais aquáticos. Os agentes anestésicos utilizados em peixes podem ser de origem vegetal ou sintética, e seus efeitos podem ser monitorados por meio de aspectos bioquímicos, fisiológicos e comportamentais (Hoseini; Mirghaed; Yousefi, 2019; Aydin;

Barbas, 2020; Jorge et al., 2021; Vergneau-Grosset; Cruz Benedetti, 2022; Hoseini et al., 2022). Entre os anestésicos sintéticos mais comuns estão o metanossulfonato de tricaína (MS-222), benzocaína, etomidato, propofol e alfaxolona, que podem ser usados para sedação, anestesia e eutanásia (Stetter, 2001; Matthews; Varga, 2012; Aydin; Barbas, 2020). Os efeitos desses anestésicos podem variar de acordo com a espécie de peixe em questão (Ross & Ross, 2008). Portanto, é essencial pesquisar diferentes agentes anestésicos e seus efeitos para garantir seu uso adequado em cada espécie.

O etomidato tem potencial de uso em diferentes espécies, sendo um dos compostos mais investigados para a aplicação como anestésico em peixes. O etomidato é um agente hipnótico não barbitúrico à base de imidazol, que aumenta a atividade dos receptores de ácido gama-aminobutírico e inibe a liberação de neurotransmissores (Witeska; Dudyk; Jarkiewicz, 2015; Pejo et al., 2016). Além disso, ele exerce um efeito inibitório na esteroidogênese, resultando na diminuição dos níveis de cortisol e, conseqüentemente, suprimindo a resposta ao estresse (Forman; Warner, 2011). O etomidato tem sido investigado como anestésico em várias espécies de peixes, como *Cyprinus carpio*, *Sander lucioperca*, *Perca fluviatilis* e *Sparus aurata* (Dziaman; Hajek; Kłyszczko, 2010; Kristan et al., 2014; Rożyński et al., 2018; Jerez-Cepa et al., 2021). Um estudo realizado por Rożyński et al. (2018) utilizou o etomidato como agente anestésico em *Perca fluviatilis* L. e, com base em análises comportamentais, hematológicas e bioquímicas, concluiu que esse agente é seguro para induzir anestesia nessa espécie. Destarte, a aplicação deste agente anestésico é promissora em diferentes espécies.

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) desempenha um papel importante na piscicultura brasileira de peixes nativos, especialmente na região Norte (Pires et al., 2018; Ruiz-Jarabo et al., 2020; Val; Oliveira, 2021; Peixe BR, 2023). Alguns estudos investigaram o efeito de agentes anestésicos nessa espécie. Souza et al. (2019) avaliaram o efeito anestésico do propofol e do óleo essencial de *Nepeta cataria*, observando alterações cardíacas e ventilatórias. Dada a importância do tambaqui e o manejo na piscicultura, diversos outros trabalhos utilizaram metodologias comportamentais e eletrofisiológicas para compreender melhor a função dos anestésicos na fisiologia dessa espécie, como demonstrado nos estudos de Cantanhêde et al. (2021), Costa et al. (2022) e Vilhena et al. (2022). Assim, este

trabalho tem como objetivo investigar uma faixa de concentração adequada para a anestesia segura em banho de imersão com etomidato na espécie *Colossoma macropomum* a partir de dados comportamentais e eletrofisiológicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Anestesia em peixe

Nos últimos anos, vem sendo discutida a capacidade de nocicepção e dor em peixes. Estudos defendem a presença de nociceptores em peixes teleósteos com similaridade de amino ácidos muito próxima de ratos e humano (Sneddon, 2012; Sneddon, 2019). Dentre os aparatos de nocicepção e dor em mamíferos tem-se os canais iônicos sensíveis a ácido (ASICs), canais de potencial receptor transiente (TRP) e receptores opioides (Carattino; Montalbetti, 2020; Samanta; Hughes; Moiseenkova-Bell, 2018, Sneddon, 2019). Estes canais e receptores são descritos em peixes, sendo identificados nove tipos de TRPs, alguns dos quais diferem dos encontrados em mamíferos; seis tipos de ASICs já foram caracterizados em peixe-zebra; e os receptores opioides possuem grande similaridade ao de mamíferos (Sneddon, 2019). Estudos com peixes revelaram mudanças na atividade cerebral em resposta a estímulos nocivos, além de alterações comportamentais e fisiológicas adversas, as quais podem ser prevenidas por analgésicos reconhecidos por sua eficácia no alívio da dor em mamíferos (Sloman et al., 2019). Dessa forma, um conjunto de informações tidas até o momento apoiam a percepção de dor em peixes, embora, a natureza exata dessa experiência ainda esteja sendo explorada e segue em discussão na literatura.

Em vista disso, tem-se consolidado na literatura a questão do bem-estar animal nos diferentes cenários onde estão inseridos. Os peixes são importantes para as práticas laboratoriais, piscicultura, zoológicos e, ainda, como elementos ornamentais (Brereton; Brereton, 2020; Schroeder et al., 2021; Smith, 2023). No cenário laboratorial, os peixes ocupam o segundo lugar no ranking de animais mais utilizados na pesquisa na União Europeia e Noruega, onde foram registrados o uso de mais de 2 milhões de peixes, ficando atrás somente dos camundongos (Schroeder et al., 2021;

Hobson, 2024). Por outro lado, em 2023, a piscicultura brasileira registrou um expressivo avanço, alcançando aproximadamente 887 mil toneladas de peixe, segundo dados da Associação Brasileira de Piscicultura (Peixe BR, 2024). Ademais, o comércio global de peixes ornamentais consolidou-se como uma indústria que envolve mais de 125 países, sendo predominantemente voltada para espécies de água doce. A maior parte da produção é destinada ao mercado de aquariofilia amadora, enquanto uma parcela menor atende instituições públicas e laboratórios de pesquisa (Evers; Pinnegar; Taylor, 2019; Jones et al., 2022). Dessa maneira, é notória a presença de peixes em diferentes contextos e cenários.

Por vezes, quando submetidos a estressores, esses animais produzem uma resposta negativa para sua homeostase. A captura, o transporte e outras formas de manipulação de peixes ocorrem não apenas na aquicultura, mas também em diferentes práticas relacionadas, sendo essas intervenções caracterizadas como estresse de manuseio (Martins et al., 2019; Soldatov, 2021; Barreto et al., 2022). O estresse em peixes ocorre em três estágios: 1) liberação de catecolaminas e glicocorticoides; 2) reações fisiológicas, como aumento da frequência cardíaca e uso de reservas de energia; e 3) estressores crônicos que afetam o desempenho corporal, resultando em impactos físicos e comportamentais, como crescimento prejudicado e padrões de natação alterados (Barreto et al., 2022, Li et al., 2022). A quantificação do estresse em peixes pode ser feita através de avaliações fisiológicas e comportamentais, sendo que a mais comum se dá através da mensuração do nível cortisol, que pode ser verificado por meio de tecidos corporais, exsudados ou até mesmo na água em que o animal é mantido (Steven et al., 2017; Sadoul; Geffroy, 2019).

Em vista do impacto negativo que a manipulação pode causar em peixes, métodos de contenção química são empregados para viabilizar o bem-estar do animal. Nesse sentido, o uso de anestésicos pode prevenir e/ou minimizar os fatores negativos atrelados a manipulação de acordo com seu propósito (Soldatov, 2021; Schroeder et al., 2021). A anestesia é caracterizada como um estado reversível, induzido por um agente externo, que provoca a perda de sensibilidade por meio da supressão do sistema nervoso central (SNC) (Martins et al., 2019). A anestesia perpassa por diferentes estágios desde a sedação até a anestesia geral, refletindo a profundidade anestésica (Priborsky; Velisek, 2018; Martins et al., 2019). Entre os

anestésicos sintéticos mais utilizados destacam-se o metanosulfonato de tricaína (MS-222), a benzocaína, o etomidato, o propofol, entre outros (Priborsky; Velisek, 2018; Aydin; Barbas, 2020).

Estes agentes anestésicos quando utilizados, pode acarretar condições estressantes para os animais. Estudos utilizando peixe-zebra (*Danio rerio*) demonstraram que agentes anestésicos habitualmente utilizados como o metanosulfonato de tricaína (MS-222) e a benzocaína resultaram em uma aversão nos animais testados (Readman et al., 2013). Contudo, comportamentos aversivos de uma determinada espécie não deve necessariamente anular o uso de determinado agente anestésicos em outras espécies. Pesquisa realizada com a medaka (*Oryzias latipes*), carpa (*Cyprinus carpio*), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e peixinhos-gordos (*Pimephales promelas*) submetidos a três anestésicos (tricaína, benzocaína e etomidato) revelaram que a medaka e o peixe-zebra evitaram tricaína e benzocaína, enquanto a carpa evitou etomidato, mas não os outros dois, já a truta arco-íris e os peixinhos-gordos não mostraram aversão a nenhum anestésico (Readman et al., 2017; Schroeder et al., 2021). Portanto, a viabilidade de determinado agente anestésico pode variar dependendo da espécie testada.

Diversas vias de administração anestésica são possibilitadas em peixes, incluindo a imersão, injeção intramuscular e injeção intravenosa. A imersão é uma técnica amplamente utilizada que permite a rápida absorção do anestésico pelas brânquias, órgãos respiratórios acessórios e/ou pele (Neiffer, 2021). O agente anestésico se difunde rapidamente para as lamelas secundárias e, em seguida, para o sangue arterial eferente, percorrendo um caminho direto até o cérebro, resultando em um efeito rápido e eficaz (Martins et al., 2019; Neiffer, 2021). Já a injeção intravenosa, embora permita um controle ainda mais rigoroso da anestesia, pode ser desafiadora requerendo contenção manual (Neiffer, 2021). Ainda, a injeção intramuscular oferece uma aplicação mais precisa e pode ser ajustada de acordo com a necessidade do peixe, mas requer manuseio cuidadoso e pode ser estressante para o animal, o local preferido para a administração intramuscular é os músculos epaxiais dorsais (Neiffer, 2021). Deste modo, cada via possui suas especificidades, exigindo consideração cuidadosa para garantir a eficácia e minimizar o estresse durante os procedimentos.

Durante a anestesia em peixes, diversos efeitos metabólicos e fisiológicos ocorrem, afetando principalmente os sistemas respiratório, cardiovascular e neurológico. A anestesia induz uma queda no metabolismo geral, o que reduz a necessidade de energia e a produção de resíduos metabólicos (Boaventura et al., 2021; Ferreira et al., 2024). Ademais, alguns anestésicos podem alterar os níveis de glicose no sangue, levando a hiperglicemia temporária (Baesso et al., 2024). Nessa perspectiva, muito é discutido as alterações respiratórias em peixes anestesiados, ocorrendo a diminuição da taxa de ventilação branquial, o que pode causar hipóxia e hipercapnia no sangue (Ferreira et al., 2021; Jia et al., 2022). Para além, o efeito causado no sistema cardiovascular é sua depressão e redução da frequência cardíaca, também, sucede-se a atenuação do SNC, diminuindo a atividade neural e causando perda de reflexos motores e sensoriais (Soldatov, 2021; Barbas et al., 2021). Portanto, é de suma importância que as alterações metabólicas e fisiológicas sejam avaliadas durante a anestesia para averiguar de forma mais consistente a bem-estar do animal.

Outrossim, a eficácia anestésica é influenciada por diversos parâmetros, necessitando de uma ampla investigação dos agentes anestésicos em diferentes condições. A suscetibilidade à anestesia em uma dosagem específica, mesmo entre peixes da mesma espécie, varia conforme fatores biológicos, como idade, peso corporal, maturidade sexual e outros aspectos fisiológicos (Zahl; Samuelsen; Kiessling, 2012; Zahran; Risha; Rizk, 2021; Vergneau-Grosset; Benedetti, 2022). Ainda, fatores abióticos como pH, temperatura, nível de oxigênio e outros, também exercem influência no momento da submissão anestésica (Jacobsen; Steen; Nilssen, 2019; Hsu et al., 2023). Dessa forma, a partir dos pontos abordados é notória a necessidade de investigação de diferentes agentes anestésicos sob diferentes condições.

2.2 Etomidato

Dentre os agentes anestésicos administrados em peixes tem-se o etomidato. O etomidato [etil 3-(1-feniletil)imidazole-4-carboxilato] é um hipnótico não-barbitúrico derivado de imidazóis, que atua ativando e modulando os receptores inibitórios do

ácido gama-aminobutírico tipo A (GABA-A) (Pejo et al., 2016; Martins et al., 2019). Cada receptor GABA-A é formado por cinco subunidades (α , β e γ), organizadas de forma pseudossimétrica em torno de um canal iônico central, o qual é seletivo para íons cloreto (Mcgrath et al., 2018). Dessa forma, nos receptores GABA-A, os locais de ligação para etomidato são formados por partes das hélices transmembranas M1, M2 e M3 da subunidade β , conservadas entre peixes-zebra, camundongos e humanos (Yang et al., 2019). Nessa perspectiva, a ligação do etomidato aumenta a potência agonista para ativar os receptores GABA-A (potenciação agonista), e, na ausência de um agonista, também ativa diretamente esses receptores, aumentando as correntes de cloreto mediadas por GABA e produzindo correntes de cloreto em concentrações mais altas (Meyer; Fish, 2008; Pejo et al., 2016). Nesse sentido, ocorre a inibição da liberação de neurotransmissores em células neurosecretores.

Em vista disso, o etomidato tem sido aplicado como anestésico em diferentes espécies de peixes. O estudo realizado por Jerez-Cepa et al. (2021) demonstrou que o etomidato produziu uma resposta anestésica em dourada (*Sparus aurata* L.), contudo, doses mais elevadas foram necessárias para alcançar a anestesia profunda de forma mais rápida. Isto posto, é reconhecido seu potencial em indução e recuperação anestésica de maneira rápida, sem causar irritação ou reações alérgicas (Readman et al., 2013; Rożyński et al., 2016). Ademais, a partir do etomidato foi desenvolvido, na Polônia, a propiscina, a qual contém uma solução estabilizada de 0,2% de etomidato (Svacina et al., 2016; Soldatov, 2021). O trabalho de Rożyński et al. (2018) utilizando a espécie *Perca fluviatilis* para a submissão anestésica com propiscina em concentração de 1 a 2 mL.L⁻¹, demonstrou que a anestesia profunda foi alcançada em menos de 4 minutos na menor concentração e em torno de 2 minutos na maior concentração, com característica de dose-dependência. Portanto, é enfatizado na literatura a utilização e eficácia anestésica do etomidato em diferentes espécies de peixe.

Outro fator que destaca a utilização do etomidato é a redução dos níveis de cortisol durante situações de estresse em peixes. Este medicamento exerce um efeito inibitório na esteroidogênese, resultando na diminuição dos níveis de cortisol e, conseqüentemente, suprimindo a resposta ao estresse, o que também reduz a possibilidade de imunossupressão relacionada ao estresse em peixes (Witeska; Dudyk; Jarkiewicz, 2015; Martins et al., 2019). Ferreira et al. (2022a) verificou em seu

trabalho a alteração nos níveis de cortisol do peixe-zebra exposto a concentrações equipotentes de diferentes anestésicos. Logo, os animais expostos ao etomidato apresentaram níveis de cortisol inferiores em comparação aos tratados com a tricáína, um agente anestésico amplamente utilizado em peixes e, também, os demais comparados no estudo. Assim, a utilização do etomidato pode ser direcionada para práticas em que a redução do estresse em condições de longa duração seja benéfica.

2.3 Indicadores comportamentais

A avaliação anestésica é realizada com base em diversos parâmetros, incluindo os comportamentais, que servem como indicadores do plano anestésico. São avaliados a natação, postura, comportamento, ventilação branquial, movimento dos olhos, respostas reflexas e frequência cardíaca, com o grau de mudança desses parâmetros dependendo do nível de anestesia alcançado (Sneddon, 2012). Em 1959, McFarland adaptou e descreveu pela primeira vez os estágios progressivos de sedação e anestesia em peixes, o que estabeleceu um consenso na literatura, fundamentando-se em seus parâmetros (Ross; Ross, 2008). Dessa forma, os peixes apresentam evidências comportamentais que podem ser avaliados de maneira visual quanto ao plano anestésico em que se encontra, o que torna um fator valioso na validação e manutenção de agentes anestésicos.

Os níveis de anestesia perpassam pela sedação até o ponto crítico em que pode ocorrer o colapso medular. Segundo Ross & Ross (2008), os estágios de anestesia em peixes são: 1) sedação: redução da atividade e resposta leve a estímulos com ventilação reduzida; 2) anestesia leve: perda parcial de equilíbrio e resposta a estímulos fortes; 3) anestesia profunda: perda total de equilíbrio e ausência de resposta a estímulos com ventilação quase ausente; 4) colapso medular: cessação da ventilação branquial, parada cardíaca, podendo levar à morte. O plano anestésico que se deseja alcançar depende do procedimento ao qual o animal será submetido. Em vista disso, para intervenções rápidas e não invasivas, uma anestesia leve pode ser adequada; no entanto, para procedimentos invasivos e de longa duração, é aconselhável utilizar anestesia cirúrgica (Sneddon, 2012; Rairat et al., 2021).

Outrossim, também são avaliados os padrões comportamentais referentes ao processo de recuperação anestésica. Jia et al. (2022) classificou os estágios de recuperação em três fases: estágio I - perda de equilíbrio, movimento das brânquias e ausência de resposta a estímulos externos; estágio II - recuperação parcial do equilíbrio, mas sem natação ativa; estágio III - equilíbrio totalmente recuperado, natação normal e resposta a estímulos externos. Ademais, a eficácia anestésica está atrelada ao tempo de indução e recuperação que tal agente é capaz de exercer nos animais expostos. Na literatura, o tempo ideal para anestesia em peixes se dá em torno de 3 minutos, o que é visto como um tempo de indução ideal para a anestesia em diversas espécies e estágios de desenvolvimento (Ross; Ross, 2008; Park et al., 2008; Valentim et al., 2016; Mccord et al., 2020). E, a recuperação para os padrões comportamentais devem ocorrer em 5 minutos (Ross; Ross, 2008; Park et al., 2008).

A partir das observações comportamentais também é possível inferir respostas negativas de estresse a determinado agente anestésico. Os indicadores de estresse comportamental em peixes, como agitação, movimentos bruscos e resistência, são essenciais para avaliar o bem-estar animal durante procedimentos anestésicos, sinalizando que a anestesia pode estar inadequada ou que o peixe está sob estresse excessivo. O trabalho de Aydin e Orhan (2021) com base no monitoramento de vídeo verificou que altas concentrações de timol e carvacrol causaram o aumento da distância percorrida e de movimento circular com alta velocidade de nado que podem estar relacionados com o agravamento do bem-estar animal. A identificação de comportamentos estressantes é crucial para ajustar a anestesia e reduzir o estresse. Técnicas de monitoramento, como a observação dos padrões de movimento e respostas a estímulos, ajudam a determinar a profundidade adequada da anestesia. Assim, a análise desses indicadores é fundamental para a eficácia da anestesia e para o bem-estar dos peixes em intervenções científicas e práticas de manejo.

2.4 Eletrocardiografia em peixe

Além das observações comportamentais, cresce na literatura a discussão sobre a importância do monitoramento cardíaco durante processos anestésicos em peixes. O coração está localizado posterior às brânquias, sendo formado por quatro câmaras

dispostas em série: o seio venoso, átrio, ventrículo e cônio arterioso (ou bulbo arterioso) (Axelsson, 2005; Icardo, 2017). Os eventos elétricos do eletrocardiograma apresentam muitas semelhanças com os corações de mamíferos, utilizando a mesma terminologia: a onda P marca o início da contração atrial; o complexo QRS sinaliza o início da contração ventricular; e a onda T representa o início do relaxamento ventricular (Farrel; Smith, 2017). A eletrocardiografia é uma ferramenta valiosa para estudar a função cardíaca em peixes, especialmente em modelos anestesiados, através da análise dos padrões elétricos, é possível obter uma compreensão mais profunda da fisiologia cardiovascular desses animais.

As análises eletrofisiológicas proporcionam uma ferramenta para compreender a resposta fisiológica de animais anestesiados, permitindo avaliar a segurança dos agentes anestésicos administrados. Souza et al. (2019) investigou a resposta cardíaca de *Colossoma macropomum* submetidos ao propofol e óleo essencial de *Nepeta cataria*, seus dados revelam a diminuição acentuada da frequência cardíaca, contudo, seu ritmo sinusal é mantido. Por outro lado, o trabalho de Reis et al. (2024) utilizando a espécie *Oreochromis niloticus* submetida as mesmas concentrações de tricaína (175 ppm), indicaram uma redução de apenas 31.41 % na frequência cardíaca. Dessa forma, pode-se concluir que espécies diferentes reagem de maneiras distintas à ação do mesmo anestésico em sua fisiologia. Ademais, o estudo de Vieira et al. (2023) com *Colossoma macropomum* submetidos a banhos de imersão em lidocaína indicaram também um alto decaimento na frequência cardíaca desses animais. À vista disso, ressalta-se a importância do monitoramento cardíaco nas práticas anestésicas para a manutenção do bem-estar animal.

É possível também, com a análise do eletrocardiograma, observar intercorrências durante a anestesia. Nesse sentido, Souza et al. (2024), em seu estudo com juvenis de tambaqui expostos a banhos de imersão com tricaína, observaram a ocorrência de bloqueio atrioventricular em concentrações mais elevadas de tricaína (200 e 250 mg.L⁻¹). Além disso, Araújo et al. (2023) identificaram, em seu experimento, um potencial bloqueio atrioventricular evidenciado pelo prolongamento do complexo QRS, assim como dos intervalos RR e QT. Outrossim, o estudo realizado por Santos et al. (2024) identificou a apiculação da onda P durante a recuperação anestésica com o uso do óleo essencial de *Nepeta cataria* na concentração de 200 µL.L⁻¹ em tambaqui, essa alteração indica uma sobrecarga atrial

no bombeamento de sangue para o ventrículo. Portanto, a eletrocardiografia revela eventos que podem ser prejudiciais à hemodinâmica do animal, permitindo a avaliação do anestésico mais adequado para cada espécie.

Dessa maneira, o eletrocardiograma (ECG) permite a avaliação contínua da atividade elétrica do coração, possibilitando o monitoramento em tempo real das mudanças na frequência e no ritmo cardíaco. Essa ferramenta é fundamental, pois a anestesia pode afetar a função cardiovascular de maneiras inesperadas podendo desenvolver arritmias. Assim, caso um anestésico promova alterações indesejadas no ECG, isso pode levar à reconsideração de sua utilização para aquela espécie específica.

2.5 Movimentação opercular

A movimentação opercular é um aspecto fundamental da fisiologia dos peixes, especialmente no que se refere à ventilação das brânquias. O opérculo, oferece suporte à cobertura branquial, desempenhando um papel crucial na respiração e na abertura da boca (Kimmel; Small; Knope, 2017). Dessa forma, o ciclo ventilatório em peixes teleósteos é composto por duas fases: 1) com a boca aberta e os opérculos fechados, as cavidades bucal e opercular se expandem, puxando a água para dentro da boca; 2) com a boca fechada e os opérculos abertos, as cavidades bucal e opercular se contraem, permitindo que a água na cavidade bucal flua pelas brânquias e saia pelas aberturas operculares (Pan e Perry, 2023).

Em grande parte dos teleósteos, o complexo opercular é formado por quatro unidades distintas e interconectadas, sendo: o pré-opérculo, o interopérculo, o sub-opérculo e o opérculo (Wu et al., 2024). Os músculos respiratórios responsáveis pela ventilação são inervados pelos nervos trigêmeo, facial, glossofaríngeo e vago (Milsom, 2018). Destarte, os opérculos desempenham um papel crucial na respiração dos peixes, facilitando a troca gasosa necessária para sua sobrevivência em ambientes aquáticos. Durante a anestesia, a respiração deve ser monitorada para garantir que as funções vitais do animal está sendo mantida durante todo o processo. Normalmente, a taxa respiratória em animais anestesiados é diminuída, ocorrendo a supressão do aparelho branquial (Soldatov, 2021; Brostand, 2022). Este fator deve

ser acompanhado pois a diminuição da taxa respiratória devido a diminuição do movimento opercular pode levar a hipóxia, com alterações nos níveis de oxigênio e dióxido de carbono (Carter; Woodley; Brown, 2011; Hoseini, 2022).

Nesse sentido, diversos autores discutem a frequência respiratória durante o processo anestésico. O trabalho de Jia et al. (2022) utilizando a tricaína e o óleo essencial de cravo como agentes anestésico na espécie *Oplegnathus punctatus*, verificou que esses anestésicos deprimiram de forma significativa a taxa respiratória desses animais. Ademais, o estudo de Costa et al. (2022) identificou uma queda brusca na taxa de batimento opercular quando administrado o mentol como agente anestésico em *Colossoma macropomum*. Portanto, a avaliação do movimento opercular para a segurança anestésica e manutenção do bem-estar animal é validada na literatura.

2.6 Tambaqui

O tambaqui (*Colossoma macropomum*), é a maior espécie de caracídeo presente nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco, este, é considerado o segundo maior peixe amazônico de escamas, podendo alcançar até um metro de comprimento e pesar até 30 kg (Val; Oliveira, 2021; Hilsdorf et al., 2022). Essa espécie possui grande importância econômica e nutricional na região amazônica e, desde a década de 1980, foi consolidada como uma espécie viável para a aquicultura (Hilsdorf et al., 2022). O tambaqui é reconhecido por sua fisiologia adaptada a condições hipóxicas e ácidas da região, além de sua resistência a doenças (Wood et al., 2018; Hilsdorf et al., 2022). Dessa forma, esta espécie se torna alvo para o cultivo e criação devido às suas características de interesse para a aquicultura.

Dentre as dificuldades da aquicultura tem-se como um estressor a densidade de estocagem. A densidade de estocagem é um elemento relevante na aquicultura intensiva pois pode afetar a homeostase dos animais devido a sua resposta a este estressor (Martos-Sitcha, 2020; Li et al., 2021). O tambaqui demonstra boa adaptabilidade sob altas condições de estocagem (Silva et al., 2021; Hilsdorf et al., 2022). Devido a suas propriedades fisiológicas, o tambaqui também é estudado para

diferentes finalidades. Barbas et al. (2017a) sugere esta espécie como um modelo de estudo para avaliação de agentes anestésicos para espécies tropicais de água doce.

Para além, Barbas et al. (2017b) demonstrou que juvenis de tambaqui anestesiados e transportado com tricaína não tiveram diferenças significativas no estresse secundário e oxidativo quando comparado com o grupo controle, o que vai de encontro ao achado de Stringhetta et al. (2017). Outrossim, Ferreira et al. (2022b) investigou a suscetibilidade do tambaqui ao óleo essencial de *Hesperozygis ringens* como agente anestésico, validando sua ação em concentrações de 150 - 450 $\mu\text{L.L}^{-1}$. Diante do exposto, percebe-se que a literatura oferece uma ampla gama de informações que corroboram o uso de diferentes agentes anestésicos. No entanto, a avaliação detalhada das respostas eletrofisiológicas de cada composto ainda constitui um desafio a ser plenamente explorado.

Agentes anestésicos como tricaína, lidocaína, mentol e eugenol foram avaliados nesta espécie com base em parâmetros bioquímicos e comportamentais. No entanto, a literatura ainda não apresenta dados sobre o uso do etomidato no tambaqui, especialmente em relação às respostas fisiológicas. Embora o etomidato tenha sido investigado em diversas espécies e demonstrado um efeito anestésico eficaz, sua aplicação específica em tambaqui permanece inexplorada, o que destaca a necessidade de estudos adicionais para compreender seus efeitos nessa espécie.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar uma janela de concentração adequada para anestesia segura em banho de imersão com etomidato na espécie *Colossoma macropomum* a partir de dados comportamentais e eletrofisiológicos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a latência para a perda do reflexo de postura durante banho de imersão nas concentrações de etomidato de 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 mg.L⁻¹ e, latência para a recuperação do reflexo de postura após o contato;
- Avaliar a atividade cardíaca durante o contato com concentrações 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 mg.L⁻¹, durante indução e recuperação da anestesia;
- Avaliar as características eletrocardiográficas durante a indução e a recuperação da anestesia com etomidato, incluindo a frequência cardíaca, intervalo P-Q, intervalo R-R, intervalo Q-T e duração do complexo QRS;
- Avaliar a atividade opercular durante o contato com concentrações 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 mg.L⁻¹, durante indução e recuperação da anestesia.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais experimentais

Os indivíduos utilizados foram (n= 99) da espécie tambaqui, *Colossoma macropomum*, adquiridos do Laboratório de Aquacultura de espécies Tropicais (IFPA-Castanhal). Os animais foram estocados em aquários no Biotério de Experimentação do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais da Universidade Federal do Pará (UFPA) em ambiente com temperatura controlada (25 a 28 °C) e fotoperíodo 12 h C: 12 h E. A alimentação realizada duas vezes ao dia com ração comercial (32% de proteína) até à saciedade. Concomitantemente à sifonagem para a retirada de alimento não consumido e fezes, a água foi parcialmente renovada (aproximadamente 20% do volume dos tanques) com água de mesma origem. Durante a aclimação (10 dias), as variáveis de qualidade da água como temperatura da água (°C); potencial hidrogeniônico (pH); oxigênio dissolvido (OD), foram monitorados. Este projeto obteve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA), conforme o protocolo nº 7637241023.

4.2 Aquisição do medicamento

O etomidato (2 mg.ml) foi adquirido no Laboratório Midfarma, fabricado por Blau Farmacêutica S. A., localizado na Rua Adherbal Stresser, 84, São Paulo. O medicamento foi diluído em água nas concentrações de 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 mg.L⁻¹. Posteriormente, os animais foram colocados em banhos de imersão em todas as concentrações.

4.3 Delineamento experimental

Os juvenis de tambaqui ($27,38 \pm 3,5g$) foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes tratamentos: a) controle (eletrocardiograma), b) peixes submetidos ao banho de imersão em etomidato (ETM) na concentração de 2,0 mg.L⁻¹, c) 2,5 mg.L⁻¹, d) 3,0 mg.L⁻¹, e) 3,5 mg.L⁻¹ e f) 4,0 mg.L⁻¹ (comportamental e eletrocardiograma). Todos os peixes foram submetidos a indução anestésica mantendo o contato por um período de 10 minutos e para a recuperação anestésica foi observado durante 10 minutos em água sem anestésico, tanto para a avaliação comportamental quanto eletrofisiológica. Todos os experimentos tiveram duração de 20 minutos. Para cada registro foi utilizado um n = 9/tratamento (banho de imersão com ETM e recuperação após banho de imersão), em um total de 99 animais.

4.4 Análise comportamental

Foi avaliada a latência para a perda do reflexo de postura em banho de imersão com concentrações de ETM de 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 mg.L⁻¹, com a perda de postura sendo caracterizada pelo decúbito lateral mantido por mais de 15 segundos. Após a remoção dos animais do contato com o ETM, foi avaliada a latência para a recuperação do reflexo de postura, definida pela manutenção da postura por 15 segundos. Também foi analisada a média de latência para a perda do movimento sacádico dos olhos durante a indução anestésica, assim como a latência média para a recuperação desse movimento durante o período de recuperação anestésica.

4.5 Análise do eletrocardiograma

Para a análise e monitoramento da função cardíaca, foram confeccionados eletrodos de prata 925 com diâmetro de 0,3 mm e comprimento de 10 mm, que foram posteriormente isolados com isolante líquido e mantidos de forma não conjugada. A posição de fixação do eletrodo de referência seguirá a orientação do vetor cardíaco, com o polo negativo na base cardíaca e o polo positivo no ápice cardíaco, sendo fixado na porção ventral da abertura opercular esquerda, a 0,2 mm após o término da cavidade opercular. O eletrodo de registro foi inserido a 2,0 mm da abertura opercular direita e captou o sinal na derivação D1. Em seguida, os eletrodos foram conectados a um amplificador de alta impedância (Grass Technologies, Modelo P511) para a realização dos registros eletrocardiográficos, permitindo a análise da frequência cardíaca (bpm), amplitude do complexo QRS (mv), duração do complexo QRS (ms) e os intervalos RR (ms), PQ (ms) e ST (ms).

4.6 Registro da atividade opercular

Para a análise da atividade opercular, foram confeccionados eletrodos de prata 925 com diâmetro de 0,5 mm e comprimento de 15 mm. Esses eletrodos foram fabricados de forma conjugada, com uma distância de 5 mm entre eles, e isolados com isolante líquido. A posição escolhida para a fixação dos eletrodos e o registro do batimento opercular foi a parte central da abertura opercular direita. Durante o registro, foram avaliadas a frequência do batimento opercular (batimentos por minuto) e a potência do batimento opercular (mV^2/Hz).

4.7 Gravação e análise dos registros

Os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados digital por meio de um amplificador diferencial de alta impedância de entrada (Grass Technologies, Modelo P511), ajustado com filtragem entre 0,3 e 300 Hz, amplificação de 2000X, e monitorados por um osciloscópio (ProteK, Modelo 6510). Os registros foram continuamente digitalizados a uma taxa de 1 kHz em um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX), e foram armazenados em disco rígido e posteriormente processados por um software especializado (LabVIEW express).

As análises dos sinais adquiridos foram realizadas com uma ferramenta desenvolvida em Python 2.7, que utilizou as bibliotecas Numpy e Scipy para processamento matemático e Matplotlib para criação de gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida com a biblioteca PyQt4 (Hamoy et al., 2023). Os gráficos de amplitude demonstraram as diferenças de potencial entre os eletrodos de referência e de registro, e os sinais foram observados a uma taxa de 1000 amostras por segundo.

4.8 Análise estatística

Verificaram-se os pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias, utilizando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente, as comparações das médias de potência foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste de Tukey. As análises foram conduzidas no software GraphPad Prism® 8, e valores de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ foram considerados estatisticamente significativos em todos os casos.

5 RESULTADOS

5.1 Análise comportamental

O etomidato causou perda do reflexo postural e paralisia dos movimentos oculares em todas as concentrações testadas. A análise comportamental revelou uma perda dose-dependente do reflexo postural, com maior dose resultando em menor latência para a perda do reflexo. Peixes expostos a $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ apresentaram perda de postura em $194,8 \pm 18,54 \text{ s}$, enquanto o grupo exposto a $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ teve um tempo significativamente menor, com perda de reflexo em $163,1 \pm 11,44 \text{ s}$. Os peixes tratados com $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de etomidato perderam o reflexo postural em $135,0 \pm 16,03 \text{ s}$, significativamente mais rápido do que os grupos que receberam $2,0$ e $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Os grupos tratados com $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($90,89 \pm 10,48 \text{ s}$) e $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($86,11 \pm 10,06 \text{ s}$) apresentaram tempos significativamente menores em relação aos demais, mas sem diferença entre si ($p=0,949$) (Figura 1A).

A recuperação do reflexo postural no grupo exposto a $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de etomidato ocorreu em $203,7 \pm 26,78 \text{ s}$, sendo mais rápida que nos grupos expostos a $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($240,0 \pm 19,83 \text{ s}$), $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($294,0 \pm 18,61 \text{ s}$), $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($373,2 \pm 31,47 \text{ s}$) e $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($417,4 \pm 30,03 \text{ s}$). Todos os grupos mostraram tempos de recuperação dependentes da concentração, com concentrações mais altas resultando em tempos mais longos para a recuperação do reflexo postural, indicando que o efeito foi reversível de forma mais lenta nos grupos que receberam concentrações maiores (Figura 1B).

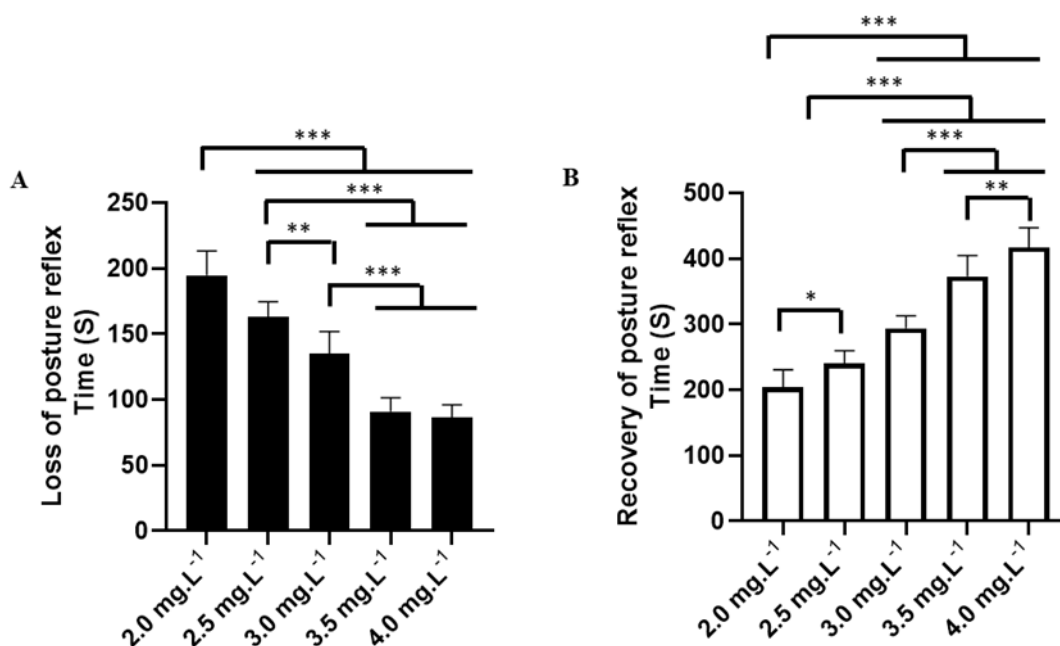


Figura 1. Latências médias (s) para perda do reflexo postural durante banhos de imersão com diferentes concentrações de etomidato (A). Recuperação do reflexo postural após contato com diferentes concentrações de etomidato (B). (ANOVA seguida do teste de Tukey; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$).

A análise comportamental mostrou que o etomidato (ETM) provocou paralisia dos movimentos oculares no tambaqui durante a anestesia (Figura 2A), indicando um aprofundamento do efeito anestésico. A latência para a paralisia ocular no grupo tratado com 2 mg.L^{-1} de ETM foi, em média, $193,7 \pm 316,79 \text{ s}$, sendo maior que nos grupos tratados com $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($169,8 \pm 10,60 \text{ s}$), $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($131,8 \pm 17,82 \text{ s}$), $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($97,67 \pm 7,85 \text{ s}$) e $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($89,56 \pm 10,19 \text{ s}$). Assim, houve uma relação inversa entre a concentração de ETM e a latência para a perda dos movimentos oculares, com as concentrações mais altas apresentando menores latências (Figura 3A).

A recuperação dos movimentos oculares após 10 minutos de contato em banho de imersão com ETM (Figura 2B) foi, em média, $186,6 \pm 20,03$ s no grupo tratado com $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$, semelhante ao grupo de $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($211,7 \pm 12,23$ s) ($p=0,135$). No entanto, esses tempos foram menores em comparação aos grupos tratados com $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($271,4 \pm 21,70$ s), $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ($350,7 \pm 26,00$ s) e $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ($394,2 \pm 27,59$ s), com maiores concentrações resultando em maior latência para a recuperação dos movimentos oculares (Figura 3B).

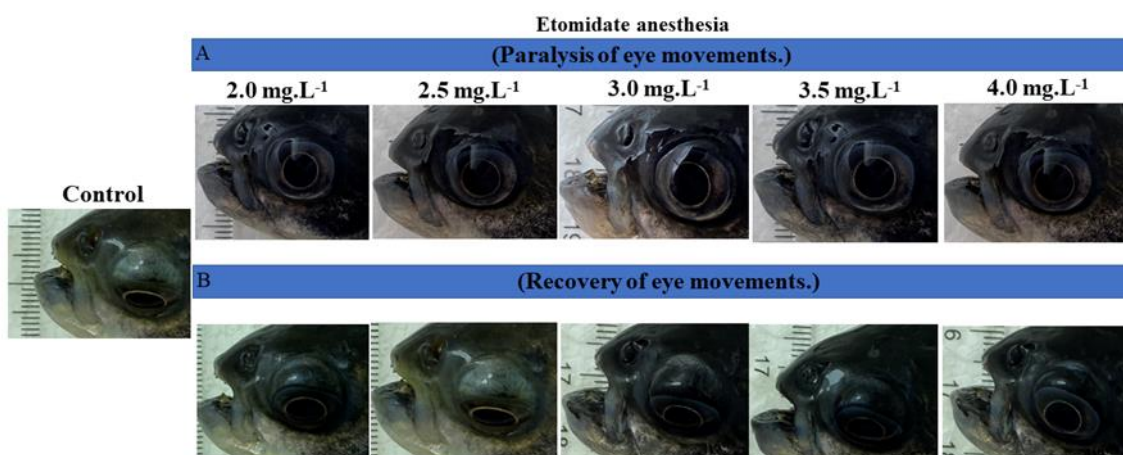


Figura 2. Apresenta registro fotográfico do movimento ocular do tambaqui. Ocorre paralisia do movimento ocular durante o tratamento com diferentes concentrações de ETM (A); Registro fotográfico da recuperação dos movimentos oculares do tambaqui em água livre de etomidato (B). (As concentrações aumentam da esquerda para a direita).

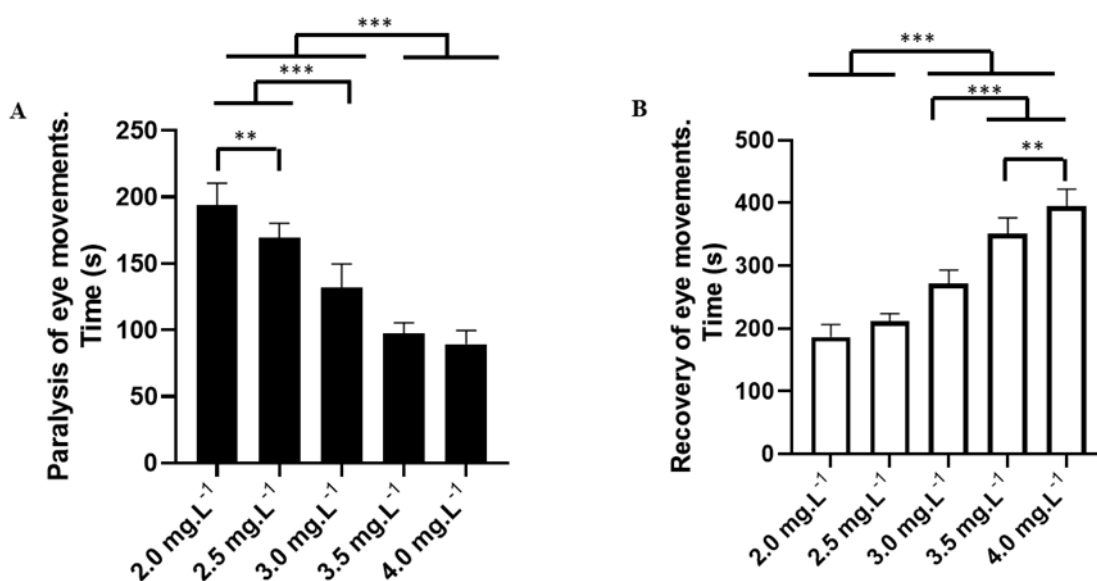


Figura 3. Latências médias (s) para perda do movimento sacádico dos olhos durante banhos de imersão com diferentes concentrações de etomidato (A). Recuperação do movimento sacádico dos

olhos após contato com diferentes concentrações de etomidato (B). (ANOVA seguida do teste de Tukey; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$).

5.2 Análise eletrocardiográfica

O ritmo cardíaco do grupo controle foi classificado como sinusal, operando a uma frequência média de 88.00 ± 2.44 bpm, com todas as ondas do eletrocardiograma claramente visíveis (Figura 4.A). Uma amplificação do traçado por 10 segundos, detalhada na Figura 4.B, tornou possível distinguir os elementos gráficos que representam cada fase do ciclo cardíaco: a onda P para a atividade dos átrios, o complexo QRS para a atividade dos ventrículos e a onda T para a repolarização ventricular. Essa distinção foi fundamental para a análise dos intervalos durante e após a imersão em ETM.

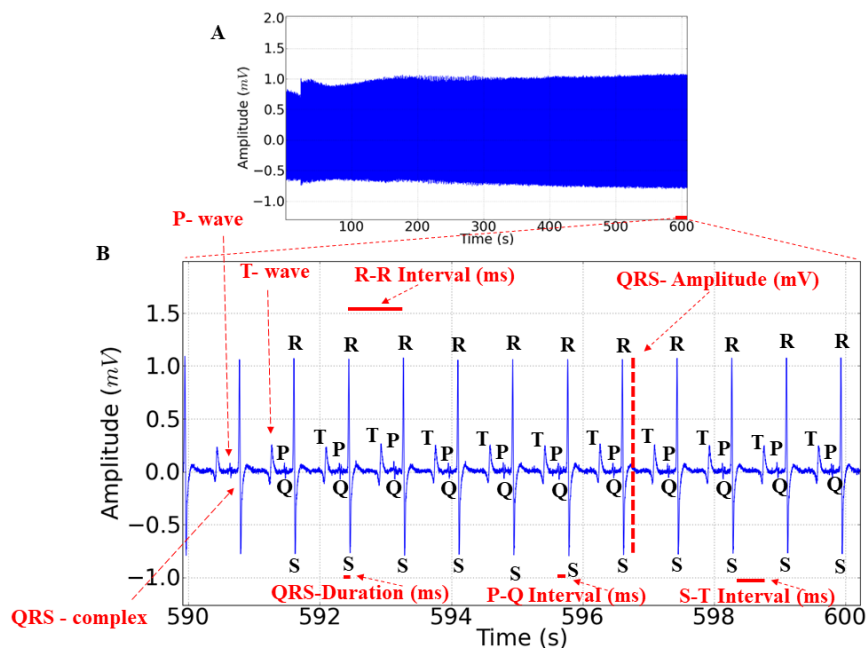


Figura 4. Traçado de registros eletrocardiográfico demonstrando atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macopomum* (A), amplificação dos últimos 10 segundos do registro de 10 minutos (590 a 600s), demonstrando os grafoelementos avaliados no trabalho demonstrando a onda P, o complexo QRS e onda T e variáveis como a frequência cardíaca (bpm), amplitude (mV), intervalos R-R, P-Q e Q-T (ms) e duração do complexo QRS (ms), estão indicados em vermelho (B).

O tratamento com ETM induziu uma bradicardia dose-dependente, evidenciada pela redução na excitabilidade cardíaca nos registros de ECG (Figura 5 A-E), embora

todos os animais tenham mantido o ritmo sinusal. Em comparação à frequência cardíaca (FC) do grupo controle (88.00 ± 2.44 bpm), os grupos tratados apresentaram uma redução progressiva. Nas concentrações de 2,0 e 2,5 mg.L⁻¹, a FC diminuiu para 43.78 ± 2.33 bpm (redução de 50,25%) e 37.78 ± 3.073 bpm (redução de 57,06%), respectivamente. A bradicardia foi ainda mais severa nas doses de 3,0 mg.L⁻¹ (32.44 ± 2.40 bpm), 3,5 mg.L⁻¹ (29.33 ± 1.41 bpm) e 4,0 mg.L⁻¹ (27.11 ± 2.66 bpm), correspondendo a quedas de 63,13%, 66,67% e 69,19%. Notadamente, na concentração mais alta, a atividade cardíaca diminuiu acentuadamente em 10 minutos (Figura 5). A análise estatística confirmou que essas diferenças foram significativas entre a maioria dos grupos, com exceção das comparações entre 3,0 e 3,5 mg.L⁻¹ ($p=0.093$) e entre 3,5 e 4,0 mg.L⁻¹ ($p=0.396$) (Figura 5 F).

A amplitude do complexo QRS não foi significativamente alterada pelo tratamento com ETM. O grupo controle apresentou uma média de 1.103 ± 0.088 mV, e os valores para os grupos tratados com 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 e 4.0 mg.L⁻¹ foram, respectivamente, 0.967 ± 0.222 mV, 1.048 ± 0.102 mV, 0.933 ± 0.188 mV, 0.954 ± 0.158 mV e 1.043 ± 0.188 mV. A análise estatística confirmou a ausência de diferença significativa entre todos os grupos ($F(5,48)= 1.438$; $p=0.227$), como ilustrado na Figura 5G.

O grupo controle registrou a menor média do intervalo RR (681.7 ± 19.00 ms), valor significativamente inferior ao de todos os grupos tratados. Nos grupos expostos à substância, o intervalo RR médio aumentou de forma dependente da concentração: 1368.0 ± 67.78 ms (2.0 mg.L⁻¹), 1593.0 ± 139.9 ms (2.5 mg.L⁻¹), 1854.0 ± 136.4 ms (3.0 mg.L⁻¹), 2048.0 ± 95.52 ms (3.5 mg.L⁻¹) e 2231.0 ± 223.2 ms (4.0 mg.L⁻¹). Todas as diferenças observadas entre os grupos foram estatisticamente significativas (Figura 5 H).

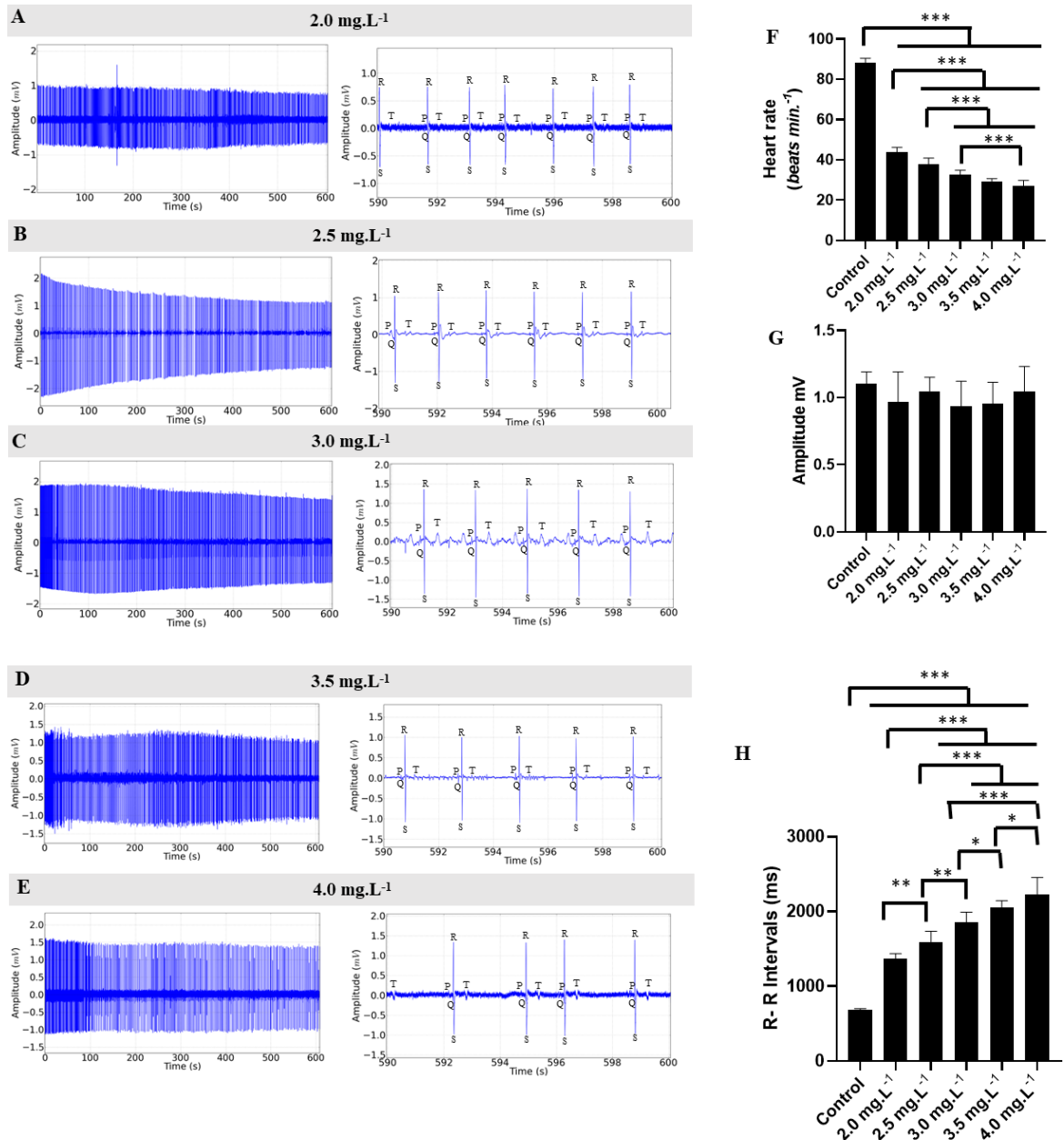


Figura 5. Atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante banho de imersão em diferentes concentrações de etomidato (esquerdo). Amplificação do registro nos últimos 10 segundos (590-600 s) (centro), para identificação das deflagrações cardíacas, para tratamento nas concentrações de 2.0 mg.L⁻¹ (A), 2.5 mg.L⁻¹ (B), 3.0 mg.L⁻¹ (C), 3.5 mg.L⁻¹ (D) e 4.0 mg.L⁻¹ (E). Valores médios da frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) (F), valores de média de amplitude do complexo QRS (mV) (G), valores médios de intervalos RR (ms) (H) durante o tratamento com ETM. (ANOVA seguida do teste de Tukey; *P<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; n=9).

A média do intervalo PQ no grupo controle foi de 130.6 ± 7.92 ms, não diferindo estatisticamente dos grupos tratados com 2.0 mg.L⁻¹ (138.6 ± 7.41 ms; $p=0.158$) e 2.5 mg.L⁻¹ (139.2 ± 7.87 ms; $p=0.102$). No entanto, este valor foi significativamente menor quando comparado às médias obtidas nas concentrações de 3.0 mg.L⁻¹ ($151.3 \pm$

6.124 ms), 3.5 mg.L⁻¹ (155.1 ± 6.412 ms) e 4.0 mg.L⁻¹ (175.2 ± 5.31 ms). Adicionalmente, não houve diferença significativa entre os grupos de 3.0 e 3.5 mg.L⁻¹ (p=0.853) (Figura 6 A).

A duração média do complexo QRS no grupo controle foi de 32.44 ± 1.87 ms, valor inferior ao de todos os grupos tratados. Entre estes, os grupos de 2.0 mg.L⁻¹ (35.89 ± 1.61 ms), 2.5 mg.L⁻¹ (36.44 ± 3.38 ms) e 3.0 mg.L⁻¹ (37.22 ± 2.048 ms) não apresentaram diferença estatística entre si. Por sua vez, o tratamento com 3.5 mg.L⁻¹ (39.67 ± 1.50 ms) resultou em um QRS mais longo que o do grupo de 2.0 mg.L⁻¹, enquanto a concentração de 4.0 mg.L⁻¹ (42.22 ± 3.308 ms) induziu o maior aumento na duração do complexo, superando todos os demais grupos (Figura 6 B).

Durante a indução, o grupo controle registrou uma média do intervalo ST de 333.3 ± 10.76 ms. Este valor foi significativamente menor que os observados em todos os grupos tratados, os quais apresentaram um prolongamento do intervalo conforme a dose aumentava: 378.6 ± 10.26 ms (2.0 mg.L⁻¹), 425.4 ± 11.49 ms (2.5 mg.L⁻¹), 456.4 ± 18.37 ms (3.0 mg.L⁻¹), 460.8 ± 11.13 ms (3.5 mg.L⁻¹) e 487.9 ± 10.87 ms (4.0 mg.L⁻¹). A análise estatística revelou diferença significativa entre todos os grupos, com a notável exceção dos tratamentos com 3.0 e 3.5 mg.L⁻¹, que se mostraram semelhantes (p=0.981) (Figura 5 C).

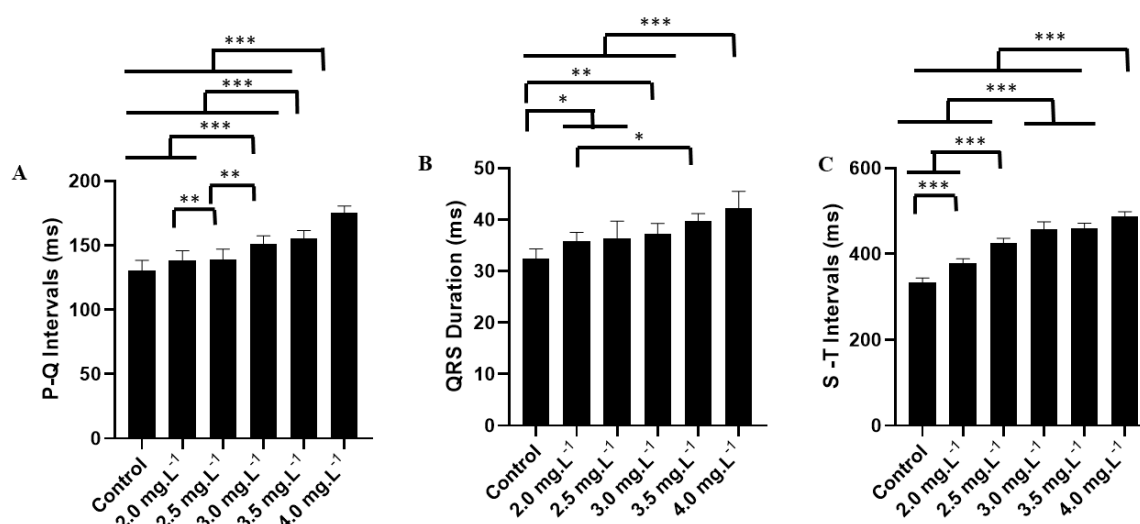


Figura 6. Valores de média do intervalo P-Q (ms) (A), duração do complexo QRS (ms) (B) e intervalo ST (ms) (C) durante a exposição ao ETM a 2.0 mg . L⁻¹, 2.5 mg . L⁻¹, 3.0 mg . L⁻¹, 3.5 mg . L⁻¹ e 4.0 mg . L⁻¹. (ANOVA seguida do teste de Tukey; *P<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; n=9).

Após a exposição ao ETM, observou-se uma reversão gradativa e dose-dependente das alterações eletrocardiográficas em todas as concentrações testadas (2.0 a 4.0 mg.L⁻¹). O ritmo cardíaco permaneceu sinusal e a frequência cardíaca aumentou progressivamente, tendendo aos valores do grupo controle. No entanto, a velocidade de recuperação foi inversamente proporcional à concentração; concentrações mais altas necessitaram de mais de 10 minutos para uma reversão parcial. O grupo tratado com 2.0 mg.L⁻¹ foi o único que atingiu uma média de frequência cardíaca (85.78 ± 1.56 bpm) estatisticamente semelhante à do grupo controle (88.00 ± 2.44 bpm; p=0.280). A partir da concentração de 2.5 mg.L⁻¹, observou-se uma bradicardia residual significativa, que se intensificou progressivamente com o aumento da dose: 84.22 ± 2.33 bpm (2.5 mg.L⁻¹), 62.89 ± 2.84 bpm (3.0 mg.L⁻¹), 50.22 ± 1.56 bpm (3.5 mg.L⁻¹) e 43.78 ± 2.10 bpm (4.0 mg.L⁻¹), com percentual de recuperação da frequência cardíaca em relação ao controle de 95,70% (2.5 mg.L⁻¹), 71,46% (3.0 mg.L⁻¹), 57,06% (3.5 mg.L⁻¹). O grupo de 4.0 mg.L⁻¹ registrou a menor frequência cardíaca com percentual de 49,75%. É importante notar que não foram observadas arritmias durante este período (Figuras 7 A-E). Apesar disso, o ritmo permaneceu sinusal em todos os grupos, com uma tendência gradual de retorno à normalidade, confirmando que concentrações mais altas exigiram mais tempo para reverter a bradicardia (Figura 7 F).

Durante o período de recuperação, a amplitude do complexo QRS não apresentou variação estatisticamente significativa entre os grupos, conforme indicado pela análise de variância (F(5, 48) = 0,2785; p=0,922). O valor médio do grupo controle foi de 1,103 ± 0,088 mV, e os valores para os grupos tratados foram: 1,128 ± 0,122 mV (2.0 mg.L⁻¹), 1,12 ± 0,088 mV (2.5 mg.L⁻¹), 1,074 ± 0,115 mV (3.0 mg.L⁻¹), 1,09 ± 0,11 mV (3.5 mg.L⁻¹) e 1,131 ± 0,184 mV (4.0 mg.L⁻¹) (Figura 7 G).

A recuperação do intervalo RR demonstrou um efeito limiar, com a reversão completa do efeito ocorrendo apenas nas concentrações mais baixas. O valor médio do grupo controle (681,7 ± 19,00 ms) não apresentou diferença estatística do grupo tratado com 2.0 mg.L⁻¹ (699,1 ± 12,94 ms; p=0,916) e do grupo de 2.5 mg.L⁻¹ (712,4 ± 20,09 ms; p=0,501). Contudo, a partir de 3.0 mg.L⁻¹, a recuperação foi incompleta, resultando em um prolongamento significativo e dose-dependente do intervalo RR, com médias de 958,8 ± 42,05 ms (3.0 mg.L⁻¹), 1194 ± 39,09 ms (3.5 mg.L⁻¹) e 1373 ± 63,53 ms (4.0 mg.L⁻¹) (Figura 7 H).

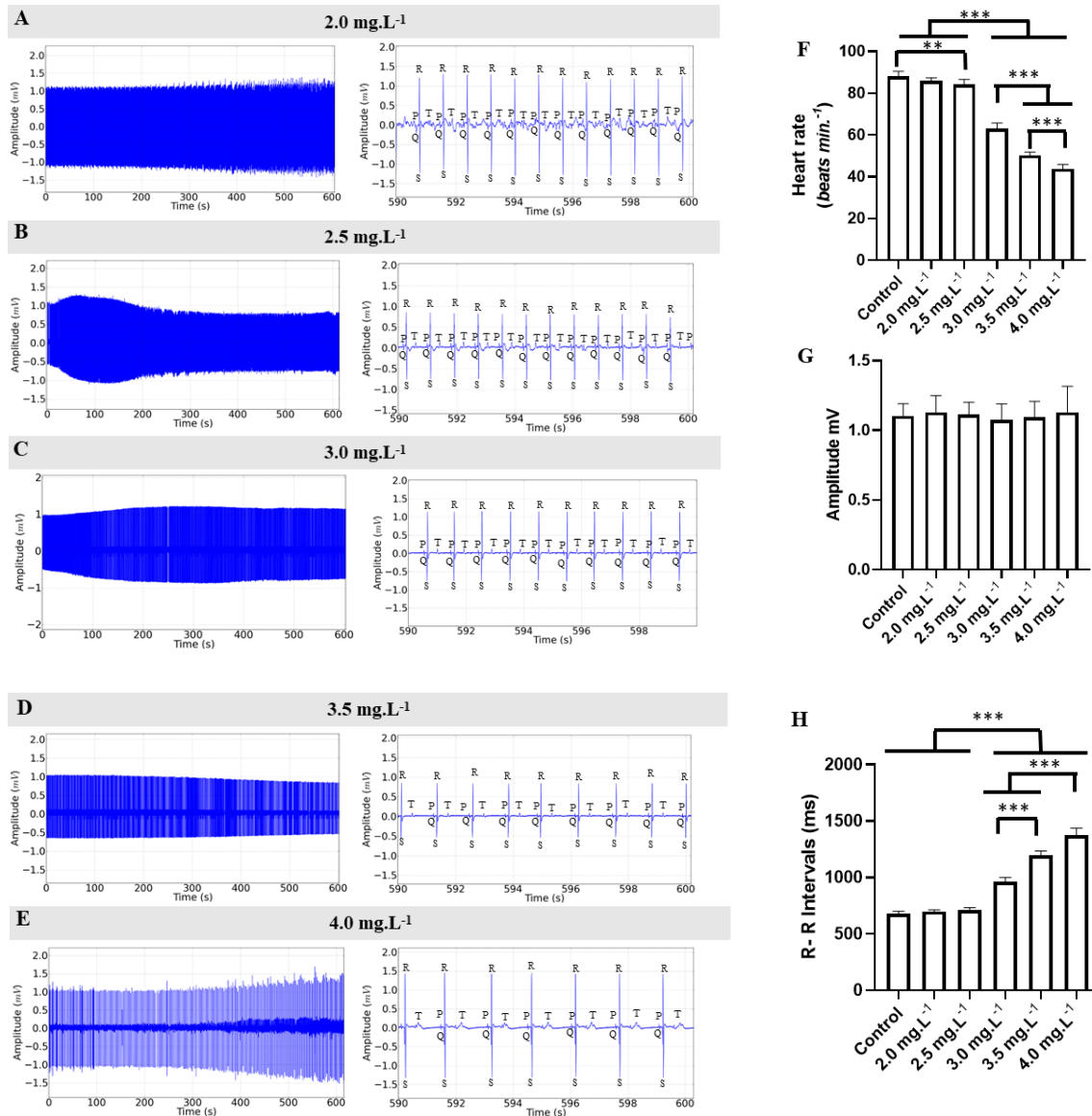


Figura 7. Atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante a recuperação após banho de imersão com diferentes concentrações de ETM (esquerdo). Amplificação do registro nos últimos 10 segundos (590-600 s), para identificação das deflagrações cardíacas (centro), no período de recuperação após banho de imersão com as seguintes concentrações de ETM: 2.0 mg.L⁻¹ (A), 2.5 mg.L⁻¹ (B), 3.0 mg.L⁻¹ (C), 3.5 mg.L⁻¹ (D) e 4.0 mg.L⁻¹ (E). Valores médias de frequência cardíaca (bpm) (F); valores de média de amplitude do complexo QRS (mV) (G); valores médios de RR (ms) (H). (ANOVA seguida do teste de Tukey; *P<0,05, **p<0.01, ***p<0.001; n=9).

A recuperação do intervalo PQ foi considerada completa em todas as concentrações, visto que nenhum grupo tratado apresentou diferença estatística em relação ao grupo controle ($130,6 \pm 7,92$ ms). Os valores médios para os grupos de 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 e 4.0 mg.L⁻¹ foram, respectivamente, $127,3 \pm 8,10$ ms ($p=0,893$), $124,2 \pm 8,715$ ms ($p=0,310$), $125,0 \pm 3,16$ ms ($p=0,455$), $126,6 \pm 3,43$ ms ($p=0,773$) e $135,7 \pm 4,69$ ms ($p=0,547$). Apesar da semelhança geral com o controle, uma análise

mais detalhada revelou que o valor na concentração de 4.0 mg.L⁻¹ foi significativamente superior aos dos grupos de 2.5, 3.0 e 3.5 mg.L⁻¹ (Figura 8 A).

A recuperação do intervalo ST foi completa para as concentrações de até 3.0 mg.L⁻¹. Nesse intervalo de doses, os valores dos grupos tratados com 2.0 mg.L⁻¹ (320,4 ± 12,62 ms; p=0,262), 2.5 mg.L⁻¹ (329,9 ± 9,68 ms; p=0,990) e 3.0 mg.L⁻¹ (344,9 ± 9,714 ms; p=0,379) não apresentaram diferença estatística em relação ao grupo controle (333,3 ± 10,76 ms). Em contraste, nas concentrações mais altas a recuperação foi incompleta, resultando em um prolongamento significativo do intervalo. Os grupos de 3.5 mg.L⁻¹ (372,6 ± 19,75 ms) e, de forma ainda mais acentuada, o de 4.0 mg.L⁻¹ (395,9 ± 9,18 ms) registraram valores significativamente maiores que os do grupo controle (Figura 8 C).

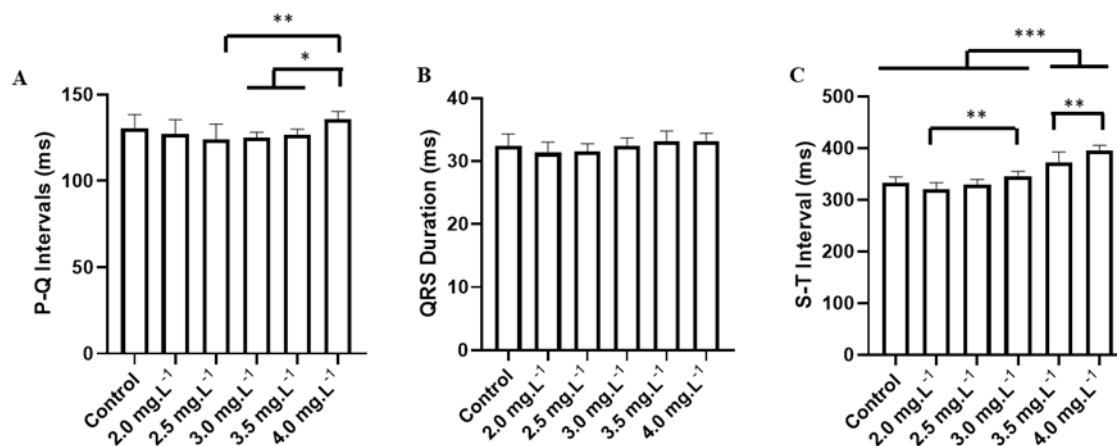


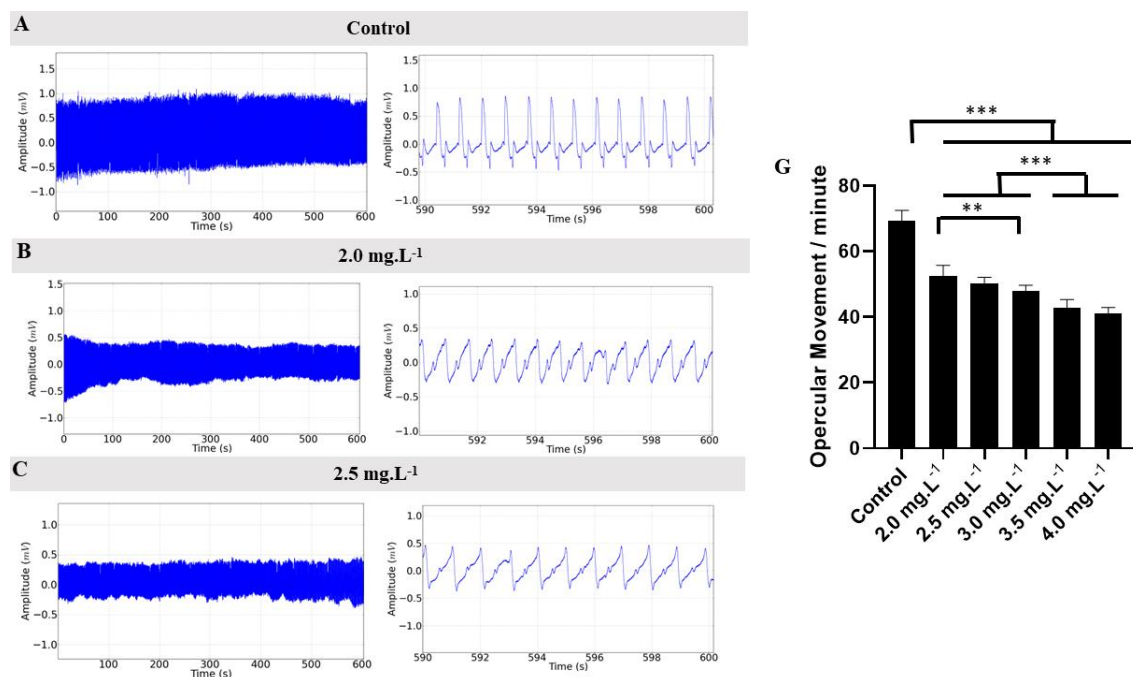
Figura 8. Valores médios dos parâmetros cardíacos durante a recuperação a exposição a diferentes concentrações de ETM em banho de imersão a 2.0 mg.L⁻¹, 2.5 mg.L⁻¹, 3.0 mg.L⁻¹, 3.5 mg.L⁻¹ e 4.0 mg.L⁻¹. Valores de médias de intervalos PQ (ms) (A); duração do complexo QRS (ms) (B) e intervalo QT (ms) (C). (ANOVA seguida do teste de Tukey; *P<0,05, **p<0.01, ***p<0.001; n=9).

5.3 Análise opercular

O tratamento com ETM (2.0 a 4.0 mg.L⁻¹) induziu uma redução significativa e dose-dependente na frequência do movimento opercular (omm) em comparação ao grupo controle. Enquanto o grupo controle apresentou uma média de 69,33 ± 3,162 omm, os grupos tratados exibiram uma diminuição progressiva, que variou de 24,18% (52,56 ± 3,208 omm) na menor concentração até 40,70% (41,11 ± 1,76 omm) na maior. Os valores intermediários foram de 50,22 ± 1,85 omm (-27,56%) para 2.5 mg.L⁻¹,

48,00 $\pm$ 1,73 omm (-30,73%) para 3.0 mg.L⁻¹, e 42,67 $\pm$ 2,64 omm (-38,45%) para 3.5 mg.L⁻¹. A análise estatística detalhada revelou que os grupos de 2.0, 2.5 e 3.0 mg.L⁻¹ foram semelhantes entre si ($p \geq 0,358$), assim como os grupos de 3.5 e 4.0 mg.L⁻¹ ($p = 0,766$). No entanto, o segundo bloco (3.5 e 4.0 mg.L⁻¹) apresentou uma redução significativamente maior que a do primeiro (Figura 9 A-G).

Durante a indução anestésica, a potência média dos movimentos operculares do grupo controle, de 109,0 $\pm$ 6,515 $\times 10^{-3}$ mV²/Hz, foi significativamente maior que a de todos os grupos tratados com ETM. Os valores de potência para as concentrações de 2.0 mg.L⁻¹, 2.5 mg.L⁻¹, 3.0 mg.L⁻¹, 3.5 mg.L⁻¹ e 4.0 mg.L⁻¹ foram, respectivamente, 29,08 $\pm$ 3,56, 22,78 $\pm$ 8,42, 28,42 $\pm$ 13,38, 17,29 $\pm$ 0,99 e 12,40 $\pm$ 3,24 (unidade de $\times 10^{-3}$ mV²/Hz). Dentre estes, os dois grupos de maior concentração (3.5 e 4.0 mg.L⁻¹) apresentaram os menores valores de potência e não diferiram estatisticamente entre si ($p = 0,750$) (Figura 9 H).



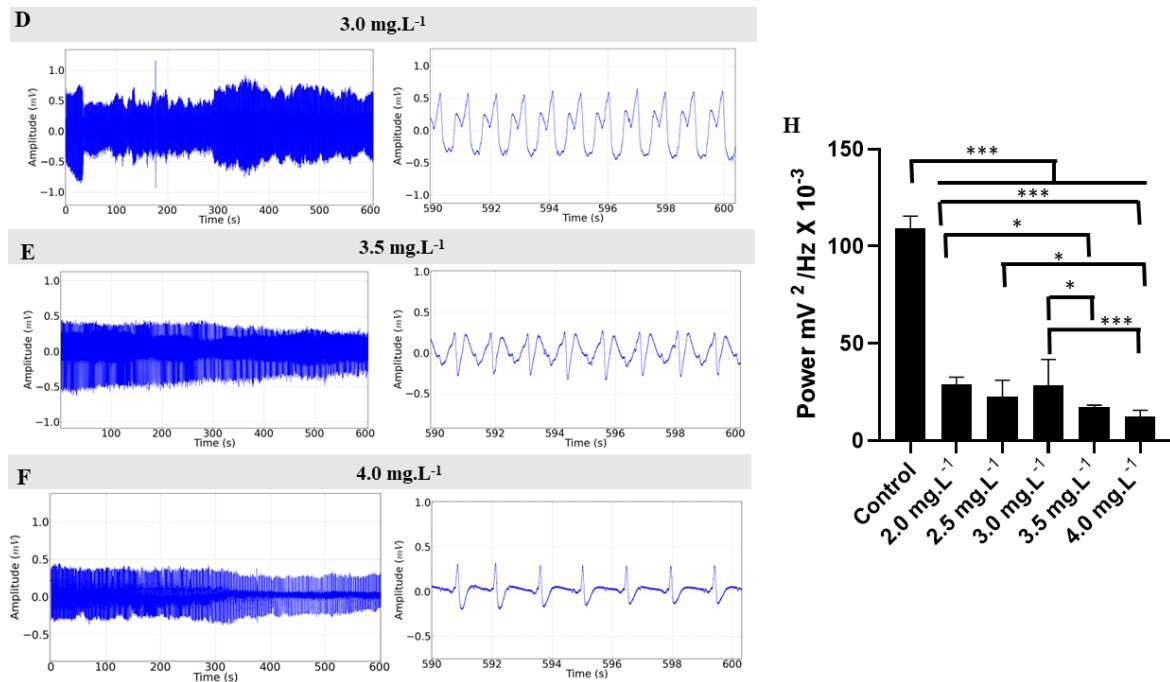


Figura 9. Registro da atividade opercular em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante banho de imersão em diferentes concentrações de ETM (esquerdo). Amplificação do registro nos últimos 10 segundos (590-600 s) (centro), para identificação das alterações dos registros de movimento opercular por minuto (omm), para o grupo controle (A), para tratamento nas concentrações de 2.0 mg.L⁻¹ (B), 2.5 mg.L⁻¹ (C), 3.0mg.L⁻¹ (D), 3.5 mg.L⁻¹ (E) e 4.0 mg.L⁻¹ (F). Valores médios da frequência de movimentos operculares por minuto (G) e valores de média de potência do movimento opercular (mV²/Hz) (H). (ANOVA seguida do teste de Tukey; *P<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; n=9).

A recuperação da frequência do movimento opercular (omm) foi completa na maioria das concentrações, com exceção da dose mais elevada. Os grupos tratados com 2.0 mg.L⁻¹ (70,44 ± 3,28 omm; p=0,989), 2.5 mg.L⁻¹ (67,33 ± 5,56 omm; p=0,877), 3.0 mg.L⁻¹ (67,78 ± 4,055 omm; p=0,954) e 3.5 mg.L⁻¹ (64,89 ± 2,84 omm; p=0,159) apresentaram médias estatisticamente semelhantes à do grupo controle (69,33 ± 3,162 omm). Em contraste, o grupo tratado com 4.0 mg.L⁻¹ exibiu uma recuperação apenas parcial, com uma frequência de 58,22 ± 3,52 omm, valor significativamente inferior ao dos demais grupos (Figuras 10 A-E, G).

A recuperação da potência dos movimentos operculares (omm) foi considerada completa em todas as concentrações, visto que nenhum grupo tratado apresentou diferença estatística em relação ao grupo controle (109,0 ± 6,515 x 10⁻³ mV²/Hz). As médias de potência para os grupos de 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 e 4.0 mg.L⁻¹ foram, respectivamente, 117,6 ± 17,93, 106,2 ± 9,41, 112,8 ± 5,94, 99,78 ± 13,36 e 96,78 ± 8,48 (todos em x 10⁻³ mV²/Hz). No entanto, ao comparar os grupos tratados entre si,

foi observado que a potência no grupo de 4.0 mg.L⁻¹ foi significativamente menor do que a registrada nos grupos de 2.0 mg.L⁻¹ e 3.0 mg.L⁻¹ (Figura 10 G).

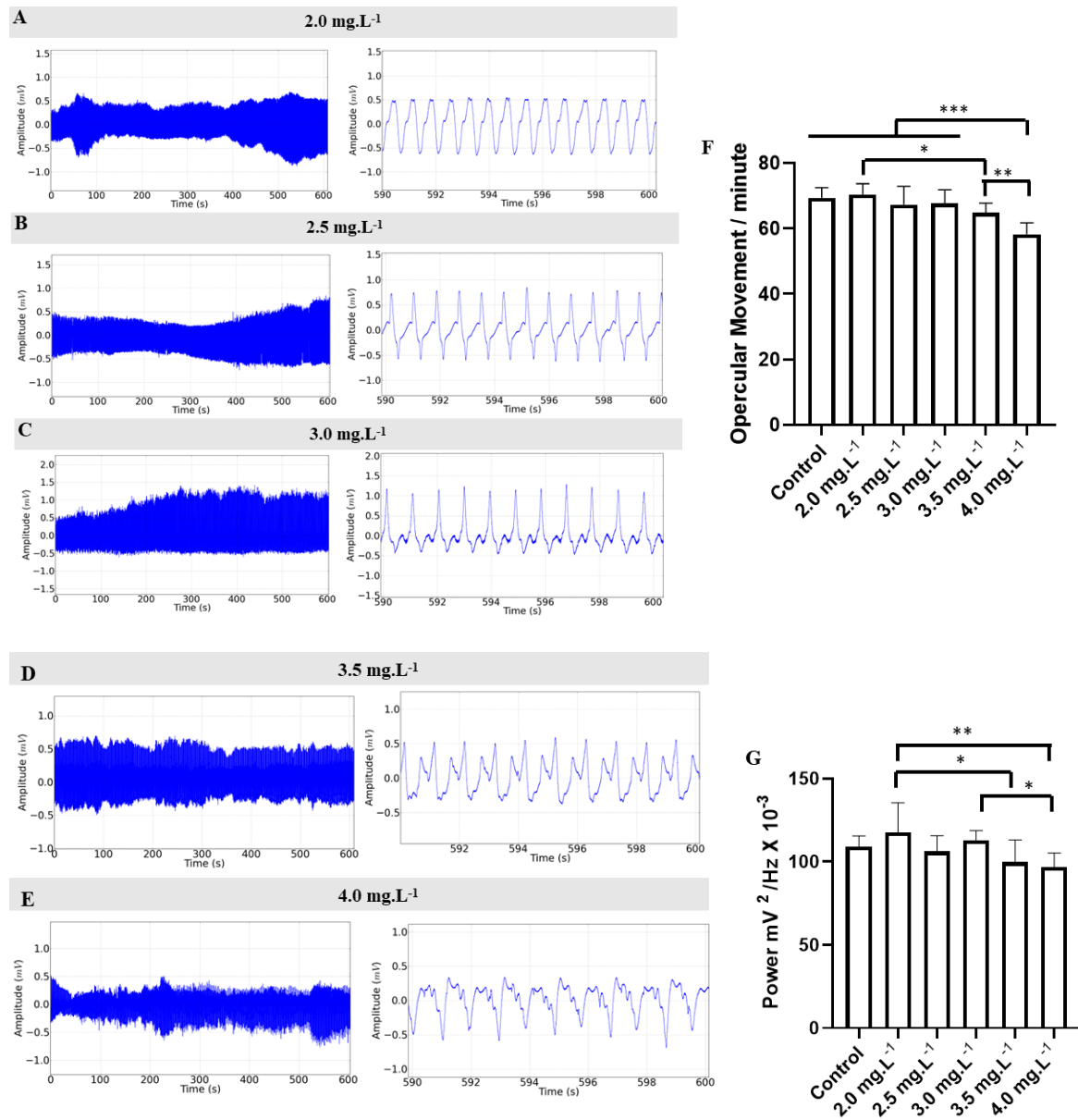


Figura 10. Registro da movimentação opercular em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante a recuperação após banho de imersão com diferentes concentrações de ETM (esquerdo). Amplificação do registro nos últimos 10 segundos (590-600 s), para identificação dos registros (centro), no período de recuperação após banho de imersão com as seguintes concentrações de ETM: 2.0 mg.L⁻¹ (A), 2.5 mg.L⁻¹ (B), 3.0 mg.L⁻¹ (C), 3.5 mg.L⁻¹ (D) e 4.0 mg.L⁻¹ (E). Valores médias de movimentação opercular por minuto (F); valores de média de potência do movimento opercular (mV²/Hz) (G). (ANOVA seguida do teste de Tukey; *P<0,05, **p<0.01, ***p<0.001; n=9).

6 DISCUSSÃO

Embora o etomidato seja um anestésico consolidado na literatura para peixes, o presente estudo é pioneiro ao investigar seus efeitos em altas concentrações na espécie *Colossoma macropomum* (Tambaqui). Nossos resultados demonstram que todas as concentrações testadas foram eficazes, induzindo a anestesia de forma dose-dependente. Especificamente, as concentrações a partir de 2.5 mg.L⁻¹ levaram à indução em menos de 3 minutos, tempo considerado ideal pela literatura (Ross and Ross, 2008; et al., 2008), enquanto a dose de 2.0 mg.L⁻¹ resultou em um tempo ligeiramente superior a este marco. Este resultado para a dose de 2.0 mg.L⁻¹ é particularmente interessante quando comparado a outros estudos, que reportaram tempos de indução de aproximadamente 2 minutos para *Perca fluviatilis* L. e 4 minutos para *Sparus aurata* L. com a mesma concentração (Rożyński et al., 2018; Jerez-Cepa et al., 2021). Tais variações entre espécies reforçam a necessidade fundamental de investigações anestésicas específicas para cada organismo-alvo.

A avaliação da recuperação anestésica, mensurada pelo retorno do reflexo de postura, demonstrou a eficácia do etomidato em todas as concentrações testadas, com todos os animais se recuperando em menos de 7 minutos. De forma notável, nas concentrações de 2 a 3 mg.L⁻¹, a recuperação ocorreu em um período inferior a 5 minutos, alinhando-se ao tempo considerado ideal por Ross e Ross (2008). Embora as concentrações mais elevadas (3,5 e 4 mg.L⁻¹) tenham provocado um discreto retardo nesse processo, a recuperação transcorreu sem intercorrências clínicas. O desempenho do etomidato em tambaquis mostra-se superior quando comparado a outros estudos, como o de Amend, Goven e Elliot (1982), que reportaram tempos de recuperação de 13 a 23 minutos para *Xiphophorus maculatus*. Em concordância com estes resultados, o trabalho de Narumanchi et al. (2025) com peixes-zebra também demonstrou uma reversibilidade anestésica mais lenta na concentração de 4 mg.L⁻¹, sendo o tempo de recuperação superior ao observado para a triclaína e o eugenol. Adicionalmente, o tempo de recuperação observado foi mais rápido do que o relatado para diversos compostos naturais (Bonjink et al., 2016; Saccol et al., 2017; Baldisserotto et al., 2018; Silva et al., 2020; Brandão et al., 2021), consolidando o etomidato como um anestésico de recuperação rápida para a espécie.

Adicionalmente, o movimento ocular foi monitorado como um indicador da profundidade anestésica. Durante a indução, observou-se que a perda do movimento ocular foi quase simultânea à supressão do reflexo postural. Este achado corrobora as observações de Da Fonseca et al. (2024), que também registraram a perda do movimento sacádico em tambaquis com o aprofundamento da crioanestesia. Em contraste, o padrão durante a recuperação foi assíncrono, com o retorno do movimento ocular precedendo a restauração do reflexo de postura. Essa recuperação precoce do comportamento óptico está em consonância com a premissa de Leyden et al. (2022), que afirmam que a supressão de respostas reflexivas, como a óptica, representa um desafio maior para os anestésicos. A reativação mais rápida deste reflexo, antes da recuperação motora completa, sugere que o movimento ocular é um parâmetro sensível para identificar os estágios iniciais da reversão anestésica.

As análises eletrocardiográficas revelaram que a indução anestésica promoveu uma acentuada diminuição da frequência cardíaca, caracterizada como bradicardia sinusal. Este efeito foi dose-dependente, mostrando-se mais intenso nas concentrações mais altas do anestésico. Consequentemente, observou-se um aumento proporcional no intervalo RR no traçado eletrocardiográfico. Este resultado está em consonância com o trabalho de Souza et al. (2024), que também registraram bradicardia em tambaquis ao utilizar metanossulfonato de tricaína (MS-222). A depressão cardíaca induzida por anestésicos em peixes é amplamente interpretada como um resultado indireto da depressão do sistema nervoso central, conforme sustentado por diversos autores (Souza et al., 2019; Vilhena et al., 2022; Souza et al., 2024; Da Paz et al., 2024).

Apesar da depressão cardíaca observada durante a indução, os efeitos foram totalmente reversíveis na fase de recuperação em todas as concentrações, embora a normalização tenha sido mais lenta nos animais expostos às doses mais elevadas. Um achado de grande relevância clínica foi a manutenção do ritmo sinusal e a ausência de arritmias durante todo o período de recuperação, mesmo nas concentrações mais altas ($3\text{-}4\text{ mg.L}^{-1}$) onde a frequência cardíaca não retornou completamente aos valores basais no tempo observado. A análise do traçado eletrocardiográfico indicou a normalização da despolarização ventricular; contudo, o intervalo ST permaneceu prolongado nas concentrações de $3,5$ e 4 mg.L^{-1} . Este perfil de segurança cardíaca contrasta significativamente com os achados para outros

anestésicos sintéticos em tambaqui. Estudos anteriores relataram a ocorrência de arritmias durante a recuperação anestésica com propofol (Souza et al., 2019) e com a tricafina (Souza et al., 2024). Dessa forma, os resultados sugerem que o etomidato possui um perfil de segurança superior no que tange à estabilidade do ritmo cardíaco, não induzindo os padrões de arritmia documentados para outros agentes na espécie.

A monitorização da atividade respiratória é um componente crítico da anestesia em peixes, uma vez que os anestésicos tipicamente induzem a supressão do aparelho branquial, sendo essencial que o ritmo se mantenha regular (Soldatov, 2021; Neiffer, 2021; Bronstad, 2022). No presente estudo, o etomidato promoveu uma diminuição dose-dependente da frequência respiratória, com reduções variando entre 24% e 40%. Notavelmente, a depressão respiratória observada foi menos acentuada do que a relatada para o tambaqui com outros agentes. A frequência respiratória manteve-se superior àquela registrada com o uso de propofol (Souza et al., 2019) e mentol (Costa et al., 2022). Adicionalmente, tanto a frequência quanto a potência opercular diminuíram em menor grau do que o observado com o óleo essencial de citronela (Barbas et al., 2017). Apesar deste perfil respiratório mais seguro, a redução na frequência e na amplitude dos movimentos operculares nas concentrações mais altas de etomidato pode, ainda assim, comprometer a eficiência da difusão de oxigênio nos filamentos branquiais. Sugere-se que esta potencial limitação na captação de oxigênio possa estar diretamente relacionada ao retardo na recuperação do reflexo de postura, explicando o efeito dose-dependente observado neste parâmetro.

A depressão respiratória induzida pelo etomidato demonstrou ser um efeito transitório, com os peixes sendo capazes de restabelecer a atividade respiratória durante o período de recuperação. Na maioria das concentrações, a frequência respiratória retornou a níveis semelhantes aos do grupo controle. A exceção foi observada na dose mais elevada (4 mg.L^{-1}), na qual a frequência permaneceu aproximadamente 15% abaixo dos valores basais. Este padrão de recuperação mais lenta em altas concentrações é consistente com o observado para outros anestésicos em tambaqui, como o mentol e o óleo de citronela (Barbas et al., 2017; Costa et al., 2022). De forma similar, a potência opercular foi restituída em todos os grupos, embora também tenha apresentado seu menor valor de recuperação na concentração de 4 mg.L^{-1} . Portanto, apesar de uma recuperação dose-dependente mais lenta, os

resultados confirmam a total reversibilidade dos efeitos do etomidato sobre a função respiratória da espécie, reforçando seu perfil de segurança.

8 CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo demonstrou que o etomidato é um anestésico seguro e eficaz para juvenis de tambaqui, sendo utilizado dentro da janela terapêutica de 2 a 3 mg.L⁻¹. Nessas concentrações, foi observada uma reversibilidade positiva dos efeitos, com indução anestésica adequada para manejos curtos e uma recuperação gradual e sem excitabilidade. Contudo, o trabalho não recomenda o uso de doses superiores, uma vez que o risco de severa depressão hemodinâmica e a lenta recuperação superam os benefícios de uma indução mais rápida.

A lenta reversão do quadro anestésico em doses elevadas sugere que a interação do fármaco com o sistema nervoso central, possivelmente via sua alta afinidade pelo receptor GABA-A, é um fator crucial que governa o tempo de recuperação. Diante disso, recomendam-se estudos complementares focados nos mecanismos neurofarmacológicos para elucidar essa dinâmica e, assim, refinar ainda mais os protocolos anestésicos para a espécie, consolidando práticas de manejo cada vez mais seguras e humanizadas.

9 REFERÊNCIAS

- AMEND, D. F.; GOVEN, B. A.; ELLIOT, D. G. Etomidate: effective dosages for a new fish anesthetic. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 111, n. 3, p. 337-341, 1982.
- ARAÚJO, E. R. L. et al. Cardiac response of tambaqui *Colossoma macropomum* anaesthetised with geraniol and citronellol. **Aquaculture**, v. 565, p. 739101, 25 fev. 2023.
- AXELSSON, M. The circulatory system and its control. **Fish Physiology**, v. 22, p. 239-280, 2005.
- AYDIN, B.; BARBAS, L. A. L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, v. 520, p. 734999, 2020.
- AYDIN, B.; ORHAN, N. Effects of thymol and carvacrol anesthesia on the electrocardiographic and behavioral responses of the doctor fish *Garra rufa*. **Aquaculture**, v. 533, p. 736134, 2021.
- BAESSO, G. M. M. et al. Exploring the effects of eugenol, menthol, and lidocaine as anesthetics on zebrafish glucose homeostasis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 276, p. 109784, 2024.
- BALDISSEROTTO, B. et al. Anesthesia of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) with the essential oils of *Aniba rosaeodora* and *Aniba parviflora* and their major compound, linalool. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 1, p. e170128, 2018.
- BARBAS, L. A. L. et al. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in fish. **Aquaculture**, v. 479, p. 60-68, 2017a.
- BARBAS, L. A. L. et al. Anaesthesia and transport of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) with tricaine methane-sulphonate: Implications on secondary and oxidative stress responses. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 33, n. 4, p. 720-730, 2017b.
- BARBAS, L. A. L. et al. Eugenol induces body immobilization yet evoking an increased neuronal excitability in fish during short-term baths. **Aquatic Toxicology**, v. 231, p. 105734, 2021.
- BARRETO, M. O. et al. Emerging indicators of fish welfare in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 1, p. 343-361, 2022.
- BENOVIT, S. C. et al. Anesthetic activity and bio-guided fractionation of the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 87, n. 03, p. 1675-1689, 2015.
- BOAVENTURA, T. P. et al. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. **Aquaculture**, v. 531, p. 735964–735964, 1 jan. 2021.
- BOIJINK, C. L. et al. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 457, p. 24-28, 2016.

- BRANDÃO, F. R. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**. 534: 736275 [em linha]. 2020.
- BRERETON, S. R.; BRERETON, J. E. Sixty years of collection planning: what species do zoos and aquariums keep?. **International Zoo Yearbook**, v. 54, n. 1, p. 131-145, 2020.
- BRØNSTAD, Aurora. Good anesthesia practice for fish and other aquatics. **Biology**, v. 11, n. 9, p. 1355, 2022.
- CARATTINO, M. D.; MONTALBETTI, N. Acid-sensing ion channels in sensory signaling. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 318, n. 3, p. F531–F543, 2020.
- CARTER, K. M.; WOODLEY, C. M.; BROWN, R. S. A review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. **Reviews in fish biology and fisheries**, v. 21, p. 51-59, 2011.
- CANTANHÊDE, S. M. et al. Menthol exposure induces reversible cardiac depression and reduces lipid peroxidation in the heart tissue of tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 541, p. 736847, 2021.
- COSTA, B. M. P. A. et al. Integrated behavioural, neurological, muscular and cardiorespiratory response in tambaqui, *Colossoma macropomum* anaesthetized with menthol. **Aquaculture**, v. 560, p. 738553, 2022.
- DA FONSECA, Suzane Maia et al. Cryoanesthesia in tambaqui *Colossoma macropomum*: Behavioral and electrocardiographic responses. **Aquaculture**, v. 582, p. 740551, 2024.
- DAPAZ, C. A. et al. Establishing a safe anesthesia concentration window for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)(Linnaeus 1758) by monitoring cardiac activity in eugenol immersion baths. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 278, p. 109839, 2024.
- DAS, C.; THRAYA, M.; VIJAYAN, M. M. Nongenomic cortisol signaling in fish. **General and comparative endocrinology**, v. 265, p. 121-127, 2018.
- DZIAMAN, R.; HAJEK, G.; KŁYSZEJKO, B.. Effect of 2-phenoxyethanol and etomidate on cardiac and respiratory functions and behaviour of common carp, *Cyprinus carpio* L.(Actinopterygii, Cypriniformes, Cyprinidae), during general anaesthesia. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 40, p. 37-43, 2010.
- EVERS, H. G.; PINNEGAR, J. K.; TAYLOR, M. I. Where are they all from?—sources and sustainability in the ornamental freshwater fish trade. **Journal of Fish Biology**, v. 94, n. 6, p. 909-916, 2019.
- FARRELL, A. P.; SMITH, F.. Cardiac form, function and physiology. In: **Fish physiology**. Academic Press, 2017. p. 155-264.
- FERREIRA, A. L. et al. Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753): efficacy for anesthesia and transport of *Oreochromis niloticus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, n. 1, p. 135-152, 2021.
- FERREIRA, J. M. et al. Behavioural aversion and cortisol level assessment when adult zebrafish are exposed to different anaesthetics. **Biology**, v. 11, n. 10, p. 1433, 2022a.

- FERREIRA, A. L. et al. Efficacy of *Hesperozygis ringens* essential oil as an anesthetic and for sedation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) during simulated transport. **Aquaculture International**, v. 30, n. 3, p. 1549-1561, 2022b.
- FERREIRA, A. L. et al. Oxidative responses in small juveniles of *Colossoma macropomum* anesthetized and sedated with *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Fish Physiology and Biochemistry**, p. 1-21, 2024.
- FORMAN, S. A.; WARNER, D. S. Clinical and molecular pharmacology of etomidate. **The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v. 114, n. 3, p. 695-707, 2011.
- HAMOY, A. O. et al. Behavioral, electrocorticographic and electrocardiologic changes in *Colossoma macropomum* (Tambaqui) in the effect of cunaniol. **Plos one**, v. 18, n. 6, p. e0287681, 2023.
- HILSDORF, A. W. S. et al. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 993-1027, 2022.
- HOBSON, H.. EU-wide animal research statistics, 2022. **Understanding Animal Research**, 2024. Disponível em: <<https://www.understandinganimalresearch.org.uk/news/eu-wide-animal-research-statistics-2022>>. Acesso em: 11 set. 2024.
- HOSEINI, S. M.; MIRGHAED, A. T.; YOUSEFI, M.. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 550-564, 2019.
- HOSEINI, S. M. et al. Anesthesia of rainbow trout with citronellal: efficacy and biochemical effects. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 337, n. 3, p. 227-237, 2022.
- HSU, J. C. N. et al. The use of tricaine methanesulfonate (MS-222) in asian seabass (*Lates calcarifer*) at different temperatures: study of optimal doses, minimum effective concentration, blood biochemistry, immersion pharmacokinetics, and tissue distributions. **Veterinary Sciences**, v. 10, n. 9, p. 539, 2023.
- ICARDO, J. M. Heart morphology and anatomy. In: **Fish physiology**. Academic Press, 2017. p. 1-54.
- JACOBSEN, J. V.; STEEN, K.; NILSSEN, K. J. Anaesthetic efficacy of Aqui-S, Benzoak, and MS-222 on lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) fries. Impact from temperature, salinity, and fasting. **PLoS One**, v. 14, n. 1, p. e0211080, 2019.
- JIA, Y. et al. Anesthetics efficacy and physiological response of MS222 and clove oil in spotted knifejaw *Oplegnathus punctatus*. **Aquaculture Reports**, v. 25, p. 101201, 2022.
- JEREZ-CEPA, I. et al. Transport and recovery of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) sedated with AQUI-S® and etomidate: Effects on intermediary metabolism and osmoregulation. **Aquaculture**, v. 530, p. 735745, 2021.
- JONES, M. et al. How should we monitor welfare in the ornamental fish trade?. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 770-790, 2022.
- JORGE, S. et al. Adult zebrafish anesthesia: A study of efficacy and behavioral recovery of different anesthetics. **Zebrafish**, v. 18, n. 5, p. 330-337, 2021.

- KIMMEL, C. B.; SMALL, C. M.; KNOPE, M. L. A rich diversity of opercle bone shape among teleost fishes. **PloS one**, v. 12, n. 12, p. e0188888, 2017.
- KRISTAN, J. et al. Efficacy of different anaesthetics for pikeperch (*Sander lucioperca* L.) in relation to water temperature. **Neuroendocrinol Lett**, v. 35, n. 2, p. 81-85, 2014.
- LEYDEN, C. et al. Efficacy of tricaine (MS-222) and hypothermia as anesthetic agents for blocking sensorimotor responses in larval zebrafish. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 864573, 2022.
- LI, L. et al. Effect of different stocking densities on fish growth performance: A meta-analysis. **Aquaculture**, v. 544, p. 737152, 2021.
- LI, D. et al. Recent advances in intelligent recognition methods for fish stress behavior. **Aquacultural Engineering**, v. 96, p. 102222, 2022.
- MARTINS, T. et al. Anaesthetics and analgesics used in adult fish for research: A review. **Laboratory Animals**, v. 53, n. 4, p. 325-341, 2019.
- MARTOS-SITCHA, J. A. et al. Welfare and stressors in fish: Challenges facing aquaculture. **Frontiers in physiology**, v. 11, p. 162, 2020.
- MATTHEWS, M.; VARGA, Z. M. Anesthesia and euthanasia in zebrafish. **ILAR journal**, v. 53, n. 2, p. 192-204, 2012.
- MCCORD, C. L. et al. Concentration effects of three common fish anesthetics on Pacific hagfish (*Eptatretus stoutii*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 46, p. 931-943, 2020.
- MCGRATH, M. et al. Etomidate and etomidate analog binding and positive modulation of γ -aminobutyric acid type A receptors: evidence for a state-dependent cutoff effect. **Anesthesiology**, v. 129, n. 5, p. 959-969, 2018.
- MEYER, R. E.; FISH, R. Pharmacology of injectable anesthetics, sedatives, and tranquilizers. 2008.
- MILSOM, W. K. Central control of air breathing in fishes. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 7, p. 691-700, 2018.
- MIRZARGAR, S. S. et al. Anesthetic efficacy and biochemical effects of 1, 8-cineole on Caspian trout, *Salmo caspius*. **Aquaculture International**, v. 29, p. 2591-2603, 2021.
- NEIFFER, D. L. Anesthesia and analgesia. **Clinical Guide to Fish Medicine**, p. 198-212, 2021.
- NARUMANCHI, S. et al. Tricaine, eugenol and etomidate for repetitive procedural anesthesia in adult zebrafish, *Danio rerio*: effect on stress and behavior. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, p. 1562425, 2025.
- PAN, Y. K.; PERRY, S. F. The control of breathing in fishes—historical perspectives and the path ahead. **Journal of Experimental Biology**, v. 226, n. 8, p. jeb245529, 2023.
- PARK, M. O. et al. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 8, p. 877-884, 2008.
- PEJO, E. et al. γ -Aminobutyric acid type A receptor modulation by etomidate analogs. **Anesthesiology**, v. 124, n. 3, p. 651-663, 2016.

- PIRES, L. B. et al. *Colossoma macropomum* females can reproduce more than once in the same reproductive period. **Animal reproduction science**, v. 196, p. 138-142, 2018.
- PRIBORSKY, J.; VELISEK, J.. A review of three commonly used fish anesthetics. **Reviews in fisheries science & aquaculture**, v. 26, n. 4, p. 417-442, 2018.
- RAIRAT, T. et al. Determination of optimal doses and minimum effective concentrations of tricaine methanesulfonate, 2-phenoxyethanol and eugenol for laboratory managements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1521, 2021.
- RAJAKUMAR, A.; SENTHILKUMARAN, B. Steroidogenesis and its regulation in teleost-a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 3, p. 803-818, 2020.
- READMAN, G. D. et al. Do fish perceive anaesthetics as aversive?. **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e73773, 2013.
- READMAN, G. D. et al. Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 7102, 2017.
- REIS, T. S., et al. Behavioral, electrocardiographic, and opercular beat recording characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) in immersion bath with different concentrations of tricaine (MS-222). **Aquaculture**, p. 741700, 2024.
- ROSS, L. G.; ROSS, B.. Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. 2008.
- ROŻYŃSKI, M. et al. Propiscin—A safe anaesthetic for pikeperch (*Sander Lucioperca* L.). **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 64, n. 4, p. 415-424, 2016.
- ROŻYŃSKI, M. et al. Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.). **Fish physiology and biochemistry**, v. 44, p. 927-937, 2018.
- RUIZ-JARABO, I. et al. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) acclimated to different tropical waters from the Amazon basin shows specific acute-stress responses. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 245, p. 110706, 2020.
- SACCOL, E. M. H. et al. Anaesthetic and antioxidant effects of Myrcia sylvatica (G. Mey.) DC. and Curcuma longa L. essential oils on tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Research**, v. 48, n. 5, p. 2012-2031, 2017.
- SADOUL, B.; GEFFROY, B.. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 94, n. 4, p. 540-555, 2019.
- SAMANTA, A.; HUGHES, T. E. T.; MOISEENKOVA-BELL, V. Y. Transient Receptor Potential (TRP) Channels. **Subcellular Biochemistry**, v. 87, p. 141–165, 2018.
- SCHROEDER, P. et al. Anaesthesia of laboratory, aquaculture and ornamental fish: Proceedings of the first LASA-FVS Symposium. **Laboratory Animals**, v. 55, n. 4, p. 317-328, 2021.
- SILVA, H. N. P. et al. Sedative and anesthetic potential of the essential oil and hydrolate from the fruit of Protium heptaphyllum and their isolated compounds in *Colossoma macropomum* juveniles. **Aquaculture**, v. 529, p. 735629, 2020.

- SILVA, W. S. et al. Effects of stocking density on survival, growth and stress resistance of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) reared in a recirculating aquaculture system (RAS). **Aquaculture International**, v. 29, n. 2, p. 609-621, 2021.
- SLOMAN, K. A. et al. Ethical considerations in fish research. **Journal of Fish Biology**, v. 94, n. 4, p. 556-577, 2019.
- SMITH, S. A. Fish welfare in public aquariums and zoological collections. **Animals**, v. 13, n. 16, p. 2548, 2023.
- SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia and analgesia in fish. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 21, n. 1, p. 32-43, 2012.
- SNEDDON, L. U. Evolution of nociception and pain: evidence from fish models. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 374, n. 1785, p. 20190290, 2019.
- SNEDDON, L. U.; ROQUES, J. A. C. Pain recognition in fish. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**, v. 26, n. 1, p. 1-10, 2023.
- SOLDATOV, A. A. Functional effects of the use of anesthetics on teleostean fishes. **Inland Water Biology**, v. 14, p. 67-77, 2021.
- SOUZA, A. S. L. et al. Propofol and essential oil of *Nepeta cataria* induce anaesthesia and marked myorelaxation in tambaqui *Colossoma macropomum*: implications on cardiorespiratory responses. **Aquaculture**, v. 500, p. 160-169, 2019.
- SOUZA, A. S. L. et al. Behavioral and electrocardiographic evaluations in tambaqui (*Colossoma macropomum*) submitted to immersion bath in different concentrations of Tricaine methanesulfonate (MS-222). **Aquaculture**, v. 583, p. 740575–740575, 1 mar. 2024.
- STETTER, M. D. Fish and amphibian anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 4, n. 1, p. 69-82, 2001.
- STEVENS, C. H. et al. Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from aquaculture?. **Journal of fish biology**, v. 91, n. 2, p. 409-428, 2017.
- STRINGHETTA, G. R. et al. Oxidative stress responses of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* after short-term anesthesia with benzocaine and MS-222. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3 Suppl, p. 2209-2218, 2017.
- SVAČINA, P. et al. Haematological and biochemical response of burbot (*Lota lota* L.) exposed to four different anaesthetics. 2016.
- VALENTIM, A. M. et al. A new anaesthetic protocol for adult zebrafish (*Danio rerio*): propofol combined with lidocaine. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0147747, 2016.
- VAL, A. L.; OLIVEIRA, A. M. *Colossoma macropomum*—A tropical fish model for biology and aquaculture. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 335, n. 9-10, p. 761-770, 2021.
- VERGNEAU-GROSSET, C.; BENEDETTI, I. C. C. Fish sedation and anesthesia. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**, v. 25, n. 1, p. 13-29, 2022.
- VIEIRA, L. R., et al. Graded concentrations of lidocaine hydrochloride in the modulation of behavioral, cardiac, and muscular responses of the Amazon freshwater fish

tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 563, p. 738985–738985, 1 jan. 2023.

VILHENA, C. S. et al. Cardiac response in tambaqui *Colossoma macropomum* anaesthetised with *Piper divaricatum* essential oil. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 5, p. 1413-1425, 2022.

WITESKA, M.; DUDYK, J.; JARKIEWICZ, N. Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 42, n. 5, p. 537-546, 2015.

WOOD, C. M. et al. The physiology of the Tambaqui (*Colossoma macropomum*) at pH 8.0. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 188, p. 393-408, 2018.

WU, Y. et al. Morphological characterization and transcriptome analysis of opercular deformity in golden pompano (*Trachinotus ovatus*). **Aquaculture**, v. 590, p. 741020, 2024.

YANG, X. et al. Drug-selective anesthetic insensitivity of zebrafish lacking γ -aminobutyric acid type A receptor $\beta 3$ subunits. **Anesthesiology**, v. 131, n. 6, p. 1276-1291, 2019.

ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A.. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p. 201-218, 2012.

ZAHRAN, E.; RISHA, E.; RIZK, A.. Comparison propofol and eugenol anesthetics efficacy and effects on general health in Nile Tilapia. **Aquaculture**, v. 534, p. 736251, 2021.