

EFEITOS DA ADMINSTRAÇÃO DO MIDAZOLAM EM DOSES DIFERENTES EM JIBOIAS *Boa constrictor* LINNAEUS, 1758 (SQUAMATA: BOIDAE)

EFFECTS OF MIDAZOLAM IN DIFFERENT DOSES IN REDTAIL BOA *Boa constrictor* LINNAEUS, 1758 (SQUAMATA: BOIDAE)

Simone Borges Salgueiro De Simone¹

Líria Queiroz Luz Hirano^{1*}

André Luiz Quagliatto Santos¹

¹Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

*Autora para correspondência - liriaqueiroz@yahoo.com.br

Resumo

Objetivou-se comparar os efeitos de duas doses de midazolam em *Boa constrictor*. Utilizaram-se 20 jiboias, divididas em dois grupos. O grupo 1 (G1), composto por dez animais, recebeu 1 mg/kg de midazolam e o grupo 2 (G2), também com dez animais, 2 mg/kg, pela via intracelomática. Os animais do G1 apresentaram déficit de tônus da cabeça, tônus muscular, manipulação e locomoção por $3,89 \pm 1,18$ horas e os representantes do G2 por $5,47 \pm 2,08$ horas. Nenhuma jiboia, em ambos os grupos, manifestou ausência de reação postural de endireitamento ou alcançaram sedação profunda; entretanto, observou-se redução da agressividade, intenso relaxamento muscular e uma dificuldade de serpentear em todos os exemplares. O tempo de retorno às condições pré-sedativas foi de $4,65 \pm 1,22$ horas para o G1 e de $6,2 \pm 2,37$ horas para o G2. Não foram observadas diferenças significativas nas avaliações da frequência cardíaca e respiratória entre os grupos. Concluiu-se assim que 1 mg/kg de midazolam provoca nas jiboias o mesmo efeito que 2 mg/kg, porém na menor dose o tempo de recuperação é menor, podendo ser utilizado para a contenção farmacológica de *Boa constrictor*, ou em associações que visem um efetivo relaxamento muscular.

Palavras-chave: benzodiazepínico; contenção farmacológica; répteis; serpentes.

Abstract

The objective of this study was to compare the effects of midazolam in *Boa constrictor*. We used 20 redbtail boas, divided into two groups of ten animals each. Group 1 (G1) received 1 mg/kg of midazolam and group 2 (G2) 2 mg/kg, by intracelomic injection. The specimens of G1 presented reduction of head tone, muscle tone, manipulation, and locomotion for 233.50 ± 71.34 minutes and the representatives of G2 for 328.50 ± 125.35 minutes. No redbtail boa belonging to both G1 and G2 presented absence of postural righting reflex or achieved analgesia. However, all specimens tested showed intense muscle relaxation and difficulty to move in. The turnaround time to pre-sedation conditions were 279 ± 73.55 minutes for G1 and 372 ± 142.27 minutes for G2. There were no statistical differences between evaluations of heart and respiratory rates in both groups tested. We concluded, therefore, in redbtail boa, midazolam at the dosage of 1 mg/kg causes the same effect as 2 mg/kg, but with shorter recovery time, and it can be used to contain *Boa constrictor* or in associations aimed at an effective muscle relaxation.

Keywords: benzodiazepinic; pharmacological restraint; reptiles; snakes.

Recebido em: 26 janeiro de 2013

Aceito em: 04 novembro de 2016

Introdução

O objetivo principal da criação de jiboias em cativeiro é o abastecimento do mercado de animais exóticos e silvestres de serpentes⁽¹⁾. Para se obter sucesso na clínica de animais silvestres, a contenção química devidamente realizada é fundamental. O estresse é um importante fator a ser considerado, sendo definido como o conjunto de reações do organismo frente a agressões físicas, psíquicas, infecciosas, entre outras, que causem a quebra da homeostase. A captura, transporte, colheitas de material para exames laboratoriais e tratamento são fatores relevantes causadores de estresse e o estímulo prolongado da contenção física pode levar o animal à morte⁽²⁾. Desse modo, o objetivo da contenção química é minimizar os riscos, tanto para o animal como para o manipulador⁽³⁾.

Embora exista relatos acerca da ausência de necessidade da administração de medicação pré-anestésica (MPA) em répteis⁽⁴⁾, muitos autores sugerem a utilização de agonistas α -2, benzodiazepínicos ou anticolinérgicos para um melhor relaxamento muscular, redução da dose necessária dos anestésicos e para a realização de uma boa contenção^{(5),(6),(7)}. Dentre as vantagens que estes fármacos promovem estão a perda dos reflexos medulares e da atividade muscular, além da redução da agressividade, ponto fundamental tratando-se de animais silvestres⁽⁸⁾.

Benzodiazepínicos são fármacos tranquilizantes que agem no sistema nervoso central (SNC), potencializando os efeitos do ácido gama-aminobutírico (GABA), mediante o aumento da afinidade de conexão entre o receptor GABA e seu transmissor primário. Embora sejam amplamente empregados como medicamento pré-anestésico ou na contenção química de mamíferos, há poucos estudos sobre a utilização isolada de benzodiazepínicos em répteis^{(8),(9)}. Em serpentes, o emprego desses fármacos limita-se ao relato da utilização do midazolam em procedimentos pouco invasivos ou durante colheitas de sangue e exames de diagnóstico por imagem, sem detalhar os efeitos sedativos ou a duração de estágios⁽¹⁰⁾.

O MIDAZOLAM, um benzodiazepínico derivado de 1,4 benzodiazepina, é capaz de promover adequado miorelaxamento, reduzindo a tonicidade muscular, no entanto, pode levar à hipotensão e bradicardia em mamíferos⁽⁸⁾. Em crocodilianos da espécie *Crocodylus porosus*, o uso isolado desse fármaco mostrou-se vantajoso na contenção química para colheita de amostras biológicas e transporte, com diminuição dos níveis bioquímicos de marcadores de estresse quando comparado com a contenção física e insignificante redução da frequência cardíaca⁽⁹⁾.

Em virtude da escassez de protocolos para a contenção química de serpentes e a ausência de estudos com o uso isolado de benzodiazepínicos nesses animais, objetivou-se avaliar e comparar os efeitos clínicos, cardiovasculares e respiratórios do midazolam nas doses de 1 e 2 mg/kg, pela via intracelomática (Ice) em *Boa constrictor*.

Materiais e Métodos

Conduziu-se o experimento no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS) da Universidade Federal de Uberlândia - UFU com 20 exemplares de *Boa constrictor* hígdas, de ambos

os sexos, mediante licença do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio número 24326-1 – e segundo o parecer N° 092/10 do Comitê de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA).

Para a certificação do estado de higidez das serpentes, 15 dias antes da contenção química, os animais foram pesados e submetidos a exame físico. Na avaliação do estado geral de saúde, observou-se o grau de hidratação por meio da elasticidade da pele e padrão de brilho ocular, o escore corporal pela visualização e palpação da musculatura paravertebral e exame da cavidade oral para averiguar alterações na coloração da mucosa e presença de secreção.

Adicionalmente, avaliou-se a função cardíaca por meio da auscultação da frequência e ritmo cardíacos (FC), com um aparelho doppler vascular, e frequência respiratória (FR) por meio da observação dos movimentos respiratórios e auscultação com o emprego do estetoscópio. Os padrões comportamentais de agressividade ou fuga diante da presença humana, interesse e captura de presa viva também foram observados e foi realizado exame coproparasitológico⁽⁵⁾. Certificou-se ainda que nenhum animal estava em processo de ecdise durante a execução do experimento, o que poderia interferir no seu metabolismo⁽¹¹⁾.

Os espécimes estavam acondicionados individualmente em caixas plásticas que foram numeradas a fim de identificá-los. Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 15 dias e foram transferidos para a sala de anestesia experimental 12 horas antes do procedimento anestésico, onde permaneceram em jejum hídrico. A temperatura ambiente foi monitorada por um termohigrômetro digital, em intervalos de uma hora. Para evitar interferências térmicas ambientais no metabolismo dos répteis e esperar a melhor ação dos fármacos utilizados, a temperatura foi mantida dentro da faixa de conforto térmico das jiboias, de 25 a 30 °C, mediante o uso de lâmpadas de 100 W^{(12),(13)}.

Um gancho foi utilizado para a contenção física dos animais, possibilitando maior segurança da equipe executora. A partir do número de identificação das caixas dos animais, eles foram distribuídos aleatoriamente por meio de um programa de randomização (Random.org, Randomness and Integrity Services Ltd., Dublin, Irlanda) em dois grupos compostos por cinco fêmeas e cinco machos cada. Os cinco primeiros animais, de ambos os sexos, listados pelo programa constituíram o grupo 1 (G1), com fêmeas de peso médio $2,11 \pm 1,10$ kg e machos com peso médio $0,92 \pm 0,50$ kg, os quais receberam 1 mg/kg de midazolam. O grupo 2 (G2) foi composto por fêmeas e machos de peso médio $1,58 \pm 0,28$ kg e $0,94 \pm 0,34$ kg, respectivamente, os quais foram submetidos à aplicação de 2 mg/kg de midazolam.

Em ambos os protocolos, o agente tranquilizante foi aplicado na cavidade celomática, mediante prévia antissepsia com gaze umedecida em álcool 70° GL, com o auxílio de seringas estéreis de 1 mL, acopladas a agulhas hipodérmicas 13 x 0,45 mm, no final do terço médio do corpo, mais precisamente na linha mediana ventral entre as escamas (Figura 1B)⁽¹⁴⁾.

Previamente à aplicação dos fármacos, que correspondeu ao momento basal (MB), avaliaram-se os parâmetros fisiológicos de frequência cardíaca durante um minuto, por meio de um aparelho doppler vascular (Figura 1A) e a frequência respiratória (FR) mediante visualização dos movimentos respiratórios. Adicionalmente, foram avaliados os parâmetros nociceptivos e motores abaixo⁽¹⁵⁾:

- Bloqueio sensitivo: classificado como ausente ou presente por meio da observação de contrações musculares e da tentativa de fuga ou agressão, mediante a estimulação por agulha hipodérmica 13 x 4,5 mm na pele e musculatura paravertebral da região dorsal, no final de cada terço do corpo do animal. Essa metodologia é utilizada em trabalhos de anestesia em cães^{(16),(17)}, mas ainda não há relatos de seu emprego em serpentes e foi estabelecida mediante pilotos realizados em que se observou que o pinçamento de pele nesses animais era dificultado pela pouca elasticidade e alta adesão à musculatura. A avaliação da sensibilidade por meio de agulha hipodérmica mostrou-se eficaz no monitoramento de

nocicepção, com resposta de afastamento da respectiva região do corpo estimulada.

- Bloqueio motor: determinado pela observação do tônus de cabeça (caracterizado pela capacidade dos espécimes em sustentar a cabeça); do tônus muscular (avaliado pela ausência de contrações musculares em todo o corpo do animal); padrão de locomoção (no qual se observou a facilidade e velocidade de locomoção através de estímulo manual capaz de promover movimentos de serpentear); facilidade de manipulação (caracterizada pela aceitação à abertura da boca, provocada pelo manipulador). Esses parâmetros foram classificados como (1) quando em correspondência às respostas do MB, (2) quando apresentavam resposta intermediária e (3) quando a resposta estava ausente. A observação destes sinais evidenciou a presença de relaxamento muscular.

- Reação Postural de Endireitamento (RPE): os animais eram posicionados em decúbito dorsal e observou-se a capacidade e o tempo em que os mesmos retornavam à posição anatômica da espécie. Quando o retorno ocorria em até um minuto era considerado presente e após esse período, ausente.

Adicionalmente, foram determinados três períodos de efeitos do midazolam a partir do momento de sua aplicação até a recuperação total dos animais (Tabela 1)⁽⁵⁾.

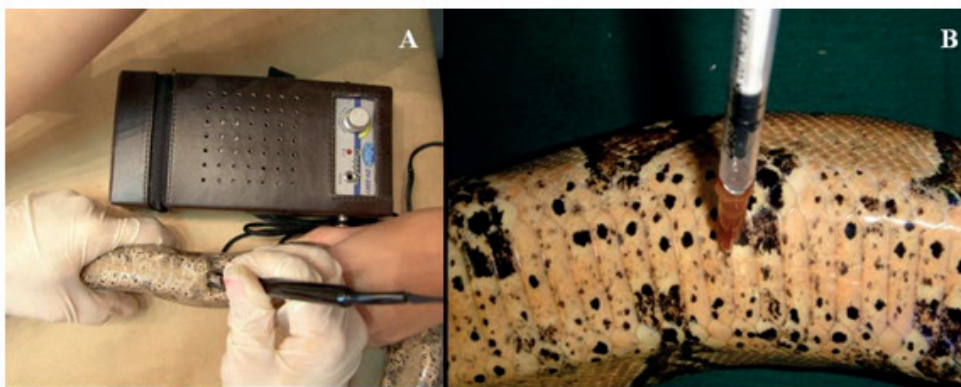


Figura 1. A – Monitoração da frequência cardíaca de *Boa constrictor* com auxílio de um aparelho Doppler vascular. B – Aplicação de midazolam por via intracelomática em *Boa constrictor*.

Tabela 1. Períodos da contenção farmacológica promovida pelo midazolam em *Boa constrictor*

Período	Início	Final
Latência	Aplicação do fármaco	Início do efeito do fármaco (perda do tônus muscular, tônus da cabeça, locomoção, sensibilidade dolorosa e agressividade)
Hábil	Perda da reação postural de endireitamento	Retorno da reação postural de endireitamento
Recuperação	Retorno da reação postural de endireitamento	Retorno ao estado pré-anestésico de tônus muscular, tônus de cabeça, locomoção, dor e facilidade de manipulação

Todos os parâmetros citados foram avaliados no MB e após a aplicação do midazolam, de forma que, nos primeiros 60 minutos, o monitoramento ocorreu a cada 15 minutos e após a primeira hora, em intervalos de 30 minutos até a total recuperação dos exemplares.

Com o objetivo de verificar a existência de diferenças significativas para os intervalos de tempos das fases de contenção química entre os dois grupos, bem como a diferença entre as medidas de FC e FR no MB e nos demais tempos de aferição foi aplicado o teste U de Mann-Whitney e comparadas as séries de dados, duas a duas com nível de significância de 5% em um teste bilateral.

Resultados e Discussão

As fases de latência dos animais de G1 e G2 não diferiram significativamente. Quinze minutos após a aplicação do midazolam, observou-se discreto relaxamento muscular (escore 2) em 85% dos animais. Os demais exemplares alcançaram este escore aos 30 minutos após a administração do fármaco. Os achados do presente estudo contradizem Brazenor e Kaye⁽¹⁸⁾ e Bonath e Zschege⁽¹⁹⁾, que relataram um período de indução do midazolam em répteis variando entre 40 a 60 minutos; entretanto, os autores não citaram a realização de controle de temperatura ambiente e a deposição do fármaco nesses trabalhos foi por via intramuscular, o que pode influenciar o metabolismo e absorção do benzodiazepínico.

Em mamíferos, os benzodiazepínicos reduzem a agressividade, provocam amnésia e alterações psicomotoras, possuem ação ansiolítica, miorrelaxante e praticamente nenhuma ação analgésica⁽⁸⁾. Em répteis também foram relatadas redução da agressividade, relaxamento muscular e alteração psicomotora. Em crocodilianos, a aplicação de 5 mg/kg por via intramuscular de midazolam reduziu significativamente o nível de marcadores bioquímicos de estresse e teve um resultado positivo no comportamento pós-sedação quando comparada com a contenção física isolada, o que os autores sugerem ser um indício de que, nesses animais, o benzodiazepínico também cause amnésia⁽⁹⁾. Nas jiboias avaliadas, não se observou alteração de comportamento no período após a sedação e todos os animais se alimentaram em até sete dias após a contenção química.

Em ambos os protocolos propostos, o nível de sedação máximo alcançado foi o estágio 2 definido por Malley⁽¹⁵⁾. Essa denotação foi consolidada pela presença de intenso relaxamento muscular, incapacidade de sustentar a cabeça e redução ou ausência da agressividade. Os animais do G1 permaneceram neste estágio por $233,50 \pm 71,34$ minutos e os representantes do G2 por $328,50 \pm 125,35$ minutos (Tabela 2). A aplicação de 1,5 mg/kg, por via intramuscular em *Trachemys scripta*, também mantidas em temperatura ótima para répteis, proporcionou um tempo médio de contenção química de 82 minutos, inferior ao do presente estudo⁽²⁰⁾. Essas variações nas respostas individuais e entre espécies demarca a importância de estudos acerca de fármacos para contenção química em répteis das diversas subclasses.

Mesmo os animais alcançando efetivo relaxamento muscular, fato este caracterizado pela dificuldade de locomoção que as serpentes apresentaram e que foram evidenciados pela presença de espasmos e incoordenação, não foi observada a perda da reação postural de endireitamento (RPE). Assim, pode-se dizer que os espécimes em questão não alcançaram o período hábil da anestesia que, segundo Bennett⁽⁵⁾, é definido como sendo o intervalo de tempo entre a perda e o retorno da reação postural de endireitamento (Figura 2).

Tabela 2. Médias e desvios-padrão (σ) relativos ao tempo que exemplares de *Boa constrictor* permaneceram em estágio 2 para tônus muscular (T. M.), tônus da cabeça (T. C.), manipulação (Manip.) e locomoção (Loc.), com o uso de midazolam a 1 mg/kg e midazolam a 2 mg/kg, aplicado por via intracelomática

Variáveis Analisadas	Midazolam 1 mg/kg*		Midazolam 2 mg/kg*	
	Estágio 2*		Estágio 2*	
	Média	σ	Média	σ
T. M.	233,5a	71,34a	328,50b	125,35b
T. C.	233,5a	71,34a	328,50b	125,35b
Manip.	233,5a	71,34a	328,50b	125,35b
Loc.	233,5a	71,34a	328,50b	125,35b

* Valores seguidos por letras iguais não diferem estatisticamente (Teste U de Mann-Whitney, a 5%).

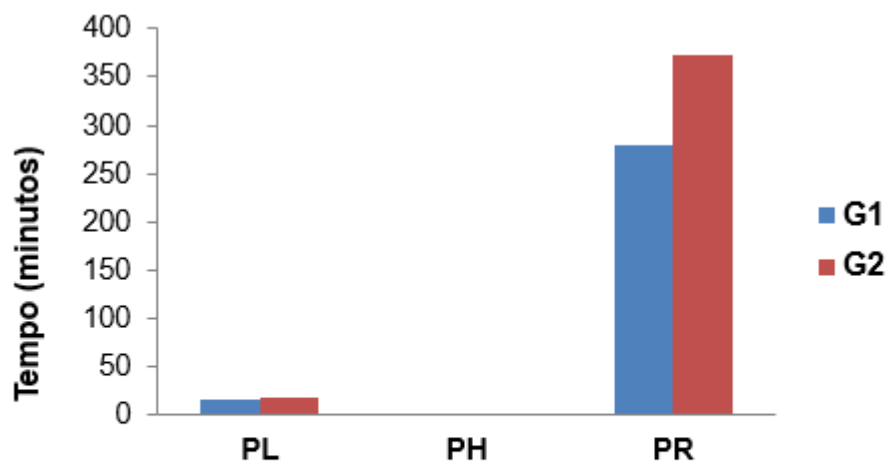


Figura 2. Representação do Período de latência (PL), Período hábil (PH) e Período de recuperação (PR), em minutos, de *Boa constrictor* contidas farmacologicamente com midazolam a 1 mg/kg (G1) e midazolam a 2 mg/kg (G2), por via intracelomática.

Outros estudos com o uso do midazolam em doses entre 1 e 2 mg/kg, por via intramuscular, em répteis da subclasse Testudinata, também relataram a presença de facilidade de manipulação e relaxamento muscular nos exemplares com leve sedação^{(20),(21)}. As serpentes do presente estudo apresentaram redução da agressividade; entretanto, não alcançaram uma sedação profunda, o que faz necessária a associação desse benzodiazepínico com outros fármacos, como os dissociativos e opioides, para efeito mais intenso em procedimentos invasivos⁽²²⁾.

Os protocolos propostos não são indicados isoladamente para cirurgias, pelo fato de não promoverem ausência de resposta ao estímulo nociceptivo. Contudo, os animais apresentaram comportamentos letárgicos, com indiferença ao meio e à aproximação humana e, ao serem estimulados pela agulha hipodérmica, demonstravam pequenas reações de fuga ao estímulo.

O tempo de recuperação dos animais do G1 foi de $279,00 \pm 73,55$ minutos, enquanto no G2 este fato

ocorreu aos $372,00 \pm 142,27$ minutos, valores com diferenças significativas ($p < 0,05$) (Figura 3). Não há trabalhos que apontem o uso isolado de benzodiazepínicos em serpentes e os intervalos de duração desse tipo de protocolo descrito em exemplares de testudinata variam entre espécies e de acordo com a associação realizada^{(20),(21)}. Bienzle e Boyd⁽²¹⁾ compararam a aplicação de 2 mg/kg de midazolam isolado com protocolos contendo cetamina isolada (40 mg/kg) ou associada ao benzodiazepínico (2 mg/kg de midazolam associado a 20 mg/kg de cetamina) em *Chelydra serpentina*. Os autores relataram que, aos 210 minutos, todos os exemplares haviam se recuperado e que a associação dos fármacos potencializou a sedação, sem prolongar significativamente o retorno às condições basais. Essa observação reforça a recomendação da dose do midazolam em 2 mg/kg para *Boa constrictor* com a necessidade da realização de novos estudos comparando a associação de fármacos sedativos em serpentes e seus efeitos.

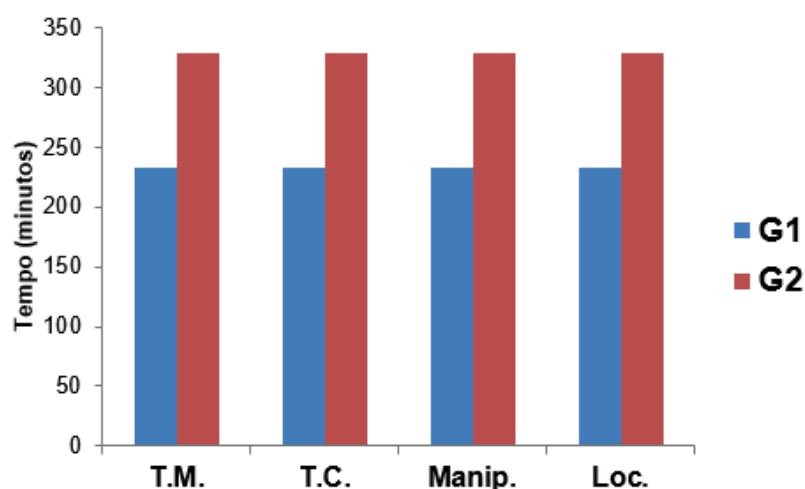


Figura 3. Representação das médias dos tempos de duração do anestésico com relação ao tônus muscular (T.M.), tônus da cabeça (T.C.), manipulação (Manip.) e locomoção (Loc.) em *Boa constrictor* com o uso de midazolam a 1 mg/kg (G1) e midazolam a 2 mg/kg (G2), por via intracelomática.

Pelo fato de não apresentarem diferenças entre a intensidade dos efeitos e o tempo de recuperação de 279 minutos ser consideravelmente extenso, indica-se a dose de 1 mg/kg, por via intracelomática em serpentes da espécie *Boa constrictor*. Segundo Spinosa⁽⁸⁾, um incremento nas doses dos benzodiazepínicos não aumenta o grau de tranquilização, apenas os efeitos adversos, o que pôde ser constatado no presente estudo, uma vez que o dobro da dose apenas prolongou o período de sedação, sem incrementar os efeitos desejados com o uso do benzodiazepínico (Tabela 3).

Assim como no estudo com o emprego de midazolam isolado em *Trachemys scripta*⁽²⁰⁾, não foram observadas diferenças significativas na frequência cardíaca entre G1 e G2, ou dentro dos grupos em relação ao MB nas jiboias, a FC variou de 27 a 77 bpm (Figura 4).

Bennett⁽¹²⁾ afirma que os répteis podem permanecer em apneia por até 24 horas realizando respiração percutânea e anaeróbica. No presente estudo, optou-se por avaliar a FR e não o tempo de apneia como Carregaro et al.⁽²³⁾ em pesquisa com cascavéis, uma vez que as jiboias não apresentaram apneia prolongada após a aplicação do benzodiazepínico. A presença da apneia nas cascavéis foi promovida com o emprego da cetamina, que é um fármaco com ação dissociativa; em relação ao midazolam, a ausência da apneia era esperada uma vez que não há relatos da ocorrência desse evento com o uso isolado de benzodiazepínico em répteis^{(9),(18)}. Não se constataram diferenças nas FR entre os animais do G1 e do G2 assim como nos estudos com o uso de midazolam isolado em *Trachemys scripta* e *Crocodylus porosus* em que os autores relataram ausência de bradpneia^{(9),(20)} (Figura 5).

Tabela 3. Efeitos obtidos com o midazolam a 1 mg/kg (G1) e midazolam a 2 mg/kg (G2), por via intracelomática, ao se avaliar tranquilização, relaxamento muscular, contenção, analgesia, frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), retorno às condições do momento basal (MB) e procedimentos pouco ou não invasivos em exemplares de *Boa constrictor*

Variáveis analisadas	Midazolam 1mg/kg	Midazolam 2mg/kg
Tranquilização	Sim	Sim
Relaxamento muscular	Sim	Sim
Contenção	Sim	Sim
Analgesia	Não	Não
FC	Sem alteração	Sem alteração
FR	Sem alteração	Sem alteração
Retorno a MB	279 ± 73,55	372 ± 142,27
Procedimentos pouco ou não invasivos	Não	Não

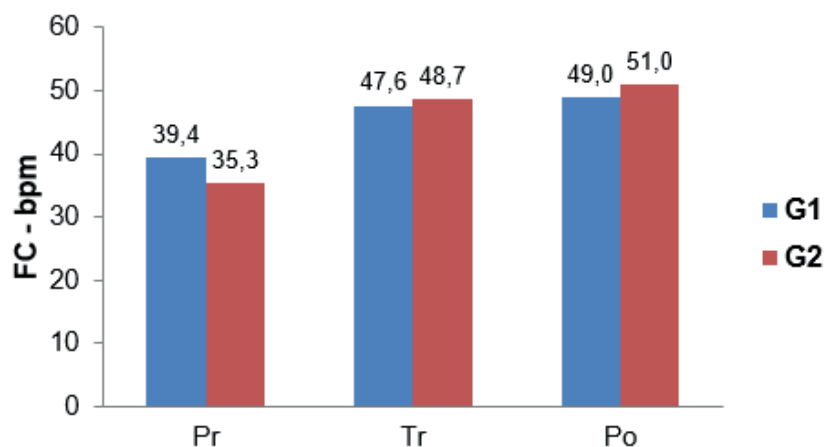


Figura 4. Representação dos valores médios de frequências cardíacas (FC) em batimentos por minuto (bpm) nos períodos pré-sedação (Pr), trans-sedação (Tr) e pós-sedação (Po) em jiboias com o uso de midazolam a 1mg/kg (G1) e midazolam a 2 mg/kg (G2), por via intracelomática (ICe).

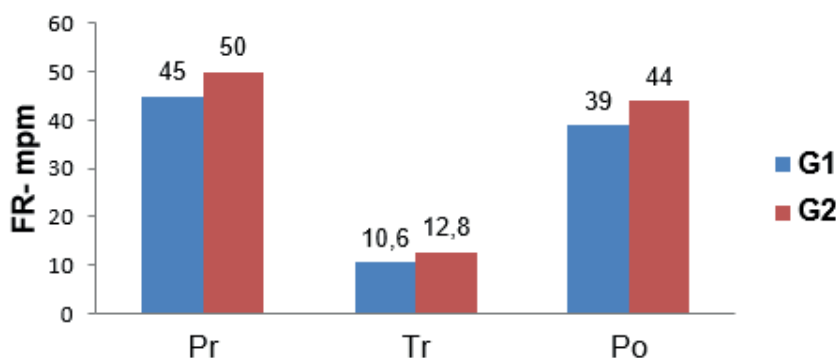


Figura 5. Representação dos valores médios de frequências respiratórias (FR) em movimentos por minuto (mpm) nos períodos pré (Pr), trans (Tr) e pós (Po) anestésicos em jiboias com o uso de midazolam 1mg/kg (G1) e midazolam 2 mg/kg ICe (G2), por via intracelomática.

Segundo West et al.⁽²⁴⁾, serpentes com grau moderado a severo de desidratação devem receber a reposição de fluidos pela via Ice, para que se tenha uma melhora na absorção das substâncias administradas. Buscando uma melhor ação dos anestésicos, neste estudo também optou-se pela via Ice; entretanto, ao se comparar com a intensidade e o período de latência de pesquisas realizadas com a aplicação intramuscular de midazolam em reptéis, não foi observada diferença entre as duas vias, por isso indica-se a realização de estudos farmacocinéticos de fármacos administrados na cavidade celomática para o melhor entendimento da absorção e metabolismo dessa via.

Conclusões

Constatou-se que o midazolam nas doses de 1 e 2 mg/kg em jiboias promove tranquilização segura, com efetivo relaxamento muscular e sem alterações fisiológicas de FC e FR; no entanto, não provoca analgesia, contraindicando o seu uso isolado para realização de procedimentos cirúrgicos. Entretanto, pelo rápido início de ação e considerável duração de ação e recuperação, o agente pode ser utilizado para a contenção farmacológica de *Boa constrictor* em procedimentos poucos invasivos como colheitas de amostras biológicas, exames de diagnóstico por imagem e transporte ou em associações que visam um efetivo relaxamento muscular. Pela diferença no tempo de recuperação e ausência de vantagem na intensidade dos efeitos observados nos dois grupos, indica-se o emprego de 1 mg/kg de midazolam por via intracelomática para a contenção farmacológica de *Boa constrictor*.

Referências

1. Neto FC, Guerra PC, Costa FB, Araújo AVC, Miglino MA, Bombonato PP, et al. Ultra-sonografia do fígado, aparelho renal e reprodutivo da jibóia (*Boa constrictor*). *Pesqui Vet Bras.* 2009;29(4):317–21.
2. Acco A, Pachaly JR BM. Síndrome do Estresse em Animais - revisão. *Arq Ciên Vet Zoo UNIPAR.* 1999;2(1):71–6.
3. Chagas JAB, Oleskovicz N, Moraes AN De, Flôres FN, Corrêa AL, Souza-Jr JC, et al. Associação de cetamina S(+) e midazolam pelo método convencional de cálculo e pela extrapolação alométrica em bugios-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*): resposta clínica e cardiorrespiratória. *Ciência Rural.* 2010;40(1):109–14.
4. Flôres FN, Moraes AN, Oleskovicz N, Dallabrida A, Soares A V. Anestesia em tartaruga (*Trachemys*

- dorbigni) para remoção cirúrgica de granuloma - relato de caso. Rev da FZVA. 2008;15(1):132–40.
5. Bennett RA. Reptile anesthesia. Semin Avian Exot Pet Med. 1998;7(1):30–40.
 6. Heard DJ. Reptile anesthesia. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 2001;4(1):83–117.
 7. Rojas L. Anestesia en reptiles. Boletín del Grup Estud Anim Silvestres. 2002;3(4):34–7.
 8. Spinosa HS, Górnaiak SL, Bernardi MM. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 2006. 918 p.
 9. Olsson A, Phalen D. Comparison of biochemical stress indicators in juvenile captive estuarine crocodiles (*Crocodylus porosus*) following physical restraint or chemical restraint by midazolam injection. J Wildl Dis. 2013;49(3):560–7. Available from: <http://www.bioone.org/doi/10.7589/2012-06-160>
 10. Arnett-Chinn ER, Hadfield CA, Clayton LA. Review of intramuscular midazolam for sedation in reptiles at the National Aquarium, Baltimore. J Herpetol Med Surg. 2016;26(1–2):59–63.
 11. Seniów A. The influence of sex differences, skin-shedding cycle and hibernation on the regulation of aspartate and alanine aminotransferase activities in the grass-snake, *Natrix n. natrix* (L.). Comp Biochem Physiol Part B Comp Biochem. 1976;54(1):69–76.
 12. Bennett RA. A review of anesthesia and chemical restraint in reptiles. J Zoo Wildl Med. 1991;22(3):282–303.
 13. Divers SJ. Basic reptile husbandry, history taking and clinical examination. In Pract. 1996;18(2):51–65.
 14. Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de Animais Silvestres. 2007. 1354 p.
 15. Malley D. Reptile anaesthesia and the practicing veterinarian. In Pract. 1997;19(7):351–68.
 16. De-Zhang L, Sheng J, Shi-Ming Y, Hong-Gang F. A comparison of anesthetic and cardiorespiratory effects of tiletamine-zolazepam/xylazine and tiletamine-zolazepam/xylazine/tramadol in dogs. Pak Vet J. 2014;34(1):63–7.
 17. Gatson BJ, Garcia-Pereira FL, James M, Carrera-Justiz S, Lewis DD. Use of a perfusion index to confirm the presence of sciatic nerve blockade in dogs. Vet Anaesth Analg. 2016;43(6):662–9.
 18. Brazenor CW, Kaye G. Anesthesia for reptiles. Copeia. 1953;1953(1):165–70.
 19. Bonath KZC. Experimentelle untersuchungen zur klinischen anwendung und überwachung der inhalationsnarkose bei reptilien. Zentralblatt für Veterinärmedizin. 1979;26(5):341–72.
 20. Oppenheim YV, Moon PF. Sedative effects of midazolam in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). J Zoo Wildl Med. 263(409–413):1995.
 21. Bienzle D, Boyd CJ. Sedative effects of ketamine and midazolam in snapping turtles (*Chelydra serpentina*). J Zoo Wildl Med. 1992;23(2):201–4.
 22. Simone SBS, Santos ALQ. Efeitos da associação maleato de midazolam, citrato de fentanila e cloridrato de cetamina em jibóias *Boa constrictor* Linnaeus, 1758 (Squamata: Boidae). Pubvet. 2011;5(21):1130–5.
 23. Carregaro AB, Cruz ML, Cherubini AL, Luna SPL. Influência da temperatura corporal de cascavéis (*Crotalus durissus*) submetidas à anestesia com cetamina. Pesqui Vet Bras. 2009;29(12):969–73.
 24. West G, Heard D, Caulkett N. Zoo Animal & Wild life Immobilization and Anesthesia. 2007. 694 p.