UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO INTRANASAL DE OXIGÊNIO EM DIFERENTES PROTOCOLOS ANESTÉSICOS EM VEADOS-CAMPEIRO (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758) DE VIDA LIVRE

Marina Salles Munerato

Médica Veterinária

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO INTRANASAL DE OXIGÊNIO EM DIFERENTES PROTOCOLOS ANESTÉSICOS EM VEADOS-CAMPEIRO (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758) DE VIDA LIVRE

Marina Salles Munerato

Orientador: José Antônio Marques

Coorientador: Nigel Antony Caulkett

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária

DADOS DURRICULARES DO AUTOR

MARINA SALLES MUNERATO - nascida em Bauru, estado de São Paulo, em 20 de novembro de 1979, é Médica Veterinária formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Unesp em 2005. Recebeu o título de mestre em Cirurgia Veterinária pela mesma instituição em 2007, com dissertação de mestrado intitulada "Uso do isofluorano em veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) pré-tratados com diferentes protocolos de contenção química". Foi pesquisadora associada, atuando como anestesista, no Núcleo de Pesquisas e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), no período de março de 2005 a março de 2009. Durante sua permanência no NUPPECE contribuiu como coautora no capítulo "Anesthesia and Chemical Immobilization" do livro "Neotropical Cervidology: Biology and medicine of Latin America deer", uma importante publicação na área de anestesiologia de cervídeos neotropicais. Durante o período de doutorado, realizou treinamento na técnica de ensaio imunoenzimático (EIA) para dosagens hormonais na Universidade de Medicina Veterinária (VetMedUni), de Viena, Áustria, sob a supervisão do Prof. Dr. Rupert Palme.

EPÍGRAFE

Há Momentos

"Há momentos na vida em que sentimos tanto a falta de alguém que o que mais queremos é tirar esta pessoa de nossos sonhos e abraçá-la.

Sonhe com aquilo que você quiser. Seja o que você quer ser, porque você possui apenas uma vida e nela só se tem uma chance de fazer aquilo que se quer.

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce. Dificuldades para fazê-la forte. Tristeza para fazê-la humana. E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas. Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus caminhos.

A felicidade aparece para aqueles que choram. Para aqueles que se machucam. Para aqueles que buscam e tentam sempre. E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passam por suas vidas.

O futuro mais brilhante é baseado num passado intensamente vivido. Você só terá sucesso na vida quando perdoar os erros e as decepções do passado.

A vida é curta, mas as emoções que podemos deixar duram uma eternidade. A vida não é de se brincar porque um belo dia se morre."

Clarice Lispector

DEDICO

A meus pais, Sândare Severo Munerato e Rita Virgínia Salles Munerato, ao meu irmão, Marcelo Salles Munerato e, ao meu marido, Roberto Guilherme Trovati, por serem minha inspiração e exemplo nos momentos difíceis, compartilharem de minhas vitórias e me apoiarem durante as decisões de minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro concedido para realização deste trabalho e concessão da bolsa de doutorado, referentes aos processos 2009/09941-7 e 2009/09936-3, respectivamente.

À Embrapa Pantanal, pelo financiamento logístico das capturas e estadia dos pesquisadores na fazenda da Nhumirim, essencial para realização deste trabalho.

Ao Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade (ICMBio), pela expedição das licenças pertinentes a captura e colheita de material biológico (n. 21491-1) e de remessa de amostras ao exterior (n. 11BR/006341/DF).

À diretoria da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias pelo transporte dos equipamentos utilizados a campo até o município de Corumbá-MS.

Agradeço à meu orientador Prof. Dr. José Antônio Marques, por acreditar em meu trabalho, pela cumplicidade e pela confiança em mim depositada.

Ao meu coorientador Prof. Nigel A. Caulkett, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao pesquisador da Embrapa Pantanal Walfrido Tomás, por me aceitar em seu grupo de pesquisa, pelo seu exemplo de imparcialidade e por eu voto de confiança! Sempre serei imensamente grata por seu apoio em um dos momentos mais difíceis de minha carreira.

Ao Prof. Dr. Gener Tadeu Pereira, pela análise estatística e paciência desde a graduação, serei sempre grata.

Ao Prof. Dr. Rupert Palme, pela dedicação em ensinar, pela oportunidade, a mim oferecida, de conviver com os pesquisadores de seu grupo de pesquisa, na University of Veterinary Medicine de Viena, sendo sempre tão amável.

À toda minha família, pelo amor, afeto, força e união durante os momentos mais difíceis.

Ao, meu marido, Roberto Guilherme Trovati, por ser companheiro nas alegrias e momentos de dificuldade, pela paciência, amor, dedicação e ajuda durante a realização deste trabalho. Que nosso amor seja eterno.

À minha amiga, Eveline dos Santos Zanetti pela fidelidade, apoio, compreensão e dedicação durante a realização dos trabalhos de campo e por estar sempre pronta a ajudar nos momentos de dificuldade. Sem dúvida nenhuma seria impossível realizar este trabalho sem você.

Às pessoas que quando estava executando a tarefa mais árdua de todas, a ensinar, acabaram me ensinando muito mais: Gabriela Capriogli Oliveira e Diogo Maia Gräbin. Vocês com certeza são as pessoas que mais me estimulam a melhorar! Obrigada por serem tão empenhados em aprender! Que a trajetória de vocês seja de repleta de vitórias.

À Vanessa Veltrine Abril, uma amiga muito querida, especialmente por tornar meu horário de almoço tão prazeroso.

Às amigas, que são verdadeiras irmãs para mim, Taína Menegasso, Caroline Dias dos Santos, Anna Carolina Botelho Takeda e Hellen Rose Villas Boas Sartori, pelo apoio incondicional em todas as etapas de minha vida. Que saudade de vocês.

Aos amigos verdadeiros conquistados durante minha estada em Jaboticabal, Célia, Rose, Luciane Leone, Natalina.

Aos membros do grupo de pesquisa da Embrapa Pantanal: Gustavo, Pâmela, Carol Sheida, Juliana Saadi, Marcelle Tomás, Andrézinho, Zucco, por dividirem suas experiências e contribuírem para meu crescimento. A todos minha sincera gratidão.

À uma das pessoas mais importantes para realização desse trabalho, meu mateiro, Sr. Armindo. Obrigado, pelo silêncio e serenidade de sua presença. Nunca esquecerei, seu apoio, conselhos e exemplo durante às capturas e monitoramento dos animais.

Ao motorista da Embrapa Pantanal, Sr. Henrrique, pela paciência durante às capturas e pela noite de fome e frio, monitorando um dos animais. Obrigada por compreender!

À Edith H. Klobetz, pela ajuda de "mãe" nas análises e na discussão da técnica de dosagem dos glicocorticoides fecais.

À Mareike Stöwe, por sua amizade, gentileza e interpretação dos resultados referente ao comportamento dos animais.

Aos pós-graduandos da University of Veterinary Medicine de Viena, Nino Arias, Michael Lepschy e Sophia Rettenbacher, pela troca de experiência e gentileza durante minha estadia em Viena.

Aos funcionários do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da FCAV – Unesp, campus de Jaboticabal, Eugênio, pelos ensinamentos e disposição em ajudar.

Aos professores Dr. Antônio de Queiroz Neto e Dr. Guilherme C. Ferraz, por permitir o uso do laboratório de Farmacologia durante o processamento das amostras de soro e fezes destinadas às dosagens hormonais.

Ao proprietário da fazenda Alegria, que permitiu acesso à sua propriedade para proceder às capturas dos animais.

À todos que de uma forma ou de outra contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Pági	ina
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA	iii
LICENÇA DO ICMBio	.iv
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
Revisão de literatura	1
Referências	10
CAPÍTULO 2 - Efeitos da suplementação intranasal de oxigênio durante a aneste	sia
com tiletamina-zolazepam/xilazina ou cetamina/midazolam/xilazina em veado	os-
campeiro (Ozotoceros bezoarticus) de vida livre	18
Resumo	18
Abstract	19
Introdução	20
Material e métodos	.24
Pilotos	24
Animais	25
Área de estudo	25
Método de captura	27
Instrumentação	29
Monitoração anestésica	30
Marcação	33
Antagonista	34
Recuperação anestésica	34
Análise estatística	35
Resultados	35
Discussão	46
Conclusões	52
Referências	52
CAPÍTULO 3 - Hematologia e bioquímica sérica de veados-campeiro (Ozotocei	ros
bezoarticus) de vida livre anestesiados com tiletamina-zolazepam/xilazina	ou

cetamina/midazolam/xilazina submetidos ou não à suplementação in	tranasal de	е
oxigênio	60)
Resumo	60	O
Abstract	61	1
Introdução	62	2
Material e métodos	6	3
Animais	63	3
Método de captura e protocolos anestésicos	64	1
Colheita das amostras e análises laboratoriais	64	1
Análise estatística	67	7
Resultados	68	3
Discussão	72	2
Conclusões	75	5
Referências	76	3
CAPÍTULO 4 - Resposta hormonal e comportamental de veado	os-campeir	o
(Ozotoceros bezoarticus) de vida livre ao estresse da captura e marcação	com rádio)-
colares	80	Э
Resumo	80	O
Abstract	81	1
Introdução	82	2
Material e métodos	8	4
Área de estudo	84	Ļ
Animais	84	1
Colheita das amostras	85	5
Experimento de estocagem	86	3
Dosagens dos MGF	86	6
Avaliação comportamental	87	7
Análise estatística	88	3
Resultados	89	9
Discussão	94	4
Conclusões	99)
Referências	99	9





CEBEA - COMISSÃO DE ÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 015077/09 do trabalho de pesquisa intitulado "Efeitos da captura e da suplementação intranasal de oxigênio durante a contenção química de veado-campeiro (Ozotocerus bezoarticus) no Pantanal sul-matogrossense, Brasil", sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Antonio Marques está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL (CEBEA), em reunião ordinária de 13 de agosto 2009.

Jaboticabal, 17 de agosto de 2009.

Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui Presidente - CEBEA Med. Vet. Maria Alice de Campos Secretária - CEBEA



Ministério do Meio Ambiente - MMA Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 21492-1 Data da Emissão: 10/11/2009 10:27 Dados do titular CPF: 862.146.248-68 Nome: José Antônio Marques Título do Projeto: EFEITOS DA CAPTURA E DA <mark>SUPLEMENTAÇÃO INTRANASAL</mark> DE OXIGÊNIO DURANTE A CONTENÇÃO QUÍMICA DE VEADOS-CAMPEIRO (Ozotocerus bezoarticus) NO PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE, BRASIL Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL CNPJ: 48.031.918/0012-87

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)			
1	Parte experimental a campo incluindo a captura e anestesia dos animais.	03/2010	07/2010			
2	Dosagens bioquímicas na FCAV, dosagem do cortisol na Austria e elaboração do relatório parcial.	08/2010	12/2010			
3	Análise dos resultados e eleboração do relatório final a ser apresentado ao IBAMA.	01/2011	07/2011			
De	De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.					

Observações e ressalvas

- As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia. Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento
- ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.

 A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line-Licença para importação ou exportação de flora e fauna CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.ibama.gov.br/sisbio menu
- Captina de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.

 Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na
- plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica,
- bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Em caso de pesquisa em Unidade de Conservação Federal, o pesquisador titular deverá contactar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade. As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de
- espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Outras ressalvas

O pesquisador estrangeiro Nigel Antony Caukett está dispensado de autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia. Vinculado ao programa de bolsa ou auxílio à pesquisa patrocinado pelo CNPq (Processo CNPq nº 2009/09941-7).

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	WALFRIDO MORAES TOMAS	Executor	366.065.531-72	001678879 ssp-MS	Brasileira
2	Vavessa Veltrini Abril	Colaboradora	287.080.108-46	291028391 ssp-SP	Brasileira
3	Marina Salles Munerato	Executora, anestesista	219.392.658-19	26444581-8 SSP-SP	Brasileira
4	Eveline dos Santos Zanetti	Colaboradora	199.475.958-54	241637119 SSP-SP	Brasileira
5	Bruna Furlan Polegato	Colaboradora	302.715.408-77	261274053 ssp-SP	Brasileira
6	Nigel Antony Caulkett	Co-orientador deste projeto			Estrangeira
0		de pesquisa			
7	Roberto Guilherme Trovati	Colaborador.	253.730.758-50	27167714-4 SÃO PAULO-SP	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 47672293



Página 1/3

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Revisão de literatura

Animais pertencentes à ordem Artiodactyla e a família *Cervidae*, possuem ampla distribuição, ocorrendo principalmente no norte e sul da América, Europa e Ásia. No continente africano, esses animais ocorrem apenas no norte do Saara. Não há registros da ocorrência de cervídeos na Austrália ou Nova Zelândia, exceto nas regiões em que foram introduzidos pelo homem (EISENBERG; REDFORD, 1999).

No Brasil, existem oito espécies de cervídeos reconhecidas atualmente: Blastoceros dichotomus, Mazama gouazoubira, Mazama americana, Mazama nana, Mazama nemorivaga, Mazama bororo, Odocoileus virginianus e Ozotoceros bezoarticus (DUARTE; MERINO, 1997).

Atualmente, são reconhecidas três subespécies de veado-campeiro (Ozotoceros bezoarticus, Linnaeus 1758) com base em suas características taxonômicas: O. b. bezoarticus, O. b. leucogaster e O. b. celler (CABRERA, 1943). Entretanto, há indícios genéticos da existência de mais duas subespécies: O. b. uruguayensis e O. b. arerunguaensis (GONZÁLEZ et al., 1998). O veado-campeiro possui estatura um pouco maior do que os animais do gênero Mazama, porém, diferencia-se por sua coloração castanha avermelhada e partes internas dos membros, cauda, orelhas, anel perioftámico, lábios e ao redor das narinas com pelagem branca (DUARTE; MERINO, 1997). O peso dos animais varia de 28 a 35 kg, dependendo da subespécie em questão e do período do ano. Os machos são um pouco maiores do que as fêmeas e possuem chifres trirramificados que são renovados anualmente. As fêmeas ciclam o ano todo e parem um filhote por gestação, havendo possibilidade de gestações gemelares (UNGERFELD et al., 2008).

No passado, o veado-campeiro era distribuído por todo o território leste da América do Sul (DUARTE; MERINO, 1997). A distribuição atual dessa espécie vai desde a Argentina central até o meio-oeste e nordeste do Brasil, leste da Bolívia, Paraguai e Uruguai, havendo preferência dessa espécie por áreas abertas como campos, pampas, planícies com regime sazonal de inundação e cerrados (MERINO)

et al., 1997). No Brasil, ocorrem duas subespécies: *O. bezoarticus bezoarticus* e *O. bezoarticus leucogaster*, sendo as maiores populações encontradas no Parque Nacional das Emas (GO) e no Pantanal mato-grossense (MT e MS), respectivamente (GONZÁLEZ et al., 1998; RODRIGUES et al., 2007). Em países como a Argentina e o Uruguai, esses animais são mantidos em cativeiro, entretanto, no Brasil, com exceção de um macho mantido pelo Núcleo de Pesquisas e Conservação de Cervídeos Neotropicais (NUPECCE) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, desde a década de 1980, não há registros de veadoscampeiro em cativeiro (GONZÁLEZ et al., 2010).

Atualmente, o veado-campeiro é considerado um dos cervídeos mais ameaçados da América Latina, de acordo com o apêndice I da lista da Convenção de Tratados Internacionais para Espécies Ameaçadas da Fauna e Flora (CITES, 2008), levandose em consideração países como Argentina, Uruguai e algumas regiões do Brasil central. Recentemente, essa espécie foi classificada como vulnerável em publicação do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), uma autarquia em regime especial vinculada ao Ministério do Meio Ambiente, que integra o Sistema Nacional do Meio Ambiente (Sisnama) (DUARTE et al., 2012). Além disso, o veado-campeiro é classificado como quase ameaçado ("Near Threatened") na lista vermelha de espécies ameaçadas (GONZÁLEZ; MERINO, 2008) da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN). Essas classificações foram estabelecidas principalmente devido à perda de habitat por ação antrópica, caça e transmissão de doenças pelo gado (MERINO et al., 1997). Entretanto, populações de aproximadamente 60.000 indivíduos (MOURÃO et al., 2000) e densidades de 9,81 ± 3,8 indivíduos/km² (TOMÁS et al., 2001) ainda podem ser encontradas no Pantanal brasileiro.

Devido ao risco de tornar-se uma espécie ameaçada em seu habitat natural (GONZÁLEZ; MERINO, 2008), muitos estudos envolvendo história natural, genética, ecologia e doenças infecciosas de veado-campeiro foram realizados nas últimas décadas para o desenvolvimento de estratégias de manejo para sua conservação. No entanto, alguns ramos da medicina da conservação ainda são pouco estudados nessa espécie de cervídeo.

A imobilização de animais selvagens, especialmente cervídeos

(GASPARINNI; DUARTE; NUNES, 1997), geralmente é conduzida sob circunstâncias difíceis (FAHLMAN, 2005). O acesso e melhoria das técnicas de captura e contenção química são importantes ferramentas para conservação e manejo desses animais. Levando-se em consideração o contexto multidisciplinar dos projetos de conservação, estudos na área da anestesiologia de animais selvagens tornam-se necessários, visando, sobretudo, o manejo seguro com mínimo estresse aos animais (KARESH; COOK, 1995). Dentro dessa perspectiva, pode-se observar poucas informações sobre protocolos de imobilização viáveis para veados-campeiro, havendo apenas alguns estudos relacionados com a captura e contenção química da espécie em questão (GONZÁLEZ; DUARTE, 2003; PIOVEZAN; ZUCCO; ROCHA, 2006).

Em cativeiro, a contenção química de cervídeos pode facilitar uma série de procedimentos, como exames físicos, diagnósticos, tratamento de doenças, reprodução assistida, entre outros (PINHO, 2000, 2004; MUNERATO, 2007; MUNERATO et al., 2008). Em vida livre, cervídeos geralmente são imobilizados para translocação, resgate, inquéritos epidemiológicos, marcação ou colocação de rádiocolares para fins de pesquisa (NUNES, 2001).

Os métodos de captura utilizados em vida livre devem minimizar o estresse e os riscos de injúrias aos animais. O uso de redes fixas ou de armação rápida com auxílio de veículos já foi utilizado para captura de veados-campeiro (RODRIGUES; MONTEIRO-FILHO, 2000), porém, esses métodos dependem de equipe numerosa e treinada, além de apresentar riscos de injúria aos animais, com índices de mortalidade chegando a 12,5% (GONZÁLEZ; DUARTE, 2003). Sistemas remotos de injeção de fármacos, que utilizam dardos, como rifles e pistolas, são uma vantagem por permitir a administração de fármacos por via intramuscular com certa acurácia a longas distâncias (BUSH, 1992), entretanto, zarabatanas também podem ser utilizadas para a mesma finalidade à curtas distâncias (PIOVEZAN; ZUCCO; ROCHA, 2006).

O uso de fármacos com rápida indução e de antagonistas, em contenções químicas realizadas em animais de vida livre, são desejáveis em casos de emergência, como depressão respiratória, e para uma recuperação anestésica mais rápida (FAHLMAN, 2005). As principais complicações descritas durante a contenção química de

cervídeos são: hipertermia ou hipotermia (BOESCH et al., 2011), acidose respiratória, metabólica ou ambas (MUNERATO, 2007; BOESCH et al., 2011), miopatia de captura (BERINGER et al., 1996; PATERSON, 2007) e traumas (GASPARINNI; DUARTE; NUNES, 1997). Além disso, a ocorrência de hipoxemia, caracterizada por valores de pressão parcial de oxigênio (PaO₂) abaixo dos valores considerados de referência para ruminantes domésticos, também vêm sendo descrita como uma frequente complicação durante tais procedimentos em cervídeos (CAULKETT, 1997; MURRAY et al., 2000; CAULKETT 2001; READ et al., 2001; READ, 2003; MICH et al., 2008; PATERSON; CAULKETT; WOODBURY, 2009; RISLING et al., 2011).

Há duas décadas, o correto diagnóstico de quadros de hipoxemia em animais anestesiados a campo geralmente não era realizado devido às limitações dos métodos não invasivos de monitoração, como a oximetria de pulso (TREMPER, 1989), utilizados em muitos estudos com cervídeos em vida livre. Entretanto, desde a década de 90, com a melhoria dos equipamentos de mensuração dos gases sanguíneos, como os analisadores sanguíneos portáteis (WAHR et al., 1996; VERWAERDE et al., 2002), exames de hemogasometria arterial podem ser realizados a campo para mensuração da PaO₂ de maneira acurada (MOSLEY; GUNKEL, 2007). Desse modo, como mencionado anteriormente, desde a década de 90 houve um, consequente, aumento no número de publicações que reportam a ocorrência de hipoxemia durante a contenção química em cervídeos.

Em animais domésticos, mantidos em altitudes próximas ou ao nível do mar (760 mmHg), os valores considerados normais de PaO₂ variam de 80 a 100 mmHg. A hipoxemia é considerada presente em mamíferos domésticos quando a PaO₂ encontra-se abaixo dos valores considerados normais para a espécie. Em animais domésticos, valores de PaO₂ abaixo de 80 mmHg diagnosticam a hipoxemia, entretanto, seu tratamento é recomendado quando estes encontram-se abaixo de 60 mmHg, caracterizando hipoxemia severa (McDONELL, 1996).

O ritmo respiratório é originado na medula e modificado por sinais do centro respiratório cerebral, atividade de quimiorreceptores e de receptores pulmonares e das vias respiratórias. Quimiorreceptores centrais (como os encontrados na medula espinhal, os quais estão banhados pelo líquido cérebro-espinhal) prontamente

respondem a elevações na concentração de CO₂, aumentando o volume alveolar (V_a) e o volume minuto (V_m) (McDONELL, 1996). Além disso, quimiorreceptores periféricos, localizados na carótida e nos corpos aórticos, também respondem às elevações na pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂), elevando o V_m, entretanto, parecem exercer tal efeito de maneira significativa apenas quando a PaO₂ está abaixo de 60 mmHg (MUIR; MORE; HAMLIN, 1975). Outros mecanismos, como o sistema de ativação reticular, centros apnêusticos e pneumotáxicos e os receptores pulmonares e das vias respiratórias, são primariamente responsáveis pelo ajuste da frequência respiratória e volume corrente (V_t) para, por meio desse mecanismo modificar, o V_a, usualmente de uma maneira que reduza o custo energético da respiração (McDONELL, 1996).

O desenvolvimento de hipoxemia pode ter diferentes causas, incluindo hipoventilação, baixa concentração de oxigênio inspirado e acréscimo da mistura venosa (resultado de alterações na ventilação-perfusão alveolar, doenças do parênquima pulmonar e/ou no "shunt" absoluto) (HASKINS, 1996). Fármacos anestésicos e alguns pré-anestésicos alteram a resposta dos quimiorreceptores ao CO₂ e ao O₂ de forma dose-dependente (MARSHALL; WYCHE, 1972; McDONELL, 1996). Assim, como em outras espécies domésticas, a contenção química de cervídeos geralmente resulta em quadros de hipoxemia, predispondo à hipóxia tecidual, caracterizada pela redução na disponibilidade de oxigênio aos tecidos, isquemia do miocárdio e falência dos órgãos (CAULKETT, 1997; MURRAY et al., 2000; READ et al., 2001, READ, 2003).

Dentre os principais fármacos utilizados para contenção química de cervídeos encontram-se os tranquilizantes, como o midazolam, diazepam, zolazepam, acepromazina e azaperone; os agonistas α-2, como a xilazina, romifidina e detomidina; os dissociativos, como a cetamina e tiletamina e os opioides potentes, como a etorfina e carfentanil, sendo os últimos não disponíveis comercialmente no Brasil (CAULKETT; HAIGH, 2007; PINHO et al., 2010).

Os tranquilizantes ou fármacos antipsicotrópicos, como as fenotiazinas e os benzodiazepínicos, geralmente reduzem a frequência respiratória, especialmente em animais excitados, mas não alteram a pressão parcial dos gases do sangue arterial (PaO₂ e PaCO₂), resultando em boa estabilidade respiratória (KLEIN; KLIDE, 1989;

McDONELL, 1996; RANG et al., 2007). No caso dos fármacos agonistas α-2, estes podem causar hipoxemia em ruminantes por hipoventilação, alterações na relação ventilação/perfusão, decréscimo da complacência do sistema respiratório (parede torácica e pulmões simultaneamente), dentre outras potenciais alterações mecânicas, hemodinâmicas e celulares no pulmão (CAULKETT; DUKE; CRIBB, 1996; McDONELL, 1996; CAULKETT, CRIBB, HAIGH, 2000; LEMKE, 2004).

A cetamina, por sua vez, difere-se da maioria dos fármacos anestésicos, por não promover depressão da resposta ventilatória à hipoxemia. O tônus da musculatura esquelética é preservado ou mesmo aumentado e, portanto, a oxigenação arterial e a capacidade residual funcional são mantidas durante a anestesia com cetamina (WRIGHT, 1982; McDONELL, 1996). Os opioides potentes, assim como os fármacos agonistas α-2, promovem depressão respiratória em cervídeos e usualmente causam hipoxemia severa em animais anestesiados em vida livre (CAULKETT, 2001; PATERSON; CAUKETT; WOODBURY, 2009; RISLING et al., 2011). A depressão respiratória decorrente do uso de opioides potentes é mediada primariamente por receptores μ-2, que causam depressão direta dos centros respiratórios no cérebro reduzindo a sensibilidade desses centros ao CO₂, o que, consequentemente, eleva a PaCO₂ (GRIM; LAMONT, 2007).

Embora cada fármaco possua diferentes mecanismos que alteram a mecânica ventilatória, a anestesia geral normalmente promove alterações significativas na relação ventilação/perfusão, reduzindo os valores de PaO₂ em decorrência ao decúbito e, no caso dos ruminantes, a mecânica ventilatória ainda é prejudicada pela distensão do rúmen em função do acúmulo de gases (timpanismo ruminal) (McDONELL, 1996; CAULKETT, 1997; CAULKETT, 2001).

Além disso, a hipoxemia prolongada, uma vez que aumenta a demanda metabólica, pode também contribuir para o desenvolvimento de uma síndrome conhecida como miopatia de captura (BERINGER et al., 1996; PATERSON, 2007). Esta, parece ocorrer devido à anaerobiose metabólica, como resultado de atividade muscular intensa e consequente acúmulo de ácido lático no tecido muscular, levando, por sua vez, à acidose metabólica e necrose muscular secundária (WALLACE; BUSH; MONTALI, 1987; PATERSON, 2007). Na forma aguda desta síndrome, a demanda de oxigênio do animal excede sua disponibilidade (CAULKETT, 2001) e os animais

apresentam hipertermia, cianose, acidose, taquicardia e hipotensão. Os animais podem morrer durante a anestesia ou logo após a mesma. Caso os animais sobrevivam à forma aguda, geralmente ocorre a manifestação subaguda ou crônica da miopatia de captura, com sinais clínicos de paraplegia, ruptura de fibras musculares, mioglobinúria e oligúria (SPRAKER, 1993). Essas alterações, uma vez iniciadas, geralmente são irreversíveis (WALLACE; BUSH; MONTALI, 1987; PATERSON, 2007).

O tratamento ou prevenção da hipoxemia em animais submetidos à captura e contenção química pode ser realizado por meio da suplementação intranasal de oxigênio. Recentemente, as vantagens dessa terapia foram demonstradas em publicações com cervídeos norte-americanos, elevando a PaO₂ nos casos em que os animais apresentam inabilidade em manter ventilação minimamente adequada e troca gasosa normal pelos alvéolos (READ et al. 2001; CAULKETT; HAIGH, 2007; MICH et al., 2008; PATERSON; CAULKETT; WOODBURRY, 2009; RISLING et al., 2011). Entretanto, as vantagens da suplementação intranasal de oxigênio não foram testadas em cervídeos neotropicais.

Além da contenção química, outra importante questão na manipulação e captura de cervídeos é o estresse causado por tais procedimentos. Dentro dessa perspectiva, o estresse pode ser definido como o estado no qual a homeostase é perdida. Os eventos que causam a interrupção desse equilíbrio são denominados estímulos estressores, os quais podem ser de origem física, psicológica ou ambas (REEDER; KRAMER, 2005). As reações correspondentes a defesa do animal são denominadas resposta ao estresse, sendo que o cérebro atua como mediador entre os estímulos estressores e a resposta ao estresse (MÖSTL; PALME, 2002).

Cervídeos, por serem animais de comportamento reconhecidamente ágil e violento frente a um estímulo estressor (GASPARINNI; DUARTE; NUNES, 1997), frequentemente sofrem alterações fisiológicas severas em procedimentos que resultem em sua manipulação. Segundo Moberg (1987), a resposta fisiológica ao estímulo estressor é dependente, primariamente, do comportamento da espécie e, posteriormente, da ativação dos sistemas nervoso autônomo e endócrino. No entanto, devido à existência de inúmeras alterações associadas ao estresse, muitas questões continuam a respeito de como mensurar sua resposta (MÖSTL; PALME,

2002).

Como a ativação da resposta ao estresse é dependente do contexto (por ex.: o eixo hipotálamo-adrenal-hipófise pode ser ativado em circunstâncias benéficas ou maléficas), a mensuração de um único parâmetro isoladamente muitas vezes pode se tornar equivocado. Portanto, é recomendado que a combinação de diferentes mensurações (por ex.: fisiológicos e comportamentais) para avaliação do estresse seja considerada (PALME, 2012).

Os parâmetros endócrinos são indicadores potenciais da resposta ao estresse e podem ser utilizados para detecção dos distúrbios pós-estresse (TOUMA; PALME, 2005). As catecolaminas e os glicocorticoides (secretados pela medula e córtex das adrenais, respectivamente) são liberados no sangue de segundos a minutos após o estímulo estressor. Estes podem ser considerados a linha de frente na batalha para superar situações estressantes. Ambos os hormônios mencionados são rapidamente metabolizados e excretados via urina ou fezes (PALME, 2012). A mensuração de glicocorticoides no plasma ou soro e de seus metabólitos na saliva, urina ou fezes, vêm sendo utilizada como ferramenta para detecção da resposta ao estresse em cervídeos (WESSON et al. 1979b; INGRAM et al., 1997; INGRAM; CROCKFORD; MATTEWS, 1999; DEHNHARD et al., 2001; HUBER; PALME; ARNOLD, 2003). A utilização de amostras fecais para mensuração da resposta endócrina ao estresse oferece vantagem pela facilidade de colheita, pois não promove estresse adicional aos animais (TOUMA; PALME, 2005; KEAY et al., 2006).

A captura e a contenção físico-química de cervídeos podem ser consideradas um dos momentos mais estressantes na vida desses animais (WESSON et al., 1979a,b; MARCO; LAVÍN, 1999). O uso de diferentes fármacos, como os agonistas α-2 e benzodiazepínicos, isoladamente ou em associação a outros fármacos para imobilização, parecem contribuir para redução da resposta ao estresse (DESBOROUGH et al., 1991; CATTET et al., 2004; MUNERATO et al., 2010). Entretanto, existem poucos estudos avaliando a resposta ao estresse da captura e contenção físico-química em espécies de cervídeos sul-americanos, dificultando, assim, melhorias no manejo para redução do estresse de animais cativos e em vida livre.

Portanto, devido ao fato do estresse da captura de animais em vida livre e do uso de

fármacos para contenção química em cervídeos predisporem o desenvolvimento de hipoxemia e, consequentemente, contribuírem para a ocorrência de miopatia de captura, o presente estudo foi realizado a fim de compreender melhor os efeitos da captura e contenção química nesses animais. Como o veado-campeiro é uma espécie abundante em algumas regiões do Brasil (Pantanal sul-mato-grossense) e há grande interesse em ser conservado devido à perda intensa de habitat, especialmente nas demais regiões de ocorrência, essa espécie foi escolhida como modelo experimental.

Assim, com este estudo, objetivou-se avaliar tanto os efeitos da contenção química e da suplementação intranasal de oxigênio em veados-campeiro capturados em vida livre como os efeitos da captura e contenção química nos parâmetros hematológicos, bioquímicos, eletrolíticos, comportamentais e hormonais na referida espécie. Para tanto, o estudo foi dividido em três etapas, as quais serão apresentadas na forma de capítulos com os seguintes objetivos específicos:

- 1ª Etapa: Avaliar os efeitos cardiorrespiratórios das associações tiletaminazolazepam/xilazina e cetamina/midazolam/xilazina em veados-campeiro de vida livre e a eficácia da suplementação intranasal de oxigênio em elevar a PaO₂.
- 2ª Etapa: Avaliar o efeito do estresse da captura e contenção química nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e eletrolíticos do sangue venoso de veadoscampeiro de vida livre.
- 3ª Etapa: Avaliar as respostas hormonal e comportamental ao estresse da captura e marcação com rádio-colar de veados-campeiro de vida livre.

Referências

BERINGER, J.; HANSEN, L. P.; WILDING, W.; FISCHER, J.; SHERIFF, S. L. Factors affecting capture myopathy in white-tailed deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 60, n. 2, p. 373-380, 1996.

BOESCH, J. M.; BOULANGER, J. R.; CURTIS P. D.; ERB, H. N.; LUDDERS, J. W.; KRAUS, M. S.; GLEED, R. D. Biochemical variables in free-ranging white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) after chemical immobilization in clover traps or via ground-darting. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 42, n. 1, p.18-28, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/2009-0146.1.

BUSH, M. Remote drug delivery systems. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 23, n. 2, p. 159-180, 1992.

CABRERA, A. Sobre ala sistemática del venado y su variación individual y geográfica. **Revista del Museo de la Plata**, Buenos Aires, v. 18, n.3, p. 5-41, 1943.

CATTET, M. R. L.; BROOK, R. K. Intranasal administration of xylazine to reduce stress in elk captured by net gun. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 40, n. 3, p. 562-565, 2004.

CAULKETT, N. A.; CRIBB, P. H., HAIGH, J. C. Comparative cardiopulmonary effects of carfentanil/xylazine and medetomidine/ketamine used for immobilization of mule deer and mule deer/white-tailed deer hybrids. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 64, n. 1, p. 64-68, 2000.

CAULKETT, N. A.; DUKE, T.; CRIBB, P. H. Cardiopulmonary effects of medetomidine-ketamine in domestic sheep (*Ovis ovis*) maintained in sternal recumbence. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 27, n. 2, p. 217-226, 1996.

CAULKETT, N. Anesthesia for North American cervids. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 389-390, 1997.

CAULKETT, N. Field anesthesia of deer and bison. Large Animals Veterinary Rounds, Gainesville, v. 1, n. 6, 2001. Disponível em: www.canadianveterinarians.net/larouds>. Acesso em: 29 out. 2012.

CAULKETT, N.; HAIGH, J. C. Deer (Cervids). In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo animal & wildlife immobilization and anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 607-612.

CITES. Convention on International Trade in Endangered Species. 2008. Disponível em: http://www.cites.org. Acesso em: 30 ago. 2012.

DEHNHARD, M.; CLAUS, M.; LECHNER-DOLL, M.; MEYER, H. H. D.; PALME, R. Non-invasive monitoring of adrenocortical activity in the roe deer (*Capreolus capreolus*) by measurement of fecal cortisol metabolites. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 123, n. 1, p. 111-120, 2001.

DESBOROUGH, J. P.; HALL, G. M.; HART, G. R.; BURRIN, J. M. Midazolam modifies pancreatic and anterior pituitary hormone secretion during upper abdominal surgery. **British Journal of Anaesthesia**, Oxford, v. 67, n. 4, p. 390-396, 1991.

DUARTE, J. M. B.; MERINO, M. L. Taxonomia e evolução. In: DUARTE, J. M. B. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 1-21.

DUARTE, J. M. B.; VOGLIOTTI, A.; ZANETTI, E. S.; OLIVEIRA, M. L.; TIEPOLO, L. M.; RODRIGUES, L. F.; ALMEIDA, L. B.; BRAGA, F. G. Avaliação do risco de extinção do veado-campeiro *Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758, no Brasil. **Biodivesidade Brasileira**, Ano II, n. 3, p. 20-32, 2012. Disponível em: <www.2.icmbio.gov.br/revistaeletronica/index.php/BioBR>. Acesso em: 30 agosto. 2012.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Ordem Artiodactyla. In: _____. **Mammals of neotropicals**.University of Chicago Press, London, 1999, p. 332-355.

FAHLMAN, A. **Anaesthesia of wild carnivores and primates.** 2005. 36 f. Dissertação (Mestrado) – Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.

GASPARINNI, R. L.; DUARTE, J. M. B.; NUNES, A. L. V. Manejo em cativeiro. In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos:** *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 126-140.

GONZÁLEZ, S; MALDONADO, J. E.; LEONARD, J. A.; VILÀ, C.; DUARTE, J. M. B.; MERINO, M.; BRUM-ZORRILLA, N.; WAYNE, R. K. Conservation genetics of

endangered pampas deer (Ozotoceros bezoarticus). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 7, n.1, p. 47-56, 1998.

GONZÁLEZ, S., MERINO, M. L. *Ozotoceros bezoarticus*. In: IUCN. **IUCN Red list of threatened species.** 2008. Disponível em: http://www.iucnredlist.org. Acesso em: 30 ago. 2012.

GONZÁLEZ, S.; COSSE, M.; BRAGA, F. G.; VILA, A. R.; MERINO, M. L.; DELLAFIORE, C.; CARTES, J. L.; MAFFEI, L.; DIXON, M. G. Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus 1758). In: DUARTE J. M. B.; GONZÁLEZ S. **Neotropical cervidology:** biology and medicine of Latin America deer. Jaboticabal: Funep/IUCN, 2010. p. 119 - 132.

GONZÁLEZ, S.; DUARTE, J. M. B. Emergency pampas deer captures in Uruguay. **Deer Specialist Group News**, Newsletter n. 18, p. 16-17, 2003. Disponível em: http://iibce.edu.uy/DEER/. Acesso em: 30 ago. 2012.

GRIM, K. A.; LAMONT, L. A. Clinical pharmacology. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 3-36.

HASKINS, S. C. Monitoring the anesthetized patient. In: THURMON, J.C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia.** 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 409-424.

HUBER, S.; PALME, R.; ARNOLD, W. Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 130, n. 1, p. 48-54, 2003.

INGAM, J. R.; MATTHEWS, L. R.; CARRAGHER, J. F.; SCHAARE, P. R. Plasma cortisol responses to remote adrenocorticotropic hormone (ACTH) infusion in free-ranging red deer (*Cervus elaphus*). **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 14, n. 1, p. 63-71, 1997.

INGRAM, J. R.; CROCKFORD, J. N.; MATTHEWS, L. R. Ultradian, circadian and seasonal rhythms in cortisol secretion and adrenal responsiveness to ACTH and yarding in unrestrained red deer (*Cervus elaphus*) stags. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 162, n. 2, p. 289-300, 1999.

KARESH, W. B.; COOK, R. A. Applications of veterinary medicine to in situ conservation efforts. **Oryx**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 244-252, 1995.

KEAY, J. M.; SINGH, J.; GAUNT, M. C.; KAUR, T. Fecal glucocorticoids and their metabolites as indicators of stress in various mammalian species: a literature review. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 37, n. 3, p. 234-244, 2006.

KLEIN, L. V.; KLIDE, M. A. Central α_2 adrenergic and benzodiazepine agonists and their antagonists. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 20, n. 2, p. 138-153, 1989.

LEMKE, K. A. Perioperative use of selective alpha-2 agonists and antagonists in small animals. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 45, n. 6, 2004.

MARCO, I.; LAVÍN, S. Effect of the method of capture on the haematology and blood chemistry of red deer. **Research in Veterinary Science**, London, v. 66, n. 2, p. 81-84, 1999.

MARSHALL, B. E.; WYCHE, M. Q. Hypoxemia during and after anesthesia. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 37, n. 2, p. 178-209, 1975.

McDONELL, W. Respiratory system. In: THURMON, J.C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia.** 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 115-147.

MERINO, M. L.; GONZÁLEZ, S.; LEEUWENBERG, F; RODRIGUES, F. H. G.; PINDER, L.; TOMÁS, W. M. Veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*). In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos:** *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 41-58.

MICH P. M.; WOLFE L. L.; SIROCHMAN T. M.; SIROCHMAN M. A.; DAVIS T. R.; LANCE W. R.; MILLER M. W. Evaluation of intramuscular butorphanol, azaperone, and medetomidine and nasal oxygen insufflation for the chemical immobilization of white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 39, n. 3, p. 480-487, 2008.

MOBERG, G. P. Problems in defining stress and distress in animals. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 191, n. 10, p. 1207-1211, 1987.

MOSLEY, C.; GUNKEL, C. Cardiovascular and pulmonary support. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 93-102.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**, Philadelphia, v. 23, n. 1-2, p. 67-74, 2002.

MOURÃO, G; COUTINHO, M.; MAURO, R.; CAMPOS, Z.; TOMÁS, W.; MAGNUSSON, W. Aerial surveys of caiman, marsh deer and pampas deer in the Pantanal Wetland of Brazil. **Biological Conservation**, Essex, v. 92, n. 2, p. 175-183, 2000.

MUIR, W. W.; MOORE, C. A.; HAMLIN, R. L. Ventilatory alterations in normal horses in responses to changes in inspired oxygen and carbon dioxide. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 36, n. 2, p. 155-159, 1975.

MUNERATO, M. S. **Uso do isofluorano em veados-catingueiro (***Mazama gouazoubira***) pré-tratados com diferentes protocolos de contenção química.** 115 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

MUNERATO, M. S.; DUARTE, J. M. B.; PEREIRA, G. T.; MARQUES, J. A. Effects of physical and chemical immobilization on hematologic and biochemical variables in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 39, n. 4, p. 454-463, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00264.x.

MUNERATO, M. S.; ZANETTI, E. S.; MARQUES, J. A.; DUARTE, J. M. B. Effects of laparoscopy in cardiorespiratory system of brow brocket deer (*Mazama gouazoubira*) anesthetized with ketamine/xylazine/midazolam combination and isoflurane. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 11, p. 555-560, 2008.

MURRAY, S.; MONFORT, S. L.; WARE, L.; McSHEA, W. J.; BUSH, M. Anesthesia in female white-tailed deer using telazol[®] and xylazine. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 4, p. 670-675, 2000.

NUNES, A. L. V. Estudo comparativo entre as associações quetamina-xilazina, quetamina-midazolam-xilazina e quetamina-midazolam-acepromazina para a anestesia do cervo-do-pantanal *Blastocerus dichotomus* (Illiger, 1811) (Mammalia, CERVIDAE) em vida livre. 100 f. Tese (Doutorado em Anestesiologia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

PALME, R. Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals. **Animal Welfare**, Hertfordshire, v. 21, n. 3, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.7120/09627286.21.3.331.

PATERSON, J. Capture Myopathy. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 115-122.

PATERSON, J. M.; CAULKETT, N. A.; WOODBURRY, M. R. Physiologic effects of nasal oxygen or medical air administered prior to and during carfentanil – xylazine anesthesia in North American Elk (*Cervus canadensis manitobensis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 40, n. 1, p. 39-50, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/2007-0107.1.

PINHO, M. P. Efeito da pipotiazina na modulação das respostas ao estresse de veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) em cativeiro. 2004. 68 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

PINHO, M. P. Emprego da xilazina ou romifidina associadas à cetaminamidazolam na contenção química de veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). 2000. 84 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

PIOVEZAN, U.; ZUCCO, C. A.; LOPES ROCHA, F. First report of darting to capture of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). **Deer Specialist Group News**, Newsletter n. 21, p. 3-7, 2006. Disponível em: http://iibce.edu.uy/DEER/. Acesso em: 30 ago. 2012.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. Anxiolytic and hypnotic drugs. In:_____. **Pharmacology.** 6. ed. Elsevier: Philadelphia, 2007. p. 535-544.

READ, M. R. A review of alpha-2 adrenoreceptor agonist and the development of hypoxemia in domestic and wild ruminants. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 34, n. 2, p. 134-138, 2003.

READ, M. R.; CAULKETT, N. A.; SYMINGTON, A.; SHURY, T. K. Treatment of hypoxia during xylazine-tiletamine-zolazepam immobilization of wapiti. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 42, n. 11, p. 861-864, 2001.

REEDER, D. M.; KRAMER, K. M. Stress in free-ranging mammals: integrating, physiology, ecology, and natural history. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 86, n. 2, p. 225-235, 2005.

RISLING, T. E.; FAHLMAN, A.; CAULKETT, N. A.; KUTZ, S. Physiological and behavioral effects of hypoxemia in reindeer (*Rangifer tarandus*) immobilized with xylazine-etorphine. **Animal Production Science**, Collingwood, v.51, n.4, p. 355-358. RODRIGUES, F. H. G.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Home range and activity patterns of pampas deer in Emas National Park. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v.81, n. 4, p. 1133-1142, 2000.

RODRIGUES, F. P.; GARCIA, J. F.; RAMOS, P. R. R.; BORTOLOZZI, J.; DUARTE, J. M. B. Genetic diversity of two population of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 67, n. 4, p. 805-811, 2007. Suplemento.

SPREAKER, T. R. Stress and capture myopathy in artiodactylids. In: FOWLER, M. **Zoo and Wild Animal Medicine:** current therapy. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. p. 481-488.

TOUMA, C.; PALME, R. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1046, Jun., p. 54-74, 2005. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1196/annals.1343.006>.

TREMPER, K. K. Pulse oximetry. **Chest**, Chicago, v. 95, n. 4, p. 713-715, 1989.

UNGERFELD, R.; GONZÁLEZ-PENSADO, S.; BIELLI, A.; VILLAGRÁN, M.; OLAZABAL, D.; PÉREZ, W. Reproductive biology of the pampas deer (Ozotoceros bezoarticus): a review. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 50, n. 16, 2008. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1186/1751-0147-50-16.

VERWAERDE, P.; MALET, C.; LAGENTE, M.; DE LA FARGE, F.; BRAUN, J. P. The accuracy of i-STAT portable analyser for measuring blood gases and pH in whole-blood samples from dogs. **Research in Veterinary Science**, London, v. 73, n.1, p. 71-75, 2002.

WAHR, J. A.; LAU, W.; TREMPER, K. K.; HALLOCK, L.; SMITH, K. Accuracy and precision of a new, portable, handheld blood gas analyser, the IRMA[®]. **Journal of Clinical Monitoring**, Dordrecht, v. 12, n. 4, p. 317-324, 1996.

WALLACE, R. S.; BUSH, M.; MONTALI, R. J. Deaths from exertional myopathy at the national zoological park from 1975 to 1985. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 23, n. 3, p. 454-462, 1987.

WESSON, J. A.; SCANLON, P. F.; KIRKPATRICK, R. L.; MOSBY, H. S. Influence of chemical immobilization and physical restraint on packed cell volume, total protein, glucose, and blood urea nitrogen in blood of white-tailed deer. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 57, p. 756-767, 1979a.

WESSON, J. A.; SCANLON, P. F.; KIRKPATRICK, R. L.; MOSBY, H. S. Influence of chemical immobilization and physical restraint on steroid hormone levels in blood of white-tailed deer. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 57, p. 768-776, 1979b. WRIGHT, M. Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 180, n. 2, p. 1462-1471, 1982.

CAPÍTULO 2 - Efeitos da suplementação intranasal de oxigênio durante a anestesia com tiletamina-zolazepam/xilazina ou cetamina/midazolam/xilazina em veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre

Resumo - Uma das principais complicações durante a contenção química de animais selvagens é a hipoxemia. O objetivo com este estudo foi avaliar o efeito da suplementação intranasal de oxigênio (SIO) durante a anestesia com tiletaminazolazepam/xilazina (TZ/X) e cetamina/midazolam/xilazina (C/M/X) em veadoscampeiro (Ozotoceros bezoarticus) de vida livre. Quarenta animais adultos, 21 fêmeas (26,8 ± 3,2 kg (média ± DP) e 19 machos (27,8 ± 5,0 kg) foram capturados no Pantanal sul-mato-grossense, Brasil. Dois protocolos anestésicos, com e sem SIO, foram aleatoriamente administrados via intramuscular de acordo com os grupos: TZ/X - tiletamina-zolazepam (2,9 ± 0,8 mg/kg) / xilazina (1,2 ± 0,3 mg/kg), sem SIO; $TZ/X-O_2 - TZ/X$ (2,9 ± 0,8 mg/kg / 1,2 ± 0,3 mg/kg), com SIO em fluxo de 3L/min durante 60 minutos; C/M/X - cetamina (8,8 ± 2,0 mg/kg) / midazolam (0,7 ± 0.2 mg/kg) / xilazina ($0.4 \pm 0.1 \text{ mg/kg}$), sem SIO; e C/M/X-O₂ - C/M/X (8.8 ± 2.0 mg/kg / 0,7 ± 0,2 mg/kg / 0,4 ± 0,1 mg/kg), com SIO conforme mencionado em TZ/X-O₂. Durante a anestesia, foi colhido sangue arterial a cada 20 min (T0, T20, T40 e T60) para hemogasometria. Os dados foram analisados pela ANOVA, seguido pelo teste de Tukey. Valores de P < 0,05 foram considerados significativos. Todos os animais desenvolveram timpanismo ruminal durante a anestesia. A pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂) foi maior que 60 mmHg no TZ/X e C/M/X, entretanto, ocorreu hipoxemia com valores de PaO₂ < 60 mmHg em cinco animais do TZ/X e em oito do C/M/X. A SIO aumentou significativamente (P = 0,01) a PaO₂ em T0, T20, T40 e T60 do TZ/X-O₂ (286 \pm 99; 234 \pm 113; 234 \pm 112 e 177 \pm 71 mmHg) e C/M/X- O_2 (194 ± 63; 171 ± 96; 143 ± 102 e 140 ± 83 mmHg) quando comparado, respectivamente, com os mesmos tempos do TZ/X (64 ± 8; 66 ± 11; 68 ± 10 e 70 ± 12 mmHg) e C/M/X (70 ± 18; 68 ± 11; 65 ± 15 e 59 ± 24 mmHg) e, por essa razão, é recomendada durante a anestesia com TZ/X e C/M/X em veados-campeiro.

Palavras-chave: agonista alfa-2 adrenérgico, benzodiazepínico, anestésico dissociativo, hipóxia, ruminante

Effects of intranasal oxygen supplementation during anesthesia with tiletamine-zolazepam/xylazine or ketamine/midazolam/xylazine in free-ranging pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*)

Abstract - A relevant complication of chemical restraint in wild animals is hypoxemia. The aim of this study was to evaluate the effects of intranasal oxygen supplementation (IOS) during anesthesia with tiletamine-zolazepam/xylazine (TZ/X) and ketamine/midazolam/xylazine (K/M/X) in free-ranging pampas deer (Ozotoceros bezoarticus). Forty adults deer, 21 females ((Mean ± SD) 26.8 ± 3.2 kg) and 19 males (27.8 ± 5.0 kg) were captured in the South Pantanal wetland, Brazil. Two anesthetic protocols, with and without IOS, were randomly administrated (i.m.): TZ/X tiletamine-zolazepam (2.9 ± 0.8 mg/kg) / xylazine (1.2 ± 0.3 mg/kg), without IOS; $TZ/X-O_2 - TZ/X$ (2.9 ± 0.8 mg/kg / 1.2 ± 0.3 mg/kg), with IOS at a rate of 3 L/min during 60 minutes; K/M/X – ketamine (8.8 ± 2.0 mg/kg) / midazolam (0.7 ± 0.2 mg/kg) / xylazine (0.4 \pm 0.1 mg/kg), without IOS; and K/M/X-O₂ - K/M/X (8.8 \pm 2.0 mg/kg / 0.7 ± 0.2 mg/kg / 0.4 ± 0.1 mg/kg), with IOS as TZ/X-O2. Arterial blood was collected each 20 minutes (T0, T20, T40 and T60) during anesthesia, for blood gas analysis. The data were analyzed by repeated measures ANOVA followed by Tukey test and P values < 0.05 were considered significant. All deer developed ruminal tympany during anesthesia. Oxygen arterial tension (PaO₂) was higher than 60 mmHg on the TZ/X and K/M/X, however hypoxemia with values of PaO₂ < 60 mmHg occurred in five deer of TZ/X and eight deer of K/M/X. The IOS significantly increases (P = 0.01) the PaO₂ at T0, T20, T40 and T60 of TZ/X-O₂ (286 \pm 99; 234 \pm 113; 234 \pm 112 and 177 \pm 70 mmHg) and K/M/X-O₂ (194 \pm 63; 171 \pm 96; 143 \pm 102 and 140 \pm 83 mmHg) when compared, respectively, with the same times of TZ/X (64 \pm 8; 66 \pm 11; 68 \pm 10 and 70 \pm 12 mmHg) and K/M/X (70 \pm 18; 68 \pm 11; 65 \pm 15 e 59 \pm 24 mmHg); and for this reason is recommended during TZ/X and K/M/X anesthesia in pampas deer.

Key words: α-2 adrenergic agonist, benzodiazepine, dissociative anesthetics, hypoxia, ruminant

Introdução

Aproximadamente metade das espécies de cervídeos existentes no mundo é considerada quase ameaçada, vulnerável, ameaçada ou criticamente ameaçada segundo a lista vermelha de espécies ameaçadas da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2012). Essas classificações, devem-se, principalmente, à caça e à fragmentação e perda de habitat por ação antrópica (KARESH; COOK, 1995; DELGIUDICE et al., 2005). Assim, tendo em vista a necessidade crescente de intervenções para conservação das espécies de cervídeos, o desenvolvimento de técnicas de captura e protocolos de contenção química se torna desejável no intuito de tornar tais procedimentos mais seguros, eficazes e menos empíricos.

Os fármacos mais utilizados mundialmente para contenção química de cervídeos incluem os tranquilizantes (fenotiazínicos, butirofenonas e benzodiazepínicos), agonistas α-2 adrenérgicos, anestésicos dissociativos e os opioides potentes (JANOVSKY et al., 2000; PINHO et al., 2010), sendo os últimos não disponíveis comercialmente no Brasil.

Os fármacos benzodiazepínicos, mais comumente associados aos anestésicos dissociativos e agonistas α-2 para contenção química de animais selvagens, são o midazolam, o diazepam e o zolazepam (KLEIN; KLIDE, 1989). Estes atuam no sítio benzodiazepínico dos receptores GABAa, facilitando e potencializando a ação do neurotransmissor inibitório ácido γ-aminobutírico (GABA) nestes receptores, levando à hipnose, sedação, amnésia e ao relaxamento muscular (RANG et al., 2007b).

Receptores α-2 pré-sinápticos e pós-sinápticos podem ser encontrados em tecidos neuronais e não neuronais e receptores α-2 extra-sinápticos podem ser encontrados na musculatura vascular (LEMKE, 2004). Os fármacos agonistas α-2, como a xilazina e a detomidina, atuam por meio da estimulação de receptores α-2 adrenérgicos pré-sinápticos, inibindo a liberação de noradrenalina em função da inibição do influxo de Ca⁺² na vesícula sináptica, promovendo sedação, relaxamento muscular, reduzindo o tônus simpático e, consequentemente, causando bradicardia e hipotensão (KLEIN; KLIDE, 1989; MAZE; TRANQUILLI, 1991; LEMKE, 2004). A

estimulação de receptores pós-sinápticos promove alterações na pressão sanguínea, sendo que a administração intravenosa resulta em breve período de hipertensão, por estimulação de receptores α-1, e bradicardia, seguida por hipotensão em função da estimulação de receptores α-2 (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998).

Os anestésicos dissociativos, cetamina e tiletamina, possuem essa denominação por serem fármacos que dissociam eletrofisiologicamente o tálamoneocortical do sistema límbico. O mecanismo de ação dos fármacos desse grupo ainda não está totalmente elucidado, entretanto, acredita-se que a ação analgésica esteja relacionada aos receptores excitatórios N-metil-D-aspartato (NMDA), opioidérgicos e monoaminérgicos (WRIGHT, 1982; OLIVEIRA et al., 2004; RANG et al., 2007a), os efeitos anticolinérgicos associados a receptores muscarínicos (HIROTA; LAMBERT, 1996) e os cardiovasculares relacionados à inibição da recaptação de noradrenalina (WRIGHT, 1982; MASSONE, 2003). Devido aos efeitos indesejáveis (convulsões, tremores e excitação) da administração isolada dos fármacos dissociativos, alguns destes, como a tiletamina, são comercializados já em associação a benzodiazepínicos (zolazepam), ou então utilizados, como no caso da cetamina, em associação a fármacos agonistas α-2 adrenérgicos.

A associação tiletamina-zolazepam já foi utilizada com sucesso para imobilização de diversas espécies de cervídeos norte-americanos, geralmente associada à xilazina (GALKA et al., 1999; FERNÁNDEZ-MORÁN; PALOMEQUE; PEINADO, 2000; JANOVSKY et al., 2000; MURRAY et al., 2000; READ et al., 2001; WALTER et al., 2005; JANICKI et al., 2006) ou detomidina (GALKA et al., 1999; FERNÁNDEZ-MORÁN; PALOMEQUE; PEINADO, 2000).

De acordo com Kilpatrick e Spohr (1999), a associação tiletamina/zolazepam (4,8 mg/kg) e xilazina (3,8 mg/kg) reduz a distância de fuga de animais em vida livre após a injeção remota com dardos quando comparada à associação cetamina (4,8 mg/kg) e xilazina (3,8 mg/kg), diminuindo, consequentemente, a área de busca dos animais após indução da anestesia. Os principais efeitos dessa associação em cervídeos incluem rápida indução anestésica com bom relaxamento muscular, redução da frequência cardíaca, além de hipoxemia (READ et al., 2001; MILLER et al., 2004).

Alguns autores reportaram recuperação prolongada com o uso da associação tiletamina/zolazepam e xilazina em cervídeos. A recuperação satisfatória da anestesia com essa associação pode se tornar mais rápida com o uso do cloridrato de ioimbina como antagonista (MILLAPAUGH et al., 1995). Entretanto, Miller et al. (2004) observaram que, em Odocoileus virginianus, tanto a ioimbina, como o atipamezole e a tolazolina (½ dose IM e ½ dose IV), são eficazes para reversão dos efeitos da xilazina na associação anteriormente citada, porém, a tolazolina pareceu ser mais efetiva por reduzir significativamente o tempo de recuperação anestésica em comparação com os demais antagonistas mencionados. No estudo de Miller et al. (2004), o flumazenil também foi testado para reversão dos efeitos do zolazepam, entretanto, não foram observadas diferenças significativas no tempo de recuperação de animais tratados somente com tolazolina e com esta em associação ao flumazenil. Em veados-campeiro anestesiados com tiletamina/zolazepam e xilazina, já foi descrito que a administração de ioimbina foi eficiente para promover boa recuperação anestésica (LACERDA, 2008), sem relatos de excitação (PIOVEZAN, ZUCCO; ROCHA, 2006).

A associação cetamina e xilazina é também muito utilizada em cervídeos (McKELVEY; SIMPSON, 1985; KREEGER et al., 1986; DELGIUDICE; SEAL; KREEGER, 1988; NUNES, 1997; GALKA et al., 1999; NUNES, 2001; MUNERATO, 2007; PINHO et al., 2010), principalmente devido ao baixo custo e facilidade de acesso aos referidos fármacos. Porém, geralmente promove contenções químicas rápidas e reaplicações dos fármacos são necessárias para prolongar o tempo de manipulação. A associação cetamina, xilazina e midazolam foi descrita como mais eficiente para contenção química de diferentes espécies de cervídeos neotropicais, como *Mazama gouazoubira* (PINHO, 2000; MUNERATO et al., 2008), *Mazama bororo* (VOGLIOTTI, 2003) e *Blastocerus dichotomus* (NUNES, 2001), do que a associação cetamina e xilazina.

A adição do midazolam à associação cetamina e xilazina aumenta o tempo de manipulação dos animais, promove maior estabilidade cardiovascular (PINHO, 2000; PINHO et al. 2010), facilita a intubação endotraqueal (MUNERATO et al., 2008), melhora o relaxamento muscular promovido pela xilazina e torna a recuperação da anestesia mais tranquila (NUNES, 2001; VOGLIOTTI, 2003). A reversão dos efeitos

da xilazina com o cloridrato de ioimbina também pode ser utilizada com sucesso em veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) após uma hora de anestesia com a associação mencionada (PINHO et al., 2010).

Levando-se em consideração que a imobilização de animais selvagens, especialmente cervídeos, geralmente é conduzida sobre circunstâncias difíceis, pode-se ressaltar a dificuldade em reconhecer a ocorrência de quadros de hipoxemia utilizando apenas técnicas de monitoração não invasivas como oximetria de pulso (TREMPER, 1989). Além disso, a correta avaliação da ocorrência de hipoxemia, ou da pressão parcial de oxigênio (PaO₂) no sangue arterial quando abaixo dos valores de referência, depende de fatores como a disponibilidade de valores de referência para as diferentes espécies e a correção desses valores para as diferentes altitudes, já que a altitude pode implicar aos animais valores de referência consideravelmente menores para a PaO₂ (MICH et al., 2008).

Quadros de hipoxemia predispõem os animais à hipóxia tecidual, isquemia do miocárdio, falência dos órgãos (READ et al., 2001; CAULKETT; HAIGH, 2007; MICH et al., 2008; PATERSON; CAULKETT; WOODBURRY, 2009; RISLING et al., 2011) e quando prolongados, podem contribuir para o desenvolvimento de miopatia de captura por aumentar a demanda metabólica (PATERSON, 2007). O tratamento ou prevenção desta condição pode ser realizado por meio da suplementação intranasal de oxigênio (READ et al., 2001).

Já foi descrito que a administração de xilazina em cervídeos pode levar à hipoxemia por causar hipoventilação, alterar a relação ventilação/perfusão e por potencializar mudanças mecânicas, hemodinâmicas e celulares nos pulmões (CAULKETT; CRIBB; HAIGH, 2000; READ et al., 2001; AUER et al., 2010). Quadros de hipoxemia não foram descritos durante a monitoração da anestesia com a associação cetamina, xilazina e midazolam em *Mazama gouazoubira* (MUNERATO et al., 2008), *Mazama bororo* (VOGLIOTTI, 2003) ou *Blastocerus dichotomus* (PINHO et al., 2010), porém, a hemogasometria arterial não foi realizada. Dentre os estudos conduzidos em cervídeos, utilizando a associação tiletamina-zolazepam e xilazina para a contenção química, não foi descrita a ocorrência de hipoxemia, entretanto, na maioria deles a hemogasometria arterial não foi realizada (GALKA et al., 1999; JANOVSKY et al., 2000; MURRAY et al., 2000; WALTER et al., 2005), ou

esta se restringiu a apenas uma avaliação do sangue arterial após 35 minutos de anestesia (FERNÁNDEZ-MORÁN; PALOMEQUE; PEINADO, 2000). Dessa forma, apenas Read et al. (2001) diagnosticaram a hipoxemia em *Cervus elaphus* anestesiados com essa associação.

Tendo em vista a possibilidade de ocorrência de hipoxemia durante contenções químicas em cervídeos, especialmente em vida livre, a importância de sua correta identificação e tratamento e a necessidade de protocolos de contenção química viáveis para esses animais, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos cardiorrespiratórios das associações tiletamina-zolazepam/xilazina e cetamina/midazolam/xilazina em veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre e a eficácia da suplementação intranasal de oxigênio (SIO) para elevação da pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂).

Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV - Unesp), sob protocolo número 015077/09 e obteve licença do ICMBio, número 21491-1, para captura dos animais e colheita de material biológico expedida em novembro de 2009.

Pilotos

Quatro veados-campeiro, uma fêmea e três machos, foram considerados pilotos para ajuste das doses dos fármacos utilizados nesse estudo. Três animais (uma fêmea e dois machos) pilotos foram anestesiados para ajuste das doses dos fármacos tiletamina-zolazepam e xilazina utilizados nos grupos experimentais sem (TZ/X) e com (TZ/X-O₂) SIO. O ajuste destas doses foi necessário, uma vez que as doses iniciais propostas para esse estudo, baseadas no protocolo anestésico tiletamina-zolazepam (1 mg/kg) em associação à xilazina (0,1mg/kg) citado por Lacerda (2008) em veados-campeiro, não foram suficientes para indução anestésica dos animais. Um animal piloto (macho) foi anestesiado com o protocolo cetamina/midazolam/xilazina (C/M/X) nas doses de 6mg/kg, 0,45 mg/kg e 0,3 mg/kg,

respectivamente, de acordo com o descrito por PINHO et al. (2010) em outras espécies de cervídeos neotropical, resultando em rápida indução da anestesia com adequado tempo de manipulação. Portanto, as doses iniciais preconizadas para o protocolo com (C/M/X) e sem (C/M/X-O₂) SIO foram mantidas.

Animais

Foram capturados 40 veados-campeiro adultos, 21 fêmeas e 19 machos. Estes foram aleatoriamente anestesiados com dois protocolos anestésicos com e sem SIO, divididos em quatro grupos experimentais (TZ/X, TZ/X-O₂, C/M/X, C/M/X-O₂), totalizando 10 animais por grupo, conforme descrito abaixo. As doses dos fármacos foram inicialmente calculadas para um peso estimado de 30 kg.

TZ/X – Administração intramuscular (IM) da associação tiletamina-zolazepam¹ / xilazina² (TZ/X) nas doses de 2,5 mg/kg e 1,0 mg/kg, respectivamente, sem SIO.

TZ/X-O₂ – Administração IM da associação TZ/X como descrito em TZ/X, com SIO utilizando fluxo de 3 L/min de oxigênio à 100%, logo após a indução anestésica, por um período de 60 minutos.

C/M/X – Administração IM da associação cetamina³ / midazolam⁴ / xilazina (C/M/X) nas doses de 6 mg/kg, 0,45 mg/kg e 0,3 mg/kg, respectivamente, sem SIO.

C/M/X-O₂ – Administração IM da associação C/M/X como descrito em C/M/X, com SIO utilizando fluxo de 3 L/min de oxigênio a 100%, logo após a indução anestésica, por um período de 60 minutos.

Área de estudo

Foram realizadas duas campanhas a campo (de 27/05/2010 a 22/06/2010 e de 15/07/2010 a 04/08/2010) para a captura dos animais. Estas foram realizadas em uma região conhecida como Nhecolândia (18° 59' 15" S; 56° 37' 03" O) no Pantanal sul-mato-grossense, município de Corumbá-MS, Brasil, abrangendo a fazenda da Nhumirim (campo experimental da Embrapa Pantanal) e a fazenda Alegria (retiros do Manduvi e Chatelôdo).

¹ Zoletil® 50, Virbac, Jurubatuba, São Paulo, Brasil.

² Sedomin, Könin, Buenos Aires, Argentina.

³ Vetaset, Ford Dogde Saúde Animal Ltda., Campinas, São Paulo, Brasil.

⁴ Dormonid®, Roche, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

As áreas de pastejo da Fazenda Nhumirim são subdivididas em invernadas de aproximadamente 500 ha, numeradas de 1 a 10. O retiro do Manduvi, pertencente a fazenda Alegria, também é subdividido em invernadas, porém, de extensão maior (2.000 – 3.000 ha, aproximadamente). A invernada da fazenda Nhumirim, onde ocorreram as capturas, foi a de número 10 e as invernadas onde ocorreram as capturas no retiro do Manduvi da fazenda Alegria foram: Invernada de boi, Acupari, Ingá, Cambará, Cáceres e Caraguateiro. Também ocorreram capturas dos animais, no retiro do Chatelôdo, pertencente à fazenda Alegria (Figura 1).

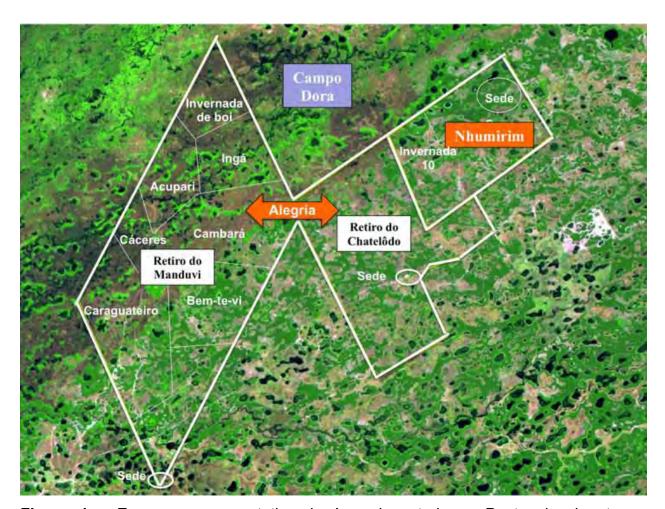


Figura 1 – Esquema representativo da área de estudo no Pantanal sul-matogrossense (Fazendas Nhumirim e Alegria).

Os retiros e suas respectivas invernadas, em ambas as fazendas, são destinados à criação extensiva de gado de corte, mantendo as áreas de pastagem nativas do Pantanal da Nhecolândia. A Nhecolândia possui regime de cheias

durante o verão (novembro a março) e regime de seca durante o inverno (abril a outubro). Durante a estação chuvosa, praticamente todo o Pantanal fica submerso. Durante a seca, apenas alguns rios perenes e lagoas persistem, ficando a fauna silvestre concentrada ao redor destes corpos d'água (MOURÃO et al., 2000). As capturas foram realizadas durante a estação seca para facilitar o deslocamento dos pesquisadores na área de estudo. Os valores médios de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação registrados⁵ na área de estudo, durante os dias de captura, foram: 19,9 ± 4,3 °C, 81,2 ± 8,3% e 3,6 mm, respectivamente.

Método de captura

As capturas foram realizadas durante o período de luminosidade dos dias experimentais, de preferência nos horários com temperaturas mais amenas (início da manhã e final da tarde), com intuito de capturar dois animais por dia. Os animais foram capturados utilizando-se dois métodos de aproximação: com veículo e à pé.

Uma caminhonete foi utilizada para percorrer a área de estudo, até a localização de veados-campeiro, que permitiam a aproximação do veículo. Após a aproximação inicial, eram realizadas manobras circulares com o veículo ao redor do animal a ser capturado, diminuindo progressivamente a distância entre o animal e o veículo (GONZÁLEZ; DUARTE, 2003). Quando os animais se mostravam muito reativos ao veículo, dificultando a aproximação adequada, o atirador aproximava-se dos animais à pé. Para facilitar a aproximação, o atirador caminhava na direção contrária ao vento, sempre em movimentos circulares fazendo "pausas" (momento em que o atirador mantinha-se abaixado e imóvel), para que os animais se habituassem com a sua presença em distâncias cada vez menores. Quando uma distância de aproximadamente 15 a 25 metros era alcançada, os protocolos anestésicos eram aleatoriamente administrados aos animais, utilizando-se dardos de 3 e 5 ml, agulhas de 35 mm com "fisgas" e contrapeso e rifle de ar comprimido⁶ para injeção remota dos fármacos.

A administração dos fármacos foi, em sua maioria, realizada no membro pélvico (músculos glúteo superficial, semimembranoso ou semitendinoso) do animal

⁵ Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET.

⁶ Dist-Inject[®], Modelo 50, Basel, Switzerland.

por via IM. Após a injeção IM do dardo anestésico, os animais foram observados, com auxílio de um binóculo, até que os primeiros sinais de sedação se iniciassem e o animal assumisse o decúbito esternal ou lateral, com a cabeça baixa, sem sinais de movimentação. O tempo compreendido entre o início da aproximação do atirador para realização da injeção remota dos fármacos anestésicos em ambos os métodos de captura e da completa inconsciência do animal foi registrado e considerado como tempo de estresse. O tempo compreendido entre a aplicação do primeiro dardo anestésico (nos casos em que foi necessária dose adicional) e a completa imobilidade do animal foi considerado como tempo de indução.

Quando o dardo não era totalmente injetado por via IM, resultando em indução inadequada da anestesia, ou quando a dose inicial proposta não era suficiente para indução anestésica com decúbito lateral ou esternal, era realizada reaplicação de 3/4; 1/2 ou 1/4 das doses de cada um dos fármacos inicialmente aplicados, de acordo com a necessidade. Em geral, animais que, após aparente indução da anestesia, reagiram à aproximação do atirador (anestesista) se distanciado do mesmo de forma descoordenada, mas como capacidade de levantarse e correr por curtas distancias, receberam reaplicação de 3/4 das doses de cada um dos fármacos inicialmente aplicados. Animais que regiram com movimentação dos membros, ou movimentavam-se descoordenadamente, alternando o decúbito lateral, porém, com ataxia significativa para conseguir se levantar e correr, receberam ½ das doses iniciais de cada um dos fármacos. Os animais que apenas reagiram à aproximação do atirador com leve movimentação dos membros ou da cabeça receberam apenas a reaplicação de ¼ das doses iniciais dos fármacos, de acordo com o protocolo em questão. Quando necessária, a reaplicação dos fármacos foi realizada manualmente no músculo glúteo superficial, utilizando-se seringa e agulha hipodérmica7, exceto em dois animais que receberam a reaplicação dos fármacos utilizando-se mais um dardo por via IM (utilizando-se projetor de dardos).

Não foram realizadas reaplicações dos fármacos, utilizados nos protocolos anestésicos citados, durante ou após o período de monitoração da anestesia. Assim, caso o animal não permanecesse em plano anestésico adequado durante o período

-

⁷ BD PrecisionGlide[®], São Paulo, Brasil; 25 X 0,7 mm.

de 60 minutos, proposto para monitoração da anestesia, este recebia a administração do antagonista e era colocado em local afastado, por meio de contenção física, para recuperação da anestesia. Nos casos em que a reaplicação dos fármacos se fazia necessária durante a indução anestésica, a dose total dos mesmos era calculada ao final das anestesias. Quando o conteúdo do dardo não era totalmente injetado, a quantidade de fármaco remanescente no dardo era registrada para o cálculo da dose total administrada.

Instrumentação

Logo após a indução, o atirador e outro membro da equipe se aproximavam lentamente para iniciar a instrumentação do animal com a colocação de venda e protetores auriculares, no intuito de diminuir os estímulos visuais e sonoros. Em seguida, uma sonda intranasal⁸ foi introduzida, paralela ao meato ventral da narina, até aproximadamente metade da distância entre a narina externa esquerda e o canto medial do olho, para administração imediata de oxigênio nos animais pertencentes aos grupos suplementados com o mesmo (TZ/X-O₂ e C/M/X-O₂). Concomitantemente, foram colhidas as primeiras amostras de sangue venoso por venopunção da jugular esquerda. Durante essa instrumentação inicial, os outros membros da equipe se aproximavam do animal anestesiado com o veículo (caminhonete). Em ato contínuo, os animais eram pesados, utilizando-se saco confeccionado em tecido para envolver o animal na posição esternal e balança9 sustentada em cabo de madeira e elevada por dois membros da equipe. O dardo era então retirado da musculatura dos animais e estes eram posicionados em decúbito lateral direito. Foi aplicado pomada oftálmica10 nos olhos dos animais para prevenir ressecamento da córnea. Em seguida, a artéria auricular era cateterizada11 para colheita de sangue arterial e mensuração da pressão arterial invasiva por meio de transdutor de pressão¹² do monitor multiparamétrico¹³.

-

⁸ MedSonda Produtos e Comércio de Produtos Hospitalares Descartáveis LTDA., Arapoti, Paraná, Brasil; número 12.

⁹ Visor tipo relógio e escala de 200g.

¹⁰ Acetato de retinol (10.000UI), aminoácidos (25 mg), metionina (5 mg), cloranfenicol (5 mg) e excipiente q.s.p. (Epitezan[®], Allergan Produtos Farmacêuticos LTDA, Guarulhos, São Paulo, Brasil).

¹¹ Angiocath®, BD, São Paulo, Brasil; 22G ou 24G.

¹² Logical®, Medex™, Smiths Medical, Kent, United Kingdom.

¹³ iPM – 9800, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. Ltd., Shanghai, China.

O transdutor de pressão invasiva utilizado possui duas vias. Uma delas foi acoplada no cateter arterial por meio de torneira de três vias e extensores de equipo, preenchidos previamente com solução heparinizada, contendo 20 UI heparina sódica por ml de solução de NaCl a 0,9%. A outra extremidade foi acoplada a equipo também preenchido com solução heparinizada e conectado, por sua vez, à bolsa pressurizada¹⁴ (300 mmHg) contendo a referida solução, para lavagem do circuito (fluxo de 3 ml/min), antes e após a colheita de sangue arterial, visando evitar a formação de coágulos. O transdutor de pressão foi calibrado à pressão atmosférica, tendo como ponto zero de referência o esterno do animal. Ao mesmo tempo, outros sensores do monitor multiparamétrico foram acoplados ao animal. O sensor de oximetria de pulso foi acoplado na língua do animal; o sensor para registro da temperatura, no reto; e os eletrodos para o registro eletrocardiográfico foram acoplados nos membros torácicos e pélvicos.

O tempo necessário para instrumentação descrita acima também foi registrado. Este foi estipulado entre o início da manipulação do animal, para colocação da venda, até estabelecimento do acesso arterial, correta conexão dos sensores do monitor multiparamétrico e calibração do transdutor de pressão invasiva.

Monitoração anestésica

Os parâmetros cardiorrespiratórios e a temperatura retal foram registrados após a instrumentação (T0) e a cada 5 minutos após T0, durante 60 minutos de monitoração anestésica (T5, T10, T15, T20, T25, T30, T35, T40, T45, T50, T55 e T60), totalizando 13 tempos de monitoração. A colheita da primeira amostra de sangue venoso foi considerada como sendo colhida em T0 para facilitar as análises dos dados.

A frequência cardíaca (FC) foi monitorada utilizando-se o sensor do oxímetro de pulso do monitor multiparamétrico e checada por meio da auscultação dos batimentos cardíacos por minuto antes de ser registrada. O traçado eletrocardiográfico foi registrado na derivação II, em papel milimetrado, para avaliação de possíveis distúrbios na condução elétrica do coração. A pressão arterial

_

¹⁴ C-Fusor Pressure Infusion, Medex[™], Smiths Medical, Kent, United Kingdom.

sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD), foram monitoradas pelo método invasivo, por meio de transdutor de pressão acoplado ao cateter¹¹ introduzido no lúmen da artéria auricular. A saturação de oxihemoglobina foi mensurada por meio de oximetria de pulso (SpO₂) e a frequência respiratória (f) pela contagem das excursões torácicas por minuto.

A temperatura retal (TR) foi monitorada utilizando termômetro digital do monitor multiparamétrico, sendo considerado hipotermia valores de TR abaixo de 35 °C e hipertermia acima de 40 °C. Para tratamento da hipotermia, os animais foram aquecidos com bolsas de água quente e envoltos em cobertores e, para o tratamento da hipertermia, barras de gelo reciclável protegidas por compressa foram colocadas em contato com a região inguinal dos animais.

Para mensuração do pH arterial (pHa), pressões parciais de dióxido de carbono (PaCO₂) e de oxigênio (PaO₂), estes corrigidos para temperatura retal do animal, concentração de bicarbonato ([HCO3]a), excesso/déficit de bases (BEa), saturação de oxihemoglobina (SaO₂), concentração de íons Na⁺, K⁺ e Ca²⁺ ionizável do sangue arterial, foram realizadas colheitas de sangue em T0 e a cada 20 minutos após T0, durante os 60 minutos de monitoração anestésica (T20, T40 e T60). Para colheita do sangue arterial, aproximadamente 5 ml de sangue foram retirados da linha arterial estabelecida no lúmen da artéria auricular, por meio de torneira de três vias, visando evitar hemodiluição pela solução heparinizada utilizada nos extensores de equipo da linha arterial. Em ato contínuo, 1 ml de sangue arterial foi colhido de forma anaeróbia, utilizando seringas previamente heparinizadas. Os 5 ml de sangue, previamente retirados da amostra utilizada na hemogasometria arterial, foram imediatamente administrados na linha arterial após colheita da mesma para evitar hemodiluição. A mensuração dos gases sanguíneos e os demais parâmetros mencionados foram obtidos imediatamente após a colheita de cada amostra de sangue arterial, utilizando analisador sanguíneo portátil¹⁵ e cartões de leitura EG7⁺¹⁶. O referido analisador sanguíneo portátil foi utilizado para mensuração da pressão atmosférica do local de cada captura realizada.

¹⁵ i-STAT, Abbott Point of Care Inc., IL, EUA.

¹⁶ Abbott Point of Care Inc., IL, EUA.

Em T20, T40 e T60, também foram colhidas amostras de sangue venoso para mensuração de lactato plasmático e de íons cloreto e cortisol no soro sanguíneo. A colheita de sangue venoso foi realizada sempre por venopunção da jugular esquerda utilizando-se tubos Vacutainers[®] de 2 e 10 ml contendo fluoreto de sódio para determinação do lactato plasmático e sem anticoagulante para determinação da concentração de cortisol e cloretos. Todas as amostras de sangue venoso foram refrigeradas (4 °C) até o final de cada dia experimental e processadas no mesmo dia da colheita para armazenagem de plasma e soro em nitrogênio líquido (-196°C).

A concentração de íons cloretos do soro sanguíneo foi determinada utilizando-se kits comerciais da marca Labtest e posterior leitura espectrofotométrica¹⁷. O lactato plasmático foi mensurado em duplicata por método eletroenzimático, utilizando-se lactímetro¹⁸.

O cortisol sérico foi mensurado por meio de ensaio imunoenzimático (EIA). O anticorpo policional cortisol-3-carboxymethyl-oxime:BSA foi obtido de coelhos. A Cortisol-3-CMO-DADOO-biotina (cortisol marcado por biotina) foi utilizada como marcador. Detalhes sobre o EIA utilizado, incluindo a descrição das reações cruzadas estão disponíveis em Palme e Möstl (1997). As amostras de soro foram descongeladas e 0,5 ml soro liofilizado 19 por 24h, para serem enviados ao laboratório de Bioquímica da "University of Veterinary Medicine" de Viena, Áustria, responsável pela dosagem do cortisol. As amostras liofilizadas foram dissolvidas em 0,5 ml de tampão de diluição e extraídas em 5 ml de éter dietílico. Após agitação em vortex (15 min) e centrifugação (2500g; 10 min), as amostras foram congeladas. O éter dietílico (contendo o cortisol) foi então transferido para tubos limpos e evaporado, utilizando sistema de ventilação contendo ar comprimido, e 0,5 ml de tampão de diluição foram adicionados aos tubos. Após nova agitação em vortex (15 min), os extratos foram diluídos (1:10) em tampão de diluição e dosados (10 µl) em duplicata. Os coeficientes de variação dentro dos ensaios (intra-assay) foram < 10% e os coeficientes de variação entre os ensaios (inter-assay) foram de 5,1% e 18,8% (n = 5 placas) para pool de amostras com alta e baixa concentração de cortisol, respectivamente. O limite de detecção do EIA foi de 0,3 ng/ml de soro.

¹⁷ Labquest, modelBIO-2000, Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, MG, Brazil.

¹⁸ 2300 Yelow Springs Instrument Co., Yelow Springs, Ohio, EUA.

¹⁹ Model LGA05, Web LMW Medizintechnik, Leipizig, Germany

A qualidade da anestesia também foi monitorada a cada 10 minutos (T0, T10, T20, T30, T40, T50 e T60) por meio de registros dos seguintes sinais clínicos: rotação do globo ocular; presença ou ausência dos reflexos auricular, palpebral, corneal, pupilar, interdigital; relaxamento muscular e sensibilidade cutânea. Os reflexos auricular e palpebral foram avaliados por meio de um leve toque no interior da orelha e nos cílios do animal, sendo a movimentação das orelhas e leve fechamento das pálpebras considerados como reflexos presentes. O reflexo corneal foi avaliado com um leve toque sobre a pálpebra dos animais, conferindo um estímulo de pressão contra a córnea; caso houvesse leve movimentação das pálpebra, esse era considerado presente. O reflexo pupilar foi avaliado utilizando uma lanterna para estimular a contratilidade da pupila em resposta à luz e caso uma leve contração fosse observada, esse reflexo era considerado presente.

Para avaliar a presença de relaxamento muscular, foram estabelecidos movimentos de flexão e extensão dos membros pélvicos, caso fosse observada rigidez, considerava-se como ausência de relaxamento muscular. Para avaliação da sensibilidade cutânea, foi utilizada a ponta de uma caneta para verificação de sensibilidade existente nas regiões do dorso, membros e períneo, caso não houvesse movimentação, a sensibilidade era considerada ausente. O reflexo interdigital foi verificado pinçando-se a região interdigital dos membros pélvicos com uma pinça hemostática com dente de rato até o primeiro estágio da cremalheira (EGER II; SAIDMAN; BRANDSTATER, 1965). Caso o animal movimentasse o membro, o reflexo interdigital era considerado presente. Durante esse teste, uma gaze foi utilizada para proteger a região interdigital, evitando, assim, possíveis injúrias pelo instrumental cirúrgico utilizado.

Marcação

Durante a monitoração anestésica, todos os animais foram marcados com brincos plásticos numerados. As fêmeas receberam brincos na orelha esquerda e os machos, na orelha direita. Os 20 animais anestesiados no período da tarde dos dias experimentais receberam radio-colares de sistema VHF²⁰, para serem monitorados no dia pós-captura (3ª etapa). Além disso, outros três animais, capturados no

-

²⁰ TXE-335C, Telenax, Playa Del Carmen, México.

período da manhã dos dias experimentais, receberam rádio-colares com GPS e sistema "drop off" integrado²¹, como parte de um estudo piloto para monitoração do deslocamento dos animais no dia pós-captura.

Antagonista

O cloridrato de ioimbina foi utilizado como antagonista da xilazina nos protocolos anestésicos utilizados. Para isso, este antagonista foi previamente preparado em laboratório, com a diluição do sal do cloridrato de ioimbina²², na concentração de 5 mg/ml, em água miliQ, com posterior filtragem da solução em filtro biológico²³. A ioimbina foi administrada pela via intravenosa (IV) ao final de 60 minutos de monitoração nos quatro animais pilotos e nos primeiros seis animais do grupo experimental na dose de 0,2 mg/kg. Nos demais animais dos grupos experimentais (34 animais), a dose de 0,2 mg/kg de ioimbina passou a ser administrada por duas vias diferentes (metade da dose por via IV e a outra metade por via IM): a veia jugular e o músculo glúteo superficial.

Recuperação anestésica

Após a administração do antagonista, os animais foram posicionados em decúbito esternal em local protegido pela vegetação para a recuperação anestésica. O tempo total de manipulação do animal foi considerado entre o intervalo de tempo da imobilidade do animal (correta indução da anestesia), após administração dos protocolos anestésicos, até a administração do cloridrato de ioimbina.

Os animais foram observados pelo anestesista até o final da recuperação anestésica (animal em posição quadrupedal e apto a fugir com a aproximação do observador). A qualidade da recuperação anestésica foi avaliada por meio de etograma comportamental, semelhante ao descrito por Pinho (2000), considerandose os seguintes escores: 1 - Excelente (levanta após a primeira tentativa sem nenhuma ataxia); 2 - Boa (levanta após uma ou duas tentativas sem ou com pouca ataxia); 3 - Satisfatória (levanta após uma a três tentativas com ataxia prolongada); 4 - Moderada (mais de três tentativas para levantar, com ataxia prolongada, sem ou

²¹ Televilt Tellus, Lindesberg, Suécia.

²² Sigma Aldrich, São Paulo, São Paulo, Brasil.

²³ Millex®, Durapore® membrane 0,22 μm, Millipore Ireland Ltd., Tullagreen, Corrigwohill, CO, Ireland.

com pouca excitação); 5 - Ruim (mais de três tentativas para levantar com evidente excitação e alto risco de injúrias).

O tempo de recuperação foi registrado, considerando-se o período entre a administração da ioimbina e a estação do animal.

Análise estatística

Os dados referentes à monitoração anestésica foram analisados pelo teste de análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) com delineamento em parcelas subdivididas (*Split-plot*), tendo como principal fonte de variação os grupos experimentais (TZ/X, TZ/X-O₂, C/M/X e C/M/X-O₂) e fonte secundária de variação os tempos de registros (T0 a T60) e a interação dos grupos com os tempos. Essa análise foi seguida da aplicação do teste de Tukey. Quando os desvios padrão de diferentes observações foram proporcionais às suas médias, foi realizado teste de normalidade Saphiro-Wilk para testar a normalidade dos dados, sendo a transformação logarítmica (observação + 1) utilizada para normalizar os dados. Os escores de recuperação anestésica foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para verificar possíveis diferenças entre o peso estimado para os animais e o peso real dos mesmos, aferido após indução da anestesia, foi realizado um teste-t pareado. As análises estatísticas foram realizadas usando o software SAS 9.1²⁴. Os valores foram expressos como média ± DP e valores de P < 0,05 considerados significativos.

Resultados

Não foram observadas diferenças significativas entre o peso de fêmeas e machos. O peso médio das 21 fêmeas e dos 19 machos utilizados nesse estudo foram 26.8 ± 3.2 kg e 27.8 ± 5.0 kg, respectivamente. A dose média dos fármacos utilizados, calculada para o peso real dos animais, para a associação tiletaminazolazepam $(2.9 \pm 0.8 \text{ mg/kg})$ e xilazina $(1.2 \pm 0.3 \text{ mg/kg})$ e cetamina $(8.8 \pm 2.0 \text{ mg/kg})$, midazolam $(0.7 \pm 0.2 \text{ mg/kg})$ e xilazina $(0.4 \pm 0.1 \text{ mg/kg})$ não diferiu

²⁴ SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

significativamente entre os grupos suplementados ou não com oxigênio por via intranasal. Apenas quatro, dos 20 animais submetidos ao protocolo TZ/X, necessitaram de doses extras para indução da anestesia, enquanto 16 animais, dos 20 submetidos à associação C/M/X, receberam reaplicação de fármacos durante a indução.

O tempo de indução anestésica foi maior (P = 0,04) em veados-campeiro anestesiados com a associação C/M/X (18,4 ± 12,4 min) quando comparado aos animais anestesiados com TZ/X (11,7 ± 6,8 min). Porém, não foram observadas diferenças significativas no tempo de estresse entre os protocolos anestésicos TZ/X e C/M/X (35,7 ± 18,8 min; 46,2 ± 14,1 min, respectivamente). Não houve diferenças entre o tempo de instrumentação, manipulação e recuperação entre os grupos experimentais (Tabela 1). Também não foram observadas diferenças significativas entre os escores de qualidade de recuperação anestésica entre os grupos experimentais (Figura 2).

Tabela 1 – Valores médios ± SD do tempo de instrumentação, manipulação e recuperação anestésica de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre para cada grupo experimental.

Tempos (min) [†] -	Resultados (Média ± DP)								
Tempos (min)	TZ/X		-	ΓΖ/X-O ₂	C/M/X		(C/M/X-O ₂	
Instrumentação	(10)	$15,1 \pm 6,8$	(10)	$18,6 \pm 3,2$	(10)	$15,1 \pm 5,9$	(10)	$13,7 \pm 4,1$	
Manipulação	(10)	$85,3 \pm 4,0$	(9)	$86,3 \pm 6,2$	(10)	$81,6 \pm 12,9$	(10)	$80,9 \pm 10,6$	
Recuperação	(10)	$39,9 \pm 19,7$	(10)	$44,1 \pm 28,3$	(9)	$52,9 \pm 41,8$	(10)	$46,2 \pm 30,9$	

[†]A transformação logarítmica foi utilizada.

Escores de recuperação anestésica

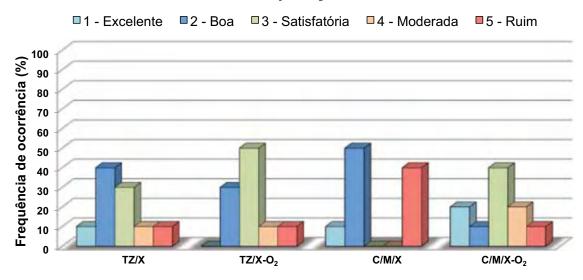


Figura 2 – Frequência de ocorrência dos escores de recuperação anestésica em veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) anestesiados com tiletamina-zolazepam/xilazina (TZ/X) e cetamina/midazolam/xilazina (C/M/X) sem e com suplementação intranasal de oxigênio (TZ/X-O₂ e C/M/X-O₂).

Durante os 25 primeiros minutos (T25) da monitoração anestésica com TZ/X e C/M/X, todos animais apresentaram globo ocular semirrotacionado, pupila responsiva ao estímulo luminoso, reflexos corneal, palpebral e auricular presentes, ausência de reflexo interdigital, bom relaxamento muscular e ausência de sensibilidade cutânea. Em T25, um animal do grupo C/M/X-O₂ apresentou

^{*}Número de registros para cada média (10 animais por grupo).

TZ/X = tiletamina-zolazepam/xilazina; TZ/X-O₂ = tiletamina-zolazepam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio; C/M/X = cetamina/midazolam/xilazina; C/M/X-O₂ = cetamina/midazolam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio.

timpanismo ruminal severo e recebeu a dose do antagonista para reversão dos efeitos da xilazina. Outro animal do C/M/X-O₂ exibiu reflexo interdigital presente no T45 e, por essa razão, também recebeu a dose do antagonista, sendo transportado por dois membros da equipe, por meio de contenção física manual, para local protegido por vegetação para recuperação da anestesia. Três animais do grupo C/M/X também receberam o antagonista, por apresentarem reflexo interdigital, sendo que um deles recebeu o antagonista no T45 e dois no T55. Portanto, com a associação C/M/X, com ou sem SIO, excetuando-se o animal que apresentou timpanismo severo, dois animais exibiram sinais de superficialização da anestesia em T45 e dois em T55 (Tabela 2).

Além disso, um animal do C/M/X apresentou apneia durante o T5, havendo a necessidade de se proceder a ventilação assistida por meio de intubação orotraqueal. Este animal apresentou recuperação anestésica prolongada (acima de 8h), com movimentos de "pedalagem" e inúmeras tentativas para se levantar, sendo eutanasiado três dias após a captura em decorrência de miopatia de captura, diagnosticada por meio de exames pós-morte. Os dados referentes a esse animal foram retirados da análise, uma vez que a ventilação assistida pode ter interferido nas variáveis cardiorrespiratórias.

Um macho adulto que recebeu radio-colar de sistema GPS, quebrou o chifre durante a recuperação da anestesia e teve o rádio retirado, por meio de sistema remoto de abertura da coleira ("drop off system"), no dia seguinte a captura.

Tabela 2 – Veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) que receberam administração de ioimbina antes de completar 60 minutos de monitoração anestésica.

Animal	Sexo	Ocorrencia	Grupo	Tempo	Dose total dos fármacos anestésicos [†]
11	Fêmea	Timpanismo severo	C/M/X-O ₂	T25	Cetamina - 11,4 mg/kg Midazolam - 0,9 mg/kg Xilazina - 0,6 mg/kg
31	Macho	Reflexo interdigital presente	C/M/X-O ₂	T45	Cetamina - 6 mg/kg Midazolam - 0,45 mg/kg Xilazina - 0,3 mg/kg
19	Macho	Reflexo interdigital presente	C/M/X	T45	Cetamina - 12,3 mg/kg Midazolam - 0,9 mg/kg Xilazina - 0,6 mg/kg
16	Macho	Reflexo interdigital presente	C/M/X	T55	Cetamina - 5 mg/kg Midazolam - 0,4 mg/kg Xilazina - 0,25 mg/kg
21	Fêmea	Reflexo interdigital presente	C/M/X	T55	Cetamina - 8,9 mg/kg Midazolam - 0,7 mg/kg Xilazina - 0,5 mg/kg

^T Dose total calculada para o peso real dos animais.

Para facilitar a apresentação dos resultados referentes à interação dos grupos com os tempos de monitoração, estes foram agrupados a cada 10 min (T0, T10, T20, T30, T40, T50 e T60) na tabela 3. Não foram observadas diferenças significativas para as variáveis FC, PAS, PAM, PAD, f, SpO₂ e TR, na interação dos grupos com os tempos. A PAS foi significativamente maior (P < 0,02) nos primeiros 30 minutos de monitoração anestésica para os animais do grupo TZ/X-O₂ comparado ao grupo C/M/X.

Foi observado hipotermia (TR < 35 °C) durante a monitoração anestésica em quatro animais capturados, quando temperaturas ambientes baixas (9 a 20 °C) foram registradas. Os animais hipotérmicos foram aquecidos com bolsas de água quente e envoltos em cobertores. Esse tratamento não foi suficiente para reverter a hipotermia em nenhum animal tratado, mas em dois animais a temperatura não reduziu abaixo 34,2 °C. Além disso, três animais apresentaram hipertermia com TR entre 40 e 40,7 °C, foram tratados com barras de gelo em contato com a região inguinal, por aproximadamente 15 minutos.

C/M/X = cetamina/midazolam/xilazina; C/M/X-O₂ = cetamina/midazolam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio.

bezoarticus) de vida livre na interação dos grupos (TZ/X, TZ/X-O2, C/M/X e C/M/X-O2) com os tempos de monitoração Tabela 3 - Valores médios ± SD das variáveis cardiorrespiratórias e temperatura retal de veados-campeiro (Ozotoceros anestésica (T0, T10, T20, T30, T40, T50 e T60).

	(Resultados (Média ±	± DP)		
Variaveis	Grupos	Т0	T10	T20	T30	, T40	T50	T60
Cardiovasculares								
	TZ/X	$(10)^*$ 52 ± 8	53 ±	51 ±	51 ±	49 ±	₹ 05	46 ±
(":/*/	$TZ/X-O_2$	(10) 48 \pm 10	47 ±	47 ±	46 ±	46 ±	47 ±	47 ±
r⊂ (oav.mm)	C/M/X	(9) 62 ± 13	₹ 65	(9) 54 ± 10	55 ±	54 ±	(7) 53 ± 8	$(6) 55 \pm 15$
	C/M/X-O ₂	(10) 59 ± 10	(10) 59 ± 10	+			+	+1
Invasiva								
***************************************	TZ/X	112 ±	112 ±	111 #	108 ±	105 ±	∓ 66	± 96
DAC (mmUc)	$TZ/X-O_2$	(10) 119 \pm 13 ^A	(10) 118 \pm 12 ^A	(10) 116 \pm 14 ^A	(10) 113 ± 12 ^A	(10) 108 ± 11	(10) 104 ± 12	(10) 102 ± 10
(giiiiiii) cwi	C/M/X	# 96	95 ±	94 ±	+ 06	⁺ 06	87 ±	± 6/
	$C/M/X-O_2$	101 \pm	$102 \pm$	95 ±	91 ±	# 68	87 ±	84 #
	TZ/X	(10) 95 ± 11	92 ±	92 ±	+ 88	∓ 98	81 ±	78 ±
PAM (mmHa)	$TZ/X-O_2$	95 ∓	93 ∓	92 ±	+ 06	84 #	82 ±	+ 6∠
(Srmm) rayr	C/M/X	# 08	± 9 <i>L</i>	# 08	74 ±	73 ±	4 0∠	= 99
	$C/M/X-O_2$	83 #	85 ∓	77 ±	73 ±	71 ±	± 69	= 29
	TZ/X	∓ 98	82 ±	83 ∓	78 ±	4 8∕	72 ±	∓ 69
DAD (mmHa)	$TZ/X-O_2$		82 #	82 #	∓ 6/	72 ±	72 ±	∓ ∠9
rAD (IIIIIIB)	C/M/X		71 ±	71 ±	= 99	4 +	61 ±	57 ±
	C/M/X-O ₂		+	+	+	+	+	+
Respiratórias								
	TZ/X		∓ 98	92 ±	91 ±	+ 06	93 ±	+ 06
(70) (00)	$TZ/X-O_2$		# 88	∓ 96	94 ±	94 ±	97 ±	4 76 ∓
3pO ₂ (/0)	C/M/X		93 ∓	94 ±	65 ∓	+ 68	+ 06	+ 06
	$C/M/X-O_2$		# 96	94 ±	93 ∓	93 ∓	95 ∓	93 ±
	TZ/X	(10) 27 ± 13	(10) 40 ± 25	(10) 39 ± 24	(10) 43 ± 26	(10) 43 ± 28	(10) 44 ± 28	(10) 39 ± 27
f (moss/min)	$TZ/X-O_2$		41 +	42 ±	46 ±	43 ±	53 ∓	53 ±
/ (miov/mini)	C/M/X		76 ±	$30 \pm$	39 ∓	3€ ±	33 ∓	59 ±
	$C/M/X-O_2$		30 ±	32 ±	31 ±	27 ±	32 ±	30 ±
Тетрегатига								
	TZ/X		$(10) 38,3 \pm 1,1$	8	$(10) \ 37,7 \pm 1,1$	$(10) \ 37,5 \pm 1,2$	$(10) \ 37,3 \pm 1,3$	$(10) \ 37,2 \pm 1,3$
TB (°C)	$TZ/X-O_2$	$(10) 39,1 \pm 0,7$	+1		$38,3 \pm$	$38,0$ \pm	37,8 ±	37,5 ±
(S) WI	C/M/X		38,4 ±	38,3 ±	37,9 ±	37,8 ±	37,5 ±	36,8 ±
	$C/M/X-O_2$	$(10) 38,0 \pm 1,7$	$37,7 \pm$	37,5 ±	37,3 ±	$36,7 \pm$	36,9 ±	$36,7 \pm$

Frequência cardíaca (FC); pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD); saturação de oxihemoglobina obtida por meio de oxímetro de pulso (SpO₂); frequência respiratória (f); temperatura retal (TR). TZ/X = tiletamina-zolazepam/xilazina; TZ/X-O₂ = tiletamina-zolazepam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio, C/M/X = cetamina/midazolam/xilazina; C/M/X-O₂ = cetamina/midazolam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio.
Valores médios seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas são significativos (P <0,05) e indicam diferenças entre grupos em um determinado tempo.
* Número de registros realizados para cada valor médio (10 animais em cada grupo por tempo).

A pressão atmosférica registrada na área de estudo foi de 759 \pm 4,5 mmHg. As variáveis obtidas na hemogasometria arterial referentes à interação dos grupos com os tempos de monitoração estão disponíveis na tabela 4. Em todos os tempos avaliados, os animais submetidos à SIO em ambos os protocolos anestésicos (TZ/X- O_2 e C/M/X- O_2) apresentaram valores médios de Pa O_2 significativamente maiores (P = 0,01) quando comparados aos respectivos tempos dos protocolos sem SIO (TZ/X e C/M/X) (Tabela 4 e Figura 3).

Nos animais que apresentaram hipoxemia com valores de $PaO_2 < 60$ mmHg no T0, T20, T40 e T60, os intervalos de variação da PaO_2 foram de 45 - 57 mmHg (n = 7), 34 - 58 mmHg (n = 7), 43 - 59 mmHg (n = 7) e 37-57 mmHg (n = 7) para cada tempo de monitoração, respectivamente. No grupo TZ/X 30% dos animais presentaram $PaO_2 < 60$ mmHg nos primeiros 20 min (T0 e T20) de anestesia, já no C/M/X em todos os tempos de monitoração foi possível observar que 30 a 50% dos animais apresentaram $PaO_2 < 60$ mmHg. Também foi possível observar que em 3 animais do C/M/X- O_2 os valores de PaO_2 foram abaixo de 60 mmHg em pelo menos um dos tempos de monitoração (Figura 4).

A SaO₂ em T0, calculada com base na hemogasometria arterial, também foi significativamente maior (P = 0,01) em animais submetidos à SIO (TZ/X-O₂ e C/M/X-O₂) quando comparada aos animais anestesiados com TZ/X e C/M/X sem SIO. No T60 os animais submetidos ao grupo C/M/X tiveram valores significativamente menores (P < 0,01) de SaO₂ do que os animais submetidos aos demais grupos no tempo em questão (Tabela 4).

O pHa, PaCO₂, [HCO₃]a e o BEa não apresentaram diferenças significativas na interação dos grupos com os tempos de monitoração. O pHa ficou dentro dos limites de 7,35 a 7,45. Foi observado valores médios de PaCO₂ > 45 mmHg em todos os grupos estudados, entretanto, no grupo C/M/X apenas em T20 os valores médios de PaCO₂ estiveram acima de 45 mmHg. Foi observado aumento significativo (P < 0,01) no excesso/déficit de bases (BEa) nos animais submetidos ao grupo TZ/X-O₂ após 60 minutos (T60) de monitoração anestésica quando comparado a T0 (Tabela 4).

Não foi observado diferenças significativa nas concentrações de cortisol sérico, eletrólitos ou lactato plasmático na interação dos grupos com os tempos de

monitoração. Entretanto, o lactato plasmático reduziu significativamente (P < 0,01) após 40 minutos de monitoração anestésica (T40) em todos os grupos estudados.

Tabela 4 - Valores médios ± SD da hemogasometria arterial, cortisol sérico, eletrólitos e lactato plasmático de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre na interação dos grupos com os tempos de monitoração anestésica.

Variávoja	Crupoo				Resultado	s (Média	ı ± DP)		
Variáveis	Grupos		T0		T20		T40		T60
	TZ/X	(10)*	$7,35 \pm 0,03$	(10)	$7,36 \pm 0,03$	(10)	$7,40 \pm 0,04$	(10)	$7,42 \pm 0,03$
рНа	$TZ/X-O_2$	(10)	$7,36 \pm 0,05$	(10)	$7,39 \pm 0,06$	(10)	$7,42 \pm 0,06$	(10)	$7,43 \pm 0,05$
pria	C/M/X	(9)	$7,36 \pm 0,04$	(9)	$7,40 \pm 0,04$	(9)	$7,45 \pm 0,06$	(6)	$7,45 \pm 0,05$
	C/M/X-O ₂	(10)	$7,37 \pm 0,05$	(10)	$7,40 \pm 0,07$	(9)	$7,40 \pm 0,10$	(8)	$7,41 \pm 0,10$
	TZ/X	(10)	50 ± 6	(10)	52 ± 5	(10)	49 ± 7	(10)	48 ± 6
PaCO ₂ (mmHg)	$TZ/X-O_2$	(10)	51 ± 7	(10)	52 ± 9	(10)	49 ± 7	(10)	49 ± 7
1 aCO ₂ (mining)	C/M/X	(9)	44 ± 7	(9)	46 ± 5	(9)	41 ± 6	(6)	42 ± 5
	C/M/X-O ₂	(10)	49 ± 4	(10)	49 ± 8	(9)	53 ± 16	(8)	51 ± 14
	TZ/X	(10)	$64 \pm 8^{\text{A}}$	(10)	66 ± 11 ^A	(10)	68 ± 10^{A}	(10)	70 ± 12^{AC}
PaO ₂ (mmHg) [†]	$TZ/X-O_2$	(10)	286 ± 99^{B}	(10)	234 ± 113^{B}	(10)	234 ± 112^{B}	(10)	177 ± 71^{B}
raO ₂ (mmrig)	C/M/X	(9)	70 ± 18^{A}	(9)	68 ± 11^{A}	(9)	$65 \pm 15^{\text{A}}$	(6)	$59 \pm 24^{\circ}$
	C/M/X-O ₂	(10)	194 ± 63^{B}	(10)	171 ± 96 ^B	(9)	143 ± 102^{B}	(8)	140 ± 83^{AB}
	TZ/X	(10)	$88 \pm 5^{\text{A}}$	(10)	89 ± 5	(10)	92 ± 4	(10)	93 ± 4 ^A
SaO ₂ (%)	$TZ/X-O_2$	(10)	99 ± 1^{B}	(10)	99 ± 1	(10)	99 ± 1	(10)	$99 \pm 1^{\text{A}}$
	C/M/X	(9)	$88 \pm 9^{\text{A}}$	(9)	90 ± 5	(9)	90 ± 7	(6)	86 ± 12^{A}
	$C/M/X-O_2$	(10)	99 ± 1^{B}	(10)	95 ± 10	(9)	93 ± 9	(8)	94 ± 10^{B}
	TZ/X	(10)	27 ± 3	(10)	29 ± 2	(10)	30 ± 3	(10)	31 ± 3
[HCO3]a (mmol/l)	$TZ/X-O_2$	(10)	28 ± 3	(10)	31 ± 3	(10)	31 ± 3	(10)	32 ± 3
[ficos]a (filfilol/1)	C/M/X	(9)	25 ± 3	(9)	28 ± 2	(9)	28 ± 3	(6)	29 ± 2
	$C/M/X-O_2$	(10)	28 ± 2	(10)	30 ± 3	(9)	31 ± 2	(8)	31 ± 3
	TZ/X	(10)	$1,9 \pm 3,0$	(10)	$3,8 \pm 2,6$	(10)	5,4 ± 3,0	(10)	6,3 ± 2,9
DE- (1/1)	$TZ/X-O_2$	(10)	$2,8 \pm 3,5^{a}$	(10)	$5,9 \pm 3,6^{ab}$	(10)	$6,9 \pm 3,0^{ab}$	(10)	$7,6 \pm 2,8^{b}$
BEa (mmol/l)	C/M/X	(9)	-0.1 ± 3.1	(9)	$3,7 \pm 2,0$	(9)	$4,3 \pm 3,0$	(6)	$5,0 \pm 1,8$
***************************************	$C/M/X-O_2$	(10)	$2,7 \pm 2,8$	(10)	$5,1 \pm 3,0$	(9)	$6,6 \pm 2,1$	(8)	$7,0 \pm 2,7$
	TZ/X	(10)	$6,8 \pm 4,8$	(10)	$15,4 \pm 9,6$	(10)	12,1 ± 9,7	(10)	$8,5 \pm 8,5$
Cortisol (ng/ml) [†]	$TZ/X-O_2$	(10)	$6,9 \pm 3,8$	(10)	$18,1 \pm 16,1$	(10)	$13,1 \pm 12,6$	(10)	$10,1 \pm 10,8$
Cortisor (lig/illi)	C/M/X	(9)	$11,6 \pm 11,3$	(9)	$15,9 \pm 13,4$	(9)	$14,5 \pm 12,2$	(6)	$9,6 \pm 7,1$
	C/M/X-O ₂	(10)	$6,4 \pm 4,9$	(10)	$12,9 \pm 13,1$	(9)	$11,2 \pm 10,8$	(8)	$11,4 \pm 10,2$
	TZ/X	(10)	$3,2 \pm 2,2^{a}$	(10)	$1,4 \pm 0,7^{ab}$	(10)	$1,2 \pm 0,4^{b}$	(10)	1.0 ± 0.3^{b}
Lactato $(mmol/l)^{\dagger}$	$TZ/X-O_2$	(10)	$3,7 \pm 2,5^{a}$	(10)	$0.9 \pm 0.3^{\rm b}$	(10)	$1,2 \pm 0,4^{b}$	(10)	$1,0 \pm 0,2^{b}$
	C/M/X	(9)	$4,9 \pm 3,7^{a}$	(9)	1.8 ± 1.0^{b}	(9)	$1,3 \pm 0,4^{b}$	(6)	$1,1 \pm 0,3^{b}$
	C/M/X-O ₂	(10)	$4,1 \pm 3,4^{a}$	(10)	$1,7 \pm 1,2^{ab}$	(9)	$1,2 \pm 0,7^{b}$	(8)	0.9 ± 0.4^{b}
	TZ/X	(10)	$141,4 \pm 2,8$	(10)	$142,4 \pm 2,8$	(10)	$143,8 \pm 3,0$	(10)	$144,6 \pm 3,3$
Na ⁺ (mmol/l)	$TZ/X-O_2$	(10)	$140,9 \pm 1,3$	(10)	$142,0 \pm 1,7$	(10)	$143,4 \pm 1,5$	(10)	$144,3 \pm 1,7$
rta (IIIIIOI/I)	C/M/X	(9)	$140,7 \pm 3,5$	(9)	$141,3 \pm 3,2$	(9)	$142,0 \pm 3,4$	(5)	$143,6 \pm 1,5$
	$C/M/X-O_2$	(9)	$141,7 \pm 1,7$	(10)	$142,4 \pm 2,1$	(9)	$141,8 \pm 1,8$	(9)	$141,8 \pm 2,2$
***************************************	TZ/X	(10)	$4,2 \pm 0,4$	(10)	$4,2 \pm 0,3$	(10)	$4,0 \pm 0,5$	(10)	$4,1 \pm 0,4$
K ⁺ (mmol/l)	$TZ/X-O_2$	(10)	$4,2 \pm 0,4$	(10)	$4,3 \pm 0,5$	(10)	$4,1 \pm 0,8$	(10)	$4,2 \pm 0,9$
	C/M/X	(9)	$4,0 \pm 0,5$	(9)	$4,2 \pm 0,4$	(9)	$4,0 \pm 0,5$	(6)	$3,9 \pm 0,4$
	C/M/X-O ₂	(9)	$3,9 \pm 0,5$	(10)	$4,0 \pm 0,7$	(9)	$4,2 \pm 0,5$	(9)	$4,2 \pm 0,7$
Cai ²⁺ (mmol/l)	TZ/X	(10)	$1,1 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(9)	$1,0 \pm 0,2$	(10)	$1,0 \pm 0,1$
	$TZ/X-O_2$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$
	C/M/X	(9)	$0,9 \pm 0,2$	(9)	$1,1 \pm 0,1$	(9)	$1,0 \pm 0,1$	(8)	0.9 ± 0.1
	C/M/X-O ₂	(10)	0.9 ± 0.1	(10)	$1,0 \pm 0,2$	(6)	1,0 ± 0,2	(9)	$1,0 \pm 0,2$
	TZ/X	()	$112,4 \pm 8,2$. ,	$114,7 \pm 5,7$	(10)	$113,2 \pm 9,4$	(10)	$112,8 \pm 4,1$
Cl ⁻ (mmol/l)	$TZ/X-O_2$	\ /	$114,4 \pm 6,4$. ,	$113,7 \pm 7,6$	(10)	$112,1 \pm 6,9$	(10)	$114,2 \pm 3,8$
Ci (ililioni)	C/M/X	(9)	$115,2 \pm 8,3$. ,	$114,7 \pm 9,7$	(9)	$118,2 \pm 7,0$	(6)	$116,8 \pm 5,2$
	$C/M/X-O_2$	(10)	$113,4 \pm 10,0$	(10)	$115,9 \pm 7,7$	(9)	$114,5 \pm 8,5$	(8)	$110,9 \pm 1,0$

 $PaCO_2$ = Pressão parcial de dióxido de carbono; PaO_2 = pressão parcial de oxigênio; $[HCO_3]a$ = concentração íons bicarbonato; BEa = excesso/déficit de bases; SaO_2 = saturação de oxihemoglobina calculada a partir da hemogasometria arterial

TZ/X = tiletamina-zolazepam/xilazina; TZ/X-O₂ = tiletamina-zolazepam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio; C/M/X = cetamina/midazolam/xilazina; C/M/X-O₂ = cetamina/midazolam/xilazina com suplementação intranasal de oxigênio. Número de registros realizados para cada valor médio (4 tempos em 10 animais por grupo).

Valores médios seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas são significativos ao nível de 5% pelo teste de Tukey e indicam diferenças entre grupos em determinado tempo. Valores médios seguidos por letras minúsculas diferentes nas linhas são significativos ao nível de 5% pelo teste de Tukey e indicam diferenças entre os tempos de monitoração em determinado grupo.

[†]A transformação logarítmica foi utilizada.

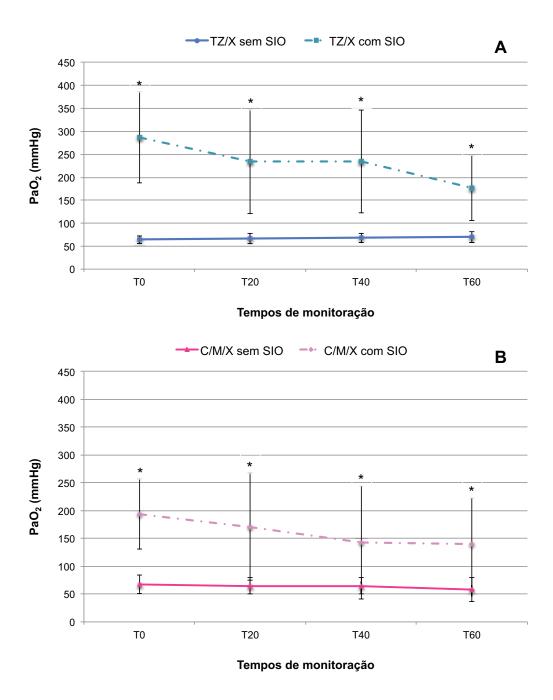


Figura 3 - Valores médios ± SD de pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂) em veados-campeiro submetidos à suplementação intranasal de oxigênio (SIO) em função do tempo de monitoração (T0, T20, T40 e T60) com as associações (A) tiletamina-zolazepam/xilazina (TZ/X) e (B) cetamina/midazolam/xilazina (C/M/X), comparando-se os animais submetidos às respectivas associações com e sem suplementação intranasal de oxigênio (SIO). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os grupos experimentais em um determinado tempo.

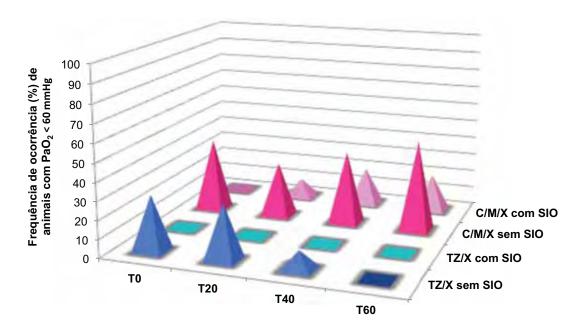


Figura 4 – Frequência de ocorrência de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) anestesiados com as associações tiletamina-zolazepam/xilazina (TZ/X) ou cetamina/ midazolam/xilazina (C/M/X), submetidos ou não a suplementação intranasal de oxigênio (SIO), que apresentaram valores de PaO₂ < 60 mmHg em cada um dos tempos de monitoração.

Em todos os animais submetidos à captura, independente do protocolo anestésico utilizado, foi observado a ocorrência de timpanismo ruminal. O timpanismo foi tratado com o posicionamento do animal em decúbito esternal e massagem no flanco para alívio dos gases e, consequente, eructação. Cinco animais do grupo experimental TZ/X, seis do TZ/X-O₂, quatro do C/M/X e sete do C/M/X-O₂, foram posicionados em decúbito esternal e submetidos à massagem do flanco para alívio dos gases dos rúmen. Durante a manobra para alívio dos gases do rúmen, um animal do TZ/X-O₂, dois do C/M/X e dois do C/M/X-O₂, regurgitaram pequena quantidade de conteúdo ruminal. Todos os animais que regurgitam receberam administração de pentabiótico na dose de 40.000 UI/kg de penicilina benzatina por via intramuscular durante a recuperação anestésica.

Discussão

Este estudo, além de conter a primeira descrição dos efeitos cardiorrespiratórios da associação C/M/X em veados-campeiro de vida livre, também é o primeiro estudo realizado nessa espécie no intuito de avaliar os referidos parâmetros durante a anestesia com TZ/X utilizando métodos de monitoração invasiva. Os principais resultados obtidos foram ocorrência de bradicardia sem hipotensão em ambos os protocolos utilizados e hipoxemia principalmente nos animais submetidos ao C/M/X. Ademais, foi possível observar que a SIO elevou significativamente a PaO₂ e contribuiu para manter a oxigenação adequada na maioria dos animais suplementados, mesmo com o timpanismo ruminal desenvolvido durante a anestesia.

Doses de TZ/X utilizadas em veados-campeiro por Lacerda (2008), foram consideravelmente menores (1 mg/kg / 0,1 mg/kg, respectivamente), e as descritas por Piovezan, Zucco e Rocha (2006), consideravelmente maiores (4,5 – 3,0 mg/kg / 2,25 – 1,5 mg/kg), do que as necessárias para indução anestésica no presente estudo. Além das doses descritas para associação TZ/X em veados-campeiro serem conflitantes, nos estudos mencionados não há dados disponíveis a respeito da indução, qualidade ou recuperação anestésica ou sobre os efeitos cardiorrespiratórios das associações de fármacos utilizadas, dificultando, por essas razões, a comparação dos dados.

O tempo de indução da anestesia com TZ/X foi significativamente menor que o observado com C/M/X. A associação TZ/X em doses similares em *Cervus elaphus* adultos de vida livre (READ et al., 2001; JANICKI et al., 2006) resultaram menores variações no tempo de indução anestésica, que as observadas no presente estudo. Isto pode estar relacionado tanto ao menor número de animais utilizados nos estudos mencionados (n = 7 e 9, respectivamente) como a possíveis diferenças entre espécies no efeito dose-resposta desses fármacos. De acordo com nosso conhecimento, até o presente momento, não há dados disponíveis na literatura a respeito do uso da associação C/M/X para indução anestésica via intramuscular em cervídeos de vida livre, dificultando a comparação dos resultados. No entanto, já foi descrito que a associação cetamina (4,35 mg/kg; n=6) e xilazina (1,19 mg/kg; n = 6)

administrada por via IM em veados-campeiro de vida livre (CHRISTOFOLETTI, 2010) resultou em tempo de indução anestésica (18 ± 10,9 min; n = 6) similar ao observado no presente estudo, porém, com menor tempo de manipulação (40,4 ± 13,8 min; n = 5). A maior necessidade de reaplicações das doses iniciais de fármacos durante a indução anestésica no protocolo C/M/X (18 animais, contra seis animais no protocolo TZ/X) provavelmente contribuiu para o maior tempo de indução observado.

Uma vez que ambos os protocolos utilizados (TZ/X e C/M/X) resultaram em bradicardia e, com exceção de um animal, ausência de hipotensão ou bloqueios atrioventriculares no traçado eletrocardiográfico, tornou-se desnecessário o uso de fármacos acetilcolinérgicos, como a atropina ou glicopirrolato, para reversão da bradiacardia observada, uma vez que estes predispõem à arritmias cardíacas e ao aumento da demanda de oxigênio tecidual (MUIR, 1978; SHORT et al., 1986). O uso da associação TZ/X em *Cervus elaphus* em doses similares às utilizadas neste estudo também resultaram em bradicardia (JANOVSKY et al., 2000; READ et al., 2001), mesmo após SIO (READ et al., 2001), contudo, dados sobre a pressão arterial não foram descritos nos referidos estudos.

O uso de fármacos agonistas α-2, como a xilazina, conhecidamente causa bradicardia em ruminantes selvagens (KLEIN; KLIDE, 1989). O mecanismo pelo qual fármacos agonistas α-2 causam bradicardia ainda não é totalmente compreendido. Entretanto, acredita-se que esse efeito seja devido à estimulação de receptores α-2 adrenérgicos pré-sinápticos, localizados no sistema nervoso central, que, consequentemente, promovem inibição da liberação de noradrenalina na fenda sináptica com redução no fluxo simpático periférico e, por sua vez, ação vago mimética indireta sobre o coração (MAZE; TRANQUILLI, 1991). Em mamíferos, não há relatos sobre a existência de receptores α-2 adrenérgicos pós-sinápticos no coração (MAZE; TRANQUILLI, 1991), porém, alguns autores já reportaram que a bradicardia mediada por fármacos agonistas α-2 é iniciada por estimulação de adrenoceptores pré-sinápticos periféricos (DEJONGE; TIMMERMANS; VAN ZWIETEN, 1983). Portanto, assim como já discutido por Celly et al. (1997), embora a barreira hematoencefálica xilazina atravesse cause predominantemente por estimulação de receptores α-2 adrenérgicos centrais,

decréscimos na frequência cardíaca seguido da administração de ST-91 (SCRIABINE et al., 1977), um agonista α -2 que não atravessa a barreira hematoencefálica, reforçam a possibilidade da contribuição de receptores α -2 adrenérgicos periféricos no desenvolvimento da bradicardia.

Era esperado que os valores significativamente menores de PAM observados nos animais anestesiados com a associação C/M/X estivessem relacionados a um efeito dose-dependente da xilazina, uma vez que os demais fármacos utilizados causam boa estabilidade cardiovascular (WRIGHT, 1982; RANG et al., 2007b). Entretanto, doses superiores de xilazina foram utilizadas na associação TZ/X. Assim, é possível sugerir que os menores valores de PAM tenham relação com o timpanismo ruminal, que apesar de ter sido observado em todos os animais, independente do grupo experimental, pode ter ocorrido de forma mais severa nos animais submetidos a associação C/M/X. A distensão do rúmen em pequenos ruminantes leva à compressão de grandes vasos, redução do débito cardíaco e, consequentemente, redução da PAM (GALATOS, 2011).

Além disso, contenção química resultou em desenvolvimento de hipoxemia em ambos os protocolos anestésicos utilizados sem a SIO. Como descrito em outras espécie de cervídeos, a hipoxemia pode ter diversas causas durante a contenção mais química, sendo а comumente descrita, alterações ventilação/perfusão pulmonar (READ et al., 2001; MICH et al., 2008; PATERSON; CAUKETT; WOODBURY, 2009). Alterações nesta relação podem ser causadas tanto por redução na perfusão dos alvéolos em função do decúbito, timpanismo ruminal ou tromboembolia, como por redução na ventilação dos mesmos, levando a aumento na fração do "shunt" pulmonar, decorrente de hipoventilação, redução na fração de oxigênio inspirado, edema pulmonar, atelectasia, aspiração de líquido ruminal ou obstrução das vias aéreas (McDONELL, 1996). Entretanto, na ausência de alterações na relação ventilação/perfusão, fármacos agonistas α-2, como a xilazina, podem causar alterações no parênquima pulmonar de ruminantes que contribuem para o desenvolvimento de hipoxemia (CELLY et al., 1997). Dessa forma, a hipoxemia observada pode tanto ser resultado da alteração na relação ventilação perfusão decorrente do decúbito lateral, timpanismo ruminal e

hipoventilação, como em função do uso da xilazina em ambos os protocolos anestésicos.

A SIO elevou a PaO₂ média tanto nos animais submetidos à associação TZ/X como na C/M/X, no entanto, não foi eficiente para manter os valores de PaO₂ acima de 80 mmHg em um animal do TZ/X-O₂ e em três animais do C/M/X-O₂. Em *Cervus elaphus* anestesiados com TZ/X (READ et al., 2001) e em *Rangifer tarandus* anestesiados com a associação etorfina/xilazina (RISLING et al., 2011), a SIO também resultou em grandes variações nos valores de PaO₂, porém, sem ocorrência de valores de PaO₂ abaixo de 80 mmHg. Todavia, nesses estudos não foi observado timpanismo ruminal durante a anestesia.

A maior frequência de ocorrência de animais com PaO₂ abaixo de 60 mmHg em animais submetidos aos grupos C/M/X e C/M/X-O₂ reforça a ideia que um timpanismo mais acentuado ocorreu nos animais submetidos ao protocolo C/M/X, dificultando elevação da PaO₂ nos animais submetidos a C/M/X com SIO. Embora o timpanismo ruminal observado possa ter contribuído para ocorrência de hipoxemia nos animais submetidos à SIO, em dois dos três animais do C/M/X-O₂ que desenvolveram hipoxemia durante a SIO, foram observados, durante a auscultação, estertores respiratórios. Estes podem ser indicativos de acúmulo de fluido intersticial, edema pulmonar ou mesmo sinal de aspiração de conteúdo ruminal, não diagnosticados durante a anestesia (GREENE; HARVEY, 1996). Os estertores respiratórios podem indicar comprometimento da ventilação alveolar, pela presença de líquidos e, apesar da SIO, também pode ter contribuído para o desenvolvimento de hipoxemia.

Em animais submetidos à associação C/M/X-O₂, embora não tenha sido detectado diferenças estatísticas na PaCO₂ na interação dos grupos com os momentos, foi possível observar uma tendência à elevação da PaCO₂ em animais desse grupo quando comparada aos animais anestesiados com a mesma associação sem SIO (C/M/X). Resultados semelhantes foram descritos para outras espécies de cervídeos (READ et al., 2001; MICH et al., 2008; PATERSON; CAULKETT; WOODBURY, 2009; RISLING et al., 2011). A referida hipercarbia, observada durante a SIO, pode ser explicada pela inibição central da resposta ventilatória à hipoxemia, decorrente da SIO ou pelo efeito Haldane, um fenômeno

relacionado à redução da afinidade da hemoglobina ao dióxido de carbono a medida em que ocorre uma elevação de oxigênio ligado à hemoglobina (BECKER et al., 1996; McDONELL, 1996). Entretanto, era esperado que uma tendência à elevações na PaCO₂, em função da SIO, também fossem observadas em animais submetidos à associação TZ/X, uma vez que no TZ/X-O₂ os valores médios de PaO₂ foram discretamente mais elevados que no C/M/X-O₂. Portanto, parece razoável que os maiores valores de PaCO₂ observados estejam novamente mais relacionados à uma maior alteração na relação ventilação-perfusão alveolar, em função do timpanismo ruminal, provavelmente mais severo, em animais submetidos à associação cetamina-midazolam/xilazina, comparados aos animais submetidos à tiletamina-zolazepam/xilazina.

Embora os valores médios de pHa em todos os grupos experimentais observados estejam dentro do limite de 7,35 e 7,45, foi possível observar hipercarbia (PaCO₂ > 45 mmHg), aumento da concentração de HCO₃ e do BEa no decorrer da monitoração anestésica, porém, com exceção do grupo TZ/X-O₂ para a variável BEa, sem diferenças significativas. Este desequilíbrio ácido-básico provavelmente reflete um quadro compensatório de acidose respiratória aguda, uma vez que houve tendência à redução da PaCO₂ e elevação da [HCO₃-] no decorrer da monitoração anestésica (T20, T40 e T60) quando comparado à T0, associado à um quadro também compensatório de acidose metabólica, tendo em vista as altas concentrações de lactato em T0. No exercício muscular anaeróbio o metabolismo oxidativo, no qual íons [H⁺] são liberados na quebra de adenosina trifosfato (ATP) em adenosina difosfato (ADP) e quando a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) é oxidada em nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD+) na mitocôndria para produção do lactato, ocorre a redução do pHa. A metabolização do lactato após a cessação do exercício muscular permite que os íons [H⁺] sejam consumidos elevando o pHa e causando elevação do BEa, através do restabelecimento de ácidos fixos não-voláteis como os fosfatos (DiBARTOLA, 2007). Esse mecanismo, provavelmente contribuiu para tendência de elevação do pHa e redução significativa do lactato após T0.

Achados similares aos obtidos no presente estudo para o pHa e BEa foram descritos em bisões anestesiados com tiletamina-zolazepam/xilazina e tiletamina-

zolazepam/medetomidina (CAULKETT et al., 2000), entretanto, nestes animais foi observado aumento da PaCO₂ no decorrer da monitoração anestésica e não uma tendência de redução da mesma. As diferenças observadas para PaCO₂ no estudo de Caulkett et al. (2000) em relação ao presente estudo, podem estar relacionadas a uma hipoventilação mais acentuada devido ao maior peso corpóreo de bisões ou mesmo a uma menor eficiência em compensar a acidose respiratória quando comparados aos veados-campeiro.

No presente estudo não foi possível observar aumento significativo na PAM em animais submetidos à TZ/X ou C/M/X sem SIO como resultado da hipoxemia, assim como previamente descrito em *Rangifer tarandus* (RISLING et al., 2011). Isso, apesar de poder estar relacionado ao menor estresse induzido por valores superiores de PaO₂ no presente estudo, quando comparado ao estudo de Risling et al. (2011), não descarta a possibilidade do timpanismo ruminal observado em todos os grupos possa ter mascarado possíveis elevações na PAM em resposta ao estresse hipoxêmico.

O tempo de recuperação anestésica não diferiu significativamente entre os protocolos utilizados, nem reduziram significativamente em função da SIO, como previamente observado por Risling et al. (2011), em cervídeos suplementados com O₂ por via intranasal. Também não foi observado que a SIO melhora a qualidade de recuperação anestésica, com base nos escores de qualidade de recuperação anestésica utilizados. Isto pode estar relacionado ao fato de terem sido utilizados antagonistas específicos para reversão dos efeitos de todos os fármacos anestésicos utilizados no estudo de Risling et al. (2011) e, no presente estudo, somente os efeitos da xilazina terem sido antagonizados com o uso da ioimbina. Assim, os outros fármacos não antagonizados neste estudo podem ter contribuído para mascarar uma possível redução no tempo ou na melhoria da qualidade de recuperação anestésica em função da SIO.

A dose da ioimbina passou a ser administrada por duas vias diferentes (metade da dose por via IM e a outra metade por via IV) durante o experimento. Essa alteração de protocolo foi motivada por medidas de segurança, após o episódio de fratura do chifre de um animal durante a recuperação anestésica, embora sinais aparentes excitação central em função da administração IV da ioimbina, não tenham

sido observados e também pode ter dificultado a interpretação dos resultados de qualidade e tempo de recuperação da anestesia.

Conclusões

Podemos concluir que, apesar da bradicardia, não houve hipotensão arterial em ambos os protocolos utilizados. Tanto a associação TZ/X como a associação C/M/X resultaram em hipoxemia (valores de PaO₂ abaixo de 80 mmHg) em veadoscampeiro. O decúbito esternal e o timpanismo ruminal provavelmente contribuíram para menor oxigenação observada no sangue arterial no decorrer da contenção química com TZ/X e C/M/X. A SIO elevou significativamente a PaO₂ nos dois protocolos anestésicos utilizados, sendo, portanto, recomendada durante a contenção química em veados-campeiro anestesiados com TZ/X ou C/M/X.

Referências

AUER, U.; WENGER, S.; BEIGELBÖCK, C.; ZENKER, W.; MOSING, M. Total intravenous anesthesia with midazolam, ketamine, and xylazine or detomidine following induction with tiletamine, zolazepam, and xylazine in red deer (*Cervus elaphus hippelaphus*) undergoing surgery. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 46, n. 4, p. 1196-1203, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.5167/uzh-36361. BECKER, H. F.; POLO, O.; McNAMARA, S. G.; BERTHON-JONES, M.; SULIVAN, C. E. Effects of different levels of hyperoxia on breathing in health subjects. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.81, n. 4, p. 1683-1690, 1996.

CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos centrais de transmissão e de modulação da dor. Atualização terapêutica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 3, p. 221-240, 1998.

CAULKETT, N. A.; CATTET, M. R. L.; CANTWELL, S.; COOL, N.; OSLEN, W. Anesthesia of wood bison with medetomidine-zolazepam/tiletamine and xylazine-

zolazepam/tiletamine combinations. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 41, n. 1, 2000.

CAULKETT, N. A.; CRIBB, P. H., HAIGH, J. C. Comparative cardiopulmonary effects of carfentanil/xylazine and medetomidine/ketamine used for immobilization of mule deer and mule deer/white-tailed deer hybrids. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 64, n. 1, p. 64-68, 2000.

CAULKETT, N.; HAIGH, J. C. Deer (Cervids). In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 607-612.

CELLY, C. S.; McDONELL, W. N. YOUNG, S. S.; BLACK, W. D. The comparative hypoxaemic effect of four α-2 adrenoceptor agonists (xylazine, romifidine, detomidine and medetomidine) in sheep. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 464-471, 1997. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2885.1997.00097.x.

CHRISTOFOLETTI, M. D; PEREIRA, R. J. G.; DUARTE, J. M. B. Influence of husbandry systems on physiological stress reactions of captive brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) – noninvasive analysis of fecal cortisol metabolites. **European Journal of Wildlife Research**, New York, v. 56, n. 4, p. 561-568, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s10344-009-0350-8.

DiBARTOLA S. P. Distúrbios ácido-básicos metabólicos. In: _____.

Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais. 3ª ed. São Paulo: Editora Rocca, 2007. p. 239-269.

DEJONGE, A.; TIMMERMANS, P.B. M. W. M.; VAN ZWIETEN, P. A. Quantitative aspects of alpha adrenergic effects induced by clonidine-like imidazolidines. III Comparison of central and peripheral alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors. The **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Baltimore, v. 226, n. 2, p. 565-571, 1983.

DELGIUDICE, G. D.; SAMPSON, B. A.; KUEHN, D. W.; POWELL, M. C.; FIEBERG, J. Understanding margins of the safe capture, chemical immobilization, and handling of free-ranging white-tailed deer. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 33, n. 2, p. 677-687, 2005.

DELGIUDICE, G. D.; SEAL, U. S.; KREEGER, T. J. Xylazine and ketamine-induced glycosuria in white-tailed deer. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 24, n. 2, p. 317-321, 1988.

EGER II, E.; SAIDMAN, L.J.; BRANDSTATER, B. Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 26, n. 6, p. 756-763, 1965.

FERNÁNDEZ-MORÁN. J.: PALOMEQUE. J.: PEINADO. V.I. Medetomidine/tiletamine/zolazepam and xylazine/tiletamine/zolazepam combinations for immobilization of fallow deer (Cervus dama). Journal of Zoo and Wildlife Medicine. Lawrence, v. 31, n. 1, p. 62-64, 2000. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0062:MTZAXT]2.0.CO;2.

GALATOS, A. D. Anesthesia and analgesia in sheep and goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 7, n. 1, p. 47-59, 2011. Disponível em:http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.10.007.

GALKA, M. E.; AGUILAR, J. M.; QUEVEDO, M. A.; SANTISTEBAN, J. M.; GÓMEZ-VILAMANDOS, R. J. Alpha-2 agonist dissociative anesthetic combination in fallow deer (*Cervus Dama*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 30, n. 3, p. 451-453, 1999.

GREENE, S. A.; HARVEY, R. C. Airway disease. In: THURMON, J.C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia.** 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 807-811.

GONZÁLEZ, S.; DUARTE, J. M. B. Emergency pampas deer captures in Uruguay. **Deer Specialist Group News**, Newsletter n° 18, p. 16-17, 2003. Disponível em: http://iibce.edu.uy/DEER/>. Acesso em: 30 ago. 2012.

HIROTA, K.; LAMBERT, S. H. Ketamine: its mechanism(s) of action and unusual clinical uses. **British Journal of Anaesthesia**, Oxford, v. 77, n. 4, p. 441-444, 1996. IUCN. **Red List of Threatened Species**. Version 2012.2.

http://www.iucnredlist.org. Acesso em: 7 Nov. 2012.

JANICKI, Z.; KONJEVIĆ, D.; SLAVICA, A.; SEVERIN, K. Reversal chemical immobilization of wild red deer (*Cervus elaphus L.*) using tiletamine-zolazepam – xylazine hydrochloride mixture. **Veterinarski Archiv**, Zagreb, v. 76, n. 3, p. 237-244, 2006.

JANOVSKY, M; TATARUCH, F; AMBUEHL, M; GIACOMETTI, M. A zoletil[®]-rompun[®] mixture as an alternative to the use of opioids for immobilization of feral red deer. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 4, p. 662-669, 2000.

KARESH, W. B.; COOK, R. A. Applications of veterinary medicine to in situ conservation efforts. **Oryx**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 244-252, 1995.

KILPATRICK, H. J.; SPHOR, S. M. Telazol[®]-xylazine versus ketamine-xylazine: a field evaluation for immobilizing white-tailed deer. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 27, n. 3, p. 566-570, 1999.

KLEIN, L. V.; KLIDE, M. A. Central α_2 adrenergic and benzodiazepine agonists and their antagonists. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 20, n. 2, p. 138-153, 1989.

KREEGER, T. J.; DELGIUDICE, G. D.; SEAL, U. S.; KARNS, P. D. Immobilization of white-tailed deer with xylazine hydrochloride and ketamine hydrochloride and antagonism by tolazoline hydrochloride. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 22, n. 3, p. 407-412, 1986.

LACERDA, A. C. R. Ecologia e estrutura social de veado-campeiro (*Ozotocerus bezoarticus*) no pantanal. 2008. 194 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LEMKE, K. A. Perioperative use of selective alpha-2 agonists and antagonists in small animals. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 45, n. 6, 2004.

MASSONE, F. Neuroleptoanalgesia e anestesia dissociativa. In:_____. Anestesiologia veterinária. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 89-102.

MAZE, M.; TRANQUILLI, W. Alpha-2 adrenoceptor agonists: defining the role in clinical anesthesia. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 74, n. 3, 1991.

McDONELL, W. Respiratory system. In: THURMON, J.C.; TRANQUILLI, W. J.; BENSON, G. J. **Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia.** 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 115-147.

McKELVEY, W. A. C.; SIMPSON, C. A. Reversal of the effects of xylazine and xylazine/ketamine in red deer. **Veterinary Record**, London, v. 117, n. 14, p. 362-363, 1985.

MICH P. M.; WOLFE L. L.; SIROCHMAN T. M.; SIROCHMAN M. A.; DAVIS T. R.; LANCE W. R.; MILLER M. W. Evaluation of intramuscular butorphanol, azaperone, and medetomidine and nasal oxygen insufflation for the chemical immobilization of white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 39, n. 3, p. 480-487, 2008. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/2007-0150.1.

MILLAPAUGH, J. J.; BRUNDIGE, G. C.; JENKS, J. A.; TYNER, C. L.; HUSTEAD, D. R. Immobilization of Rock Mountain Elk with telazol[®] and xylazine hydrochloride, and antagonism by yohimbine hydrochloride. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 31, n. 2, p. 259-262, 1995.

MILLER, B. F.; MULLER, L. I.; DOHERTY, T.; OSBORN, D. A.; MILLER, K. V.; WARREN, R. J. Effectiveness of antagonists for tiletamine-zolazepam/xylazine immobilizations in female white-tailed deer. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 40, n. 3, p. 533-537, 2004.

MOURÃO, G; COUTINHO, M.; MAURO, R.; CAMPOS, Z.; TOMÁS, W.; MAGNUSSON, W. Aerial surveys of caiman, marsh deer and pampas deer in the Pantanal Wetland of Brazil. **Biological Conservation**, Essex, v. 92, n. 2, p. 175-183, 2000.

MUIR, W. W. Effects of atropine on cardiac rate and rhythm in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 172, p. 917-921, 1978. MUNERATO, M. S. **Uso do isofluorano em veados-catingueiro (Mazama gouazoubira) pré-tratados com diferentes protocolos de contenção química.** 115 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

MUNERATO, M. S.; ZANETTI, E. S.; MARQUES, J. M.; DUARTE, J. M. B. Effects of laparoscopy in cardiorespiratory system of brow brocket deer (*Mazama gouazoubira*) anesthetized with ketamine/xylazine/midazolam combination and isoflurane. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 11, p. 555-560, 2008. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008001100003.

MURRAY, S.; MONFORT, S. L.; WARE, L.; McSHEA, W. J.; BUSH, M. Anesthesia in female white-tailed deer using telazol[®] and xylazine. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 4, p. 670-675, 2000.

NUNES, A. L. V. Estudo comparativo entre as associações quetamina-xilazina, quetamina-midazolam-xilazina e quetamina-midazolam-acepromazina para a anestesia do cervo-do-pantanal *Blastocerus dichotomus* (Illiger, 1811) (Mammalia, CERVIDAE) em vida livre. 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Anestesiologia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

NUNES, A. L. V.; GASPARINNI, R. L.; DUARTE, J. M. B.; PINDER, L.; BUSCHINELLI, M. C. Captura, contenção e manuseio. In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos**: *Blastocerus, Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 1-21.

OLIVEIRA, C. M. B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GARCIA, J. B. S. Cetamina e analgesia preemptiva. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 5, p. 739-752, 2004.

PALME, R.; MÖSTL, E. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. **International Journal of Mammalian Biology**, v. 62, supp. 2, p. 192-197, 1997.

PATERSON, J. Capture Myopathy. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 115-122.

PATERSON, J. M.; CAULKETT, N. A.; WOODBURRY, M. R. Physiologic effects of nasal oxygen or medical air administered prior to and during carfentanil – xylazine anesthesia in North American Elk (*Cervus canadensis manitobensis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 40, n. 1, p. 39-50, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/2007-0107.1.

PINHO, M. P. Emprego da xilazina ou romifidina associadas à cetamina-midazolam na contenção química de veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). 2000. 84 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

PINHO, M. P.; MUNERATO, M. S.; NUNES, A. L. V. Anesthesia and chemical immobilization. In: DUARTE J. M. B.; GONZÁLEZ S. **Neotropical cervidology:**

Biology and medicine of Latin America deer. Jaboticabal: Funep/IUCN, 2010. p. 228-239.

PIOVEZAN, U.; ZUCCO, C. A.; LOPES ROCHA, F. First report of darting to capture of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). **Deer Specialist Group News**, Newsletter n. 21, p. 3-7, 2006. Disponível em: http://iibce.edu.uy/DEER/. Acesso em: 30 ago. 2012.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. Amino acid transmitters. In:_____. **Pharmacology.** 6th ed. Elsevier: Philadelphia, 2007a. p. 479-491.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. Anxiolytic and hypnotic drugs. In:_____. **Pharmacology.** 6th ed. Elsevier: Philadelphia, 2007b. p. 535-544.

READ, M. R. A review of alpha₂ adrenoreceptor agonist and the development of hypoxemia in domestic and wild ruminants. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 34, n. 2, p. 134-138, 2003.

READ, M. R.; CAULKETT, N. A.; SYMINGTON, A.; SHURY, T. K. Treatment of hypoxia during xylazine-tiletamine-zolazepam immobilization of wapiti. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 42, n. 11, p. 861-864, 2001.

RISLING, T. E.; FAHLMAN, A.; CAULKETT, N. A.; KUTZ, S. Physiological and behavioural effects of hypoxemia in reindeer (*Rangifer tarandus*) immobilised with xylazine-etorphine. **Animal Production Science**, Collingwood, v.51, n.4, p. 355-358, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1071/AN10190.

RODRIGUES, F. H. G.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Home range and activity patterns of pampas deer in Emas National Park. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v.81, n. 4, p. 1133-1142, 2000.

SCRIABINE, A,; SWEET, C. S.; LUDDEN, C. T.; STAVORSKY, J. M.; WENGER, H. C.; BOHIDAR, N. R. Some cardiovascular effects of ST-91 and clonidine. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 43, n. 4, p. 333-341, 1977. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/0014-2999(77)90039-5.

SHORT, E. C.; STAUFFER, J.; GOLDBERG, G.; VAINIO, O. The use of atropine to control hart rate responses during detomidine sedation in horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 27, p. 548-559, 1986.

TAYLOR, P. M. Anaesthesia in sheep and goats. **In Practice**, London, v. 13, n. 1, p. 31-36, 1991. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1136/inpract.13.1.31.

TREMPER, K. K. Pulse oximetry. **Chest**, Chicago, v. 95, n. 4, p. 713-715, 1989.

VOGLIOTTI, A. História natural de *Mazama bororo* (Artiodactyla; Cervidae) através de etnozoologia, monitoramento fotográfico e rádio-telemetria. 2003. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade do Estado de São Paulo, Piracicaba, 2003.

WALTER, W. D.; LESLIE, JR., D. M. L.; HERNER-THOGMARTIN, J. H.; SMITH, K. G.; CARTWRIGHT, M. E. Efficacy of immobilizing free-ranging elk with telazol[®] and xylazine hydrochloride using transmitter-equipped darts. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 4, n. 1, p. 395-400, 2005.

WRIGHT, M. Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 180, n. 2, p. 1462-1471, 1982.

CAPÍTULO 3 - Hematologia e bioquímica sérica de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre anestesiados com tiletamina-zolazepam/xilazina ou cetamina/midazolam/xilazina submetidos ou não à suplementação intranasal de oxigênio

Resumo - Alterações nos constituintes celulares e bioquímicos do sangue são indicativos dos efeitos da captura e da contenção química. O objetivo com o presente estudo foi avaliar os efeitos das associações tiletamina-zolazepam/xilazina (TZ/X) ou cetamina/midazolam/xilazina (C/M/X), com e sem suplementação intranasal de oxigênio (SIO), nas variáveis hematológicas e bioquímicas de veadoscampeiro (Ozotoceros bezoarticus) de vida livre. Foram capturados 40 animais adultos, 21 fêmeas e 19 machos no Pantanal sul-mato-grossense, Brasil. Estes foram aleatoriamente anestesiados, conforme os seguintes grupos: TZ/X tiletamina-zolazepam (2,9 ± 0,8 mg/kg) / xilazina (1,2 ± 0,3 mg/kg), sem SIO; TZ/X- O_2 - TZ/X (2,9 ± 0,8 mg/kg / 1,2 ± 0,3 mg/kg), com SIO em fluxo de 3L/min durante 60 minutos; C/M/X - cetamina (8,8 \pm 2,0 mg/kg) / midazolam (0,7 \pm 0,2 mg/kg) / xilazina (0,4 \pm 0,1 mg/kg), sem SIO; e C/M/X-O₂ - C/M/X (8,8 \pm 2,0 mg/kg / 0,7 \pm 0,2 mg/kg / 0,4 ± 0,1 mg/kg), com SIO conforme mencionado em TZ/X-O₂. A colheita de sangue venoso foi realizada logo após a indução anestésica (T0) e a cada 20 min durante a anestesia (T20, T40 e T60). Os constituintes hematológicos e bioquímicos foram obtidos por métodos manuais ou automatizados o cortisol por meio de ensaio imunoenzimático. Α concentração de glicose plasmática aumentou significativamente após T0 (P < 0,01) nos grupos TZ/X e TZ/X-O₂. A concentração de lactato reduziu significativamente após T40 (P < 0,01) em todos os grupos. A SIO não resultou em alterações em nenhum parâmetro avaliado. A redução do lactato e elevação da glicose plasmática durante a anestesia provavelmente foram decorrentes da cessação do exercício muscular após a indução anestésica e do uso de maiores doses de xilazina nos animais dos grupos anestesiados com a associação TZ/X, respectivamente.

Palavras-chave: Anestesia, eletrólitos, lactato, *Ozotoceros bezoarticus*, ruminante, veado

Hematology and serum chemistry of free-ranging pampas deer anesthetized with tiletamine-zolazepam/xylazine or ketamine/midazolam/xylazine with and without intranasal oxygen supplementation

Abstract - Alterations on blood chemistry and cellular constituents are consequences of capture stress and chemical restraint in cervids. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of tiletamine-zolazepam/xylazine (TZ/X) or ketamine/midazolam/xylazine (C/M/X) combinations with and without intranasal oxygen supplementation (IOS) on hematologic and biochemical analytes in freeranging pampas deer (Ozotoceros bezoarticus). Forty adults deer, 21 females (mean \pm SD; 26.8 \pm 3.2 kg) and 19 males (27.8 \pm 5.0 kg) were captured in the South Pantanal wetland, Brazil. Two anesthetic protocols, with and without IOS, were randomly administrated (i.m.): TZ/X - tiletamine-zolazepam (2.9 ± 0.8 mg/kg) / xylazine (1.2 \pm 0.3 mg/kg), without IOS; TZ/X-O₂ – TZ/X (2.9 \pm 0.8 mg/kg / 1.2 \pm 0.3 mg/kg), with IOS at a rate of 3 L/min during 60 minutes; K/M/X – ketamine (8.8 ± 2.0 mg/kg) / midazolam (0.7 ± 0.2 mg/kg) / xylazine (0.4 ± 0.1 mg/kg), without IOS; and $K/M/X-O_2 - K/M/X$ (8.8 ± 2.0 mg/kg / 0.7 ± 0.2 mg/kg / 0.4 ± 0.1 mg/kg), with IOS as TZ/X-O₂. Venous blood was collected after induction (T0) and with 20 minutes of intervals (T20, T40 and T60). Hematologic and biochemical constituents were determined using manual methods or automated analyzers, with cortisol measured by enzyme immunoassay. The plasma glucose significantly increased after T0 (P < 0.01) in TZ/X and TZ/X-O₂ groups. The lactate concentration significantly reduced (P < 0,01) after T40 in all groups. Hematology and blood chemistry were not altered due to IOS in TZ/X-O2 and K/M/X-O2. The decrease of lactate and increases of glucose values observed during anesthesia monitoring in all groups were probably consequences of exercise cessation after anesthesia induction and the use of higher doses of xylazine in deer anesthetized with TZ/X combination, respectively.

Key words: Anesthesia, deer, electrolytes, lactate, *Ozotoceros bezoarticus*, ruminant

Introdução

Cervídeos, por serem animais de comportamento reconhecidamente ágil e violento frente a um estímulo estressor (GASPARINNI; DUARTE; NUNES, 1997), frequentemente sofrem alterações fisiológicas severas em procedimentos que resultem em sua manipulação. Por esta razão, a imobilidade e a inconsciência são desejáveis e, desde de 1953 (SEAL; BUSH, 1987), inúmeros protocolos de contenção química vêm sendo propostos em diversas espécies, visando melhorar a contenção química e minimizar os riscos durante a manipulação.

A captura e contenção química de cervídeos geralmente são conduzidas sob circunstâncias difíceis (FAHLMAN, 2005) e complicações como hiper ou hipotermia (CAULKETT, 1997; BOESCH et al., 2011), hipoventilação, hipoxemia (MURRAY et al., 2000; READ et al., 2001, READ, 2003; RISLING et al., 2011), acidose respiratória e/ou metabólica (MUNERATO, 2007; BOESCH et al., 2011), miopatia de captura (BERINGER et al., 1996; PATERSON, 2007) e traumas (GASPARINNI; DUARTE; NUNES, 1997) já foram descritas. Além disso, alterações hematológicas e bioquímicas do sangue refletem os efeitos da captura e/ou contenção físico-química nesses animais.

Os dados disponíveis na literatura indicam que cervídeos e ungulados selvagens, submetidos à contenção física manual, possuem concentração sérica de proteínas totais e hematócrito mais elevados que animais submetidos à contenção química (SEAL et al., 1972; PRESIDENTE et al., 1973; WESSON et al., 1979; RIETKERK et al., 1994; MARCO; LAVÍN, 1999; MUNERATO et al., 2010).

Veados-galheiros (*Odocoileus virginianus*) de vida livre, capturados com armadilhas do tipo *Clover*, apresentaram, além de acidose metabólica, maior elevação de lactato e íons sódio e menor pH e déficit de bases do que animais submetidos à perseguição terrestre seguida de injeção remota dos fármacos anestésicos por dardos utilizando rifle de ar comprimido (BOESCH et al., 2011), indicando que a captura por armadilhas promove maior estresse aos animais. Além disso, já foi descrito hiperglicemia em resposta ao uso de fármacos agonistas α-2 e redução da contagem de linfócitos e cortisol plasmático com uso de

benzodiazepínicos durante a contenção química de cervídeos neotropicais (MUNERATO et al., 2010).

Embora vários relatos sobre os constituintes do sangue de cervídeos tenham sido publicados até o momento, diferenças na colheita de sangue, sexo, idade, sazonalidade, estado nutricional e fármacos utilizados na contenção química dificultam a comparação e compreensão dos resultados disponíveis, principalmente nas espécies neotropicais, cujos os dados são escassos. Atualmente, apenas estão disponíveis dados sobre três das oito espécies de cervídeos neotropicais, sendo um estudo em *Blastocerus dichotomus* (SZABÓ et al., 2005), outro em *Ozotoceros bezoarticus celer* de vida livre (UHART et al., 2003) e dois em *Mazama gouazoubira* mantidos em cativeiro (HOPPE et al., 2010; MUNERATO et al., 2010). Destes, apenas o estudo de Munerato et al. (2010) correlaciona os efeitos da contenção físico-química utilizando colheitas de sangue seriadas de modo padronizado.

Assim, devido à existência de inúmeras alterações associadas ao estresse, muitas questões continuam a respeito de como mensurar sua resposta, especialmente em cervídeos neotropicais. Portanto, os objetivos com este estudo foram: avaliar o efeito do estresse da captura e contenção química nos parâmetros hematológicos, bioquímicos, eletrolíticos e cortisol sérico de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre e gerar valores de referência para animais desta espécie capturados com diferentes protocolos de contenção química, tiletamina-zolazepam/xilazina (TZ/X) ou cetamina/midazolam/xilazina (C/M/X), com e sem suplementação intranasal de oxigênio (SIO).

Material e métodos

Animais

Foram capturados 40 veados-campeiro adultos, 21 fêmeas (26,8 ± 3,2 kg; média ± DP) e 19 machos (27,8 ± 5,0 kg), em uma região conhecida como Nhecolândia (18° 59' 15" S; 56° 37' 03" W) no Pantanal sul-mato-grossense, município de Corumbá, Brasil. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV -

Unesp, protocolo 015077/09) e obteve licença do ICMBio (número 21491-1) para captura dos animais e colheita de material biológico.

Método de captura e protocolos anestésicos

As capturas foram realizadas utilizando-se dois métodos de aproximação: com veículo e à pé. Quando a distância de aproximadamente 15 a 25m era alcançada, dois protocolos anestésicos, com e sem SIO, eram aleatoriamente administrados aos animais via intramuscular (IM), utilizando-se dardos e rifle de ar comprimido ¹ para injeção remota dos fármacos. Assim, quatro grupos foram formados, totalizando 10 animais por grupo: **TZ/X** – administração da associação TZ/X² (2,9 ± 0,8 / 1,2 ± 0,3 mg/kg) sem SIO; **TZ/X-O₂** - TZ/X como descrito em TZ/X, com SIO utilizando-se 100% de oxigênio em fluxo de 3 L/min, por um período de 60 minutos; **C/M/X** - C/M/X³ (8,8 ± 2,0 / 0,7 ± 0,2 / 0,4 ± 0,1 mg/kg) sem SIO e **C/M/X-O₂** - C/M/X como descrito em C/M/X, com SIO como descrito em TZ/X-O₂. Ao final do monitoração, os animais receberam 0,2 mg/kg de ioimbina (½ via IM e ½ via intravenosa).

O período em que os animais permaneceram conscientes, desde o início da aproximação, do veículo ou do atirador à pé, até a completa indução anestésica, foi definido como tempo de estresse. O tempo decorrido entre a injeção total ou parcial do dardo anestésico e o decúbito esternal ou lateral do animal sem sinais de movimentação foi definido como tempo de indução.

Colheita das amostras e análises laboratoriais

As amostras de sangue venoso foram colhidas imediatamente após a indução anestésica (T0). Logo após a colheita de sangue venoso em T0, foi a realizada instrumentação do animal, período compreendido entre o início da manipulação deste, para colocação de venda, protetores auriculares, pesagem e sonda intranasal (TZ/X-O₂ e C/M/X-O₂), até o estabelecimento do acesso arterial, com a introdução do cateter na artéria auricular, correta colocação dos sensores do monitor

¹ Dist-Inject[®], Modelo 50, Basel, Switzerland.

² Zoletil® 50, Virbac, Jurubatuba, São Paulo, Brasil / Sedomin, Könin, Buenos Aires, Argentina.

³ Vetaset, Ford Dogde Saúde Animal Ltda., Campinas, São Paulo, Brasil / Dormonid®, Roche, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil / Sedomin, Könin, Buenos Aires, Argentina.

multiparamétrico e calibração do transdutor de pressão arterial invasiva, utilizados durante a monitoração da anestesia. O transdutor de pressão arterial acoplado no cateter introduzido na artéria auricular foi calibrado à pressão atmosférica, tendo como ponto zero de referência o esterno do animal, para monitoração contínua e registro a cada 5 minutos da pressão arterial.

Ao final da instrumentação, a monitoração anestésica teve início. A primeira amostra de sangue arterial foi colhida logo após o estabelecimento do acesso arterial, durante o período de instrumentação, e, por isso, foi também considerada como T0. A segunda amostra arterial foi colhida 20 minutos após T0, concomitantemente à colheita da segunda amostra de sangue venoso (T20). A partir de T20, outras duas amostras de sangue venoso e arterial foram colhidas com intervalos de 20 minutos durante a monitoração anestésica (T40 e T60). Não foram administrados fluidos intravenosos durante a anestesia.

A colheita de sangue venoso foi realizada sempre por venopunção da jugular esquerda utilizando-se tubos Vacutainers[®] de 2, 5 e 10 ml contendo fluoreto de sódio para determinação da glicose e lactato plasmático; EDTA para contagem de hemácias, hematócrito e preparação dos esfregaços sanguíneos; e sem anticoagulante para determinação da concentração de cortisol, ureia, creatinina, albumina, cloretos e proteínas totais sérica. Todas as amostras de sangue venoso foram refrigeradas (4 °C) até o final de cada dia experimental e processadas no mesmo dia da colheita para realização da contagem de hemácias, hematócrito, preparação dos esfregaços sanguíneos e armazenagem de plasma e soro em nitrogênio líquido (-196°C) para dosagens bioquímicas e do cortisol. As dosagens bioquímicas e contagem diferencial de leucócitos foram realizadas no laboratório de patologia clínica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV / Unesp.

Para a determinação da concentração de hemoglobina e de eletrólitos (Na⁺, K⁺ e iCa⁺²), 1 ml de sangue arterial foi colhido da artéria auricular, usando seringas previamente heparinizadas. Tais amostras foram mensuradas imediatamente após a colheita em analisador sanguíneo portátil i-STAT, utilizando-se cartões de leitura EG7+.

A contagem de hemácias e leucócitos foi realizada manualmente em câmara de Neubauer e o hematócrito foi obtido por centrifugação a 9500*g* por 5 minutos. O

volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados após a contagem de hemácias (He), determinação do hematócrito (Ht) e da hemoglobina (Hb), segundo às fórmulas: VCM = (Ht x 10) / [He]; HCM = ([Hb] x 10) / [He] e CHCM = ([Hb] x 100) / [Ht]. As contagens diferenciais de leucócitos foram obtidas em esfregaços sanguíneos corados com panótico, realizadas por um técnico de laboratório experiente, que enumerou 100 leucócitos consecutivos em cada lâmina.

A concentração de ureia, creatinina, albumina, proteínas totais e cloretos do soro sanguíneo foi determinada utilizando-se kits comerciais da marca Labtest e posterior leitura espectrofotométrica. A glicose e o lactato plasmático foram mensurados em duplicata por método eletroenzimático, utilizando-se lactímetro⁴. Os demais métodos utilizados na mensuração da bioquímica sanguínea estão descritos na tabela 1. A osmolalidade foi calculada pela fórmula: Osmolalidade = $2 \times ([Na^+] + [K^+]) + 3 \times [iCa^{+2}] + [glicose] + [ureia].$

O cortisol sérico foi mensurado por meio de ensaio imunoenzimático (EIA). O anticorpo policional cortisol-3-carboxymethyl-oxime:BSA foi obtido de coelhos. A Cortisol-3-CMO-DADOO-biotina (cortisol marcado por biotina) foi utilizada como marcador. Detalhes sobre o EIA utilizado, incluindo a descrição das reações cruzadas estão disponíveis em Palme e Möstl (1997). As amostras de soro foram descongeladas e 0,5 ml soro liofilizado⁵ por 24h, para serem enviados ao laboratório de Bioquímica da "University of Veterinary Medicine" de Viena, Áustria, responsável pela dosagem do cortisol. As amostras liofilizadas foram dissolvidas em 0,5 ml de tampão de diluição e extraídas em 5 ml de éter dietílico. Após agitação em vortex (15 min) e centrifugação (2500g; 10 min), as amostras foram congeladas. O éter dietílico (contendo o cortisol) foi então transferido para tubos limpos e evaporado, utilizando sistema de ventilação contendo ar comprimido, e 0,5 ml de tampão de diluição foram adicionados aos tubos. Após nova agitação em vortex (15 min), os extratos foram diluídos (1:10) em tampão de diluição e dosados (10 µl) em duplicata. Os coeficientes de variação dentro dos ensaios (intra-assay) foram < 10% e os coeficientes de variação entre os ensaios (*inter-assay*) foram de 5,1% e 18,8% (n = 5

⁴ 2300 Yelow Springs Instrument Co., Yelow Springs, Ohio, EUA.

⁵ Model LGA05, Web LMW Medizintechnik, Leipizig, Germany.

placas) para *pool* de amostras com alta e baixa concentração de cortisol, respectivamente. O limite de detecção do EIA foi de 0,3 ng/ml de soro.

Tabela 1 - Métodos analíticos utilizados para determinação dos constituintes bioquímicos do plasma e do soro sanguíneo de veados-campeiro (Ozotoceros bezoarticus) de vida livre.

Constituintes	Métodos					
Creatinina (soro)	Método quantitativo baseado na reação de Jaffe					
Ureia (soro)	Método fotométrico usando a reação de urease - GLDH					
Proteínas totais (soro)	Método colorimétrico usando a reação de biureto					
Albumina (soro)	Verde de bromocresol					
Lactato (plasma)	Método eletro-enzimático usando a reação de oxidação do lactato					
Glicose (plasma)	Método eletro-enzimático usando a reação de oxidação da glicose					
Na+ (plasma)	Eletrodo Ion-seletivo					
K+ (plasma)	Eletrodo Ion-seletivo					
iCa+2 (plasma)	Eletrodo Ion-seletivo					
Cl- (soro)	Método colorimétrico baseado na reação com tiocianato de mercúrio					

Análise estatística

Os dados foram analisados por meio da análise de variância de medidas repetidas (ANOVA), usando delineamento experimental em parcelas subdivididas, com quatro grupos experimentais (TZ/X, TZ/X-O₂, C/M/X e C/M/X-O₂) como fonte principal de variação. Os tempos de colheita (T0, T20, T40 e T60) e as interações entre os grupos e tempos, foram usados como fonte secundária de variação, seguidos da aplicação do teste de Tukey. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para verificar possíveis correlações entre a concentração de lactato em T0 e o tempo de estresse. As análises foram realizadas usando o Proc GLM do programa SAS 9.06. Quando o desvio padrão (DP) foi proporcional a sua média, a transformação logarítmica log (observação + 1) foi utilizada para estabilizar a variância. Os valores foram expressos como média (± DP) e valores de P ≤ 0,05 considerados significativos.

_

⁶ SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

Resultados

Não foram observadas diferenças significativas entre os pesos de fêmeas e machos. O tempo de indução anestésica foi maior (P = 0,04) em veados-campeiro anestesiados com a associação C/M/X (18,4 \pm 12,4 min) quando comparado aos animais anestesiados com TZ/X (11,7 \pm 6,8 min). Porém, não foram observadas diferenças significativas no tempo de estresse entre os protocolos anestésicos mencionados (35,7 \pm 18,8 min; 46,2 \pm 14,1 min, respectivamente).

Não houve diferenças no tempo de instrumentação entre os grupos experimentais (TZ/X = 15 \pm 7; TZ/X-O₂ = 19 \pm 3; C/M/X = 15 \pm 6 e C/M/X-O₂ = 14 \pm 4 min). Entretanto, três animais do C/M/X tiveram um tempo de anestesia menor que 60 minutos, não sendo possível colher três amostras de sangue venoso no T60. Um animal do C/M/X apresentou apneia durante o T20, impossibilitando a colheita de sangue venoso nesse período, em virtude da necessidade de se proceder a ventilação assistida por meio de intubação endotraqueal. Dois animais do C/M/X-O₂ também tiveram um menor tempo de anestesia, impossibilitando a colheita de uma amostra de sangue venoso no T40 e de duas amostras no T60. O analisador sanguíneo portátil não mensurou a concentração de hemoglobina do sangue arterial em uma amostra (T0) de um animal do C/M/X-O₂. Além disso, o aparelho também demostrou erros na leitura de: íons Na⁺, em um animal do C/M/X e um do C/M/X-O₂ referentes aos momentos T60 e T0, respectivamente; de íons K⁺, em uma animal do C/M/X-O₂ em T0; de iCa⁺², em dois animais do C/M/X referentes aos momentos T0 e T60, reduzindo também o número de observações para o cálculo da osmolalidade nessas amostras.

Foi observada hipotensão arterial (pressão arterial média < 60 mmHg) transitória em cinco animais: um animal do TZ/X- O_2 , dois do C/M/X e dois do C/M/X- O_2 .

Não foram observadas diferenças significativas para a maioria das varáveis hematológicas estudadas na interação dos grupos com os tempos (Tabela 2). No estudo das interações foi possível observar que a concentração de ureia foi significativamente mais elevada no T0 e T60 do TZ/X-O₂ em comparação aos mesmos tempos do C/M/X. A concentração de glicose aumentou após T0 apenas no

TZ/X e TZ/X-O₂, não havendo diferenças significativas entre os tempos para os demais grupos. O lactato plasmático reduziu significativamente após T0 em todos os grupos experimentais (Tabela 3).

Tabela 2 - Valores hematológicos de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre na interação dos grupos com os tempos de colheita de sangue.

\/!4!-	Grupos -	Resultados (Média ± DP)							
Variáveis			T0		T20		T40		T60
Hematologia									
Hemácias (10 ⁶ /μl) [†]	TZ/X	$(10)^*$	$13,9 \pm 1,9$	(10)	$16,5 \pm 5,1$	(10)	$13,7 \pm 2,2$	(10)	$13,7 \pm 3,2$
	TZ/X-O ₂	(10)	$13,6 \pm 1,8$	(10)	$14,6 \pm 5,5$	(10)	$16,2 \pm 7,2$	(10	$13,5 \pm 5,1$
	C/M/X	(10)	$13,7 \pm 1,4$	(9)	$12,8 \pm 1,2$	(10)	$16,9 \pm 9,4$	(7)	$12,9 \pm 1,5$
	C/M/X-O ₂	(10)	$14,7 \pm 2,0$	(10)	$12,9 \pm 2,0$	(9)	13,4 ± 2,1	(8)	$12,7 \pm 2,0$
	TZ/X	(10)	$12,0 \pm 1,1$	(10)	$12,1 \pm 1,4$	(10)	$11,7 \pm 1,5$	(10)	$12,1 \pm 2,1$
Hemoglobina (g/dl)	TZ/X-O ₂	(10)	$11,8 \pm 1,7$	(10)	$12,0 \pm 1,5$	(10)	$12,0 \pm 1,6$	(10)	$12,3 \pm 2,5$
ricinogrooma (g/ai)	C/M/X	(10)	$11,5 \pm 1,6$	(9)	$11,7 \pm 1,6$	(10)	$11,4 \pm 1,5$	(7)	$11,6 \pm 1,6$
	C/M/X-O ₂	(9)	11,6 ± 0,9	(10)	$10,9 \pm 1,1$	(9)	11,0 ± 1,2	(8)	$10,5 \pm 1,2$
	TZ/X	(10)	$40,9 \pm 2,6$	(10)	$41,2 \pm 3,6$	(10)	$40,6 \pm 3,3$	(10)	$12,1 \pm 2,1$
Hematócrito (%)	TZ/X-O ₂	(10)	$40,4 \pm 4,5$	(10)	$40,3 \pm 3,8$	(10)	$40,1 \pm 4,1$	(10)	$12,3 \pm 2,5$
Tiematoerito (70)	C/M/X	(10)	$39,3 \pm 4,7$	(9)	$40,6 \pm 4,5$	(10)	$39,6 \pm 4,2$	(7)	$11,6 \pm 1,6$
	C/M/X-O ₂	(10)	$38,2 \pm 4,6$	(10)	$37,1 \pm 2,9$	(9)	$37,3 \pm 2,8$	(8)	$10,5 \pm 1,2$
	TZ/X	(10)	$29,8 \pm 3,5$	(10)	$27,5 \pm 5,1$	(10)	$30,2 \pm 4,7$	(10)	$40,0 \pm 3,4$
VCM (fl)	TZ/X-O ₂	(10)	$30,1 \pm 3,8$	(10)	$29,8 \pm 7,2$	(10)	$27,2 \pm 6,5$	(10)	39,6 ± 4,1
VCW (II)	C/M/X	(10)	$29,0 \pm 4,8$	(9)	$31,9 \pm 4,6$	(10)	$28,3\ \pm\ 10,8$	(7)	$40,6 \pm 4,6$
	$C/M/X-O_2$	(10)	$26,3 \pm 3,8$	(10)	$29,3 \pm 4,7$	(9)	$28,4 \pm 3,8$	(8)	$37,0 \pm 2,6$
	TZ/X	(10)	8,7 ± 1,1	(10)	8,1 ± 1,6	(10)	8,7 ± 1,8	(10)	9,3 ± 2,7
HCM (no)	$TZ/X-O_2$	(10)	$8,8 \pm 1,5$	(10)	$8,9 \pm 2,1$	(10)	$8,1 \pm 1,9$	(10)	$9,9 \pm 3,0$
HCM (pg)	C/M/X	(10)	$8,5 \pm 1,6$	(9)	$9,2 \pm 1,4$	(10)	$8,1 \pm 3,1$	(7)	$9,1 \pm 1,8$
	$C/M/X-O_2$	(9)	$8,0 \pm 1,4$	(10)	$8,6 \pm 1,2$	(9)	$8,4 \pm 1,1$	(8)	8,4 ± 1,1
	TZ/X	(10)	29,3 ± 2,1	(10)	29,3 ± 1,6	(10)	$28,7 \pm 2,3$	(10)	30,3 ± 5,3
CTTCD F (A)	$TZ/X-O_2$	(10)	$29,3 \pm 2,7$	(10)	$29,8 \pm 1,5$	(10)	$29,9 \pm 1,6$	(10)	$32,1 \pm 9,9$
CHCM (%)	C/M/X	(10)	$29,5 \pm 4,2$	(9)	$28,8 \pm 1,3$	(10)	$28,6 \pm 1,5$	(7)	$31,9 \pm 6,0$
	$C/M/X-O_2$	(9)	$30,6 \pm 4,8$	(10)	$29,5 \pm 3,8$	(9)	$29,5 \pm 3,1$	(8)	29,7 ± 4,1
	TZ/X	(10)	5,6 ± 1,1	(10)	5,5 ± 1,7	(10)	5,2 ± 1,4	(10)	5,5 ± 1,8
T / '/ (103/ 1)†	$TZ/X-O_2$	(10)	5,6 ± 2,9	(10)	$5,0 \pm 2,6$	(10)	$4,8 \pm 2,4$	(10)	$4,3 \pm 1,4$
Leucócitos (10 ³ /μl) [†]	C/M/X	(10)	5,3 ± 1,6	(9)	5,4 ± 1,8	(10)	$4,9 \pm 2,6$	(7)	$5,5 \pm 2,1$
	$C/M/X-O_2$	(10)	$4,9 \pm 2,2$	(10)	$4,9 \pm 1,9$	(9)	$5,1 \pm 1,9$	(8)	$4,9 \pm 2,6$
	TZ/X	(10)	0,0 ± 0,0	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(10)	0,1 ± 0,1
D /61 /103/ D*	$TZ/X-O_2$	(10)	$0,0 \pm 0,1$	(10)	0.0 ± 0.0	(10)	$0,0 \pm 0,1$	(10)	$0,0 \pm 0,0$
Basófilo (10³/μl) [†]	C/M/X	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(9)	$0,1 \pm 0,1$	(10)	0.0 ± 0.0	(7)	$0,0 \pm 0,0$
	C/M/X-O ₂	(10)	0.0 ± 0.1	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(9)	0.1 ± 0.1	(8)	$0,1 \pm 0,1$
	TZ/X	(10)	$0,3 \pm 0,2$	(10)	$0,4 \pm 0,4$	(10)	0.5 ± 0.4	(10)	0,4 ± 0,3
2	TZ/X-O ₂	(10)	0.3 ± 0.3	(10)	$0,2 \pm 0,1$	(10)	$0,2 \pm 0,2$	(10)	$0,1 \pm 0,1$
Eosinófilos (10 ³ /μl) [†]	C/M/X	(10)	0.5 ± 0.4	(9)	0.3 ± 0.3	(10)	0.4 ± 0.3	(7)	0.4 ± 0.3
	C/M/X-O ₂	(10)	0.3 ± 0.3	(10)	0.4 ± 0.2	(9)	0.3 ± 0.2	(8)	$0,2 \pm 0,2$
	TZ/X	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(10)	$0,0 \pm 0,0$	(10)	0.0 ± 0.0	(10)	$0,0 \pm 0,0$
	TZ/X-O ₂	(10)	0.0 ± 0.0	(10)	0.0 ± 0.1	(10)	0.0 ± 0.0	(10)	$0,0 \pm 0,0$
Neutrófilo seg. (10 ³ /μl) [†]	C/M/X	(10)	0.0 ± 0.1	(9)	0.0 ± 0.1	(10)	0.0 ± 0.0	(7)	0.0 ± 0.0
	C/M/X-O ₂	(10)	0,0 ± 0,0	(10)	$0,0 \pm 0,0$	(9)	$0,0 \pm 0,0$	(8)	$0,0 \pm 0,0$
	TZ/X	(10)	$3,2 \pm 0,9$	(10)	3,0 ± 1,1	(10)	2,9 ± 1,0	(10)	3,2 ± 1,5
Neutrófilo bast. $(10^3/\mu l)^{\dagger}$	TZ/X-O ₂	(10)	3,0 ± 2,3	(10)	$3,1 \pm 2,1$	(10)	2,9 ± 1,8	(10)	$2,6 \pm 1,2$
	C/M/X	(10)	2,4 ± 0,9	(9)	$3,1 \pm 1,1$	(10)	2,7 ± 1,6	(7)	2,9 ± 1,2
	C/M/X-O ₂	(10)	2,4 ± 0,8	(10)	2,5 ± 1,1	(9)	2,6 ± 1,2	(8)	2,6 ± 1,6
Linfócitos $(10^3/\mu l)^{\dagger}$	TZ/X	(10)	1,9 ± 0,8	(10)	$2,0 \pm 0,6$	(10)	1,8 ± 0,4	(10)	1,7 ± 0,5
	TZ/X-O ₂	(10)	2,1 ± 1,2	(10)	$1,6 \pm 0,6$	(10)	$1,5 \pm 0,6$	(10)	$1,5 \pm 0,6$
	C/M/X	(10)	$2,1 \pm 0,5$	(9)	1,9 ± 0,5	(10)	1,8 ± 0,9	(7)	$2,1 \pm 0,9$
	C/M/X-O ₂	(10)	2,1 ± 0,5 2,1 ± 1,5	(10)	$2,1 \pm 1,0$	(9)	$1,9 \pm 0,9$ $1,9 \pm 0,8$	(8)	$2,0 \pm 1,0$
	TZ/X	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(10)	0.1 ± 0.0	(10)	0.1 ± 0.0	(10)	0.1 ± 0.1
	TZ/X $TZ/X-O_2$	(10)	$0,1 \pm 0,1$ $0,1 \pm 0,1$	(10)	$0,1 \pm 0,0$ $0,1 \pm 0,1$	(10)	$0,1 \pm 0,1$ $0,1 \pm 0,1$	(10)	$0,1 \pm 0,1$ $0,1 \pm 0,1$
Monócitos $(10^3/\mu l)^{\dagger}$	C/M/X		$0,1 \pm 0,1$ $0,1 \pm 0,1$		$0,1 \pm 0,1$ $0,1 \pm 0,1$				
	C/M/X-O ₂	(10)		(9)		(10)	0.0 ± 0.1	(7)	0.1 ± 0.1
	C/141/A-U2	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(10)	$0,1 \pm 0,1$	(9)	$0,1 \pm 0,1$	(8)	$0,1 \pm 0,1$

T0 = Após indução anestésica; T20, T40 e T60 a cada 20 minutos de intervalo após T0. *Número de registros realizados para cada valor médio (10 animais por grupo). †A transformação logarítmica foi utilizada.

Tabela 3 - Valores bioquímicos de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre na interação dos grupos com os tempos de colheita de sangue.

Variáveis	Grupos	Resultados (Média ± DP)							
variaveis	Grupos -		T0		T20		T40		T60
Bioquímica									
Creatinina (mg/dl) [†]	TZ/X	(10)	$1,7 \pm 0,3$	(10)	$1,7 \pm 0,3$	(10)	$1,7 \pm 0,2$	(10)	$1,7 \pm 0,3$
	TZ/X-O ₂	(10)	$1,8 \pm 0,2$	(10)	$1,8 \pm 0,2$	(10)	$1,8 \pm 0,2$	(10	$1,7 \pm 0,2$
	C/M/X	(10)	$1,8 \pm 0,3$	(9)	$1,7 \pm 0,3$	(10)	$1,6 \pm 0,3$	(7)	$1,5 \pm 0,2$
	$C/M/X-O_2$	(10)	$1,6 \pm 0,2$	(10)	$1,6 \pm 0,2$	(9)	$1,6 \pm 0,3$	(8)	$1,5 \pm 0,3$
	TZ/X	(10)	38,8 ± 8,8	(10)	38,7 ± 10,3	(10)	39,6 ± 9,2	(10)	38,7 ± 8,8
I I: - (/41) †	$TZ/X-O_2$	(10)	$51,1 \pm 9,2^{A}$	(10)	$47,9 \pm 8,3$	(10)	$48,6 \pm 8,0^{A}$	(10)	$48,8 \pm 9,0$
Ureia (mg/dl) [†]	C/M/X	(10)	$37,4 \pm 10,4^{B}$	(9)	$39,4 \pm 8,9$	(10)	$34,3~\pm~9,5^{\mathrm{B}}$	(7)	$36,1 \pm 9,4$
	$C/M/X-O_2$	(10)	$38,2 \pm 12,3$	(10)	$40,6 \pm 12,5$	(9)	$38,1 \pm 13,1$	(8)	$37,3 \pm 13,3$
	TZ/X	(10)	5,6 ± 2,1	(10)	5,5 ± 2,0	(10)	5,8 ± 1,9	(10)	6,1 ± 1,8
- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	$TZ/X-O_2$	(10)	$6,5 \pm 0,9$	(10)	$6,5 \pm 0,7$	(10)	$6,5 \pm 0,7$	(10)	$6,7 \pm 0,7$
Proteínas totais (g/dl) [†]	C/M/X	(10)	$6,3 \pm 1,3$	(9)	$6,1 \pm 1,4$	(10)	5.8 ± 1.7	(7)	$5,4 \pm 1,8$
	C/M/X-O ₂	(10)	$5,6 \pm 1,6$	(10)	$5,7 \pm 1,6$	(9)	$5,5 \pm 1,8$	(8)	$5,4 \pm 1,9$
	TZ/X	(10)	3.8 ± 2.0	(10)	3,9 ± 1,9	(10)	3,6 ± 1,9	(10)	3,6 ± 1,8
	TZ/X-O ₂	(10)	$2,6 \pm 0,4$	(10)	$2,5 \pm 0,4$	(10)	$2,6 \pm 0,4$	(10)	$2,6 \pm 0,4$
Albumina (g/dl) [†]	C/M/X	(10)	3.0 ± 1.3	(9)	3,0 ± 1,3	(10)	$3,0 \pm 1,4$	(7)	3,3 ± 1,7
	C/M/X-O ₂	(10)	$3,1 \pm 1,3$	(10)	3.1 ± 1.2	(9)	$3,6 \pm 1,9$	(8)	3.7 ± 1.9
	TZ/X	(10)	$3,2 \pm 2,3^a$	(10)	$1,2 \pm 0,4^{ab}$	(10)	$1.0 \pm 0.3^{\text{b}}$	(10)	$3,7 \pm 2,5^{\text{b}}$
	TZ/X-O ₂	(10)	$3,7 \pm 2,5^{a}$	(10)	$1,5 \pm 0,7^{ab}$	(10)	$1.2 \pm 0.4^{\text{b}}$	(10)	$1.0 \pm 0.2^{\text{b}}$
Lactato (mmol/l) [†]	C/M/X	(10)	$4,7 \pm 3,6^{a}$	(9)	1.8 ± 0.7 1.8 ± 1.0^{b}	(10)	$1,3 \pm 0,4^{\text{b}}$	(7)	1.0 ± 0.2 $1.2 \pm 0.4^{\text{b}}$
	C/M/X-O ₂	(10)	$4,7 \pm 3,6$ $4,1 \pm 3,4^{a}$	(10)	1.7 ± 1.0	(9)	1.3 ± 0.4 1.2 ± 0.7^{b}	(8)	$0.9 \pm 0.4^{\text{b}}$
Glicose (mg/dl) [†]	TZ/X	(10)	135.9 ± 24.7^{a}	(10)	$1,7 \pm 1,2$ $199,5 \pm 44,0^{\text{b}}$	(10)	$198.7 \pm 49.9^{\text{b}}$	(10)	$196,3 \pm 53,3^{\text{b}}$
	TZ/X $TZ/X-O_2$		$133,9 \pm 24,7$ $122,1 \pm 27,6^{a}$					(10)	
	C/M/X	(10)		(10)	$178,6 \pm 42,5^{\text{b}}$	(10)	$172,4 \pm 44,8^{\text{b}}$	` ′	162.9 ± 33.7^{ab}
		(10)	$162,9 \pm 32,8$	(9)	199,4 ± 27,6	(10)	$196,1 \pm 27,6$	(7)	196,6 ± 38,9
	C/M/X-O ₂	(10)	$138,2 \pm 32,3$	(10)	184,2 ± 36,8	(9)	184,1 ± 42,9	(8)	187,6 ± 41,5
	TZ/X	(10)	6,8 ± 4,8	(10)	15,4 ± 9,6	(10)	$12,1 \pm 9,7$	(10)	8,5 ± 8,5
Cortisol (ng/ml) [†]	TZ/X-O ₂	(10)	6,9 ± 3,8	(10)	18,1 ± 16,1	(10)	$13,1 \pm 12,6$	(10)	10,1 ± 10,8
, ,	C/M/X	(10)	10.8 ± 11.0	(9)	$15,9 \pm 13,4$	(10)	14.8 ± 11.5	(7)	13,1 ± 11,2
	C/M/X-O ₂	(10)	6,4 ± 4,9	(10)	$12,9 \pm 13,1$	(9)	11,2 ± 10,8	(8)	11,4 ± 10,2
Eletrólitos	T7/W	(10)	141.4 . 2.0	(10)	142.4 + 2.0	(10)	142.0 + 2.0	(10)	1446 + 22
	TZ/X	(10)	141,4 ± 2,8	(10)	142,4 ± 2,8	(10)	143.8 ± 3.0	(10)	$144,6 \pm 3,3$
Na ⁺ (mmol/l)	TZ/X-O ₂	(10)	140.9 ± 1.3	(10)	$142,0 \pm 1,7$	(10)	$143,4 \pm 1,5$	(10)	$144,3 \pm 1,7$
	C/M/X	(10)	$140,7 \pm 3,3$	(10)	$141,3 \pm 3,0$	(10)	141,5 ± 3,4	(6)	$143,0 \pm 2,0$
	C/M/X-O ₂	(9)	141,7 ± 1,7	(10)	142,4 ± 2,1	(9)	141,8 ± 1,8	(9)	141,8 ± 2,2
	TZ/X	(10)	4,2 ± 0,4	(10)	4,2 ± 0,3	(10)	4,0 ± 0,5	(10)	4,1 ± 0,4
K ⁺ (mmol/l)	TZ/X-O ₂	(10)	$4,2 \pm 0,4$	(10)	$4,3 \pm 0,5$	(10)	$4,1 \pm 0,8$	(10)	$4,2 \pm 0,9$
()	C/M/X	(10)	$4,0 \pm 0,5$	(10)	$4,1 \pm 0,4$	(10)	$4,0 \pm 0,5$	(7)	$3,9 \pm 0,4$
	C/M/X-O ₂	(9)	$3,9 \pm 0,5$	(10)	$4,0 \pm 0,7$	(9)	$4,2 \pm 0,5$	(9)	4,2 ± 0,7
$iCa^{2+}(mmol/l)^{\dagger}$	TZ/X	(10)	$1,1 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(9)	$1,0 \pm 0,2$	(10)	$1,0 \pm 0,1$
	$TZ/X-O_2$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$
	C/M/X	(9)	$0,9 \pm 0,2$	(10)	$1,1 \pm 0,1$	(10)	$1,0 \pm 0,1$	(9)	$1,0 \pm 0,2$
	C/M/X-O ₂	(10)	0.9 ± 0.1	(10)	$1,0 \pm 0,2$	(6)	$1,0 \pm 0,2$	(9)	$1,0 \pm 0,2$
	TZ/X	(10)	112,4 ± 8,2	(10)	$114,7 \pm 5,7$	(10)	$113,2 \pm 9,4$	(10)	$112,8 \pm 4,1$
C1- (mmol/l)	$TZ/X-O_2$	(10)	$114,4 \pm 6,4$	(10)	$113,7 \pm 7,6$	(10)	$112,1 \pm 6,9$	(10)	$114,2 \pm 3,8$
Cl ⁻ (mmol/l)	C/M/X	(10)	$114,8 \pm 7,9$	(9)	$114,7 \pm 9,7$	(10)	$118,8 \pm 6,7$	(7)	$116,9 \pm 4,8$
	C/M/X-O ₂	(10)	$113,4 \pm 10,0$	(10)	$115,9 \pm 7,7$	(9)	$114,5 \pm 8,5$	(8)	$110,9 \pm 1,0$
	TZ/X	(10)	308,3 ± 5,0	(10)	313,9 ± 3,6	(7)	316,2 ± 3,9	(8)	317,7 ± 4,7
Osmololidada (O 1/1)	$TZ/X-O_2$	(10)	$308,4 \pm 4,8$	(10)	$313,6 \pm 3,7$	(10)	$315,8 \pm 3,2$	(10)	$317,2 \pm 4,5$
Osmolalidade (mOsmol/l)	C/M/X	(9)	$308,2 \pm 5,3$	(9)	$311,9 \pm 5,7$	(10)	$310,6 \pm 6,3$	(6)	313,1 ± 4,4
			$307,7 \pm 3,9$				-		•

T0 = Após indução anestésica; T20, T40 e T60 a cada 20 minutos de intervalo após T0. Número de registros realizados para cada valor médio (10 animais por grupo). † A transformação logarítmica foi utilizada. Valores médios seguidos por letras maiúsculas diferentes nas colunas são significativos ao nível de 5% pelo teste de Tukey e indicam diferenças entre grupos em determinado tempo. Valores médios seguidos por letras minúsculas diferentes nas linhas são significativos ao nível de 5% pelo teste de Tukey e indicam diferenças entre os tempos de monitoração em determinado grupo.

Discussão

De acordo com nosso conhecimento, não há relados na literatura sobre valores de contagem de He, concentração de Hb e de VCM, HCM e CHCM para veados-campeiro. Isso dificulta a compreensão desses valores. Porém, já foi descrito para outras espécies de cervídeos (MAEDE et al., 1990; MARCO; LAVÍN, 1999; SZABÓ et al., 2005; MUNERATO et al., 2010) que a contenção física ou captura causa hemoconcentração, principalmente por contração esplênica como resultado da liberação de catecolaminas. No presente estudo, não foi possível observar diferenças significativas na contagem de He logo após indução anestésica (T0) comparado aos tempos de colheita durante a anestesia (T20, T40 e T60) nos grupos estudados. Isto pode estar relacionado ao maior tempo para obtenção da primeira amostra de sangue venoso após o início da captura no presente estudo quando comparado aos demais estudos realizados em *Mazama gouazoubira* (2,0 ± 1,0 min) (MUNERATO et al., 2010), *Blastocerus dichotomus* (imediatamente após contenção física) (SZABÓ et al., 2005) e *Cervus elaphus* (< 10 min) (MARCO; LAVÍN, 1999).

A contagem total de leucócitos e de eosinófilos em todos os protocolos estudados foi menor do que a observada para outra subespécie de veados-campeiro (O. bezoarticus celler) de vida livre (UHART et al., 2003). Os maiores valores de leucócitos totais e eosinófilos no estudo de Uhart et al., 2003 podem estar relacionados à ação de endoparasitos naquela população ou mesmo ao estresse emocional e físico agudo em função do método de captura utilizado (MARCO; LAVÍN, 1999), embora detalhes sobre a captura não tenham sido fornecidos no referido estudo.

Quanto à bioquímica sérica, os valores de creatinina observados no presente estudo são similares aos observados em *Mazama gouazoubira* (MUNERATO et al., 2010) e *Cervus elaphus* (MARCO; LAVÍN, 1999) durante a contenção física e química com diferentes protocolos de anestesia. A hipotensão, devido ao uso de fármacos anestésicos, com consequente redução na taxa de filtração glomerular (FETTMAN; REBAR, 2004) é considerada a principal razão para o aumento de creatinina durante a contenção química de cervídeos (MUNERATO et al., 2010).

Porém, no presente estudo, embora fármacos agonistas alpha-2 tenham sido utilizados, não foi observada hipotensão, o que, consequentemente, justificaria a ausência de alterações significativas na concentração sérica de creatinina durante a monitoração anestésica nos grupos estudados.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam uma diferença significativa na concentração de ureia sérica em animais submetidos a associação TZ/X que receberam SIO, nos tempos, T0 e T40, em relação aos mesmos momentos no C/M/X. Isto provavelmente se deve a um aumento na variabilidade nesse grupo, causada por concentrações mais elevadas de um indivíduo no grupo em questão. Embora os valores de ureia desse indivíduo tenha sido acima do observado para os animais do grupo esse não foi retirado das análises, por não apresentar valores de creatinina que indicassem quadro de disfunção renal. Variações na concentração de ureia também já foram descritas em Mazama gouazoubira (MUNERATO et al., 2010). Estes autores concluíram que a pré-medicação oral com midazolam foi capaz de reduzir significativamente os valores de ureia após a contenção física, por reduzir a concentração de glicocorticoides pós-estresse, o que consequentemente inibe o aumento do catabolismo proteico pós-estresse (WESSON et al., 1979). Os valores médios de ureia observados foram mais elevados do que os descritos para O. bezoarticus celer (UHART et al., 2003) e inferiores aos observados para Mazama gouazoubira (MUNERATO et al., 2010). No estudo de Munerato et al. (2010) a desidratação causada pelo jejum prolongado (24h) provavelmente elevou os valores de ureia devido ao aumento do catabolismo energético, justificando as diferenças mencionadas. Já no estudo realizado com O. bezoarticus celer, a ausência de informações sobre o tempo para captura e imobilização, e também das doses dos fármacos utilizados, dificulta a comparação dos dados.

As concentrações de proteínas totais e albumina, observadas em todos os tempos e protocolos estudados, foram inferiores às descritas para *O. bezoarticus celer* de vida livre (UHART et al., 2003), *Odocoileus vriginianus* (PRESIDENTE et al., 1973; WESSON et al., 1979) e *Cervus elaphus* (MARCO; LAVÍN, 1999) anestesiados e sem sinais de desidratação. Isso pode estar relacionado a diferenças na dieta dos animais, como descrito em *Odocoileus virginianus* (BAHNAK et al.,

1979), ou a diferenças consideradas fisiológicas entre espécies ou mesmo subespécies de cervídeos.

O aumento significativo da glicose plasmática, durante a anestesia (T20, T40 e T60) em relação à T0 nos TZ/X e TZ/X-O2, pode estar relacionada à dose de xilazina mais elevada comparada à dose utilizada na associação C/M/X. O uso de fármacos agonistas α-2 inibe a secreção de insulina pelo pâncreas, mobilizando os estoques de glicose hepática com, consequente, elevação das concentrações de glicose plasmática (KLEIN; KLIDE, 1989). Assim, os resultados observados estão de acordo com outros estudos em cervídeos (WOLKERS et al., 1994; MARCO; LAVÍN, 1999; MUNERATO et al., 2010) após uso de fármacos agonistas α-2. Além disso, é importante, mencionar que as catecolaminas são agentes estimulantes no sistema cardiovascular e causam elevação na concentração de glicose (WESSON et al., 1979). Portanto, o tempo de estresse, compreendido entre o início da perseguição dos animais até a completa indução da anestesia, pode ter estimulado a liberação de glicose contribuindo para sua elevação. Dessa forma, os valores médios mais elevados de glicose em TZ/X, C/M/X e C/M/X-O2, embora não significativos, são compatíveis com maiores tempos de estresse, 41.2 ± 19.2 , 43.9 ± 19.0 e 48.6 ± 7.3 minutos, respectivamente, observados nesses grupos quando comparados aos valores médios observados no grupo TZ/X-O2, cujo tempo de estresse foi de 30,2 ± 17,6 min.

Era esperado valores médios significativamente maiores de cortisol sérico em T0 em decorrência à captura. A concentração de glicocorticoides aumenta na circulação sanguínea devido à liberação de fatores de liberação de corticotrofinas em resposta à um estímulo estressor que, por sua vez, estimulam a síntese e liberação do hormônio adenocorticotrófico (ACTH) na hipófise. Assim a ausência de diferenças significativas nos valores de cortisol sérico na interação dos grupos com os tempos de monitoração pode estar relacionada à rápida metabolização deste na circulação sanguínea (PALME, 2012), levando a valores próximos aos níveis basais para espécie em T0, devido ao prolongado tempo de estresse mencionado anteriormente e, consequente, demora para colheita das primeiras amostras de sangue venoso. Além disso, outras possibilidades como alta sensibilidade do anticorpo utilizado no ensaio imunoenzimático, que reduz incidência de reações

cruzadas; e diferenças interespecíficas de temperamento e habituação à distúrbios antrópicos podem ter contribuído para os resultados observados.

A redução significativa do lactato plasmático após T0, provavelmente está relacionado à cessação do exercício muscular após indução anestésica. Os valores médios de lactato observados em T0 do grupo TZ/X e TZ/X-O₂ são inferiores aos observados em *Cervus dama* (4,5 ± 0,8 mmol/L) (FERNÁNDEZ-MORÁN et al., 2000) anestesiados com o mesmo protocolo anestésico, porém próximos aos valores obtidos no T0 do C/M/X e C/M/X-O₂. Segundo estes autores, os animais apresentaram uma excitação considerada moderada durante a indução anestésica com a associação TZ/X, podendo justificar os valores elevados de lactato observados. No presente estudo não foi possível correlacionar os valores de lactato em T0 ao tempo de estresse nos grupos estudados. Em *Rangifer tarandus* (RISLING et al., 2011) foi observado que a SIO, durante 30 minutos de anestesia com a associação etorfina e xilazina, resultou em menores valores de lactato durante a imobilização, entretanto, no presente estudo, a SIO não alterou significativamente os valores de lactato durante a contenção química.

A ausência de detalhes sobre o tempo e método de captura outras espécies e subespécies de cervídeos dificultam a discussão dos resultados dos eletrólitos e lactato. Os valores médios de sódio no decorrer da anestesia foram menores que os observados para *Mazama gouazoubira* de cativeiro anestesiados com cetamina, xilazina e atropina e mantidos em anestesia com isofluorano após contenção física manual (MUNERATO et al., 2010). Os valores médios de cloretos foram mais elevados que os registrados em *Mazama gouazoubira* (MUNERATO et al., 2010), *Cervus elaphus* (MARCO; LAVÍN, 1999) e *Dama dama* (ENGLISH; LEPHERD, 1981) e os valores de potássio discretamente menores que os observados em *O. bezoarticus celer* (UHART et al., 2003).

Conclusões

As principais alterações na bioquímica observadas foram a elevação da glicose e redução do lactato plasmático durante a anestesia, provavelmente em

decorrência do uso de xilazina e cessação do exercício, respectivamente. A SIO nos grupos TZ/X-O₂ e C/M/X-O₂ não resultou em alterações nos parâmetros hematológicos ou bioquímicos do sangue quando comparada aos grupos sem SIO. Portanto, podemos concluir que os valores obtidos na hematologia, bioquímica sérica e cortisol plasmático são úteis como valores de referência para veadoscampeiro de vida livre anestesiados com as associações TZ/X e C/M/X, com e sem SIO.

Referências

BAHNAK, B.R.; HOLLAND, J. C.; VERME, L. J.; OZOGA, T. J. Sazona and nutritional effects of serum nitrogen constituents in white-tailed deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 43, n. 2, p. 454-460, 1979.

BERINGER, J. HANSEN, L. P.; WILDING, W.; FISCHER, J.; SHERIFF, S. L. Factors affecting capture myopathy in white-tailed deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 60, n. 2, p. 373-380, 1996.

BOESCH, J. M.; BOULANGER, J. R.; CURTIS P. D.; ERB, H. N.; LUDDERS, J. W.; KRAUS, M. S.; GLEED, R. D. Biochemical variables in free-ranging white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) after chemical immobilization in clover traps or via ground-darting. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 42, n. 1, p.18-28, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/2009-0146.1.

CAULKETT, N. Anesthesia for North American cervids. **The Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 389-390, 1997.

ENGLISH, A. W.; LEPHERD, E. E. The haematology and serum biochemistry of wild fallow deer (*Dama dama*) in New South Wales. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 17, p. 289-295, 1981.

FAHLMAN, A. **Anaesthesia of wild carnivores and primates.** 2005. 36 f. Dissertação (Mestrado) – Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.

FERNÁNDEZ-MORÁN, J.; PALOMEQUE, J.; PEINADO, V. Ι. Medetomidine/tiletamine/zolazepam and xylazine/tiletamine/zolazepam combinations for immobilization of fallow deer (Cervus dama). Journal of Zoo and Wildlife Lawrence, v. 31, n. 1, p. 62-64, 2000. Disponível http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0062:MTZAXT]2.0.CO;2.

FETTMAN, M. J.; REBAR, A. Laboratory evaluation of renal function. In: Thrall MA, ed. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. p. 301-328.

FRANZMANN, A. W. Comparative physiologic values in captive and wild bighorn sheep. **Journal of Wildlife and Diseases**, Ames, v. 7, p. 105-108, 1971.

GASPARINNI, R. L.; DUARTE, J. M. B.; NUNES, A. L. V. Manejo em cativeiro. In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos:** *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 126-140.

HOPPE, E.G. L.; SCHMIDT, E. M. S.; ZANUZZO, F. S.; DUARTE, J. M. B.; NASCIMENTO, A. A. Haematology of captive grey-brocket deer *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814) (Cervidae: *Odocoileinae*). **Comparative Clinical Pathology**, London, v. 19, n. 1, p. 29-32, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s00580-009-0908-6.

KLEIN, L. V.; KLIDE, M. A. Central α_2 adrenergic and benzodiazepine agonists and their antagonists. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 20, n. 2, p. 138-153, 1989.

MAEDE, Y.; YAMANAKA, Y.; SASAKI, A.; SUZUKI, M.; OHTAISHI, N. Hematology in Sika deer (*Cervus nippon yesoensis* Heude, 1984). **Japanese Journal of Veterinary Science**, Bunkyo-ku, v. 52, n. 1, p. 35-41, 1990.

MARCO, I.; LAVÍN, S. Effect of the method of capture on the haematology and blood chemistry of red deer. **Research in Veterinary Science**, London, v. 66, n. 2, p. 81-84, 1999.

MUNERATO, M. S. **Uso do isofluorano em veados-catingueiro (***Mazama gouazoubira***) pré-tratados com diferentes protocolos de contenção química.** 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

MUNERATO, M. S.; DUARTE, J. M. B; PEREIRA, G. T.; MARQUES, J. A. Effects of physical and chemical immobilization on hematological and biochemical variables in captive brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v. 39, n.4, p. 454-463, 2010. Disponível em: http:///dx.doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00264.x.

MURRAY, S.; MONFORT, S. L.; WARE, L.; McSHEA, W. J.; BUSH, M. Anesthesia in female white-tailed deer using telazol[®] and xylazine. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 4, p. 670-675, 2000.

PALME, R. Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals. **Animal Welfare**, Hertfordshire, v. 21, n. 3, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.7120/09627286.21.3.331.

PALME, R.; MÖSTL, E. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. **International Journal of Mammalian Biology**, v. 62, supp. 2, p. 192-197, 1997.

PATERSON, J. Capture Myopathy. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 115-122.

PRESIDENTE, P. J. A.; LUMSDEN, J. H.; PRESNELL, K. R.; RAPLEY, W. A.; McCRAW, B. M. Combination of etorphine and xylazine in captive white-tailed deer: II. Effects on hematologic, serum biochemical and blood gas values. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 9, n. 4, p. 342-348, 1973.

READ, M. R. A review of alpha₂ adrenoreceptor agonist and the development of hypoxemia in domestic and wild ruminants. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 34, n. 2, p. 134-138, 2003.

READ, M. R.; CAULKETT, N. A.; SYMINGTON, A.; SHURY, T. K. Treatment of hypoxia during xylazine-tiletamine-zolazepam immobilization of wapiti. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 42, n. 11, p. 861-864, 2001.

RIETKERK, F. E.; DELIMA, E. C.; MUBARAK, S. M. The hematological profile of the mountain gazelle (*Gazella gazella*): variation with sex, age, capture method, season, and anesthesia. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 30, n. 1, p. 69-76, 1994.

RISLING, T. E.; FAHLMAN, A.; CAULKETT, N. A.; KUTZ, S. Physiological and behavioural effects of hypoxemia in reindeer (*Rangifer tarandus*) immobilised with

xylazine-etorphine. **Animal Production Science**, Collingwood, v.51, n.4, p. 355-358, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1071/AN10190.

SEAL, U. S.; BUSH, M. Capture and chemical immobilization of cervids. In: WEMMER, C.M. **Biology and management of the cervids**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1987. p. 480-503.

SEAL, U. S.; OZOGA, J. J.; ERICKSON, A. W.; VERME, L. J. Effects of immobilization on blood analyses of white-tailed deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 36, n. 4, p. 1034-1040, 1972.

SZABÓ, M. P. J.; MATUSHIMA, E. R.; CASTRO, M. B.; SANTANA, D. A.; PAULA, C. D.; DUARTE, J. M. B. Hematology of free-living marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) from southeast brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 36, n. 3, p. 463-469, 2005.

UHART, M. M.; VILA, A. R.; BEADE, M. S.; BALCARCE, A.; KARESH, W. B. Health evaluation of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at Campos del Tuyú Wildlife Reserve, Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 39, n. 4, p. 887-893, 2003.

WESSON, J. A.; SCANLON, P. F.; KIRKPATRICK, R. L.; MOSBY, H. S. Influence of chemical immobilization and physical restraint on packed cell volume, total protein, glucose, and blood urea nitrogen in blood of white-tailed deer. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 57, n. 4, p. 756-767, 1979. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1139/z79-093.

WOLKERS, J.; WENSING, T.; BRUINDERINK, G. W. T. A. Sedation of wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*) with medetomidine and the influence of some haematological and serum biochemical variables. **Veterinary Quarterly**, The Hague, v. 16, n. 1, p. 7-9, 1994. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1080/01652176.1994.9694406.

CAPÍTULO 4 - Resposta hormonal e comportamental de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre ao estresse da captura e marcação com rádio-colares

Resumo - O objetivo com este estudo foi avaliar a resposta hormonal e comportamental de veados-campeiro (Ozotoceros bezoarticus) ao estresse captura e marcação com rádio-colares. Vinte animais adultos, 11 fêmeas e 9 machos, foram capturados no Pantanal sul-mato-grossense (Brasil) e marcados com rádio-colares de sistema VHF (grupo marcado). Animais adultos do mesmo sexo, que não passaram pela captura e marcação, foram escolhidos aleatoriamente como grupo controle. No dia pós-captura um observador seguiu os animais para colheita de fezes e avaliação do comportamento. As amostras fecais eram imediatamente refrigeradas e congeladas, em até 12 horas pós-colheita, à -20 °C. Metabólitos de glicocorticoides fecais (MGF) foram mensurados usando o ensaio imunoenzimático 11-oxoetiocholanolone. O acesso qualitativo do comportamento (QBA) e as consequências da captura foram avaliados utilizando terminologias prédeterminadas e escores. A distância de fuga foi obtida utilizando um "rangefinder". Os MGF aumentaram 19-22 h pós-captura e a concentração dos picos foram cinco vezes (média) maiores do que suas respectivas concentrações basais. Os valores de MGF dos animais marcados foram significativamente maiores nos intervalos de 22-25 h e 25-28 h pós-captura comparados aos controles. Machos, mas não as fêmeas, do grupo marcado tiveram valores de MGF significantemente maiores 22-25 h e 25-28 h pós-captura comparados com seus valores basais. Animais marcados foram significantemente mais amedrontados (P = 0,02), socialmente menos ocupados (p = 0.02) e menos defensivos (P = 0.04) que os controles.

Palavras-chave: acesso qualitativo do comportamento, ensaio imunoenzimático, glicocorticoides, *Ozotoceros bezoarticus*, ruminante

Hormonal and behavioral stress responses to capture and radio-collar fitting in free-ranging pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*)

Abstract - The aim of this study was to evaluate hormonal and behavioral responses to capture and radio-collar fitting in free-ranging pampas deer (Ozotoceros bezoarticus). Twenty adult deer, eleven females and nine males, were captured at South Pantanal wetland (Brazil) and received VHF radio-collars (marked deer). Untreated adult deer of the same sex were randomly chosen as control group. At the post-capture day an observer followed all deer for feces collection and behavior evaluation. Fecal samples were immediately refrigerated and frozen at -20 °C within a maximum of 12 hours. Fecal glucocorticoid metabolites (FGM) were measured using an 11-oxoetiocholanolone enzyme immunoassay. A qualitative behavior assessment (QBA) and the consequences of capture were evaluated using predefined terminologies and scores. Flight distance was recorded using a range finder. FGM increased from 19-22 h after capture onwards and peak concentrations were 5 times (mean) higher as the respective baseline. FGM values of marked deer were significantly higher at 22-25 h and 25-28 h compared with control deer. Marked male but not female deer had significantly higher FGM values at 22-25 h and 25-28 h compared with their baseline values. Marked deer were significantly more frightful (P = 0.02), less socially occupied (P = 0.02) and defensive (P = 0.04) than controls.

Key words: enzyme immunoassay, glucocorticoids, *Ozotoceros bezoarticus*, qualitative behavior assessment, ruminant

Introdução

A captura e o manejo de animais selvagens vêm se tornando mais frequentes nas últimas décadas, principalmente devido à fragmentação e perda de habitat, resultantes da interferência antrópica nos diversos ecossistemas. Como consequência, também aumentou consideravelmente o desafio dos profissionais ligados à conservação em realizar tais procedimentos com mínimo risco de injúria ou morte aos animais (DELGIUDICE et al., 2005).

Cervídeos são animais considerados ágeis e violentos em resposta a um estímulo estressor e, por esta razão, frequentemente sofrem alterações fisiológicas severas durante sua manipulação (GASPARINNI; DUARTE; NUNES, 1997). Os problemas mais comuns relacionados com a contenção físico-química incluem a ocorrência de traumas, hiper ou hipotermia (BOESCH et al., 2001), desequilíbrio ácido-básico, hipoventilação, hipoxemia (CAULKETT, 1997; MURRAY et al., 2000; READ et al., 2001; READ, 2003) e miopatia de captura (CONNER et al.; 1987; BERINGER et al.; 1996; PATERSON, 2007). Procedimentos que envolvam a captura e a contenção de cervídeos são, na maioria das vezes, conduzidos para colheita de sangue, biometria e marcação dos animais com brincos e rádio-colares (DELGIUDICE et al., 2005).

Desde 1953, as vantagens da inconsciência e imobilidade vêm estimulando estudos sobre diferentes associações de fármacos para contenção química de cervídeos (SEAL; BUSH, 1987). Ademais, recentemente vem se observando maior preocupação por parte dos pesquisadores em reportar as possíveis consequências da captura, através da inclusão de taxas de mortalidade pós captura e/ou entre métodos de captura (DELGIUDICE et al., 1990; DELGIUDICE et al., 2005; DUARTE, 2008). Entretanto, de acordo com nosso conhecimento, não há até o momento informações a respeito das consequências do estresse pós-captura na resposta hormonal e comportamental de cervídeos, especialmente em espécies neotropicais.

A dosagem de hormônios relacionados ao estresse pode ser uma ferramenta útil para a avaliação do estresse pós-captura em cervídeos de vida livre, uma vez que quantifica as mudanças fisiológicas dos animais. Os métodos não invasivos de mensuração dos metabólitos de glicocorticoides fecais (MGF) são vantajosos

quando comparados aos métodos invasivos (por ex., sangue ou saliva), por possibilitar que a amostragem seja realizada facilmente, sem estresse extra e por refletirem mudanças no perfil endócrino em resposta a estímulos estressores de curto, ou, até mesmo, longo prazo (TOUMA; PALME, 2005; SHERIFF et al., 2011). Informações comportamentais também podem melhorar o conhecimento sobre o modo como cervídeos de vida livre lidam com o estresse da captura e marcação com rádio-colar, uma vez que os indivíduos podem diferir na sua capacidade de lidar com os desafios ambientais ou mesmo não serem capaz de se habituar a situações com estímulos estressores imprevisíveis (KOOLHAAS et al., 1999).

Há registros de veados-campeiro (Ozotoceros bezoarticus) desde a Argentina central até o meio-oeste e nordeste do Brasil, leste da Bolívia, Paraguai e Uruguai (CABRERA, 1943; 1960). Essa espécie tem preferência por áreas abertas como campos, pampas, savanas e cerrados (MERINO et al., 1997). No Brasil, ocorrem duas subespécies: O. bezoarticus bezoarticus e o O. Bezoarticus leucogaster (RODRIGUES et al., 2007), sendo as maiores populações encontradas no Parque Nacional das Emas (RODRIGUES, 2003) e no Pantanal mato-grossense, respectivamente (MOURÃO et. al., 2000; TOMÁS et al., 2001; TOMÁS et al., 2011). O veado-campeiro é considerado atualmente vulnerável segundo a lista brasileira de espécies ameaçadas (DUARTE et al., 2012) e quase ameaçado de acordo com a lista internacional (IUCN) de espécies ameaçadas (GONZÁLEZ; MERINO, 2008). Essas classificações podem ser atribuída à perda de habitat, causada pela expansão da agricultura, à caça e às doenças transmitidas pelo gado (MERINO et al., 1997). Entretanto, populações com altas densidades (TOMÁS et al., 2001) e cerca de 60.000 indivíduos (MOURÃO et. al., 2000) ainda podem ser encontradas no Pantanal brasileiro.

Pesquisadores geralmente assumem que a captura e a marcação com rádiocolar causam efeitos insignificantes nos animais (MOLL et al., 2008). Entretanto, os efeitos da captura no comportamento individual ou mesmo na resposta hormonal raramente são avaliados em animais de vida livre, principalmente devido à dificuldade em seguir animais controles não marcados (CÔTÉ; FESTA-BIANCHET; FOURNIER, 1998). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta hormonal e comportamental ao estresse da captura e marcação com rádio-colar de veadoscampeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) durante o dia pós-captura.

Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV - Unesp, protocolo 015077/09) e obteve licença do ICMBio (número 21491-1) para captura dos animais e colheita de material biológico.

Área de estudo

O Pantanal é uma planície de inundação sazonal, localizado próximo ao centro geográfico da América do Sul, com aproximadamente 100 metros de altitude. É drenado a oeste por tributários do rio Paraguai, que fluem, por sua vez, ao sul, ao longo da fronteira oeste do Pantanal (MOURÃO et al., 2000). A área de estudo inclui as fazendas da Nhumirim (campo experimental da Embrapa Pantanal) e da Alegria, ambas localizadas em uma região conhecida como Nhecolândia (18° 59' 15" S; 56° 37' 03" O), no Pantanal sul-mato-grossense, Brasil. A Nhecolândia possui estação chuvosa durante o verão (novembro a março) e períodos de seca que vão, aproximadamente, de abril a outubro. Inundações são comuns de dezembro a maio na área de estudo e estas submergem áreas abertas de campos, cerrados e corpos d'água sazonais. Durante a seca, apenas alguns rios perenes, lagos e lagoas persistem, ficando a fauna silvestre concentrada ao redor destes corpos d'água (MOURÃO et al., 2000).

Animais

Vinte veados-campeiro adultos, 11 fêmeas e nove machos, foram aleatoriamente capturados e contidos quimicamente, por via intramuscular, utilizando-se duas associações anestésicas. As capturas ocorreram no período de junho a julho de 2010. As associações tiletamina-zolazepam/xilazina (2,5 / 1,0 mg/kg, respectivamente) e cetamina/midazolam/xilazina (6,0 / 0,45 / 0,3 mg/kg,

respectivamente), com e sem suplementação intranasal de 100% de oxigênio em fluxo de 3 L/min, foram utilizadas para contenção química como parte de um estudo de anestesiologia. As doses dos fármacos foram calculadas para um peso estimado de 30 kg. Após 60 minutos da administração da anestesia, todos os animais receberam a administração de 0,2 mg/kg de cloridrato de ioimbina (½ da dose por via intramuscular e ½ via intravenosa) para antagonizar os efeitos da xilazina. Os métodos de captura utilizados consistiram na aproximação do atirador, utilizando veículo ou a pé, perfazendo manobras circulares ao redor dos animais, no intuito de diminuir progressivamente a distância do atirador dos mesmos. Quando uma distância de 15-25 metros era alcançada, os protocolos anestésicos eram administrados usando dardos e rifle de ar comprimido¹. Todos os animais foram capturados no período da tarde dos dias experimentais e foram marcados com rádio-colares com sistema VHF². Além disso, os animais foram marcados com brincos para possibilitar a identificação dos indivíduos em caso de problemas com os rádio-colares.

No dia pós-captura, durante o período de luminosidade, um mesmo observador seguiu os animais marcados com radio-colares (grupo marcado), para colheita de fezes e avaliação do comportamento. Veados-campeiro adultos e do mesmo sexo, que não foram submetidos à captura, foram aleatoriamente escolhidos (grupo controle) e também tiveram as fezes colhidas e o comportamento avaliado.

Colheita das amostras

Amostras fecais foram colhidas do reto dos animais durante as anestesias (amostras basais – 0h). No dia pós-captura, após a localização dos animais marcados, por meio da telemetria, um observador se aproximava à pé para observação da defecação e colheita das fezes frescas. Fezes frescas também foram colhidas de animais do grupo controle. Após a colheita, as amostras foram imediatamente colocadas em sacos plásticos, identificadas e refrigeradas em bolsa térmica contendo gelo reciclável (BT), até que pudessem ser congeladas a -20°C (com no máximo 12h após a colheita). Para facilitar as análises estatísticas, as

 1 Dist-Inject $^{\! @},$ Modelo 50, Basel, Switzerland.

²TXE-335C, Telenax, Playa Del Carmen, México.

amostras fecais foram divididas em diferentes intervalos de tempo, baseados no horário de defecação (0h, 16-19h, 19-22h, 22-25h e 25-28h) pós-captura.

Experimento de estocagem

Para avaliar a estabilidade dos MGF armazenados em BT e em temperatura ambiente (TA), um experimento de estocagem foi conduzido de maneira semelhante ao descrito por Rehnus, Hackländer e Palme (2009). Quatro amostras de fezes foram utilizadas. Tais amostras foram colhidas frescas, em dias diferentes, de dois machos e duas fêmeas escolhidos aleatoriamente e que não foram submetidos à captura. Cada uma das amostras foram homogeneizadas, divididas em 11 sub-amostras e transferidas, individualmente, para tubos criogênicos. Uma sub-amostra foi congelada, a -196°C, imediatamente após a colheita (0h), usando nitrogênio líquido, enquanto as outras 10 sub-amostras foram armazenadas em BT e TA por 1, 2, 4, 8 e 16h, respectivamente e, então, congeladas a -196°C por 24h e posteriormente armazenadas a -20°C até o momento das dosagens.

Dosagem dos MGF

As amostras fecais foram liofilizadas³ por 72h. As fezes secas foram então pulverizadas e 0,5 g do pó resultante foi pesado e extraído em 5 ml de metanol (80%). Após agitação manual em vortex (30 seg), a mistura foi agitada por 12h em temperatura ambiente, utilizando agitador de tubos, e agitada em vortex novamente (30 seg) antes de ser centrifugada (1.075 g, 15 min). Uma alíquota do sobrenadante dos extratos (0,5 ml) foi evaporada para ser enviada ao laboratório de Bioquímica da Universidade de Viena, Áustria, responsável pelas dosagens. Os extratos secos foram reconstituídos em 0,4 ml de metanol (100%), seguido de agitação em vortex (1 min) e adição de 0,1 ml de água destilada, antes da dosagem. As concentrações de MGF foram determinadas nos extratos (diluídos 1:10 e 1:100 em tampão de diluição) através de ensaio imunoenzimático (EIA).

Inicialmente, dois 11-oxoetiocholanolone ElAs, desenvolvidos para ruminantes (PALME; MÖSTL, 1997; MÖSTL et al., 2002), foram testados nas amostras fecais, colhidas durante a anestesia (0 h) e após a captura, de seis

-

³ Model LGA05, Web LMW Medizintechnik, Leipizig, Germany.

animais marcados (três machos e três fêmeas), para validar biologicamente o método (TOUMA; PALME, 2005). O EIA que determina metabólitos com a estrutura 11, 17-dioxoandrostane foi escolhido porque maiores quantidades de MGF e aumentos mais pronunciados desses metabólitos foram detectados após a captura nas fezes com esse EIA. Assim, as amostras colhidas nesse estudo foram analisadas em sua totalidade apenas utilizando este EIA. A descrição geral dos procedimentos e das reações cruzadas do EIA utilizado estão disponíveis em detalhes no estudo de Palme e Möstl (1997). Os coeficientes de variação dentro do ensaio (*intra-assay*) foram < 10% e os coeficientes de variação entre ensaio (*inter-assay*) foram de 9,6% e de 13,8% (n = 17 placas) para o *pool* de amostras dos controles alto e baixo, respectivamente. A sensibilidade do ensaio foi de 4,8 ng/g fezes.

Avaliação comportamental

Assim que os animais marcados e controles foram localizados, a observação do comportamento teve início. Animais solitários eram assim registrados e animais em grupo tinham a composição do grupo descrita pelo número de animais de diferentes sexos e faixa etária (adultos/jovens). O acesso qualitativo do comportamento (QBA) foi realizado após, no mínimo, 15 min de observação do comportamento dos animais, usualmente no meio do período da manhã. O QBA consistia em um formulário de avaliação contendo termos pré-definidos (calmo, indiferente, desconfiado, alerta, agressivo, amedrontado, socialmente ocupado e defensivo) com escalas visuais analíticas de 12,5 cm (variando de mínimo a máximo com uma linha contínua sem escalas entre estes pontos) adicionadas a cada termo. O mesmo observador registrava os termos pré-determinados por meio de uma marca no ponto apropriado da escala. Este escore foi registrado pela mensuração da distância em centímetros entre o ponto "mínimo" à esquerda e a marca que cortou a linha contínua da escala feita pelo observador. Outros dois termos também foram avaliados, utilizando o mesmo tipo de escala do QBA, para identificar a intensidade de reatividade ao observador e de forrageamento exibida pelos animais. Após a realização do QBA, o observador aproximava-se calmamente em direção ao animal, a partir de uma distância de 100 metros, para registrar a distância de fuga,

utilizando um "rangefinder"⁴. Quando os animais fugiam do observador, a distância de fuga era registrada. As consequências da captura para os animais marcados com rádio-colares foram avaliadas utilizando os seguintes escores: 1 – Boa (animal sem sinais de claudicação, ataxia ou comportamento agonístico por parte de outros animais); 2 – Satisfatória (animal com sinais leves de claudicação ou ataxia); 3 – Ruim (animal com severa claudicação e/ou ataxia e/ou sofrendo comportamento agonístico de outros animais).

Análises estatísticas

Como os dados referentes às dosagens de MGF não tiveram distribuição normal, a transformação logarítmica (observação + 1) foi utilizada para normalizar os dados originais. Assim, os dados foram analisados por meio da análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) usando delineamento experimental em parcelas subdivididas, com os grupos (marcado e controle) ou sexos (fêmeas e machos) como fonte principal de variação e os intervalos de tempo (0h, 16-19h, 19-22h, 22-25h e 25-28h) e as interações dos grupos ou sexos com os intervalos de tempo como fonte secundária de variação. Essa análise foi seguida pela aplicação do teste de Tukey. A maior porcentagem de aumento em relação ao basal ("pico") mensurada para cada animal do grupo marcado e os valores médios de MGF cada animal controle foram correlacionadas comportamentais utilizando o teste de correlação de Spearman. Essas análises estatísticas foram realizadas usando o SAS 9.05.

Os dados do QBA, registrados para os animais marcados e controles, foram analisados usando a análise de componentes principais (PCA) para indicar quais termos do QBA se agrupavam com maior proximidade. Além disso, os valores obtidos em centímetros, a partir das escalas visuais analíticas para cada termo do QBA, foram multiplicados por suas respectivas distâncias Euclidiana (usando os valores do primeiro e do segundo componente, obtidos para cada caso na PCA, para calcular a distância Euclidiana de cada observação) e, posteriormente, analisados pelo teste—t de Student. Esta análise visou verificar se os termos do QBA

⁴ SCOUT 100 ARC, Bushnell, Overland Park, USA.

⁵ SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

que se agrupavam com maior proximidade diferiam significativamente entre os grupos. Os dados referentes a reatividade ao observador, forrageamento e as distâncias de fuga obtidas, foram também analisadas utilizando o teste-t de Student. Possíveis diferenças entre fêmeas e machos marcados para os escores da captura foram analisados pelo teste não paramétrico de Wilcoxon. A PCA foi realizada usando o programa Statistica 7.0 °6. Valores de p < 0,05 foram considerados significativos.

Resultados

No dia pós-captura, uma fêmea do grupo marcado não defecou e por esta razão foi retirada das análises. Outras duas fêmeas do mesmo grupo não puderam ser seguidas durante todo o período de luminosidade do dia pós-captura devido a problemas no receptor do sistema de telemetria, mas foi possível colher uma amostra fecal durante a primeira visualização destes animais. Desta forma, foi possível colher fezes de 10 fêmeas e nove machos marcados. O grupo controle foi constituído de nove fêmeas e nove machos.

Os MGF aumentaram significativamente (P < 0,01) a partir de 19-22h póscaptura e as concentrações obtidas nos "picos" foram de 2 a 17 vezes (média: 5) maiores do que suas respectivas concentrações basais. Os valores de MGF dos animais marcados foram significativamente maiores (P < 0,01) nos intervalos 22-25h e 25-28h pós-captura comparados aos valores obtidos para os controles nos respectivos intervalos de tempo (Figura 1). Machos marcados apresentaram valores de MGF significativamente maiores nestes intervalos comparados com seus valores basais (P < 0,01). Entretanto, em fêmeas marcadas os valores de MGF pós-captura não diferiram significativamente dos valores basais (Figura 2). As concentrações de MGF não variam significativamente em função do armazenamento em BT (7,1 ± 5,6°C; média ± DP) ou à TA (21,3 ± 7,6°C) por um período de até 16h.

⁶ StatSoft Inc., Tulsa, Ok, USA.

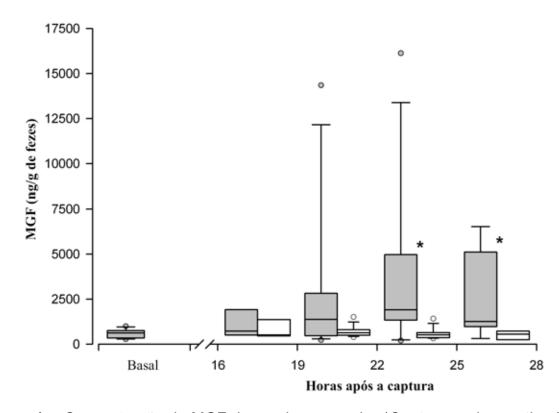


Figura 1 – Concentração de MGF de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre, marcados com rádio-colares durante a captura (grupo marcado) e não submetidos à captura (grupo controle). Valores expressos por medianas e quartis. O número de amostras de fezes colhidas dos animais marcados (em cinza) e controles (em branco) foram 19/7/13/13/9 e 4/14/13/6, respectivamente. Os asteriscos indicam diferenças significativas (P = 0,01, teste de Tukey) entre os grupos marcado e controle.

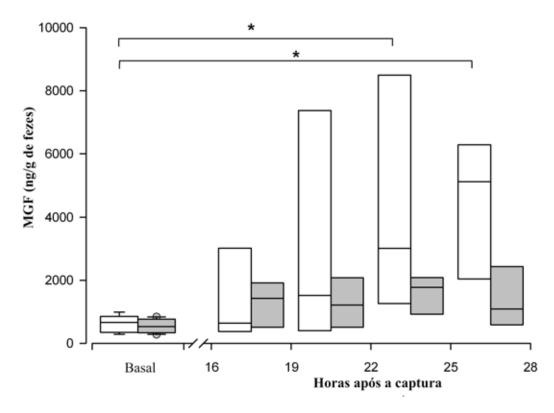


Figura 2 – Concentração de MGF após a captura em ambos os sexos de veados-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) de vida livre. Valores expressos por medianas e quartis. O número de amostras colhidas após a captura de machos (em branco) e fêmeas (em cinza) foram 9/4/8/8/4 e 10/3/5/5/5, respectivamente. Os asteriscos indicam valores de MGF significativamente maiores (P = 0,01; teste de Tukey) em machos marcados nos intervalos de tempo 22-25 h e 25-28 h quando comparados com seus valores basais.

Não foram observadas diferenças entre as distâncias de fuga entre animais marcados (36,1 \pm 23,6 m) e controles (28,7 \pm 14,8 m). Entretanto, a distância de fuga das fêmeas (n = 9; 47,0 \pm 24,1 m) foi significativamente maior que a dos machos (n = 9; 21,8 \pm 21,4 m) no grupo marcado. Também não foram observadas diferenças entre animais marcados e controles e entre os sexos para a reatividade ao observador. Entretanto, nos animais marcados, a maior porcentagem de aumento dos MGF teve uma correlação negativa (P = 0,01, r = -0,65) com a reatividade ao observador.

A PCA demonstrou dois componentes principais (explicando 37,31% e 19,54% do total da variação entre os animais). O primeiro componente teve uma alta correlação negativa com os termos desconfiado, alerta e amedrontado e uma alta correlação positiva com os termos calmo, indiferente e socialmente ocupado (Tabela 1, Figura 3). Quando os valores obtidos na escala visual analítica foram multiplicados pela distância Euclidiana dos termos do QBA obtidos na PCA e então analisados pelo teste-t, foi possível observar que os animais marcados foram mais amedrontados (P = 0,02), menos socialmente ocupados (P = 0,02) e menos defensivos (P = 0,04) que os animais controle.

Tabela 1 – Terminologias com as maiores correlações positivas e negativas em cada componente da PCA.

Tamain da nia	Componentes							
Terminologia	1°	2°	3°	4°	5°			
Calmo	0,78	0,15	0,32	-0,25	-0,30			
Indiferente	0,70	0,33	-0,41	0,06	-0,22			
Desconfiado	-0,83	-0,25	0,00	-0,06	-0,13			
Alerta	-0,80	-0,10	0,15	-0,46	-0,12			
Agressivo	0,13	-0,51	0,50	0,66	-0,08			
Amedrontado	-0,60	0,28	-0,49	0,47	-0,16			
Socialmente ocupado	0,41	-0,66	-0,38	-0,11	0,42			
Defensivo	0,15	-0,77	-0,31	-0,11	-0,46			

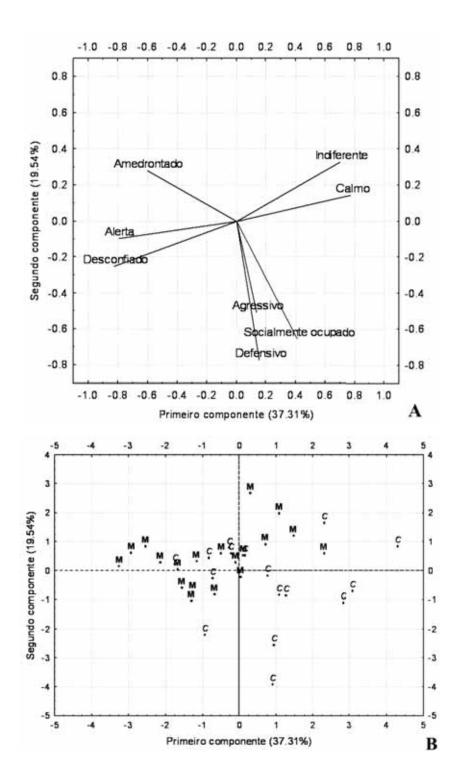


Figura 3 – Resultados da PCA, mostrando o agrupamento dos termos no primeiro e segundo componentes principais. A – gráfico dos termos e B – gráfico dos casos (M – marcado e C – controle).

Entre os animais marcados, um macho morreu no dia pós-captura devido a um acidente ofídico, sendo o veneno no local da picada compatível com serpentes do gênero *Crotalus*, e outro foi eutanasiado três dias após a captura, devido à miopatia de captura, diagnosticada em exames pós-morte. Três machos, incluindo o animal picado por cobra, e uma fêmea, claudicaram e tiveram ataxia severa e por estas razões receberam o escore 3 no etograma das consequências da captura. Estes animais foram anestesiados com a associação cetamina/midazolam/xilazina. Entretanto, não foram observadas diferenças entre os animais marcados para os escores de consequência de captura.

Os dois machos marcados que morreram não exibiram comportamento de forrageamento e foram, consequentemente retirados da análise do comportamento de forrageamento. A intensidade do comportamento de forrageamento não foi diferente entre animais marcados e controle. No entanto, fêmeas marcadas exibiram comportamento de forrageamento em menor intensidade (teste-t de Student, P = 0,04) do que os machos marcados no dia pós-captura.

Discussão

Com o presente estudo objetivou-se avaliar a resposta hormonal e comportamental ao estresse da captura e marcação com rádio-colares de veados-campeiro de vida livre. Nos animais capturados (grupo marcado), foi observado valores significativamente mais elevados de MGF nos intervalos 22-25h e 25-28h após a captura quando comparados com animais do grupo controle. Nos machos, mas não nas fêmeas, os valores de MGF obtidos nos intervalos mencionados foram significativamente mais elevados do que os seus respectivos valores basais (0h). Na análise dos dados comportamentais, foi possível observar que as fêmeas exibiram maior distância de fuga e menor comportamento de forrageamento que os machos no grupo marcado. Além disso, os animais marcados foram significativamente mais amedrontados, menos socialmente ocupados e defensivos do que o grupo controle. A porcentagem de aumento de MGF (valores de "pico") no grupo marcado correlacionou-se apenas à reatividade ao observador.

Para uma monitoração realista da atividade adrenocortical utilizando a mensuração de MGF é importante a validação das técnicas utilizadas (TOUMA; PALME, 2005; SHERIFF et al., 2011). Assim, com base na validação biológica, o EIA 11-oxoetiocholanolone (MÖSTL; PALME, 1997) foi escolhido para mensuração dos MGF neste estudo, pois este detectou mudanças nas concentrações de MGF com significado biológico, resultando em picos de concentração em média cinco vezes (duas a 17 vezes) maiores que os respectivos valores basais nos animais submetidos a um estímulo estressor considerado relevante (grupo marcado). Uma elevação comparável (2,9 a 4,3 vezes) na concentração de MGF foi observada em Dama dama L. (KONJEVIĆ et al., 2011) 18 e 22h após a aplicação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), utilizando o referido EIA 11-oxoetiocholanolone. O mesmo EIA também foi utilizado com sucesso para mensuração da atividade adrenocortical em diferentes espécies de ruminantes (PALME, 2012). Estímulos como transporte (DEHNHARD et al., 2001), distúrbios causados por seres humanos (HUBER et al., 2003b), diferentes sistemas de manejo de animais cativos (CHRISTOFOLETTI; PEREIRA; DUARTE, 2010), introdução de indivíduos de vida livre ao cativeiro (PEREIRA; DUARTE; NEGRÃO, 2006) e contenção física realizada por meio de sistemas de contenção (MOLL et al., 2008), também foram descritos como validação biológica para várias espécies de cervídeos.

A ausência de diferenças significativas nas concentrações basais de MGF entre as fêmeas e os machos do grupo marcado ou entre os sexos no grupo controle sugere que não existem diferenças entre sexos para excreção de MGF em veados-campeiro. Resultados semelhantes foram descritos em *Cervus elaphus* (HUBER et al., 2003a,b), *Mazama gouazoubira* e *Blastocerus dichotomus* (CHRISTOFOLETTI; PEREIRA; DUARTE, 2010). Entretanto, no presente estudo foi possível observar que as concentrações médias de MGF em fêmeas após a captura e marcação com rádio-colares não diferiram significativamente dos respectivos valores considerados basais. Esse resultado pode refletir duas possíveis situações: (1) nas fêmeas as amostras com as concentrações mais elevadas ("pico") de MGF não foram colhidas pelo observador no dia pós-captura (amostras perdidas) ou (2) as fêmeas de veados-campeiro são menos susceptíveis ao estresse.

As fêmeas do grupo marcado exibiram comportamento de forrageamento significativamente menor no dia pós-captura quando comparadas aos machos do mesmo grupo. A interrupção ou redução na ingestão de alimentos pode ter contribuído para redução no número de defecações durante o período de luminosidade do dia pós-captura (apenas 18 amostras puderam ser colhidas comparadas com as 28 colhidas dos machos marcados) e, consequentemente, ter aumentado o tempo necessário para excreção dos MGF. Entretanto, não foi possível colher amostras de todas as defecações no dia pós-captura, uma vez que alguns animais não permitiram a aproximação adequada do observador, o que pode ter resultado em perda de algumas amostras de fezes, especialmente em fêmeas do grupo marcado, que exibiram maior distância de fuga do que os machos do mesmo grupo. Dessa forma, ambas as possibilidades podem ter contribuído para que a elevação na concentração de MGF após a captura não tenha sido significativa em fêmeas do grupo marcado.

Curiosamente, mesmo com um menor número de amostras colhidas de fêmeas, foi possível observar uma elevação na concentração de MGF após a captura, entretanto, esta foi menor do que o observado em machos (duas a nove vezes contra três a 17 vezes a mais que seus respectivos valores basais). O reduzido tamanho amostral, por outro lado, pode ter contribuído para a falta de poder estatístico de discriminação entre os sexos, uma vez que foi observado grande variação individual na concentração de MGF. A maioria dos estudos que avaliaram os MGF após um estímulo estressor em cervídeos foram conduzidos apenas em machos (DEHNHARD et al., 2001; PEREIRA; DUARTE; NEGRÃO, 2006) ou então não mencionam diferenças entre sexos para a elevação de MGF após o estresse (MOLL et al., 2008). Em Mazama gouazoubira e em Blastocerus dichotomus não foram observadas diferenças entre sexos para as concentrações de MGF após mudanças no sistema de manejo de animais cativos (CHRISTOFOLETTI; PEREIRA; DUARTE, 2010). Entretanto, apenas três machos e três fêmeas de cada espécie mencionada foram utilizados no estudo de Christofoletti, Pereira e Duarte (2010) e a grande variação individual observada pode ter mascarado uma possível diferença entre sexos na elevação de MGF pós-estresse. Em um estudo com fêmeas de Cervus elaphus (HUBER et al., 2003b), os animais que passaram por contenção química tiveram um aumento 774% menor após administração de ACTH comparado aos animais que passaram pelo teste do ACTH sem contenção química, indicando que a anestesia pode interferir com a liberação de glicocorticoides ou excreção de MGF. Entretanto, no referido estudo não foram utilizados machos.

Diferentes estilos na resposta comportamental ao estresse vêm sendo correlacionados com as concentrações de MGF nas diferentes espécies (STÖWE et al., 2010) e dois padrões de resposta ao estresse, proativo com menor ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e reativo com maior ativação do eixo HPA, podem ser distinguidos (KOOLHAAS et al., 1999). Nós observamos que o aumento nas concentrações de MGF nos animais marcados se correlacionam negativamente com a reatividade ao observador no dia pós-captura. Fato esse que pode estar relacionado com os padrões de resposta ao estresse descritos por Koolhaas et al. (1999), onde animais que exibem um comportamento de imobilidade em situações estressantes frequentemente têm uma ativação do eixo HPA pronunciada após o estresse.

Entretanto, também seria esperado que as elevações nas concentrações de MGF nos animais marcados se correlacionassem com a distância de fuga registrada no dia pós-captura, uma vez que já foi descrito tal correlação em veados-campeiro de vida livre submetidos a distúrbios causados pela presença de seres humanos no entorno de sua área de proteção (PEREIRA; DUARTE; NEGRÃO, 2006), porém, isso não foi observado. Uma possível explicação para essa diferença pode ser o reduzido número de amostras colhidas dos animais marcados no dia pós-captura neste estudo (n = 46) comparado ao estudo mencionado (n = 186), o qual aumenta o efeito da variação individual na análise dos MGF. Além disso, a distância de fuga significativamente maior em fêmeas que em machos no grupo marcado e o fato de que os machos marcados tiveram elevações significativas na concentração de MGF (comparado ao basal) também reforçam a ideia de que as fêmeas de veadoscampeiro respondem de forma diferente ao estímulo estressor, exibindo um comportamento proativo com maiores distâncias de fuga e menores elevações nas concentrações de MGF, mesmo que não tenha sido possível observar uma correlação estatística entre as concentrações de MGF e a distância de fuga.

O QBA foi útil para avaliar as diferenças entre os animais marcados e controles e permitiu inferir sobre o comportamento por meio de escalas visuais analíticas objetivas. O fato de animais marcados serem mais amedrontados e menos socialmente ocupados e defensivos do que animais controle, pode ter relevância em capturas que envolvam fêmeas lactantes ou as acompanhadas de filhotes jovens. De acordo com Côté, Festa-Bianchet e Fournier (1998), foi observado declínio na sobrevivência de filhotes de Oreamnos americanus devido ao abandono por parte de suas mães após a anestesia. No presente estudo, duas das 10 fêmeas monitoradas estavam acompanhadas dos filhotes durante a captura. Apenas uma delas não foi vista em companhia do filhote no dia pós-captura, o que pode ser caracterizado como abandono. Entretanto, o impacto desse abandono na sobrevivência do filhote não pôde ser avaliada devido ao curto período de monitoração. A diminuição do comportamento de defesa após a captura nos animais marcados pode ser preocupante em áreas com alta pressão de predação. Em um estudo que avaliou a mortalidade pós-captura de Odocoileus virginianus, os autores descreveram que 37,5% dos óbitos causados por lobos no período de 14 dias pós-captura ocorreram no dia seguinte à captura dos animais (DELGIUDICE et al., 2005), indicando alto risco de predação em função da captura e manipulação.

As consequências negativas da captura incluíram claudicação e ataxia severa em 20% dos animais marcados, o que pode predispor os animais à predação ou preceder à mortalidade tardia devido à miopatia de captura como observado em *Odocoileus virginianus* (BERINGER et al., 1996; DELGIUDICE e tal., 2005). A associação de cetamina/midazolam/xilazina, utilizada em um dos protocolos anestésicos, resultou em períodos de indução mais longos (18,4 ± 12,4 min) quando comparada à associação tiletamina-zolazepam/xilazina (11,7 ± 6,8 min). Isso pode ter resultado em maior esforço muscular durante a indução anestésica e, consequentemente, estar relacionado à alta incidência de ataxia pós-anestesia (PATERSON, 2007), uma vez que, com exceção do animal picado por cobra, todos os animais que apresentaram estes sintomas foram anestesiados com o protocolo cetamina/midazolam/xilazina.

Metade da taxa de mortalidade registrada (10%) foi atribuída à miopatia de captura com base nos achados de necropsia e histologia muscular, sendo esse

percentual semelhante a taxa de 4,9% observada em um estudo que avaliou a taxa de mortalidade pós-anestesia em *Blastocerus dichotomus* capturados em vida livre sem a utilização de armadilhas para captura (DUARTE, 2008). O acidente ofídico que levou um dos animais a óbito, ocorreu no máximo após 12h da recuperação anestésica e, portanto, foi provavelmente causado pela redução do estado de alerta do animal durante esse período em função da anestesia. Entretanto, a ocorrência deste sem nenhuma correlação com o evento da captura não pode ser excluída.

Conclusões

Assim, com base nos dados comportamentais, recomenda-se maior cuidado durante capturas envolvendo fêmeas de veados-campeiro acompanhadas de filhotes e animais em áreas com alta pressão de predação. As análises de MGF revelaram uma possível diferença entre fêmeas e machos na resposta ao estresse e parece razoável sugerir que as fêmeas dessa espécie são menos susceptíveis ao estresse de captura e marcação com radio-colares do que os machos, o que pode estar relacionado à anestesia ou à diferenças na maneira como os animais lidam com a captura. Porém, devido ao reduzido número de amostras obtidas neste estudo, investigações futuras são necessárias para confirmar tais achados e elucidar o possível mecanismo das diferenças entre sexos observadas.

Referências

BERINGER, J.; HANSEN, L. P.; WILDING, W.; FISCHER, J.; SHERIFF, S. L. Factors affecting capture myopathy in white-tailed deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 60, n. 2, p. 373-380, 1996.

BOESCH, J. M.; BOULANGER, J. R.; CURTIS P. D.; ERB, H. N.; LUDDERS, J. W.; KRAUS, M. S.; GLEED, R.D. Biochemical variables in free-ranging white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) after chemical immobilization in clover traps or via ground-darting. **Journal of Zoo Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 42, n. 1, p. 18-28, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1638/2009-0146.1.

CABRERA, A. Catalogo de los mamíferos de América del Sur. **Revista do Museo Argentino Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"**, Buenos Aires, v.4, p. 309-732, 1960.

CABRERA, A. Sobre ala sistemática del venado y su variación individual y geográfica. **Revista del Museo de la Plata**, Buenos Aires, v. 18, n.3, p. 5-41, 1943. CAULKETT, N. Anesthesia for North American cervids. **The Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 389-390, 1997.

CHRISTOFOLETTI, M. D; PEREIRA, R. J. G.; DUARTE, J. M. B. Influence of husbandry systems on physiological stress reactions of captive brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) – noninvasive analysis of fecal cortisol metabolites. **European Journal of Wildlife Research**, New York, v. 56, n. 4, p. 561-568, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s10344-009-0350-8.

CONNER, M. C.; SOUTIERE, E. C.; LANCIA, R. A. Drop-netting deer: costs and incidence of capture myopathy. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 15, n. 3, p. 434-438, 1987.

CÔTÉ, S. D.; FESTA-BIANCHET, M.; FOURNIER, F. Life-history effects of chemical immobilization and radiocollars on mountain goats. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 62, n.2, p. 745-752, 1998.

DEHNHARD, M.; CLAUS, M.; LECHNER-DOLL, M.; MEYER, H. H. D.; PALME, R. Non-invasive monitoring of adrenocortical activity in the roe deer (*Capreolus capreolus*) by measurement of fecal cortisol metabolites. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 123, n. 1, p. 111-120, 2001. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1006/gcen.2001.7656.

DELGIUDICE, G. D.; KUNKEL, K. E.; MECH, L. D.; SEAL, U. S. Minimizing capture-related stress on white-tailed deer with a capture collar. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 54, n. 2, p. 299-303, 1990.

DELGIUDICE, G. D.; SAMPSON, B. A.; KUEHN, D. W.; POWELL, M. C.; FIEBERG, J. Understanding margins of the safe capture, chemical immobilization, and handling of free-ranging white-tailed deer. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 33, n. 2, p. 677-687, 2005. Disponível em: http://dx.doi.org/10.2193/0091-7648(2005)33[677:UMOSCC]2.0.CO;2.

DUARTE, J. M. B. A technique for the capture of free-ranging marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Journal of Zoo Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 39, n. 4, p. 596-599, 2008.

DUARTE, J. M. B.; VOGLIOTTI, A.; ZANETTI, E. S.; OLIVEIRA, M. L.; TIEPOLO, L. M.; RODRIGUES, L. F.; ALMEIDA, L. B.; BRAGA, F. G. Avaliação do risco de extinção do veado-campeiro *Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758, no Brasil. **Biodivesidade Brasileira**, Ano II, n. 3, p. 20-32, 2012. Disponível em: <www2.icmbio.gov.br/revistaeletronica/index.php/BioBR>. Acesso em: 30 ago. 2012. GASPARINNI, R. L.; DUARTE, J. M. B.; NUNES, A. L. V. Manejo em cativeiro. In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos:** *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 126-140.

GONZÁLEZ, S.; MERINO, M. L. *Ozotoceros bezoarticus*. In: IUCN. **IUCN Red list of threatened species.** 2008. Disponível em: http://www.iucnredlist.org. Acesso em: 30 ago. 2012.

HUBER, S.; PALME, R.; ARNOLD, W. Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 130, n. 1, p. 48-54, 2003a. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016.S0016-6480(02)00535-X.

HUBER, S.; PALME, R.; ZENKER, W.; MÖSTL, E. Non-invasive monitoring of adrenocortical response in red deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 67, n. 2, p. 258-266, 2003b.

KARESH, W. B.; COOK, R. A. Applications of veterinary medicine to in situ conservation efforts. **Oryx**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 244-252, 1995. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1017/S0030605300021232.

KONJEVIĆ, D.; SLAVICA, A.; SEVERIN, K.; KRAPINEC, K.; BOŽIĆ, F.; PALME, R. Non-invasive monitoring of adrenocortical activity in free-ranging fallow deer (*Dama dama L.*). **European Journal of Wildlife Research**, New York, v. 57, n.1, p. 77-81, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s10344-010-0401-1.

KOOLHAAS, J. M.; KORTE, S. M.; DE BOER, S. F.; VAN DER VEGT, B. J.; VAN REENEN, C. G.; HOPSTER, H.; DE JONG, I. C.; RUIS, M. A. W.; BLOKHUIS, H. J. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology.

Neuroscience and Biobehavioral Review, New York, v. 23, n. 7, p. 925-935, 1999. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016.S0149-7634(99)00026-3.

MERINO, M. L.; GONZÁLEZ, S.; LEEUWENBERG, F; RODRIGUES, F. H. G.; PINDER, L.; TOMÁS, W. M. Veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*). In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos:** *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal: Funep, 1997. p. 41-58.

MOLL, R. J.; MILLSPAUGH, J. J.; BERINGER, J.; SARTWELL, J.; WOODS, R.J.; VERCAUTEREN, K.C. Physiological stress response of captive white-tailed deer to video collars. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 73, n. 4, p.609-614, 2008. Disponível em: http://dx.doi.org/10.2193/2008-266.

MÖSTL, E.; MAGGS, J. L.; SCHRÖTTER, G.; BESENFELDER, U.; PALME, R. Measurement of cortisol metabolites in faeces of ruminants. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p.127-139, 2002.

MOURÃO, G; COUTINHO, M.; MAURO, R.; CAMPOS, Z.; TOMÁS, W.; MAGNUSSON, W. Aerial surveys of caiman, marsh deer and pampas deer in the Pantanal Wetland of Brazil. **Biological Conservation**, Essex, v. 92, n. 2, p. 175-183, 2000.

MURRAY, S.; MONFORT, S. L.; WARE, L.; MCSHEA, W. J.; BUSH, M. Anesthesia in female white-tailed deer using telazol[®] and xylazine. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 4, p. 670-675, 2000.

PALME, R. Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals. **Animal Welfare**, Wheat Hampstead, v. 21, n.1, p. 331-337, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.7120/09627286.21.3.331.

PALME, R.; MÖSTL, E. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. **International Journal of Mammalian Biology**, v. 62, n. 2, p. 192-197, 1997. Suplemento.

PATERSON, J. Capture Myopathy. In: WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo Animal & Wildlife Immobilization and Anesthesia.** Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 115-122.

PEREIRA, R. J. G.; DUARTE, J. M. B.; NEGRÃO, J. A. Effects of environmental conditions, human activity, reproduction, antler cycle and grouping on fecal

glucocorticoids of free-ranging Pampas deer stags (*Ozotoceros bezoarticus*). **Hormones and Behavior**, New York, v. 49, n.1, p. 114-122, 2006.

READ, M. R. A review of alpha₂ adrenoreceptor agonist and the development of hypoxemia in domestic and wild ruminants. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 34, n. 2, p. 134-138, 2003.

READ, M. R.; CAULKETT, N. A.; SYMINGTON, A.; SHURY, T. K. Treatment of hypoxia during xylazine-tiletamine-zolazepam immobilization of wapiti. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 42, n. 11, p. 861-864, 2001.

REHNUS, M.; HACKLÄNDER, K.; PALME, R. A non-invasive method for measuring glucocorticoid metabolites in Mountain hares (*Lepus timidus*). **European Journal of Wildlife Research**, New York, v. 55, n. 6, p. 615-620, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s10344-009-0297-9.

RODRIGUES, F. H. G. Estimating Pampas Deer Population in Emas National Park, Brazil. In: **Deer Specialist Group News**, n. 18, p. 10-12. http://www.iibce.edu.uy/DEER/>. 2003. Acesso em 30 agosto. 2012.

RODRIGUES, F. P.; GARCIA, J. F.; RAMOS, P. R. R.; BORTOLOZZI, J.; DUARTE, J. M. B. Genetic diversity of two population of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 67, n. 4, p. 805-811, 2007. Suplemento.

SEAL, U. S.; BUSH, M. Capture and chemical immobilization of cervids. In: WEMMER, C.M. **Biology and management of the cervids**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1987. p. 480-503.

SHERIFF, M. J.; DANTZER, B.; DELEHANTY, B.; PALME, R.; BOONSTRA R. Measuring stress in wildlife: techniques to quantifying glucocorticoids. **Oecologia**, Berlim, v. 166, n. 4, p. 869-887, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s00442-011-1943-y.

STÖWE, M.; ROSIVALL, B.; DRENT, P.; MÖSTL, E. Selection for fast and slow exploration affects baseline and stress induced corticosterone excretion in Great tit nestlings, *Parus major*. **Hormones and Behavior**, New York, v. 58, n. 5, p. 864-871, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.08.011.

TOMÁS, W. M.; CACERES, N. C.; NUNES, A. P.; FISCHER, E. A.; MOURÃO, G.; CAMPOS, Z. Mammals in the Pantanal wetland, Brazil. In: W. J. JUNK; C. J. DA

SILVA; C. NUNES DA CUNHA; K. M., WANTZEN. **The Pantanal:** ecology, biodiversity and sustainable management of a large Neotropical seasonal wetland. Sophia: Pensoft Publishers, 2011. p. 563-595.

TOMÁS, W. M.; McSHEA W.; MIRANDA G. H. B.; MOREIRA J. R.; MOURÃO G.; LIMA BORGES P. A. A survey of a pampas deer, *Ozotoceros bezoarticus leucogaster* (Artiodactyla, Cervidae), population in the Pantanal wetland, Brazil, using the distance sampling technique. **Animal Biodiversity and Conservation**, Barcelona, v. 24, p. 101-106, 2001.

TOUMA, C.; PALME, R. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1046, Jun., p. 54-74, 2005. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1196/annals.1343.006>.