

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**ANESTESIA DE JUNDIÁS CINZAS E ALBINOS EM
BANHO DE IMERSÃO COM METANOSULFONATO DE
TRICAÍNA OU PROPOFOL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Luciane Tourem Gressler

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**ANESTESIA DE JUNDIÁS CINZAS E ALBINOS EM BANHO DE
IMERSÃO COM METANOSULFONATO DE TRICAÍNA OU
PROPOFOL**

Luciane Tourem Gressler

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Farmacologia Aplicada à Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Farmacologia

Orientador: Prof. Bernardo Baldisserotto

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ANESTESIA DE JUNDIÁS CINZAS E ALBINOS EM BANHO DE
IMERSÃO COM METANOSULFONATO DE TRICAÍNA OU PROPOFOL**

elaborada por
Luciane Tourem Gressler

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Farmacologia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Bernardo Baldisserotto, Dr.
(Presidente/Orientador)

Gilberto Moraes, Dr. (UFSCAR)

João Radünz Neto, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 15 de dezembro de 2011.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
Universidade Federal de Santa Maria

ANESTESIA DE JUNDIÁS CINZAS E ALBINOS EM BANHO DE IMERSÃO COM METANOSULFONATO DE TRICAÍNA OU PROPOFOL

AUTORA: LUCIANE TOUREM GRESSLER

ORIENTADOR: BERNARDO BALDISSEROTTO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 15 de dezembro de 2011.

A eficácia da anestesia em banho de imersão com metanosulfonato de tricaína ou propofol em jundiá *Rhamdia quelen* foi avaliada através de tempos de indução e recuperação anestésica e observação de mortalidade. Foram realizados dois tipos de comparações: um contrastando jundiás cinzas de três tamanhos e outro comparando duas variedades da espécie, albina e cinza. Para metanosulfonato de tricaína, não houve relação uniforme entre tempos de indução e recuperação e tamanho dos jundiás. Os peixes cinzas foram mais sensíveis ao anestésico do que os albinos e a recuperação também ocorreu mais rapidamente nos animais cinzas. Indução anestésica com propofol apresentou relação direta com o tamanho dos peixes, sendo os pequenos os primeiros a atingirem o estágio de anestesia. Não foi observado padrão uniforme entre os diferentes tamanhos de peixe na recuperação. Propofol induziu anestesia mais rapidamente nos peixes cinzas do que nos albinos, mas não foi observada relação direta entre as duas variedades na recuperação. Não houve mortalidade ao longo do experimento. Este estudo descreve um uso novo, eficiente e prático de propofol como anestésico para banho de imersão em peixes, bem como o primeiro relato de anestesia de jundiá com este agente. Os melhores resultados com propofol foram registrados na comparação entre jundiás cinzas de diferentes tamanhos, indicando 12 mg.L⁻¹ como a concentração mais eficaz para anestesia dos peixes pequenos e 10 mg.L⁻¹ como a mais eficiente para os peixes médios e grandes. Com relação ao metanosulfonato de tricaína, 300 mg.L⁻¹ promoveu resultados satisfatórios para anestesia dos peixes grandes na comparação entre tamanhos e para anestesia dos albinos na comparação entre variedades. Nesta última, os jundiás cinzas responderam melhor a concentração de 100 mg.L⁻¹. Estes resultados demonstram ser essencial considerar tamanho e variação genética quando opta-se por anestésias jundiás em banho de imersão com metanosulfonato de tricaína ou propofol.

Palavras-chave: Anestésico. Banho. Cinza. Albino.

ABSTRACT

Master's degree dissertation
Postgraduate program in Pharmacology
Universidade Federal de Santa Maria

IMMERSION ANESTHESIA OF GREY AND ALBINO SILVER CATFISH WITH TRICAINE METHANESULFONATE OR PROPOFOL

AUTHOR: LUCIANE TOUREM GRESSLER

ADVISER: BERNARDO BALDISSEROTTO

Date and place of defense: Santa Maria, December 15, 2011.

The efficacy of immersion anaesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol on silver catfish *Rhamdia quelen* was assessed through induction and recovery times and observation of mortality. Two types of comparisons were conducted: one contrasting grey silver catfish of three size ranges and another comparing two strains of the species, albino and grey. For tricaine methanesulfonate, there was no uniform relationship between the induction and recovery times and the size of the grey silver catfish. The grey animals were more sensitive to the anaesthetic than the albinos were, and recovery was also faster in the grey fish group. Induction of propofol anaesthesia had a direct relationship with size, with the small animals reaching anaesthesia stage earlier. No uniform pattern was observed for recovery among the three different sizes. Propofol promoted faster anaesthesia in the grey animals than in the albinos, but no direct relationship was observed for recovery between the strains. No mortality was detected throughout the experiment. This study reports a novel, efficient and practical use of propofol as an immersion anaesthetic for fish and notes the first time that silver catfish have been anaesthetised with such an agent. The best outcomes with propofol were registered in the size range comparison, indicating that 12 mg.L⁻¹ is the most efficient concentration to anaesthetise the small fish and that 10 mg.L⁻¹ is a more appropriate concentration for anaesthesia of the medium and large animals. With regard to tricaine methanesulfonate, 300 mg.L⁻¹ promoted satisfactory results for anaesthesia of the large fish in the size range comparison and the albino in the strain comparison. The grey fish responded better to 100 mg.L⁻¹ of the anaesthetic in the latter evaluation. These findings show that it is essential to consider size and strain when anaesthetising silver catfish with tricaine methanesulfonate or propofol bath solution.

Key-words: Anaesthetic. Bath. Grey. Albino.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	07
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	09
2.1 O jundiá	09
2.2 Anestesia de peixes	09
2.2.1 Fatores que influenciam na eficácia da anestesia.....	10
2.2.2 Mecanismo de anestesia.....	11
2.2.3 Resposta ao estresse e o papel da anestesia no seu bloqueio.....	12
2.2.4 Métodos de anestesia.....	13
2.2.5 Indução e recuperação anestésica na anestesia em banho de imersão.....	15
2.2.6 Anestésicos.....	16
2.2.6.1 Metanosulfonato de tricafina.....	17
2.2.6.2 Propofol.....	18
ANEXO	20
3 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO

O jundiá *Rhamdia quelen*, Heptapteridae, é um teleósteo de água doce endêmico do sudeste do México ao centro da Argentina (BALDISSEROTTO, 2004). Tem grande importância econômica no Rio Grande do Sul, onde é largamente utilizado nos viveiros de piscicultura e possui boa aceitação pelo mercado consumidor (CARNEIRO, 2004; BALDISSEROTTO, 2009).

A manutenção de peixes em ambientes artificiais requer práticas que assegurem o bem-estar dos animais, especialmente durante rotinas de manipulação, que podem representar períodos de estresse excessivo (WEBER et al., 2009). Atendendo a este requisito, é possível maximizar a produção e assim garantir a lucratividade (GOMES et al., 2000; BARTON, 2002). Neste contexto, anestésicos representam uma ferramenta útil na redução da excitação em peixes, além de indubitavelmente facilitarem o manejo (ROSS, ROSS, 2008). Protocolos empregando tais agentes neste grupo de animais vêm sendo largamente estudados pela comunidade científica mundial (VELASCO-SANTAMARÍA, PALACIOS-RUIZ, CRUZ-CASALLAS, 2008; ZAHL et al., 2009; MULCAHY et al., 2011; MURRAY, 2010). No Brasil, no entanto, não existem leis que regulamentem o uso de anestésicos para peixes, sendo as recomendações da Food and Drug Administration (FDA, EUA) normalmente seguidas (ROUBACH et al., 2005).

O metanosulfonato de triclaína é um anestésico mundialmente difundido para peixes, sendo aprovado para uso nos animais destinados ao consumo humano pela FDA (HADFIELD, WHITAKER, CLAYTON, 2007; VELISEK et al., 2009; CARTER, WOODLEY, BROWN, 2011). Porém, não é comercializado no Brasil e suas taxas de importação são proibitivas (ROUBACH, GOMES, 2001). Por esta razão, busca-se estabelecer protocolos viáveis para uso na anestesia de peixes no país, subsidiando autoridades responsáveis, comitês de ética em experimentação animal e também o mercado de carnes para exportação (SIMÕES, GOMES, 2009). Fundamentalmente, o objetivo é a minimização do estresse imposto aos peixes desde o manejo de criação até a linha de abate, bem como no ambiente de pesquisa.

O anestésico propofol é amplamente utilizado no Brasil e no mundo para indução anestésica intravenosa, tanto na medicina veterinária como na humana (BORIN, CRIVELENTI, LIMA, 2010; HIPALGAONKAR, MAJUMDAR, KANSARA, 2010; MULCAHY et al., 2011). No entanto, sua aplicação em peixes tem sido muito pouco explorada (FLEMING et al., 2003;

MILLER, MITCHELL, HEATLEY, 2005; NEIFFER, STAMPER, 2009), representando uma alternativa em potencial para o estudo do seu uso também nesta classe de animais.

Diversas variáveis bióticas e abióticas podem afetar o resultado da anestesia em peixes (ROSS, ROSS, 2008). Em termos biológicos, diferenças intraespecíficas como tamanho, taxa metabólica, área branquial, quantidade de gordura corporal e variação genética são alguns dos fatores a serem considerados quando opta-se pelo emprego de um anestésico (COYLE, DURBOROW, TIDWELL, 2004).

O presente trabalho faz uma breve referência à anestesia de peixes, expondo considerações a cerca do procedimento e dos anestésicos metanosulfonato de tricaína e propofol, além de descrever o jundiá, peixe foco desta investigação. O contraste entre os anestésicos também é o alvo do estudo relatado no manuscrito “Immersion anesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol for different sizes and strains of silver catfish”, submetido a periódico B2 nas Ciências Biológicas II.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O jundiá

O jundiá *Rhamdia quelen*, Heptapteridae, é um peixe de couro que habita preferencialmente águas mais calmas e profundas de rios do sudeste do México ao centro da Argentina (BALDISSEROTTO, 2004). Sua coloração varia de marrom avermelhado claro a cinza ardósia, porém a variedade albina também pode ser encontrada, especialmente em cativeiro, recebendo grande interesse como peixe ornamental (GOMES et al., 2000; BALDISSEROTTO, 2009). Apesar de ser onívoro, o jundiá apresenta tendência piscívora, mas também se alimenta de crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (GUEDES, 1980; MEURER, ZANIBONI FILHO, 1997).

Dentre as espécies de peixes de água doce cultivadas no Brasil, o jundiá destaca-se por ser bem adaptado a diferentes ambientes e ao alimento artificial extrusado ou flutuante, provavelmente por sua característica rusticidade. Apresenta bons resultados em viveiros de piscicultura no sul do país, onde é bem aceito pelo mercado consumidor, tanto para a alimentação direta quanto para a pesca esportiva (CARNEIRO, 2004). O jundiá tem sido foco constante de pesquisadores em diversas linhas de pesquisa (BARCELLOS et al., 2006; CUNHA et al., 2010a; GARCIA et al., 2011).

2.2 Anestesia de peixes

A anestesia é uma aliada da piscicultura, sendo utilizada para reduzir o estresse em práticas como extrusão de ovos, biometria e transporte (PIRHONEN, SCHRECK, 2003; YANONG, 2006; PEREIRA-DA-SILVA et al., 2009). Este recurso reduz a hipermotilidade dos peixes, possibilitando a realização de intervenções menos lesivas, minimizando a intensidade de estresse imposto aos mesmos e a ocorrência de danos físicos, protegendo suas funções vitais e

fisiológicas (COOKE et al., 2004). Previnem-se, assim, inconvenientes como perdas de apetite e de peso, redução no crescimento e aparecimento de doenças (BARCELLOS et al., 2000).

No entanto, apesar de ser difícil distinguir os efeitos diretos do procedimento anestésico daqueles gerados em decorrência da captura e do manejo, sabe-se que a anestesia *per se* pode constituir um fator estressante em potencial (WAGNER, ARNDT, HILTON, 2002; PIRHONEN, SCHRECK, 2003; BOLASINA, 2006). Por esta razão, a determinação de concentrações apropriadas do anestésico em função das características do peixe a ser anestesiado é de fundamental importância, minimizando, assim, o impacto fisiológico (PARK et al., 2008).

2.2.1 Fatores que influenciam na eficácia da anestesia

Diversos fatores ambientais e biológicos podem afetar a farmacodinâmica dos anestésicos em peixes (CARTER, WOODLEY, BROWN, 2011). Em se tratando de influências do ambiente, temperatura, pH, salinidade, dureza e oxigênio dissolvido são características da água capazes de interferir no resultado do procedimento anestésico (BURKA et al., 1997; COYLE, DURBOROW, TIDWELL, 2004; GOMES et al., 2011).

Com relação a aspectos biológicos, diferenças inter e intraespécie podem deflagrar marcadas divergências. Entre as espécies, variações no formato do corpo e no tamanho da área branquial, além do hábito (ativo/sedentário), são responsáveis por discrepâncias entre estudos empregando o mesmo anestésico em indivíduos de diferentes espécies, porém de mesmo tamanho (COYLE, DURBOROW, TIDWELL, 2004; ROSS, ROSS, 2008). Já em uma mesma espécie, taxa metabólica, maturidade sexual, porcentagem de gordura corporal, relação área branquial/peso corporal, estado de saúde, variação genética e tamanho configuram algumas características que devem ser observadas na escolha de um anestésico e sua concentração (ROUBACH, GOMES, 2001; ROSS, ROSS, 2008).

Dentre as variações na genética dos peixes, o albinismo parece não ser prejudicial para o crescimento e sobrevivência de *Ictalurus punctatus*, segundo Bondari (1984). Este autor salientou ainda que peixes albinos não devem ser considerados mais fortes ou mais fracos do que peixes de pigmentação normal. Olsen, Einarsdottir e Nilssen (1995), no entanto, sugeriram que diferenças

genéticas entre variedades da mesma espécie de peixe podem deflagrar distinção no comportamento e na fisiologia dos animais. Quanto à diferença no tamanho dos peixes, estes mesmos autores observaram marcada alteração na potência de um dado anestésico entre salmões adultos adaptados à água salgada e juvenis mantidos em água doce, concluindo que o tamanho foi crucial na determinação da indução mais rápida dos peixes maiores, apesar da qualidade da água também variar. Por outro lado, alguns autores discordam da dependência entre tamanho do peixe e tempo de indução anestésica (WALSH, PEASE, 2002; WOODY, NELSON, RAMSTAD, 2002).

2.2.2 Mecanismo de anestesia

Anestésicos são agentes químicos ou físicos que primeiramente induzem efeito calmante, seguido por perda de equilíbrio, de mobilidade, de consciência e, finalmente, de ação reflexa (ROSS, ROSS, 2008). Esses efeitos ocorrem quando o organismo é exposto a um agente em altas concentrações ou por períodos prolongados. O anestésico deve apresentar rápida ação depressora sobre o sistema nervoso central (SNC), sem complicações posteriores para o peixe (HSEU et al., 1998).

Segundo Ross e Ross (2008), ocorre uma depressão generalizada do SNC por uma ação nos axônios através da liberação de neurotransmissores ou por alterações na permeabilidade de membrana, ou ainda uma combinação destas ações. Esses autores salientaram que o modo preciso de ação de anestésicos em invertebrados e peixes deve ser mais amplamente elucidado. No entanto, relataram que, com alguns fármacos, parece haver uma relação inversa entre a concentração necessária para induzir certo estágio anestésico e a posição filogenética dos animais, o que faz com que um peixe necessite uma concentração maior do que a de um mamífero para produzir o efeito desejado. Isso pode ser explicado por um fenômeno relacionado à evolução de mecanismos moleculares, podendo ser consequência da presença aumentada de sítios ativos para determinadas formas moleculares nos vertebrados superiores.

2.2.3 Resposta ao estresse e o papel da anestesia no seu bloqueio

A resposta ao estresse é um mecanismo adaptativo que possibilita ao peixe lidar com distúrbios endógenos e exógenos (IWAMA et al., 1999). Esta resposta engloba alterações do nível comportamental ao molecular, sendo que o resultado da interação entre as mudanças no organismo e o fator estressor determina o sucesso ou o fracasso no restabelecimento da homeostase (BARTON, 2002). Sinais externos de estresse referem-se à mudança marcada na coloração, ataxia, taquiventilação e natação errática, por exemplo, enquanto os internos incluem efeitos hormonais e hematológicos, entre outros (ROSS, ROSS, 2008).

O sistema neuroendócrino é o principal mecanismo de controle do estresse em peixes, configurando a resposta primária (MARICCHIOLO, GENOVESE, 2011). Dois grupamentos celulares localizados na glândula interrenal, cromafins e interrenais, são responsáveis pela produção de catecolaminas e cortisol, respectivamente (WENDELAAR BONGA, 1997). Pankhurst (2010) descreveu a resposta primária ao estresse em teleósteos como bifásica, compreendendo inicialmente uma latência curta para que haja o aumento transitório nos níveis circulantes de catecolaminas, seguida de uma latência mais longa para desencadear a elevação dos níveis de cortisol no plasma, porém de efeito mais duradouro.

Apesar da resposta ao estresse ser uma adaptação do animal para que este tolere certas mudanças, há fortes indícios de que tal resposta possa causar efeitos maléficos no peixe (ROSS, ROSS, 2008). O aumento no nível de cortisol plasmático deprime a capacidade imunológica de peixes, propiciando o acometimento de doenças parasitárias, infecções bacterianas e enfermidades virais e fúngicas, acarretando perdas econômicas relevantes. Além disso, as respostas secundárias ao estresse, como aumento nos índices de glicose e lactato circulantes, indicativos de mobilização e metabolização de glicogênio, estão associadas com má qualidade e aparecimento de rigor nos filés (MAULE et al., 1989; PICKERING, POTTINGER, 1989; ROTLLANT et al., 2001; SKJERVOLD et al., 2001; DAVIS, GRIFFIN, GRAY, 2003).

Quando as respostas primárias e secundárias são desencadeadas, há comprometimento do metabolismo, do crescimento, da reprodução e da resistência a doenças, alterando o desempenho e afetando adversamente a sobrevivência. É a denominada resposta terciária, deflagrada por

estresse severo ou crônico e que reduz exponencialmente o bem-estar do peixe (PICKERING, POTTINGER, 1989; BARTON, 2002).

Segundo alguns autores, o anestésico ideal deve possuir a capacidade de bloquear ou reduzir a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-interrenal (HHI) frente ao estresse, atenuando a resposta do animal (OLSEN, EINARSDOTTIR, NILSSEN, 1995; KEENE et al., 1998; SMALL, 2003). Em contrapartida, estudos reportam anestésicos como causadores de estresse nos peixes, diretamente via estimulação do eixo HHI ou indiretamente devido à baixa disponibilidade de oxigênio durante o procedimento anestésico pela ventilação branquial insuficiente (BOLASINA, 2006).

No entanto, a secreção de cortisol é parte natural da resposta do organismo ao estímulo estressor e pode não causar danos ao peixe. Na verdade, o estresse pode ser benéfico para a sobrevivência, particularmente quando induz resposta aguda, deflagrada a partir de procedimentos anestésicos, por exemplo (DAVIS, GRIFFIN, 2004). Ainda, o estresse agudo causado por anestésicos pode ser menos nocivo do que os danos físicos que seriam impostos a peixes não anestesiados durante procedimentos como manejo e transporte (BOLASINA, 2006). Barton e Iwama (1991) afirmaram que só quando o estímulo estressor é muito severo ou duradouro é que há um comprometimento dos mecanismos fisiológicos de resposta, tornando-os mal-adaptativos e determinando o chamado *distresse*, este sim prejudicial à saúde do animal.

2.2.4 Métodos de anestesia

Tipicamente, anestesia de peixes é feita em banho de imersão e, para isso, os anestésicos devem ser solúveis em água. Entretanto, alguns agentes são primeiramente dissolvidos em solvente orgânico para depois serem diluídos na mesma (NEIFFER, STAMPER, 2009). Anestésicos inalatórios, como CO₂, podem ser borbulhados na água para produzir anestesia em peixes. No entanto, sua concentração final no meio de indução pode ser de difícil controle (GELWICKS, ZAFFT, 1998).

Dependendo do anestésico, alguma absorção pode ocorrer através da pele, mas as brânquias são o principal caminho de entrada e excreção de anestésicos administrados na água

(HUNN, ALLEN, 1974; NEIFFER, STAMPER, 2009). As brânquias e a pele possuem grandes quantidades de lipídios, sendo que a eficácia na absorção dos agentes através destas superfícies está diretamente relacionada à lipossolubilidade dos mesmos, o que determina a velocidade de passagem ao SNC (WALSH, PEASE, 2002). Igualmente, fatores que afetem a ventilação branquial, como a temperatura, podem comprometer a eficácia do anestésico e também a eliminação de seus resíduos (ROSS, ROSS, 2008).

A eliminação total dos resíduos é fundamental, uma vez que podem afetar o sabor do peixe quando este for consumido (MARKING, MEYER, 1985; HIKASA et al., 1986; CUNHA et al., 2010a). Para o metanosulfonato de tricaína, por exemplo, a FDA exige um período de retirada de 21 dias antes de o pescado estar apto para consumo humano (SCHNICK, MEYER, WALSH, 1986).

Tanto a solução de indução anestésica quanto o banho de recuperação devem ser substituídos a cada pequeno lote de peixes. No caso da indução, deve-se garantir que os peixes sejam expostos a concentrações adequadas do anestésico. Já no retorno da anestesia, os peixes excretam metabólitos dos fármacos na água e estes podem ser reabsorvidos, prolongando o tempo de recuperação (OIKAWA, TAKEDA, ITAZAWA, 1994). Parâmetros de qualidade da água também devem ser controlados durante todo o procedimento anestésico. Oxigênio dissolvido, temperatura, pH e concentração de amônia adequados são as principais preocupações, sendo a última reduzida quando há jejum prévio de 12 a 24 horas (HARMS, BAKAL, 1995; NEIFFER, STAMPER, 2009).

Os peixes também podem ser anestesiados por aspensão branquial e pelas vias intramuscular, intravascular e intracelômica, mas, devido a pouca praticidade e à necessidade de contenção física, tais vias em geral não se aplicam à aquicultura, ficando restritas a animais de coleções ou pesquisa laboratorial. A via oral é outra opção, sendo o anestésico incorporado à dieta. No entanto, a absorção via intestinal prolonga o tempo de indução. Independente da via, anestesia parenteral em peixes geralmente é insuficiente e requer suplementação por meio de banho de imersão. Por fim, hipotermia e eletroanestesia são métodos não-químicos usados para imobilizar peixes (ROSS, ROSS, 2008; NEIFFER, STAMPER, 2009).

2.2.5 Indução e recuperação anestésica na anestesia em banho de imersão

Existem diversas classificações dos estágios de anestesia em peixes (MCFARLAND, 1959; KEENE et al., 1998; WOODY, NELSON, RAMSTAD, 2002). Baseando-se nestas indicações, é possível restringir a progressão da anestesia ao estágio desejado de acordo com o objetivo do procedimento, o que pode ser feito pela limitação no tempo de exposição ou na concentração do anestésico (CARTER, WOODLEY, BROWN, 2011). Para transporte, por exemplo, anestesia superficial é suficiente para promover a imobilização do animal, enquanto anestesia geral torna-se imprescindível em se tratando de uma intervenção cirúrgica (GILDERHUS, MARKING, 1987).

De acordo com Schoettger e Julin (1967), são cinco os estágios de anestesia em peixes, evidenciados por mudanças comportamentais visíveis. No estágio 1, sedação leve, há perda parcial da reação aos estímulos externos; no estágio 2, sedação profunda, há perda parcial do equilíbrio, sem nenhuma reação aos estímulos externos; os estágios 3a e 3b referem-se à perda total do equilíbrio, sendo que no primeiro os peixes viram mas retêm a habilidade de natação e no segundo esta habilidade é perdida, mas o peixe ainda responde à pressão no pedúnculo caudal; no estágio 4, anestesia, há perda da atividade reflexa, sem nenhuma reação aos estímulos externos, mesmo aos fortes; e no 5, colapso medular, o movimento respiratório cessa e o peixe morre.

No entanto, dependendo da espécie de peixe, do anestésico utilizado e de sua concentração, as mudanças podem não ser demonstradas sequencialmente ou na sua totalidade, ou ainda podem estar ligadas ao comportamento normal da espécie. Perda de equilíbrio, por exemplo, pode representar resposta adaptativa diante de um estímulo estressor (FLEMING et al., 2003; NEIFFER, STAMPER, 2009). Com o uso do anestésico apropriado na concentração indicada para a espécie, o período de indução deve ser limitado a 3 minutos, evitando-se alterações fisiológicas excessivas (MOMMSEN, VIJAYAN, MOON, 1999; PARK et al., 2003).

A recuperação da anestesia refere-se ao término da exposição do peixe ao anestésico e é feita em água livre de fármaco, estando a boca do peixe orientada para o fluxo de água (NEIFFER, STAMPER, 2009). O tempo considerado ideal para que o peixe apresente as características pré-procedimento (ventilação, natação, equilíbrio, por exemplo) é de no máximo 10 minutos (STEHLY, GINGERICH, 1999; PARK et al., 2003). Pode-se promover uma

aceleração na retomada do equilíbrio através de leves batidas no aquário, estimulando os axônios de Mauthner que por sua vez excitam os nervos motores (ROSS, ROSS, 2008).

2.2.6 Anestésicos

Segundo os critérios de eficiência recomendados por Marking e Meyer (1985) e Ross e Ross (2008), um anestésico deve ser eficaz em baixas concentrações e apresentar toxicidade em concentrações muito superiores às efetivas. Sua escolha baseia-se nos critérios de disponibilidade, custo, facilidade de utilização, natureza do procedimento e segurança para usuário e ambiente (IVERSEN et al., 2003; PIRHONEN, SCHRECK, 2003).

Os anestésicos sintéticos comumente empregados na anestesia em banho de imersão de peixes são o metanosulfonato de tricafina, a benzocaína, a quinaldina e o 2-fenoxietanol (GOMES et al., 2001; LEWBART, 2005; MYLONAS et al., 2005). Estes compostos possuem indiscutível ação anestésica e são amplamente empregados. No entanto, podem causar perda de muco, irritação nas brânquias, danos à córnea e redução da proteção do peixe contra patógenos oportunistas, além de possíveis efeitos deletérios nos manuseadores e nos consumidores de peixe (BERNSTEIN, DIGRE, CREEL, 1997; KEENE et al., 1998; INOUE, NETO, MORAES, 2003).

Existem ainda diversos anestésicos de origem natural que vêm sendo utilizados para anestésiar peixes em banho de imersão, como o mentol e o eugenol, além de óleos essenciais extraídos de plantas como *Aloysia triphylla* e *Lippia alba* (FAÇANHA, GOMES, 2005; VELISEK et al., 2005; CUNHA et al., 2010b; PARODI et al., submetido). Os anestésicos sintéticos mais utilizados para anestésiar peixes por via parenteral são a lidocaína, o pentobarbital, a quetamina, o metomidato e o propofol, porém são empregados em menor escala do que o banho de imersão (FLEMING et al., 2003; LEWBART, 2005; MULCAHY et al., 2011).

2.2.6.1 Metanosulfonato de tricaína

Metanosulfonato de tricaína (ácido 3-aminobenzóico etil éster metanosulfonato, MS222) é um anestésico local de uso bem estabelecido em peixes, anfíbios e outros animais ectotermos para anestesia em banho de imersão (HIKASA et al., 1986; CORDOVA, BRAUN, 2007). Sua qualidade anestésica para peixes foi reconhecida em 1920 e desde então tem sido extensamente empregado na anestesia de uma ampla variedade de espécies (PALMER, MENSINGER, 2004; KIESSLING et al., 2009; ZAHL et al., 2010; MATSCHE, 2011). Sua apresentação é na forma de pó branco, sendo este altamente solúvel em água (SIGMA, 2011). Por não ser comercialmente disponível no Brasil e apresentar alto custo de importação, seu uso no país torna-se limitado (ROUBACH, GOMES, VAL, 2001).

De acordo com Gilderhus e Marking (1987), metanosulfonato de tricaína apresenta grande qualidade anestésica por promover rápida indução e recuperação. É absorvido principalmente através brânquias, atinge a corrente sanguínea e é rapidamente distribuído, metabolizado pelo fígado e excretado, primariamente pela mesma via de absorção (HUNN, ALLEN, 1974; BURKA et al., 1997).

Devido à grande solubilidade em lipídios, o metanosulfonato de tricaína penetra facilmente no interior das células, liga-se aos canais de Na^+ e inibe a entrada deste no nervo, bloqueando a hiperpolarização assim como os demais anestésicos locais. Por consequência, a excitabilidade da membrana nervosa fica limitada (HUNN, ALLEN, 1974; HIKASA et al., 1986; BUTTERWORTH, STRICHARTZ, 1990).

Quando concentrações de metanosulfonato de tricaína $\geq 500 \text{ mg.L}^{-1}$ são usadas em sistemas com alcalinidade $< 50 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, as soluções do anestésico apresentam natureza ácida, fazendo necessário o uso de agentes (NaHCO_3 , por exemplo) para neutralizar o pH (PALMER, MESINGER, 2004). Isto promoveria eficácia anestésica e preveniria acidemia metabólica (FERREIRA, SCHOONBEE, SMIT, 1984; MURRAY, 2002).

Hipoxemia, hipercapnia, acidose respiratória e hiperglicemia, bem como alterações nos níveis de hemoglobina, hematócrito e íons, têm sido reportados em algumas espécies de peixes após o uso de metanosulfonato de tricaína (IWAMA, MCGEER, PAWLUK, 1989; SLADKY et al., 2001; DAVIS, GRIFFIN, 2004). Este agente possui uma boa margem de segurança, mas esta

pode diminuir em águas moles e de temperatura elevada, especialmente em peixes jovens (GILDERHUS, MARKING, 1987; ROUBACH, GOMES, VAL, 2001; COYLE, DURBOROW, TIDWELL, 2004). De acordo com a American Veterinary Medical Association (AVMA, 2007), o metanosulfonato de triclaína é recomendado para a eutanásia de peixes. A resolução nº 714 (2002) do Conselho Federal de Medicina Veterinária também preconiza o uso deste anestésico para eutanaziar peixes, apesar de não estar disponível para aquisição no país.

2.2.6.2 Propofol

Propofol (2,6 diisopropilfenol) é um anestésico intravenoso utilizado mundialmente na anestesia de mamíferos, aves, répteis e anfíbios, além de ser amplamente utilizado na medicina humana (MACLEAN, HARMS, BRAUN-MCNEILL, 2008; BORIN, CRIVELENTI, LIMA, 2010; HIPALGAONKAR, MAJUMDAR, KANSARA, 2010; MULCAHY et al., 2011). No entanto, dor à aplicação é regularmente observada, especialmente se forem utilizadas pequenas veias periféricas (NATHANSON, GAJRAJ, RUSSELL, 1996; DOENICKE et al., 1997). O uso intracelômico também foi descrito em animais, porém está relacionado com risco de dano visceral e tempos de indução inconsistentes, uma vez que o fármaco deve ultrapassar a superfície serosa das vísceras (MITCHELL, 2009; NEIFFER, STAMPER, 2009). Administração intraóssea de propofol foi igualmente reportada, sendo a tíbia e o fêmur os locais de eleição (MITCHELL, 2009). Propofol está disponível como emulsão aquosa de coloração opaca esbranquiçada (HIPALGAONKAR, MAJUMDAR, KANSARA, 2010).

A natureza lipofílica do propofol permite extensa captação pelo SNC resultando em induções rápidas, sendo prontamente redistribuído do cérebro para outros tecidos e em seguida removido do plasma pelo metabolismo (SEBEL, LONDON, 1989; BRYSON, FULTON, FAULDS, 1995; REES, HILL, 1996; FLEMING et al., 2003). Devido à depuração corpórea total do fármaco ser rápida e exceder o fluxo sanguíneo hepático, acredita-se que outros tecidos, além deste, sejam responsáveis por sua metabolização, ficando a excreção a cargo dos rins (Simons et al., 1991; Veroli et al., 1992). Não há acumulação do anestésico no organismo e sua margem de

segurança é ampla (COURT et al., 2001; MURRAY, 2002; DIGGER, VIIRA, 2003; MILLER, MITCHELL, HEATLEY, 2005; MITCHELL, 2009).

A ação do propofol é exercida por modulação positiva do receptor subtipo A do neurotransmissor inibitório GABA, GABA_AR (FOWLER et al., 2001; KRASOWSKI et al., 2002). Este receptor está presente no cérebro e na medula espinhal, locais considerados críticos para a perda de consciência e mobilidade, respectivamente (BARNARD et al., 1998). É composto por cinco subunidades homólogas (α , β , γ , ϵ e π) dispostas em torno de um canal de Cl⁻ que se abre após a liberação do GABA nos neurônios pré-sinápticos, estando envolvido na regulação da vigília, tensão muscular e memória (BAI et al., 2001; KRASOWSKI et al., 2002; MOHLER, FRITSCHY, RUDOLPH et al., 2002; CAMPAGNA-SLATER, WEAVER, 2007; SAARI et al., 2011). Baixas concentrações de propofol potencializam as correntes de Cl⁻ induzidas pelo GABA, enquanto altas concentrações do anestésico são capazes de ativar estas correntes através do receptor mesmo na ausência do neurotransmissor (BELELLI et al., 1996; SANNA et al., 1999; YAMAKURA et al., 2001). Alguns autores consideram o sítio de ligação do propofol no GABA_AR como sendo uma tirosina no segmento M4 da subunidade β_2 (RICHARDSON et al., 2007). Outros, em oposição, postulam que o sítio de ligação do fármaco no receptor é uma metionina no segmento M3 da subunidade β_2 (KRASOWSKI et al., 2001; BALI, AKABAS, 2003).

Há relatos de que o propofol possa induzir efeitos depressores sobre os sistemas cardiovascular e respiratório, mas que podem ser bem tolerados por animais saudáveis (GOODCHILD, SERRAO, 1989; ILKIW et al., 1992). Em *Chiloscyllium plagiosum*, por exemplo, a respiração e os batimentos cardíacos se mantiveram estáveis durante o procedimento anestésico (MILLER, MITCHELL, HEATLEY, 2005). Além disso, devido à sua característica neutralidade, não é considerado um fármaco passível de causar patologias, sendo reportado como anestésico de baixa toxicidade em mamíferos (SHORT, BIFILAR, 1999; SHORT, YOUNG, 2004).

São poucos os estudos descrevendo o uso de propofol, nas concentrações de 2,5 a 7,5 mg.kg⁻¹, para indução anestésica intravenosa em peixes (FLEMING et al., 2003; MILLER, MITCHELL, HEATLEY, 2005; NEIFFER, STAMPER, 2009). Conforme AVMA (2007), propofol pode ser utilizado em associação com barbitúricos de ação ultracurta na preparação para eutanásia de peixes.

ANEXO

Immersion anaesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol on different sizes and strains of silver catfish *Rhamdia quelen*

L.T. Gressler^a, T.V. Parodi^a, A.P.K. Riffel^a, S.T. da Costa^b, B. Baldisserotto^{*a}

^aDepartamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil.

^bDepartamento de Zootecnia do Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Maria, Palmeira das Missões, RS, Brazil.

*Corresponding author:

Bernardo Baldisserotto

Phone: +55-55-3220-9382 Fax: +55-55- 3220-8241

E-mail: bbaldisserotto@hotmail.com

ABSTRACT

The efficacy of immersion anaesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol on silver catfish *Rhamdia quelen* was assessed through induction and recovery times and observation of mortality. Two types of comparisons were conducted: one contrasting grey silver catfish of three size ranges and another comparing two strains of the species, albino and grey. For tricaine methanesulfonate, there was no uniform relationship between the induction and recovery times and the size of the grey silver catfish. The grey animals were more sensitive to the anaesthetic than the albinos were, and recovery was also faster in the grey fish group. Induction of propofol anaesthesia had a direct relationship with size, with the small animals reaching anaesthesia stage earlier. No uniform pattern was observed for recovery among the three different sizes. Propofol promoted faster anaesthesia in the grey animals than in the albinos, but no direct relationship was observed for recovery between the strains. No mortality was detected throughout the experiment. This study reports a novel, efficient and practical use of propofol as an immersion anaesthetic for fish and notes the first time that silver catfish have been anaesthetised with such an agent. The best outcomes with propofol were registered in the size range comparison, indicating that 12 mg.L^{-1} is the most efficient concentration to anaesthetise the small fish and that 10 mg.L^{-1} is a more appropriate concentration for anaesthesia of the medium and large animals. With regard to tricaine methanesulfonate, 300 mg.L^{-1} promoted satisfactory results for anaesthesia of the large fish in the size range comparison and the albino in the strain comparison. The grey fish responded better to 100 mg.L^{-1} of the anaesthetic in the latter evaluation. These findings show that it is essential to consider size and strain when anaesthetising silver catfish with tricaine methanesulfonate or propofol bath solution.

Key words: anaesthetic, bath, grey, albino

1. INTRODUCTION

The welfare of fish has been increasingly considered in the aquacultural setting. In search of a means to minimise or to prevent stress, anaesthesia has become important for managing fish (Stehly & Gingerich, 1999; Gonçalves *et al.*, 2008).

Tricaine methanesulfonate (3-aminobenzoic acid ethyl ester methanesulfonate, MS222) is currently the most broadly used fish anaesthetic and is approved in the United States (Food and Drug Administration 2011), Canada (Health Canada 2011) and the United Kingdom (Veterinary Medicines Directorate 2011) for some food fish species. Despite it being a local anaesthetic, this benzocaine-derived agent acts systemically when absorbed across the gill membranes (and the skin in some species). Once it is in the gills, tricaine methanesulfonate rapidly enters the bloodstream and is distributed throughout the body, undergoes hepatic and renal biotransformation and is cleared mainly through the gills and kidneys (Hunn & Allen, 1974; Sato *et al.*, 2000).

The effect of tricaine methanesulfonate is exerted through a blockade of voltage-dependent Na^+ channels on nerve membranes, making it non-conducting and thus limiting nerve membrane excitability (Frazier & Narahashi, 1975; Butterworth & Strichartz, 1990; Burka *et al.*, 1997; Bai *et al.*, 2003). Frazier & Narahashi (1975) also reported a suppression of the K^+ membrane ionic current by tricaine methanesulfonate, albeit to a lesser extent than that observed for the Na^+ current. The high lipid solubility of tricaine methanesulfonate facilitates nerve inhibition, allowing it to move easily into the cell membrane to bind with Na^+ channels (Hunn & Allen, 1974; Butterworth & Strichartz, 1990). In fish, tricaine methanesulfonate produces general anaesthesia and inhibits neural signal transmission ranging from the periphery to higher parts of

the nervous system. However, tricaine methanesulfonate mechanism of action at the level of the central nervous system is yet to be understood (Zahl *et al.*, 2009).

Propofol (2,6 diisopropylphenol) is marketed worldwide as a prototypical intravenous drug for the anaesthesia of mammals, birds, reptiles, amphibians and fish (Carpenter, 2005; Mulcahy *et al.*, 2011). It presents pharmacokinetic advantages of fast onset and offset of action, even after prolonged use, and a wide safety margin (Sebel & London, 1989; Bryson *et al.*, 1995; Fleming *et al.*, 2003). It is rapidly redistributed, readily metabolised (mainly by the liver) and excreted through the kidneys and is noncumulative (Court, 2001; Murray, 2002; Miller *et al.*, 2005).

Propofol is a strong positive modulator of γ -aminobutyric acid (GABA) subtype A receptor (GABA_AR), chloride-permeable ligand-gated ion channels involved in the regulation of vigilance, anxiety, muscle tension and memory performance, and it is constructed from five homologous subunits: α , β , γ , ϵ and π (Trapani *et al.*, 2000; Franks, 2006; Bonin & Orser, 2008; Saari *et al.*, 2011). The subunits span the lipid membrane and are arranged around a central ion pore; this structure induces hyperpolarisation through the influx of Cl⁻ (Campagna-Slater & Weaver, 2007). Propofol not only potentiates GABA-evoked Cl⁻ currents at lower concentrations, but at higher concentrations, it also activates Cl⁻ currents through GABA_AR in the absence of the neurotransmitter (Hales & Lambert, 1991; Orser *et al.*, 1994; Belelli *et al.*, 1996; Bai *et al.*, 1999; Sanna *et al.*, 1999; Yamakura *et al.*, 2001). Sedative concentrations of this anaesthetic reduce neuronal activity prominently in cortical networks, while hypnotic concentrations affect subcortical structures, including the thalamus, midbrain reticular formation and possibly the hypothalamus (Alkire & Haier, 2001; Veselis *et al.*, 2004).

Silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) is a freshwater bony fish with prominent sensitive barbels. This skin fish inhabits deep and calm river waters from southern

Mexico to central Argentina, where it feeds at night especially on other fish, despite being omnivorous. The silver catfish supports valuable commercial fisheries in southern Brazil, where its husbandry is notably spreading (Gomes *et al.*, 2000; Baldisserotto, 2009).

Biological factors, such as age, size, weight, length, body condition, ratio of gill area to body weight, lipid content, strain, sex and sexual maturity, may influence anaesthetic efficacy in fish, requiring concentration adjustments to achieve the best outcomes of the procedure (Olsen *et al.*, 1995; Burka *et al.*, 1997; Coyle *et al.*, 2004; Ross & Ross, 2008; Gomes *et al.*, 2011). For these reasons, this study was aimed at evaluating anaesthetic induction and recovery times in three size ranges (grey fish only) and two strains (albino and grey fish) of silver catfish subjected to bath anaesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol, the latter being available for purchase in Brazil. In addition, the mortality of the subjects was also monitored.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 EXPERIMENTAL ANIMALS

Albino and grey silver catfish, without regard to sex, were obtained from a fish farm near Santa Maria city, southern Brazil. They were housed indoors in a semi-static system at the Laboratory of Fish Physiology at Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), where the trials would be later held. For the 7-day acclimation period, the fish were placed in 250 L tanks with approximately 200 L of fresh water that was constantly aerated by means of 20 W pumps and airstones and were fed commercial pellets for omnivorous fish once a day. The water source for acclimation, trials and post-experiment observations was the same and its quality parameters were 21 ± 0.5 °C, $\text{pH } 7.37 \pm 0.8$ and dissolved oxygen 6.5 ± 0.5 mg.L⁻¹.

The teleosts were allocated into five groups (N=7 for each concentration): small (4.71 ± 1.12 g and 8.23 ± 0.12 cm), medium (65.5 ± 4.76 g and 18.72 ± 0.29 cm) and large (155.74 ± 2.45 g and 25.64 ± 0.27 cm) grey silver catfish for the size range comparison and albino (21.35 ± 0.56 g and 13.87 ± 0.11 cm) and grey silver catfish (20.16 ± 0.16 g and 13.98 ± 0.15 cm) for the strain assessment. This study was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of UFSM under registration n° 46/2010.

2.2 DRUGS

Tricaine-STM (tricaine methanesulfonate; Western Chemical Inc., Ferndale, WA, US) and Propofol (propofol; Cristália, Itapira, SP, BR) were obtained in the US and in Brazil, respectively, and immersion anaesthesia was performed with different concentrations of tricaine methanesulfonate (50, 100, 150 and 300 mg.L⁻¹) or propofol (2.5, 5, 10 and 12 mg.L⁻¹). Based on the previous literature (Murray, 2002; Carpenter, 2005; Ross & Ross, 2008), tricaine methanesulfonate concentrations were determined in a pilot experiment. Propofol concentrations were extrapolated from intravenous published data (Fleming *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2005; Neiffer & Stamper, 2009) and were established in a pilot test.

2.3 INDUCTION AND RECOVERY TIMES

After withholding food for 24 hours, individual fish were transferred to the induction aquarium and observed for a maximum of 30 min. Criteria outlined in Schoettger & Julin (1967) were followed to evaluate the stages of anaesthesia (Table I). When the fish were deemed to have reached stage 4, or after 30 min had elapsed, the length and weight of the subjects were rapidly

measured. Maintenance was not performed and fish were immediately allowed to recover in aquaria free of anaesthetic substances with their mouths oriented towards the air flow. Recovery was determined to be the time needed to restore full equilibrium, normal breathing and swimming and to regain responsiveness to external stimuli. Both induction and recovery were conducted in 10 L aquaria filled to 20 % of their capacity with continuously aerated fresh water. Following recovery, fish were moved to the original 250 L tanks, and mortality was monitored for 24 h.

2.4 STATISTICAL ANALYSIS

Data are presented as the means \pm standard error of the mean (SEM). A Levene test was used to verify the homogeneity of variances. The relationship between anaesthetic concentration and time to reach each anaesthetic stage or recovery were assessed by linear regressions using Sigma Plot 11.0 software. A one-way ANOVA followed by Tukey's test (for the size range comparison) and Student's t-test (for the strain comparison) were applied if the data were parametric. If the conditions for ANOVA were not satisfied, then the non-parametric Kruskal-Wallis test, followed by multiple comparisons of mean ranks, were used to compare among different size groups, and a Mann-Whitney test was used for the albino and grey comparison. All analyses were performed with Statistica software 7.0, and differences were considered significant at $P < 0.05$.

3. RESULTS

Increased concentrations of anaesthetics proportionally decreased the time required for sedation and anaesthesia induction in most stages and for recovery (Table II). All of the fish recovered from anaesthesia within 30 min, and no animal mortality was registered in the course of the experiment.

3.1 TRICAIN METHANESULFONATE

3.1.1 SIZE RANGE COMPARISON

At concentrations of 50 mg.L^{-1} , the small fish reached stage 2 significantly earlier than the medium ones, and the large fish did not differ from any of these two groups. Stage 3a was achieved significantly earlier by the small and large fish and none of the groups induced deeper than this stage. The small fish recovered significantly faster than the large fish, but the time the medium fish took to recover was not significantly different from either the small or the large animals (Figure 1A).

At concentrations of 100 mg.L^{-1} , the small and the large fish reached stages 2 and 3a significantly earlier than the medium fish. The small fish reached stage 3b significantly faster than the others and were the only ones to reach stage 4. The medium and the large animals showed a significantly faster recovery time (Figure 1B).

At concentrations of 150 mg.L^{-1} , the medium fish required more time to achieve stages 2 and 4 than the small fish did. The large fish did not significantly differ from either of the other two groups. Stages 3a and 3b were first reached by the small fish, then the large fish and finally

by the medium fish, with significant differences among the group times. All the groups took the same time to recover (Figure 1C).

At concentrations of 300 mg.L^{-1} , the large fish reached stage 2 first, followed by the medium fish and lastly by the small animals, all with significantly different times. There was no significant difference among the groups for the time taken to reach stage 3a. The large fish took a significantly shorter time to reach 3b when compared to the other two groups. Stage 4 was reached significantly faster by the small and the large fish. The small fish took a significantly longer time to recover compared to the other groups (Figure 1D).

3.1.2 STRAIN COMPARISON

The grey animals reached all the stages of anaesthesia significantly faster than the albinos did at all concentrations. Neither the albino nor the grey fish induced as much as stage 3a at the lowest concentration. This was also the only concentration at which the albinos recovered first (Figure 2).

3.2 PROPOFOL

3.2.1 SIZE RANGE COMPARISON

At concentrations of 2.5 mg.L^{-1} , the small fish reached stages 2 and 3b significantly faster than the medium animals did, while the large fish did not differ significantly from the other two groups. The time taken to reach 3a was significantly different among the three groups: the small animals were the fastest, the large were the next fastest and the medium were the slowest. The

small animals were the only group to reach stage 4 within 30 min. Recovery time was no different between the groups (Figure 3A).

At concentrations of 5 mg.L^{-1} , the small and medium fish reached stage 2 in significantly less time than was needed by the large fish. Stages 3a, 3b and 4 were reached first by the small fish, significantly more quickly than the large fish, while the time needed by the medium animals did not differ from either of the other two groups. The medium animals recovered significantly faster than the other groups (Figure 3B).

At concentrations of 10 mg.L^{-1} , the small and medium fish reached stages 2, 3b and 4 in a significantly shorter time than was needed by the large animals. Stage 3a was reached by the small fish significantly earlier than the large ones, whereas the medium animals did not present significant differences from the other sizes. The medium fish recovered first, significantly earlier than the small ones, while the large animals showed no significant difference from the other groups (Figure 3C).

At concentrations of 12 mg.L^{-1} , the small and the large fish reached stages 2 and 3a in a statistically shorter time than was needed by the medium animals. To reach 3b and 4, the medium and the large fish took a statistically longer time than was required by the small fish. Recovery was first completed by the small fish; these were statistically faster than the medium and the large animals (Figure 3D).

3.2.2 STRAIN COMPARISON

The grey fish reached all stages of anaesthesia before the albinos when exposed to concentrations of 2.5 mg.L^{-1} . At concentrations of 5 mg.L^{-1} , the grey induced stages 2, 3a and 4 first, and both strains achieved stage 3b at the same time. At concentrations of 10 mg.L^{-1} , the grey

animals reached stages 3a and 4 significantly before the albino fish, but no difference was observed in the time to reach stages 2 and 3b. At concentrations of 12 mg.L^{-1} , the grey animals reached stages 3a, 3b and 4 significantly faster, and both strains induced stage 2 simultaneously. The grey animals recovered from concentrations of 2.5 and 12 mg.L^{-1} before the albinos, while the latter recovered from 5 mg.L^{-1} first. The time to recover from concentrations of 10 mg.L^{-1} did not differ from one group to another (Figure 4).

4. DISCUSSION

4.1 TRICAIN METHANESULFONATE

4.1.1 SIZE RANGE COMPARISON

The best induction time results were registered at 300 mg.L^{-1} ; the small and the large fish induced anaesthesia in approximately 4 min. This is close to the 3 min or less recommended by earlier reports as an ideal induction time (Gilderhus & Marking, 1987; Mommsen *et al.*, 1999; Stehly & Gingerich, 1999; Park *et al.*, 2003; Ross & Ross, 2008). These authors maintain that induction time should be achieved within this period to limit hypoxemia and acute stress responses. At concentrations of 100 and 150 mg.L^{-1} , the times needed by the small fish to induce full anaesthesia considerably diverged from this recommended time and from the times reported for the same concentrations of tricaine methanesulfonate used to anaesthetise silver catfish of a similar size (Seigneur, 1984).

Stehly & Gingerich (1999) stated that either younger or older fish may be most sensitive to anaesthesia, depending upon the species. In the two highest concentrations tested in this study,

the small and the large fish induced stage 4 at times that did not differ statistically. Therefore, it may not be said that induction time displayed a uniform relationship with size given that the medium fish were last to induce. Likewise, Hoskonen & Pirhonen (2004) found no relationship between size and induction time in *Salmo salar* and *Salmo trutta*. Conversely, Zahl *et al.* (2009) reported direct associations between size and concentrations and times required for induction in *Gadus morhua*, with larger fish taking longer to induce. Similarly, Son *et al.* (2001) and Gomes *et al.* (2011) observed that bigger *Sebastes schlegeli* and silver catfish, respectively, were more tolerant than the small ones. Coyle *et al.* (2004) postulated that larger individuals generally require a greater concentration of anaesthetic than their smaller counterparts do. This may indicate that the rate of absorption of a given anaesthetic in relation to size was faster in smaller fish, what may reflect the larger gill surface area in relation to size in these animals and, thus, a larger area for drug diffusion (Oikawa & Itazawa, 1985). A lower basal metabolism in large fish, and thereby, a lower oxygen consumption in relation to body size may also contribute to a slower rate of absorption (Clarke & Johnston, 1999). However, Burka *et al.* (1997) and Ross & Ross (2008) described an often inverse correlation between induction time and size, with the larger fish succumbing first to anaesthesia. This is in accordance with Olsen *et al.* (1995) and Hoskonen & Pirhonen (2004), who verified a decrease in induction time with increasing size in *S. salar* and *Coregonus lavaretus*, respectively.

With regard to recovery, some authors claimed 10 min or less to be a desirable time to return from anaesthesia (Gilderhus & Marking, 1987; Stehly & Gingerich, 1999; Park *et al.*, 2003). That time limit was met by all groups at all concentrations, excepting the small fish at 300 mg.L⁻¹.

Son *et al.* (2001) and Zahl *et al.* (2009) found that for *S. schlegeli* and *G. morhua*, respectively, recovery time increased with increasing size. Coyle *et al.* (2004) and Ross & Ross

(2008) provided corroborating facts, stating that larger fish, as well as gravid females, diseased or weakened animals, tend to recover slower than smaller animals because the drug is removed from the lipid reserves for clearance via the gills or kidney or for metabolic degradation. In contrast, the large and the medium fish in this study recovered before the small fish at 300 mg.L^{-1} , indicating a faster recovery for the bigger animals. Furthermore, because the three groups recovered in unison at 150 mg.L^{-1} , no uniform relationship between silver catfish size and recovery time was found at this concentration. Similar results were described for two size ranges of *Piaractus brachypomus* (Velasco-Santamaría, 2008).

4.1.2 STRAIN COMPARISON

The grey animals were more sensitive to tricaine methanesulfonate than the albinos were, inducing anaesthesia in a statistically significant shorter time at the three highest concentrations. The lowest induction times in both strains were observed at 300 mg.L^{-1} ; these times were within the 3 min period earlier indicated as appropriate for anaesthetic induction.

A uniform relationship between strain and recovery time was observed for the three highest concentrations, with the grey fish recovering first. Taken together, grey and albino silver catfish recovered faster than the 10 min postulated as an ideal recovery time. To date, no other study has contrasted fish strains in an anaesthetic trial.

4.2 PROPOFOL

The efficacy of propofol as an injectable anaesthetic for fish has been demonstrated in some species (Stoskopf, 1990; Fleming *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2005). However, a disadvantage

associated with this agent is that the route of delivery, which is mainly restricted to intravenous or intraosseous injections, is often associated with pain. Furthermore, injections require physical restraint (Nathanson *et al.*, 1996; Doenicke *et al.*, 1997; Murray, 2002; Fleming *et al.*, 2003).

The use of propofol as an immersion anaesthetic for fish, proposed for this first time by this study, allows for the elimination of the previously mentioned downsides. The emulsion in which propofol is presented has a high solubility in water, and propofol itself is highly lipophilic and readily metabolised, thereby providing a rapid onset of action and short duration of effect (Ganem *et al.*, 2002; Fleming *et al.*, 2003). Furthermore, this is the first report of the use of this anaesthetic in silver catfish.

4.2.1. SIZE RANGE COMPARISON

Propofol promoted satisfactory induction times for silver catfish of different sizes in this examination, approximating the 3 min requirement. The only exception was observed at 5 mg.L⁻¹, with the medium and the large groups showing fairly extended times.

At 2.5 and 12 mg.L⁻¹, the small fish were the first to induce stage 4, demonstrating an obvious increased efficacy and sensitivity with decreasing size at these concentrations. These findings agree with Son *et al.* (2001), Coyle *et al.* (2004) and Zahl *et al.* (2009). A slightly different trend was observed for the two intermediate concentrations; the small fish completed anaesthetisation before the large animals, but not before the medium fish. Overall, it may be speculated that there is a direct and positive relationship between size and induction time.

With few exceptions, propofol allowed for a faster recovery of the three size ranges of silver catfish than the 10 min mentioned earlier in this discussion. No direct relationship between

recovery time and fish size was found, what is in agreement with previous findings (Stehly & Gingerich, 1999; Velasco-Santamaría, 2008).

4.2.2 STRAIN COMPARISON

The grey animals demonstrated a higher sensitivity to propofol and tricaine methanesulfonate than their albino counterparts did. It seems plausible to hypothesise about a possible difference in ventilation and metabolic rates between the two strains of silver catfish that lead to a faster onset of action of both anaesthetics in the grey fish.

At the two highest concentrations of propofol, induction times of both strains were very close to or less than the proposed 3 min. However, regardless the significant difference, long-lasting recoveries were observed in both groups. The lowest recorded times were at 2.5 mg.L⁻¹ for the grey animals and at 5 mg.L⁻¹ for the albino; these times were close to the recommended 10 min. These results indicated no relationship between strain and recovery times with propofol because groups either alternated fastest recovery times from anaesthesia or recovered at the same time.

4.3 RECOMMENDATIONS AND FUTURE DIRECTIONS

The best outcomes using propofol were registered in the size range comparison, suggesting that 12 mg.L⁻¹ is the most efficient concentration to anaesthetise the small fish and that 10 mg.L⁻¹ is more adequate for anaesthesia of the medium and the large animals. As for tricaine methanesulfonate, 300 mg.L⁻¹ was the most efficient concentration for anaesthesia of the large fish in the size range comparison and the albinos in the strain comparison. In the latter

assessment, nonetheless, the grey fish responded better to 100 mg.L⁻¹ of the anaesthetic. Such diversity of results indicates that it is essential to consider both size and strain when anaesthetising silver catfish with tricaine methanesulfonate or propofol bath solution because properly adjusted concentrations minimise physiological impact. Furthermore, because species may differ widely in their response to the same anesthetic, screening dosages of these drugs prior to use in other types of fish is highly recommended.

ACKNOWLEDGEMENTS

Funding for this research was provided by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul/Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (FAPERGS/PRONEX), Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq). Authors also thank CNPq for providing research fellowship for B. Baldisserotto and CAPES for graduate fellowships to L.T. Gressler, A.P.K. Riffel and T.V. Parodi. Mention of trade names or commercial products does not constitute endorsement or recommendation for use.

REFERENCES

Alkire, M. T. & Haier, R. J. (2001). Correlating *in vivo* anaesthetic effects with *ex vivo* receptor density data supports a GABAergic mechanism of action for propofol, but not for isoflurane. *British Journal of Anaesthesiology* **86**, 618-626.

Bai, D., Pennefather, P. S., MacDonald, J. F. & Orser, B. A. (1999). The general anaesthetic propofol slows deactivation and desensitization of GABA_A receptors. *Journal of Neuroscience* **19**, 10635-10646.

Bai, C. X., Glaaser, I. W., Sawanobori, T. & Sunami A. (2003). Involvement of local anaesthetic binding sites on IVS6 of sodium channels in fast and slow inactivation. *Neuroscience letters* **337**, 41-45.

Baldisserotto, B. (2009). Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural* **39(1)**, 291-299.

Belelli, D., Callachan, H., Hill-Venning, C., Peters, J. A. & Lambert, J. J. (1996). Interaction of positive allosteric modulators with human and *Drosophila* recombinant GABA receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *British Journal of Pharmacology* **118**, 563-576.

Bonin, R. P. & Orser, B. A. (2008). GABA_A receptor subtypes underlying general anaesthesia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **90**, 105-112.

- Bryson, H. M., Fulton, B. R. & Faulds, D. (1995). Propofol. An update of its use in anaesthesia and conscious sedation. *Drugs* **50**, 513-559.
- Burka, J. F., Hammel, K. I., Horsberg, T. E., Johnson, G. R., Rainnie, D. J. & Spears, D. J. (1997). Drugs in salmonid aquaculture - a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **20**, 333-349.
- Butterworth, J. F. & Strichartz, G. R. (1990). Molecular mechanisms of local anaesthesia: a review. *Anesthesiology* **72**, 711-734.
- Campagna-Slater, V. & Weaver, D. F. (2007). Molecular modelling of the GABA_A ion channel protein. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* **25**, 721-730.
- Carpenter, J. W. (2005). *Exotic Animal Formulary*, 3rd edn. St. Louis, MO: Elsevier Saunders, 564p.
- Clarke, A. & Johnston, N. M. (1999). Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of Animal Ecology* **68**, 893-905.
- Court, M. H., Duan, S. X., Hesse, L. M., Venkatakrishnan, K. & Greenblatt, D. J. (2001). Cytochrome P-450 2B6 is responsible for interindividual variability of propofol hydroxylation by human liver microsomes. *Anesthesiology* **94**, 110-119.

- Coyle, S. D., Durborow, R. M. & Tidwell, J. H. (2004). Anaesthetics in Aquaculture. *Southern Regional Aquaculture Center Publication 3900*, 6 p.
- Doenicke, A. W., Roizen, M. F., Rau, J., O'Connor, M., Kugler, J., Klotz, U. & Babl, J. (1997). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol in a new solvent. *Anesthesia & Analgesia* **85**, 1399-1403.
- Fleming, G. J., Heard, D. J., Floyd, R. F. & Riggs, A. (2003). Evaluation of propofol and metomidine-ketamine for short-term immobilization of Gulf of Mexico sturgeons (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **34(2)**, 153-158.
- Franks N. P. (2006). Molecular targets underlying general anaesthesia. *British Journal of Pharmacology* **147 (suppl 1)**, 72-81.
- Frazier, D. T. & Narahashi, T. (1975). Tricaine (MS-222): effects on ionic conductances of squid axon membranes. *European Journal of Pharmacology* **33**, 313-317.
- Ganem, E. M., Fukushima, F. B., Silva, D. S. M., Nakamura, G., Castiglia, Y. M. M. & Vianna, P. T. G. (2002). Eficácia do propofol e da associação de propofol e dexametasona no controle da náusea e vômito no pós-operatório de laparoscopia ginecológica. *Revista Brasileira de Anestesiologia* **52**, 394-401.
- Gilderhus, P. A. & Marking, L. L. (1987). Comparative efficacy of 16 anaesthetic chemicals on rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* **7**, 288-292.

Gomes, L. C., Golombieski, J. I., Gomes, A. R. C. & Baldisserotto, B. (2000). Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). *Ciência Rural* **30(1)**, 179-185.

Gomes, D. P., Chaves, B. W., Becker, A. G. & Baldisserotto, B. (2011). Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture Research* **42**, 878-886.

Gonçalves, A. F. N., Santos, E. C. C., Fernandes, J. B. K. & Takahashi, L. S. (2008). Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* **30(3)**, 339-344.

Hales, T. G. & Lambert, J. J. (1991). The actions of propofol on inhibitory amino acid receptors of bovine adrenomedullary chromaffin cells and rodent central neurones. *British Journal of Pharmacology* **104**, 619-628.

Hoskonen, P. & Pirhonen, J. (2004). Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. *Journal of Fish Biology* **64**, 1136-1142.

Hunn, J. B. & Allen, J. L. (1974). Movement of drugs across the gills of fishes. *Annual Review of Pharmacology* **14**, 47-55.

Lewbart, G. A. (2005). Chemical restraint/anesthetic agents used in fish. In: CARPENTER, J. W. *Exotic Animal Formulary*, 3rd edn. St. Louis, MO: Elsevier Saunders, 2005, 18-20.

Miller, S. M., Mitchell, M. A. & Heatley, J. J. (2005). Clinical and cardiorespiratory effects of propofol in the spotted bamboo shark (*Chylloscyllium plagiosum*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **36(4)**, 673-676.

Mommsen, T. P., Vijayan, M. M. & Moon, T. W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **9**, 211-268.

Mulcahy, D. M., Gartrell, B., Gill Jr., R. E., Tibbitts, T. L. & Ruthrauff, D. R. (2011). Coelomic implantation of satellite transmitters in the bar-tailed godwit (*Limosa lapponica*) and the bristle-thighed curlew (*Numenius tahitiensis*) using propofol, bupivacaine and lidocaine. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **42(1)**, 54-64.

Murray, M. J. (2002). Fish surgery. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* **11(4)**, 246-257.

Nathanson, M. H., Gajraj, N. M. & Russell, J. A. (1996). Prevention of pain on injection of propofol: a comparison of lidocaine with alfentanil. *Anesthesia & Analgesia* **82**, 469-471.

Neiffer, D. L. & Stamper, M. A. (2009). Fish sedation, anaesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* **50(4)**, 343-360.

Oikawa, S. & Itazawa, Y. (1985). Gill and body surface areas of the carp in relation to body mass, with special reference to the metabolism-size relationship. *Journal of Experimental Biology* **117**, 1-14.

Olsen, Y. A., Einarsdottir, I. E. & Nilssen, K. J. (1995). Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmon salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture* **134**, 155-168.

Orser, B. A., Wang, L. Y., Pennefather, P. S. & MacDonald, J. F. (1994). Propofol modulates activation and desensitization of GABA_A receptors in cultured murine hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience* **14**, 7747-7760.

Park, I. S., Jo, J. H., Lee, S. J., Kim, Y. A., Park, K. E., Hur, J. W., Yoo, J. S. & Song, Y. C. (2003). Anaesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate and MS-222 on the greenling (*Hexagrammos otakii*). *Journal of the Korean Fisheries Society* **36**, 449-453.

Ross, L. G. & Ross, B. (2008). *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*, 3rd edn. Oxford, OX: Blackwell Publishing.

Saari, T. I., Uusi-Oukari, M., Ahonen, J. & Olkkola, K. (2011). Enhancement of GABAergic activity: neuropharmacological effects of benzodiazepines and therapeutic use in anesthesiology. *Pharmacological Reviews* **63**, 243-267.

Sanna, E., Motzo, C., Usala, M., Serra, M., Dazzi, L., Maciocco, E., Trapani, G., Latrofa, A., Liso, G. & Biggio, G. (1999). Characterization of the electrophysiological and pharmacological

effects of 4-iodo-2,6-diisopropylphenol, a propofol analogue devoid of sedative–anaesthetic properties. *British Journal of Pharmacology* **126**, 1444-1454.

Sato, T., Kitayama, S., Mitsuhashi, C., Ikeda, T., Morita, K. & Dohi, T. (2000). Selective inhibition of monoamine neurotransmitter transport by synthetic local anaesthetics. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **361**, 214-220.

Sebel, P. S. & London, J. D. (1989). Propofol: a new intravenous anaesthetic. *Anesthesiology* **71**, 260-277.

Schoettger, R. A. & Julin, A. M. (1967). Efficacy of MS-222 as an anaesthetic on four salmonids. *Investigation of Fisheries Contribution, U.S. Department of Interior* **13**, 1-15.

Seigneur, G. N. (1984). Eficiencia del MS-222, quinaldina y benzocaina como anestésicos en *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840). *Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura* **5(3)**, 633-639.

Son, M. H., Park, M. W., Myeong, J. I., Kim, D. J., Kim, B. H., Jo, Q. T. & Jeon, I. G. (2001). Anaesthetic tolerance of juvenile black rockfish *Sebastes schlegeli*, produced for wild stock enhancement. *Ocean Polar Research* **23**, 285-290.

Stehly, G. R. & Gingerich, W. H. (1999). Evaluation of AQUI-S™ (efficacy and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States. *Aquaculture Research* **30**, 365-372.

Stoskopf, M. K. (1990). Shark diagnostics and therapeutics: a short review. *Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences* **5(3)**, 33-43.

Trapani, G., Altomare, C., Sanna, E., Biggio, G. & Liso, G. (2000). Propofol in anaesthesia. Mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery. *Current Medicinal Chemistry* **7**, 249-271.

Velasco-Santamaría, Y., Palacios-Ruiz, C. & Cruz-Casallas, P. (2008). Eficiencia anésteica de 2-fenoxietanol, benzocaina, quinaldina y metasulfonato de tricaina en alevinos y juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista MVZ Córdoba* **13(3)**, 1435-1445.

Veselis, R. A., Feshchenko, V. A., Reinsel, R. A., Dnistrian, A. M., Beattie, B. & Akhurst, T. J. (2004). Thiopental and propofol affect different regions of the brain at similar pharmacologic effects. *Anesthesia & Analgesia* **99**, 399-408.

Yamakura T., Bertaccini E., Trudell J. R. & Harris, R. A. (2001). Anaesthetics and ion channels: molecular models and sites of action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **41**, 23-51.

Zahl, I. H., Kiessling, A., Samuelsen, O. B. & Hansen, M. K. (2009). Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) - Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. *Aquaculture* **295**, 52-59.

ELECTRONIC REFERENCES

Food and Drug Administration, 2011. Database of approved animal drug products. U.S.

Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for

Veterinary Medicine. *VMRCVM Drug Information Laboratory*. Available at

<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/AnimalDrugsAtFDA/> (last accessed 10 October 2011).

Health Canada, 2011. *List of veterinary drugs that are authorized for sale by health Canada for*

use in food-producing aquatic animals. Available at

http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/vet/legislation/pol/aquaculture_anim-eng.php (last accessed 10 October 2011).

Veterinary Medicines Directorate, 2011. *Summary of Product characteristics for MS222 SPC-88144*. Available at

http://www.vmd.gov.uk/ProductInformationDatabase/SPC_Documents/SPC_88144.doc (last accessed 10 October 2011).

TABLE I - Stages of anaesthesia in fish (Schoettger & Julin, 1967).

Stage	Description	Behavioural response
1	Light sedation	Partial loss of reaction to external stimuli
2	Deep sedation	Partial loss of equilibrium, no reaction to external stimuli
3a	Total loss of equilibrium	Fish usually turn over but retain swimming ability
3b	Total loss of equilibrium	Swimming ability stops but responds to pressure on the caudal peduncle
4	Anaesthesia	Loss of reflex activity, no reaction to strong external stimuli
5	Medullary collapse (death)	Respiratory movement ceases (death)

TABLE II - Linear regression equations relating anaesthetics (tricaine methanesulfonate - MS222 - and propofol) and fish groups to stages of anaesthesia and recovery.

Anaesthetics and fish groups	Stage 2	Stage 3a	Stage 3b	Stage 4	Recovery
<u>MS222</u>					
Small	--	--	--	--	$y = -112.3 - 2.7x$ $r^2 = 0.9$
Medium	$y = 86.58 - 0.23x$ $r^2 = 0.88$	--	--	$y = 884.48 - 1.88x$ $r^2 = 1$	$y = -5.81 + 1.32x$ $r^2 = 0.87$
Large	$y = 67.68 - 0.20x$ $r^2 = 0.85$	--	$y = 305.17 - 0.79x$ $r^2 = 0.77$	$y = 771.17 - 1.28x$ $r^2 = 1$	$y = 12.50 - 1.47x$ $r^2 = 0.93$
Grey	--	--	--	--	--
Albino	$y = 70.14 - 0.19x$ $r^2 = 0.74$	--	--	$y = 888.23 - 2.69x$ $r^2 = 0.79$	$y = 31.22 + 1.16x$ $r^2 = 0.95$
<u>Propofol</u>					
Small	--	--	$y = 29.38 - 1.19x$ $r^2 = 0.92$	--	--
Medium	$y = 63.79 - 4.61x$ $r^2 = 0.77$	$y = 141.94 - 11x$ $r^2 = 0.8$	$y = 317.95 - 25.91x$ $r^2 = 0.75$	$y = 538.93 - 33.18x$ $r^2 = 0.79$	--
Large	$y = 68.49 - 5.11x$ $r^2 = 0.81$	$y = 101.37 - 7.05x$ $r^2 = 0.83$	$y = 308.01 - 23.80x$ $r^2 = 0.97$	$y = 896.26 - 63.20x$ $r^2 = 0.96$	--
Grey	$y = 15.92 - 0.80x$ $r^2 = 0.74$	--	$y = 213.59 - 14.3x$ $r^2 = 0.77$	$y = 650.78 - 45.60x$ $r^2 = 1$	--
Albino	$y = 34.17 - 2.32x$ $r^2 = 0.92$	--	$y = 402 - 29.78x$ $r^2 = 0.78$	$y = 1108.88 - 78.08x$ $r^2 = 0.92$	--

y = time to reach the stage (s); x = concentration of the anaesthetic (mg.L⁻¹); -- indicates no significant relationship.

FIGURE CAPTIONS

FIGURE 1 - Time required for induction and recovery from anaesthesia in different sizes of grey silver catfish with tricaine methanesulfonate: (A) 50 mg.L⁻¹; (B) 100 mg.L⁻¹; (C) 150 mg.L⁻¹ and (D) 300 mg.L⁻¹. Stages are according to Schoettger and Julin (1967). Maximum observation time was 30 min. Time to reach each stage is in seconds (s). Values are expressed as the means \pm SEM. For each concentration tested, N = 7. Different letters indicate significant difference between groups by one-way ANOVA and Tukey's test or Kruskal-Wallis test and multiple comparisons of mean ranks (P < 0.05). * No group reached such a stage.

FIGURE 2 - Time required for induction and recovery from anaesthesia in albino and grey silver catfish with tricaine methanesulfonate: (A) 50 mg.L⁻¹; (B) 100 mg.L⁻¹; (C) 150 mg.L⁻¹ and (D) 300 mg.L⁻¹. Stages are according to Schoettger and Julin (1967). Maximum observation time was 30 min. Time to reach each stage is in seconds (s). Values are expressed as the means \pm SEM. For each concentration tested, N = 7. # indicates significant difference between groups by Student's t-test or Mann-Whitney test (P < 0.05). * No group reached such a stage.

FIGURE 3 - Time required for induction and recovery from anaesthesia in different sizes of grey silver catfish with propofol: (A) 2.5 mg.L⁻¹; (B) 5 mg.L⁻¹; (C) 10 mg.L⁻¹ and (D) 12 mg.L⁻¹. Stages are according to Schoettger and Julin (1967). Maximum observation time was 30 min. Time to reach each stage is in seconds (s). Values are expressed as the means \pm SEM. For each concentration tested, N = 7. Different letters indicate significant difference between groups by one-way ANOVA and Tukey's test or Kruskal-Wallis test and multiple comparisons of mean ranks (P < 0.05).

FIGURE 4 - Time required for induction and recovery from anaesthesia in albino and grey silver catfish with propofol: (A) 2.5 mg.L⁻¹; (B) 5 mg.L⁻¹; (C) 10 mg.L⁻¹ and (D) 12 mg.L⁻¹. Stages are according to Schoettger and Julin (1967). Maximum observation time was 30 min. Time to reach each stage is in seconds (s). Values are expressed as the means \pm SEM. For each concentration tested, N = 7. # indicates significant difference between groups by Student's t-test or Mann-Whitney test (P < 0.05).

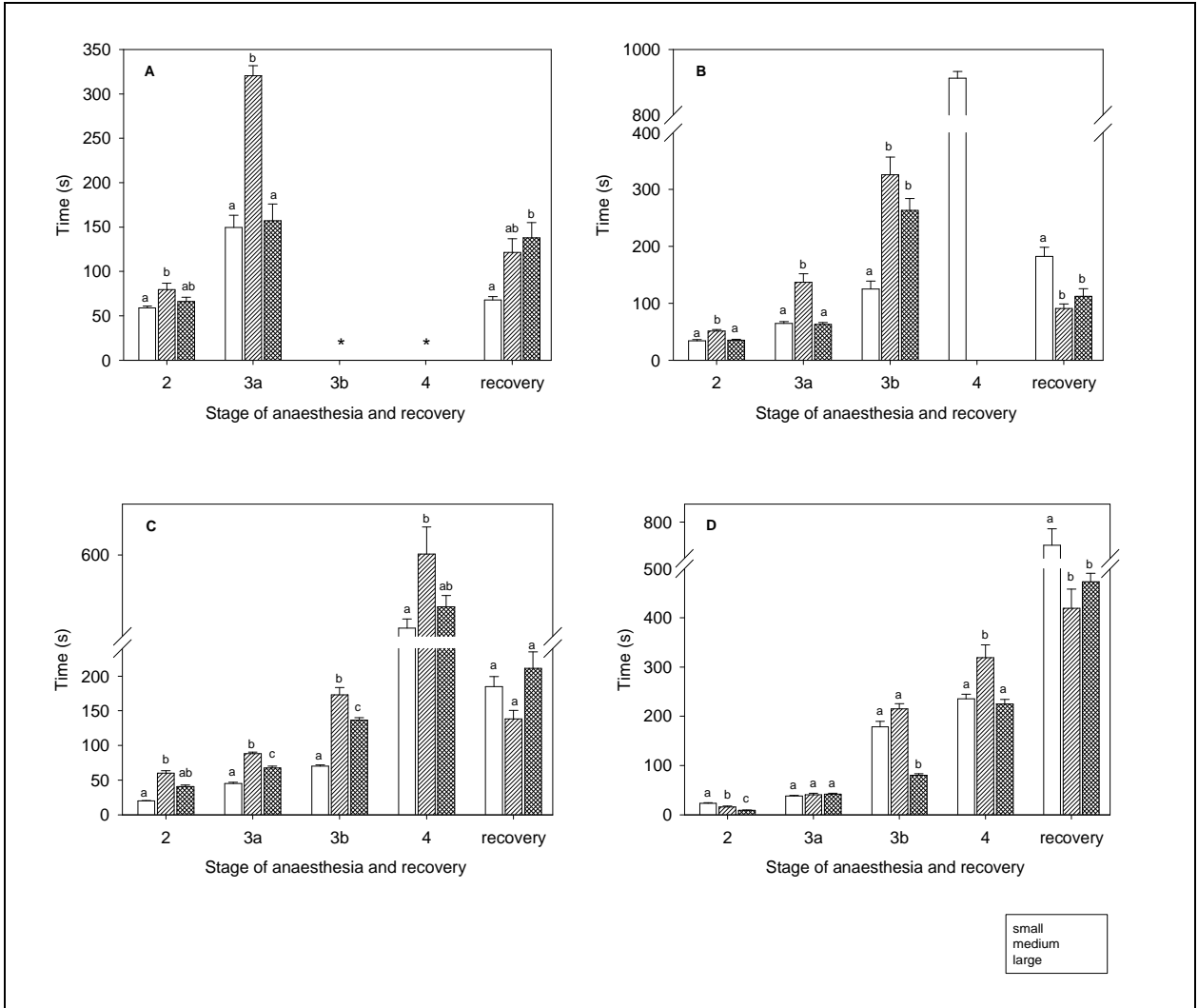


FIGURE 1

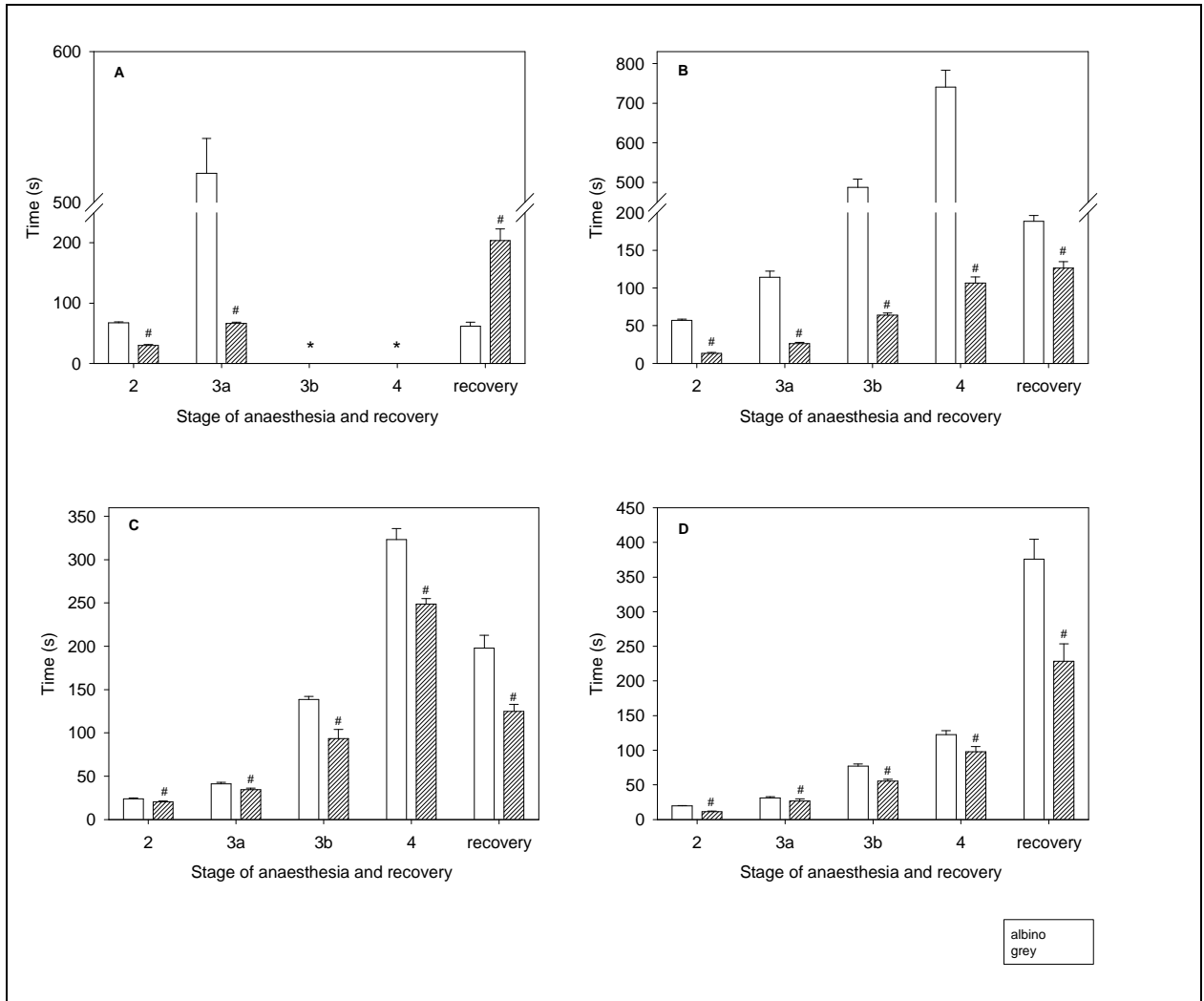


FIGURE 2

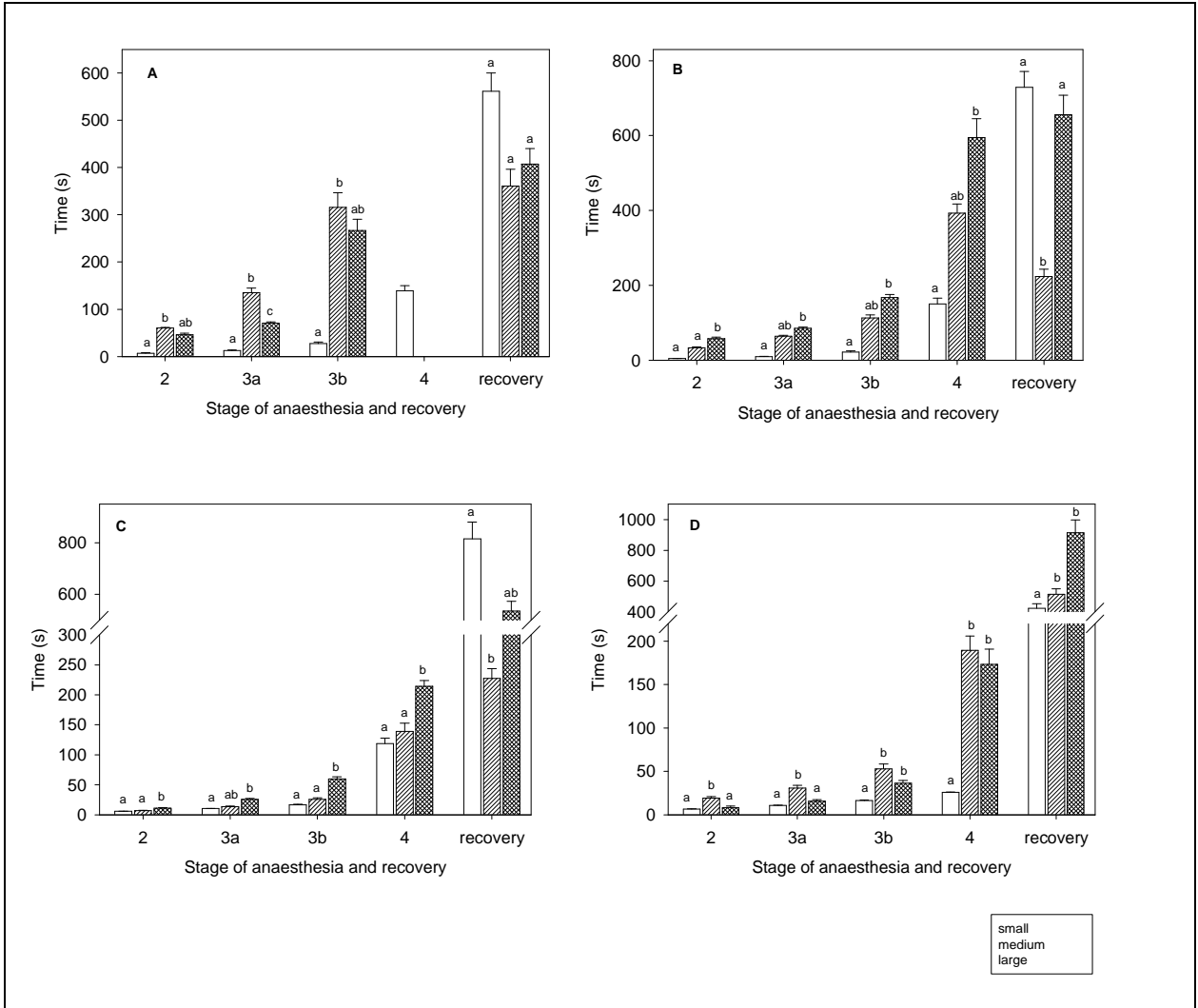


FIGURE 3

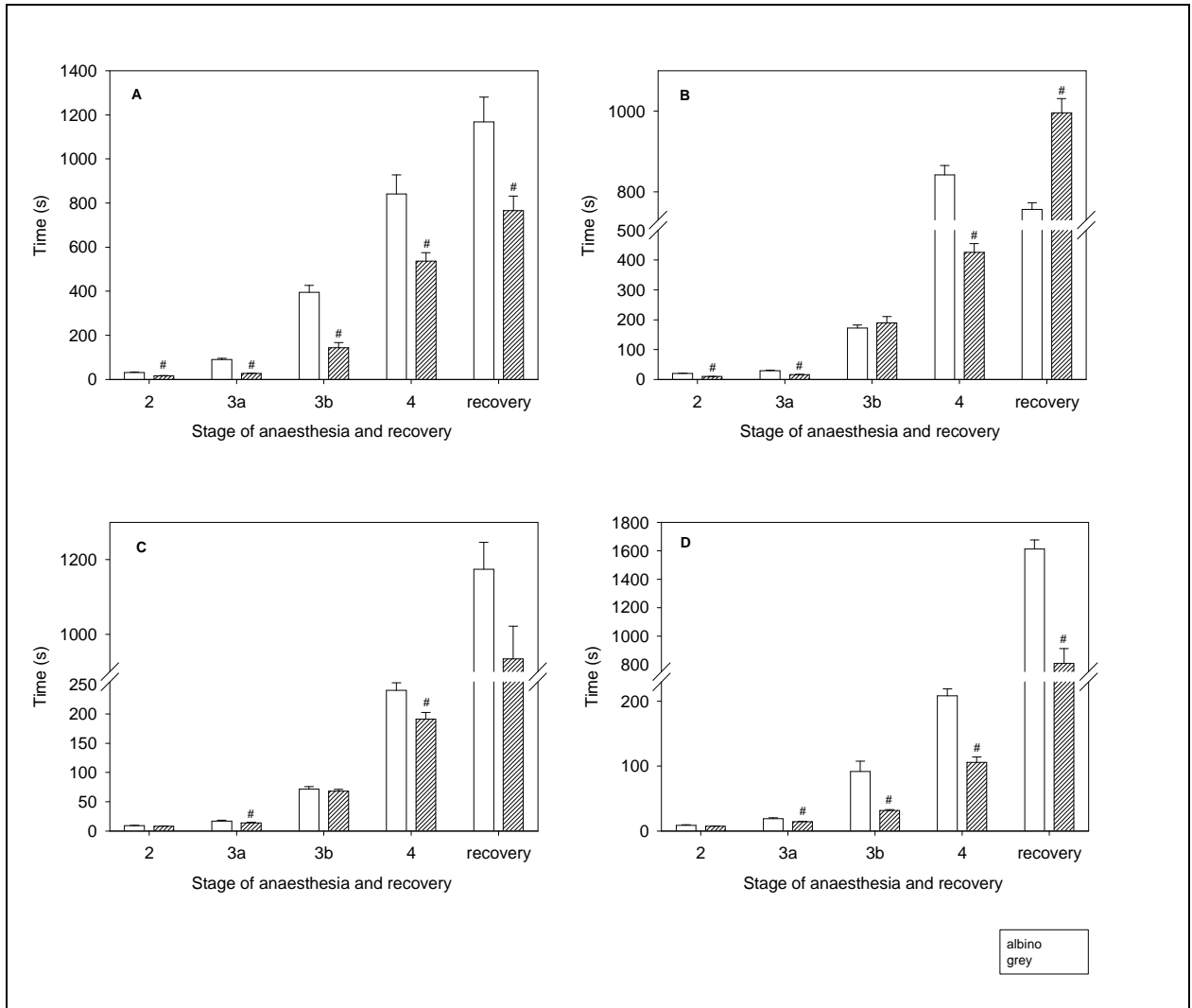


FIGURE 4

3 CONCLUSÃO

- Baseando-se nos tempos de indução e recuperação registrados para a anestesia com metanosulfonato de triclaína na comparação entre os diferentes tamanhos de jundiá, indica-se a concentração de 300 mg.L^{-1} para os peixes grandes. As concentrações testadas não se mostraram adequadas para anestesia de jundiás pequenos e médios devido a tempos de indução e/ou recuperação prolongados.
- Baseando-se nos tempos de indução e recuperação registrados para a anestesia com metanosulfonato de triclaína na comparação entre as variedades de jundiá, indica-se 300 mg.L^{-1} para os peixes albinos e 100 mg.L^{-1} para os cinzas.
- Baseando-se nos tempos de indução e recuperação registrados para a anestesia com propofol na comparação entre os diferentes tamanhos de jundiá, indica-se a concentração de 12 mg.L^{-1} para os peixes pequenos e 10 mg.L^{-1} para os médios e grandes.
- As concentrações testadas de propofol não se mostraram adequadas para anestesia de jundiás cinzas e albinos, uma vez que os tempos de recuperação excederam 10 minutos.
- Na comparação entre jundiás de diferentes tamanhos, esta variável não apresentou relação direta com tempos de indução e recuperação para metanosulfonato de triclaína. Anestesia com propofol, no entanto, promoveu indução mais rápida nos peixes pequenos e médios do que nos grandes, mas o tempo de recuperação não apresentou relação com o tamanho dos peixes.
- Os jundiás cinzas atingiram o estágio de anestesia em tempos menores do que os albinos em sete das oito concentrações testadas (nenhuma variedade induziu além do estágio 3a com 50 mg.L^{-1} metanosulfonato de triclaína), demonstrando uma maior tolerância dos albinos frente ao efeito do metanosulfonato de triclaína e do propofol. A recuperação dos jundiás cinzas foi mais rápida do que a dos albinos com metanosulfonato de triclaína, mas nenhum padrão de uniformidade entre tempo e variedade foi observado na recuperação da anestesia com propofol.

- Propofol promoveu indução anestésica sequencial de todos os estágios de anestesia e não causou mortalidade dos jundiás. Metanosulfonato de tricaína também não ocasionou a morte de animais, porém a evolução ao longo dos estágios não foi tão perceptível quanto o observado com propofol. Assim, é possível controlar a profundidade anestésica mais adequadamente com propofol do que com metanosulfonato de tricaína.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVMA (American Veterinary Medical Association) guidelines on euthanasia. Disponível em: <http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf>. Acesso em 30 out. 2011.

BAI, D. et al. Distinct functional and pharmacological properties of tonic and quantal inhibitory postsynaptic currents mediated by γ -aminobutyric acid A receptors in hippocampal neurons. **Molecular Pharmacology**, v. 59, p. 814-824, 2001.

BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2004, p.67-72.

BALDISSEROTTO, B. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. **Ciência Rural**, v. 39 n. 1, p. 291-299, 2009.

BALI, M.; AKABAS, M. H. Defining the propofol binding site location on the GABA_A receptor. **Molecular Pharmacology**, v. 65, p. 68-76, 2003.

BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S. M. G. de; WOEHL, V. M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e conseqüências (revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, p. 99-111, 2000.

BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; QUEVEDO, R. M. Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy and Gaimard) fingerlings. **Aquaculture**, v. 253, p. 317- 321, 2006.

BARNARD, E. A. et al. International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of γ -Aminobutyric Acid_A receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. **Pharmacological Reviews**, v. 50, n. 2, p. 291-313, 1998.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 1, p. 3-26, 1991.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517-525, 2002.

BELELLI, D. et al. Interaction of positive allosteric modulators with human and *Drosophila* recombinant GABA receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes. **British Journal of Pharmacology**, v. 118, p. 563-576, 1996.

BERNSTEIN, P. S.; DIGRE, K. B.; CREEL, D. J. Retinal toxicity associated with occupational exposure to the fish anesthetic MS-222. **American Journal of Ophthalmology**, v. 124, n. 6, p. 843-844, 1997.

BOLASINA, S. N. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. **Aquaculture International**, v. 14, p. 569-575, 2006.

BONDARI, K. Comparative performance of albino and normally pigmented channel catfish in tanks, cages, and ponds. **Aquaculture**, v. 31, p. 293-301, 1984.

BORIN, S.; CRIVELENTI, L. Z.; LIMA, C. A. P. Uso intramuscular da associação de tiletamina e zolazepam na anestesia de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 429-435, 2010.

BRYSON, H. M.; FULTON, B. R.; FAULDS, D. Propofol. An update of its use in anaesthesia and conscious sedation. **Drugs**, v. 50, p. 513-559, 1995.

BURKA, J. F. et al. Drugs in salmonid aquaculture - a review. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, p. 333-349, 1997.

BUTTERWORTH, J. F.; STRICHARTZ, G. R. Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. **Anesthesiology**, v. 72, p. 711-734, 1990.

CAMPAGNA-SLATER, V.; WEAVER, D. F. Molecular modelling of the GABA_A ion channel protein. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 25, p. 721-730, 2007.

CARNEIRO, P. C. F. A reprodução do jundiá em cativeiro. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2004, p.117-141.

CARTER, K. M.; WOODLEY, C. M.; BROWN, R. S. A review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 21, p. 51-59, 2011.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução n. 714, de 20 de junho de 2002. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Publicada no DOU de 21 jun. 2002. Disponível em: http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao_resolucoes.php. Acesso em: 07 nov. 2011.

COOKE, S. J. et al. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 239, p. 509-529, 2004.

CORDOVA, M. S.; BRAUN, C. B. The use of anesthesia during evoked potential audiometry in goldfish (*Carassius auratus*). **Brain Research**, v. 1153, p. 78-83, 2007.

COURT, M. H. et al. Cytochrome P-450 2B6 is responsible for interindividual variability of propofol hydroxylation by human liver microsomes. **Anesthesiology**, v. 94, p. 110-119, 2001.

COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. Anaesthetics in Aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center Publication**, v. 3900, 2004, 6p.

CUNHA, M. A. et al. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2107-2114, 2010a.

CUNHA, M. A. et al. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 306, p. 403-406, 2010b.

DAVIS, K. B.; GRIFFIN, B. R.; GRAY, W. L. Effect of dietary cortisol on resistance of channel catfish to infection by *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus disease. **Aquaculture**, v. 218, p. 121-130, 2003.

DAVIS, K. B.; GRIFFIN, B. R. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. **Aquaculture**, v. 233, p. 531-548, 2004.

DIGGER, T.; VIIRA, D. J. Anaesthesia and surgical pain relief - the ideal general anaesthetic agent. **Hospital Pharmacy**, v. 10, p. 432-440, 2003.

DOENICKE, A.W. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol in a new solvent. **Anesthesia & Analgesia**, v. 85, p. 1399-1403, 1997.

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. C. A eficácia do mentol como anestésico para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 1, p. 71-75, 2005.

FERREIRA, J. T.; SCHOONBEE, H. G.; SMIT, G. L. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and skin of three freshwater fish species. **Journal of Fish Biology**, v. 25, p. 35-41, 1984.

FLEMING, G. J. et al. Evaluation of propofol and metomidine-ketamine for short-term immobilization of Gulf of Mexico sturgeons (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 34, n. 2, p. 153-158, 2003.

FOWLER, K. A. et al. Anesthetic protocol: propofol use in Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) during magnetic resonance imaging with stereotactic head frame application. **Brain Research Protocols**, v. 7, p. 87-93, 2001.

GARCIA, L. O. et al. Oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles infected with *Ichthyophthirius multifiliis* and maintained at different levels of water pH. **Veterinary Parasitology**, v. 178, p. 15-21, 2011.

GELWICKS, K. R.; ZAFFT, D. J. Efficacy of carbonic acid as an anesthetic for rainbow trout. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 18, p. 432-438, 1998.

GILDERHUS, P. A.; MARKING, L. L. Comparative efficacy of 16 anaesthetic chemicals on rainbow trout. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 7, p. 288-292, 1987.

GOMES, L. C. et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.

GOMES, L. C. et al. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, p. 426-431, 2001.

GOMES, D. P. et al. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, v. 42, p. 878-886, 2011.

GOODCHILD, C. S.; SERRAO, J. M. Cardiovascular effects of propofol in the anaesthetised dog. **British Journal of Anaesthesia**, v. 63, p. 87-92, 1989.

- GUEDES, D. S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. 1980. 99 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1980.
- HADFIELD, C. A.; WHITAKER, B. R.; CLAYTON, L. A. Emergency and critical care of fish. **Veterinary Clinics Exotic Animal Practice**, v. 10, p. 647-675, 2007.
- HARMS, C. A.; BAKAL, R. S. Techniques in fish anesthesia. **Journal of Small Exotic Animal Medicine**, v. 3, p. 19-25, 1995.
- HIKASA, Y. et al. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 48, n. 2, p. 341-351, 1986.
- HIPPALGAONKAR, K.; MAJUMDAR, S.; KANSARA, V. Injectable lipid emulsions-advancements, opportunities and challenges. **AAPS Pharmaceutical Science and Technology**, v. 11, n. 4, p. 1526-1540, 2010.
- HSEU, J. et al. Comparison of efficacy of five anesthetics in goldlined sea bream, *Sparus sarba*. **Acta Zoologica Taiwanica**, v. 9, n. 1, p. 35-41, 1998.
- HUNN, J. B.; ALLEN, J. L. Movement of drugs across the gills of fishes. **Annual Review of Pharmacology**, v. 14, p. 47-55, 1974.
- ILKIW, J. E. et al. Cardiovascular and respiratory effects of propofol administration in hypovolemic dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 2323-2327, 1992.
- INOUE, L. A. K. A.; NETO, C. S.; MORAES, G. Clove oil anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 943-947, 2003.
- IVERSEN, M. et al. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-STM and Benzoak[®] as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v. 221, p. 549-566, 2003.
- IWAMA, G. K.; MCGEER J. C.; PAWLUK, M. P. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. **Canadian Journal of Zoology**, v. 67, p. 2065-2073, 1989.

- IWAMA, G. K. et al. Heat shock proteins and physiological stress in fish. **American Zoologist**, v. 39, p. 901-909, 1999.
- KEENE, J. L. et al. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, n. 2, p. 89-101, 1998.
- KIESSLING, A. et al. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. **Aquaculture**, v. 286, p. 301-308, 2009.
- KRASOWSKI, M. D. et al. Methionine 286 in transmembrane domain 3 of the GABA_A receptor β subunit controls a binding cavity for propofol and other alkylphenol general anesthetics. **Neuropharmacology**, v. 41, p. 952-964, 2001.
- KRASOWSKI, M. D. et al. 4D-QSAR analysis of a set of propofol analogues: mapping binding sites for an anesthetic phenol on the GABA_A receptor. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 3210-3221, 2002.
- LEWBART, G. A. Fish: Chemical restraint/anesthetic agents used in fish. In: CARPENTER, J. W. **Exotic Animal Formulary**. 3 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2005, p. 18-20.
- MACLEAN, R. A.; HARMS, C. A.; BRAUN-MCNEILL, J. Propofol anesthesia in loggerhead (*Caretta caretta*) sea turtles. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n. 1, p. 143-150, 2008.
- MARICCHIOLO, G.; GENOVESE, L. Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. **The Open Marine Biology Journal**, v. 5, p. 24-33, 2011.
- MARKING, L. L.; MEYER, F. P. Are better anesthetics needed in fisheries? **Fisheries**, v. 10, p. 2-5, 1985.
- MATSCHE, M. A. Evaluation of tricaine methanesulfonate (MS-222) as a surgical anesthetic for Atlantic Sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 27, p. 600-610, 2011.
- MAULE, A. G. et al. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Journal of Endocrinology**, v. 120, p. 135-142, 1989.

MCFARLAND, W. N. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. **Publications of the Institute of Marine Science**, v. 6, p. 22-55, 1959.

MEURER, S.; ZANIBONI FILHO, E. Hábito alimentar do jundiá *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae), na região do alto rio Uruguai. In: XII ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SBI, 1997. p. 29.

MILLER, S. M.; MITCHELL, M. A.; HEATLEY, J. J. Clinical and cardiorespiratory effects of propofol in the spotted bamboo shark (*Chylloscyllium plagiosum*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 4, p. 673-676, 2005.

MITCHELL, M. A. Anesthetic considerations for amphibians. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 18, n. 1, p. 40-49, 2009.

MOHLER, H.; FRITSCHY, J. M.; RUDOLPH, U. A new benzodiazepine pharmacology. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 300, p. 2-8, 2002.

MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 9, p. 211-268, 1999.

MULCAHY, D. M. et al. Coelomic implantation of satellite transmitters in the bar-tailed godwit (*Limosa lapponica*) and the bristle-thighed curlew (*Numenius tahitiensis*) using propofol, bupivacaine and lidocaine. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 42, n. 1, p. 54-64, 2011.

MURRAY, M. J. Fish surgery. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 11, n. 4, p. 246-257, 2002.

MURRAY, M. J. Endoscopy in Sharks. **Veterinary Clinics Exotic Animal Practice**, v. 13, p. 301-313, 2010.

MYLONAS, C. C. et al. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, v. 246, p. 467-481, 2005.

- NATHANSON, M. H.; GAJRAJ, N. M.; RUSSELL, J. A. Prevention of pain on injection of propofol: a comparison of lidocaine with alfentanil. **Anesthesia & Analgesia**, v. 82, p. 469-471, 1996.
- NEIFFER, D. L.; STAMPER, M. A. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. **ILAR Journal**, v. 50, n. 4, p. 343-360, 2009.
- OIKAWA, S.; TAKEDA, T.; ITAZAWA, Y. Scale effects of MS-222 on a marine teleost, porgy *Pagrus major*. *Aquaculture*, v. 121, p. 369-379, 1984.
- PALMER, L. M.; MENSINGER, A. F. Effect of the anesthetic tricaine (MS-222) on nerve activity in the anterior lateral line of the oyster toadfish, *Opsanus tau*. **Journal of Neurophysiology**, v. 92, p. 1034-1041, 2004.
- OLSEN, Y. A.; EINARSDOTTIR, I. E.; NILSSEN, K. J. Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmon salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture*, v. 134, p. 155-168, 1995.
- PANKHURST, N.W. The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. **General and Comparative Endocrinology**, v. 170, n. 2, p. 265-275, 2010.
- PARK, I. S. et al. Anaesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate and MS-222 on the greenling (*Hexagrammos otakii*). **Journal of the Korean Fisheries Society**, v. 36, p. 449-453, 2003.
- PARK, M. O. et al. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 877-884, 2008.
- PARODI, T. V. et al. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and grey strains of silver catfish, *Rhamdia quelen* (submetido).
- PEREIRA-DA-SILVA, E. M. et al. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1851-1856, 2009.

PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 7, p. 253-258, 1989.

PIRHONEN, J.; SCHRECK, C. B. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 220, p. 507-514, 2003.

REES, D. C.; HILL, D. R. Drugs in anesthetic practice. **Annual Reports in Medicinal Chemistry**, v. 31, p. 41-50, 1996.

RICHARDSON, J. E. et al. A conserved tyrosine in the β_2 subunit M4 segment is a determinant of γ -aminobutyric acid type A receptor sensitivity to propofol. **Anesthesiology**, v. 107, p. 412-418, 2007.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals**. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, 222 pp.

ROTLLANT, J. et al. Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei) after handling and confinement stress. **General and Comparative Endocrinology**, v. 121, p. 333-342, 2001.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aqüicultura**, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; VAL, A. L. Safest level of tricaine methanesulfonate (MS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus*. **Acta Amazonica**, v. 31, p. 159-163, 2001.

ROUBACH, R. et al. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1056-1061, 2005.

SAARI, T. I. et al. Enhancement of GABAergic activity: neuropharmacological effects of benzodiazepines and therapeutic use in anesthesiology. **Pharmacological Reviews**, v. 63, p. 243-267, 2011.

SANNA, E. et al. Characterization of the electrophysiological and pharmacological effects of 4-iodo-2,6-diisopropylphenol, a propofol analogue devoid of sedative–anaesthetic properties. **British Journal of Pharmacology**, v. 126, p. 1444-1454, 1999.

SCHNICK, R. A.; MEYER, F. P.; WALSH, D.F. Status of fishery chemicals in 1985. **Progressive Fish-Culturist**, v. 48, p. 1-17, 1986.

SCHOETTGER, R. A.; JULIN, M. Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. **Investigations in Fish Control, USA Department of the Interior**, v. 13, p. 1-15, 1967.

SEBEL, P. S.; LONDON, J. D. Propofol: a new intravenous anesthetic. **Anesthesiology**, v. 71, p. 260-277, 1989.

SHORT, C. E.; BIFILAR, A. Propofol anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 29, n. 3, p. 747-78, 1999.

SHORT, T. G.; YOUNG, Y. Toxicity of intravenous anaesthetics. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 17, p. 77-89, 2004.

SIGMA (2011) Material safety data sheet: ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate, E10521. Sigma-Aldrich Corporation. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/site-level/msds.html>>. Acesso em: 30 out. 2011

SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 613-620, 2009.

SIMONS, P. J. et al. Species differences in blood profiles, metabolism and excretion of ¹⁴C-propofol after intravenous dosing to rat, dog and rabbit. **Xenobiotica**, v. 21, p. 1243-1256, 1991.

SKJERVOLD, P. O. et al. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 192, p. 265-280, 2001.

SLADKY, K. K. et al. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 3, p. 337-342, 2001.

SMALL, B. C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, p. 177-185, 2003.

STEHLY, G. R.; GINGERICH, W. H. Evaluation of AQUI-STM (efficacy and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States. **Aquaculture Research**, v. 30, p. 365-372, 1999.

VELASCO-SANTAMARÍA, Y.; PALACIOS-RUIZ, C.; CRUZ-CASALLAS, P. Eficiencia anéscica de 2-fenoxietanol, benzocaina, quinaldina y metasulfonato de tricaina en alevinos y juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). **Revista MVZ Córdoba**, v. 13, n. 3, p. 1435-1445, 2008.

VELISEK, J. et al. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Veterinary Medicine - Czech**, v. 50, n. 6, p. 269-275, 2005.

VELISEK, J. et al. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 354-361, 2009.

VEROLI, P. et al. Extrahepatic metabolism of propofol in man during the anhepatic phase of orthoptic liver transplantation. **British Journal of Anaesthesia**, v. 68, p. 183-186, 1992.

WALSH, C. T.; PEASE, B. C. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). **Aquaculture Research**, v. 33, p. 627-635, 2002.

WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353-366, 2002.

WEBER, R. A. et al. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). **Aquaculture**, v. 288, p. 147-150, 2009.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v. 77, p. 591-625, 1997.

WOODY, C. A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails. **Journal of Fish Biology**, v. 60, n. 2, p. 340-347, 2002.

YAMAKURA T. et al. Anesthetics and ion channels: molecular models and sites of action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 41, p. 23-51, 2001.

YANONG, R. P. E. Peixes de Aquário. In: AGUILAR, R.; HERNÁNDEZ-DIVERS, S. M.; HERNÁNDEZ-DIVERS, S. J. **Atlas de Medicina, Terapêutica e Patologia de Animais Exóticos**. São Caetano do Sul: Interbook, 2006. Cap. 4, p. 81-111.

ZAHL, I. H. et al. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) - Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. **Aquaculture**, v. 295, p. 52-59, 2009.

ZAHL, I. H. et al. Anesthesia induces stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 36, p. 719-730, 2010.