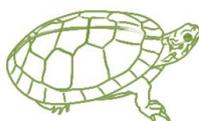


# Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino



Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b>	<b>4</b>
<b>MAMÍFEROS</b>	
<b>2. Métodos recomendáveis para mamíferos</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos injetáveis</b>	<b>6</b>
Cálculo de dose para eutanásia	6
I - Barbitúricos (tiopental (thionembutal <sup>®</sup> , tiopentax <sup>®</sup> )/pentobarbital)	7
II - Propofol	9
III - Anestésicos dissociativos e associações	10
<b>2.2. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos inalatórios</b>	<b>11</b>
<b>3. Métodos aceitos com restrição para mamíferos</b>	<b>12</b>
<b>3.1. Protocolo de eutanásia mediante a utilização de anestésicos injetáveis</b>	<b>12</b>
I - Tribromoetanol (Avertin <sup>®</sup> )	12
II - Uretano	12
<b>3.2. Protocolo de eutanásia mediante a utilização de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)</b>	<b>13</b>
<b>3.3. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de métodos físicos</b>	<b>14</b>
I - Deslocamento cervical	14
II - Decapitação	14
<b>4. Eutanásia de fetos e neonatos de pequenos roedores</b>	<b>16</b>
<b>4.1 Métodos recomendáveis</b>	<b>16</b>
I - Sobredosagem de agentes anestésicos injetáveis (via intraperitoneal)	16
II - Decapitação	16
<b>4.2 Métodos aceitos com restrição</b>	<b>17</b>
I - Congelamento rápido	17
<b>5. Agentes e métodos aceitáveis apenas como métodos complementares para mamíferos</b>	<b>18</b>
<b>5.1. Agentes injetáveis utilizados como método complementar para eutanásia</b>	<b>18</b>
I - Cloreto de Potássio (KCl)	18
<b>5.2. Métodos físicos utilizados como métodos complementares para eutanásia</b>	<b>18</b>
I - Exsanguinação	18
<b>6. Agentes e métodos inaceitáveis para mamíferos</b>	<b>19</b>

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

**PEIXES E ANFÍBIOS – CLASSES LISSAMPHIBIA, ACTINOPTERI (PEIXES ÓSSEOS) E CHONDRICHTHYES (PEIXES CARTILAGINOSOS)**

<b>7. Métodos recomendáveis para peixes e anfíbios</b>	20
<b>7.1. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos para imersão</b>	20
I - Benzocaína	20
II - Soluções de lidocaína ou bupivacaína (em forma em gel)	21
III - Sulfonato metano de tricaína ou MS222	21
IV - Eugenol e óleo de cravo da Índia	22
<b>7.2. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos injetáveis</b>	22
I - Lidocaína ou bupivacaína	22
II - Barbitúricos	23
<b>7.3 Anestésicos inalatórios</b>	23

<b>8. Métodos aceitos com restrição</b>	25
<b>8.1. Métodos físicos</b>	25
I - Congelamento rápido	25
II - Hipotermia	25
III - Eletronarcorese	25
IV - Decapitação	26
<b>8.2. 2 - Fenoxietanol</b>	26

<b>9. Agentes e métodos aceitáveis apenas como métodos complementares</b>	27
I - Perfuração craniana	27

<b>10. Agentes e métodos inaceitáveis para peixes e anfíbios</b>	27
--	----

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## AVES

<b>11. Métodos recomendáveis</b> .....	28
<b>11.1. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos injetáveis</b> .....	28
I - Barbitúricos .....	28
<b>11.2. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos inalatórios</b> .....	28

<b>12. Métodos aceitos com restrição</b> .....	29
<b>12.1. Métodos físicos</b> .....	29
I - Deslocamento cervical .....	29
II - Pistola de insensibilização por ar comprimido .....	29
III - Decapitação .....	29
IV - Compressão torácica .....	29
<b>12.2. Nitrogênio e argônio</b> .....	29
<b>12.3. Dióxido de carbono</b> .....	30

<b>13. Agentes e métodos inaceitáveis para aves</b> .....	30
---	----

## RÉPTEIS

<b>14. Métodos recomendáveis</b> .....	31
<b>14.1. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos injetáveis</b> .....	31
I - Barbitúricos .....	31
II - Propofol .....	31
<b>14.2. Protocolos de eutanásia mediante a utilização de anestésicos inalatórios</b> .....	32

<b>15. Métodos aceitos com restrição</b> .....	32
<b>15.1. Métodos físicos</b> .....	32
I - Concussão cerebral .....	32
II - Decapitação.....	32
III - Pistola de insensibilização .....	33

<b>16. Agentes e métodos inaceitáveis para répteis</b> .....	33
--	----

<b>17. Resumo de métodos de eutanásia por espécies.....</b>	34
<b>18. Confirmação da morte do animal.....</b>	38
<b>19. Descarte de carcaças.....</b>	39
<b>20. Referências.....</b>	40

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 1. INTRODUÇÃO

A eutanásia humanitária refere-se à prática de promover a morte de um animal por meio de método tecnicamente aceitável e cientificamente comprovado, observando princípios éticos. Ela pode ser indicada quando o bem-estar do animal estiver comprometido de forma irreversível, ao final de atividades científicas devidamente aprovadas por uma Comissão de Ética para o Uso de Animais – CEUA, e para descarte de animais excedentes em sistemas de criação. Neste último caso deve-se estabelecer previamente a demanda de animais para pesquisa de forma adequada, a fim de permitir um planejamento de produção e minimizar a quantidade de animais eutanasiados.

*“Um método adequado de eutanásia deve garantir a perda da consciência de forma rápida, irreversível e desprovida de experiência emocional ou física desagradável, ou seja, o animal não deve apresentar dor, estresse, apreensão ou ansiedade.”* (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – BRASIL-CONCEA, 2018)

Os procedimentos de eutanásia passíveis de serem executados em animais utilizados em ensino e pesquisa na UNIFESP estão de acordo com a classificação do CONCEA. Os métodos recomendáveis são os preferidos por provocarem a morte de forma consistente e humanitária, quando usado de forma isolada. O método aceito com restrição é o que não atende a todos os critérios ideais e devem ser previamente aprovados e autorizados pela CEUA da Instituição se: plenamente justificados para o objetivo científico; detalhadamente descritos na proposta enviada para avaliação; a pessoa responsável apresentar comprovada habilidade e qualificação para o emprego do método e for considerado o devido cuidado à saúde e à segurança ocupacionais. Métodos inaceitáveis causam sofrimento nos animais, não são humanitários ou apresentam outros problemas significativos associados ao seu uso.

Todos os protocolos aqui descritos estão de acordo com a Lei 11.794 de 2008, artigo 14 § 1º e com a Resolução Normativa 37, de 15 de fevereiro de 2018 - CONCEA.

Salienta-se que o método escolhido deve constar no formulário de submissão à CEUA/UNIFESP, devendo ser previamente aprovado por ela.

*“Os procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados, mesmo que não de forma presencial, pelo Responsável Técnico pelo Biotério. A pessoa responsável pela eutanásia deve ter conhecimento técnico, usar*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

*métodos humanitários de manuseio, entender o motivo pelo qual o animal está sendo morto, estar familiarizado com o método e estar informado sobre a finalidade a que se destinará o cadáver". (BRASIL - CONCEA, 2018).*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 2. MÉTODOS RECOMENDÁVEIS PARA MAMÍFEROS

### 2.1. PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INJETÁVEIS

#### EXEMPLO DE CÁLCULO DE DOSE PARA EUTANÁSIA

Espécie: Rato Peso: 300g (0,3kg) Dose Anestésica: 40mg/kg

Concentração do fármaco: Tiopental 2,5% (25mg/mL)

#### 1º passo - Cálculo da dose anestésica para administração em mg:

Dose anestésica: 40mg/Kg ou seja: 1Kg ----- 40mg

Peso: 300g ou seja: 0,3 Kg ----- Xmg

X = 12 mg de anestésico

Outra opção é utilizar diretamente a fórmula:

$$X = \text{peso (kg)} \times \text{dose (mg/kg)}$$

#### 2º passo - Conversão da dose anestésica do Tiopental 2,5% em volume de administração (mL)

25 mg ----- 1 mL

12 mg ----- X

X = 0,48 mL

$$X = \text{dose de administração (mg)} / \text{concentração do fármaco (mg/mL)}$$

#### 3º passo - Cálculo do volume final de administração para eutanásia (ml)

$$\text{Volume (mL)} \times 3$$

(para eutanásia é necessária a aplicação de no mínimo 3 vezes a dose anestésica)

$$0,48 \text{ mL} \times 3 = 1,44 \text{ mL}$$

#### RESUMO

$$\left\{ \frac{\text{peso(Kg)} \times \text{dose(mg / Kg)}}{\text{concentração(mg / ml)}} \right\} \times 3$$

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

Obs: Recomendamos que as diluições sejam preparadas no momento da administração e o volume residual descartado após o uso, a fim de prevenir a administração de substâncias degradadas por má conservação ou fora do prazo de validade. Ver na bula os cuidados de armazenamento.

## Planejamento

- É importante verificar a disponibilidade para compra do fármaco escolhido. Muitos dos fármacos utilizados para eutanásia são vendidos apenas com receita do médico veterinário, entre em contato com o responsável técnico do biotério com antecedência para solicitação de receita.
- Antes de planejar o dia da eutanásia, verifique se tem no laboratório os fármacos aprovados pela CEUA-UNIFESP na quantidade necessária.

### I - Barbitúricos (tiopental - thionembutal®, tiopentax®/pentobarbital)

- Causam depressão do Sistema Nervoso Central (SNC) descendente com perda da consciência, progredindo para anestesia, apnéia e parada cardíaca (AVMA, 2013).
- Causam mínimo desconforto desde que a injeção seja rápida.
- **Recomendação:** todas as espécies.

Obs: O tiopental é comercializado em frascos com 0,5 a 1g. Segundo a recomendação do fabricante deve-se fazer a diluição para a concentração de 2,5% acrescentando 20 mL de água estéril para injeção ou cloreto de sódio 0,9% no frasco de 0,5g ou 40mL de solução estéril de cloreto de sódio 0,9% no frasco de 1g.

### Tiopental

Espécies	Dose Anestésica	Dose Letal	Via de administração
Camundongos	50mg/kg	150mg/kg	IP
Ratos	40mg/kg	120mg/kg	IV ou IP
Hamsters	40mg/kg	120mg/kg	IP
Coelhos	30mg/kg	90mg/kg	IV

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

Suínos	30mg/kg	90mg/kg	IV
Primatas ( <i>Callithrix sp.</i> )	15 a 20 mg/kg	45 a 75 mg/kg	IV

Para eutanásia é necessária a aplicação de no mínimo 3 vezes a dose anestésica ou a aplicação de uma dose seguida da complementação com um método secundário (ex. decapitação ou exsanguinação).

### Pentobarbital

Espécie	Dose Anestésica (mg/kg)	Dose letal (mg/kg)	Via
Camundongo	40-85	255	IP
	40-70	210	IV
Rato	40-60	180	IP
	30-40	120	IV
Primatas ( <i>Callithrix sp.</i> )	5 a 15 mg/kg	15 a 45 mg/kg	IV

### Vias de administração:

- **Via intravenosa (IV)** - é a via preferencial e indicada para todas as espécies.
- **Via intraperitoneal (IP)** - utilizada exclusivamente para ratos, camundongos, hamsters e cobaias.

Exemplo:

Espécie: Camundongo      Peso: 25 g (0,025kg) Dose anestésica: 50mg/Kg

Concentração do fármaco: Tiopental 2,5% (25mg/mL)

Utilizando a fórmula apresentada no item “cálculo de dose para eutanásia” temos:

$$\text{Dose anestésica} = \frac{0,025 \text{ (kg)} \times 50 \text{ (mg/kg)}}{25 \text{ (mg/mL)}} = 0,05 \text{ mL}$$

$$\text{Dose letal} = 0,05 \text{ mL} \times 3 = 0,15 \text{ mL}$$

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## II - Propofol

- Promove depressão do SNC através de ação em receptores gabaérgicos.
- Para eutanásia é necessária a aplicação de no mínimo 3 vezes a dose anestésica ou a aplicação da dose anestésica seguida da complementação com um método secundário (ex. decapitação ou exsanguinação).
- **Recomendação:** todas as espécies.

Espécies	Dose Anestésica (mg/kg)	Dose Letal (mg/kg)
Camundongos	30	90
Ratos	10	30
Hamsters	30	90
Cobaia	10	30
Coelhos	10	30
Suínos	1.66	5
Primatas ( <i>Callithrix sp.</i> )	7,5 a 12,5	22,5 a 37

### Vias de administração:

- Administração **exclusivamente** por **via intravenosa para todas as espécies.**

Exemplo:

Espécie: Coelho    Peso: 3kg    Dose: 10mg/Kg    Concentração do fármaco: Propofol 1% (10 mg/mL)

Utilizando a fórmula apresentada no item “cálculo de dose para eutanásia” temos:

$$\text{Dose anestésica} = \frac{3\text{kg} \times 10\text{mg/kg}}{10\text{mg/mL}} = 3\text{mL}$$

$$\text{Dose letal} = 3\text{mL} \times 3 = 9\text{mL}$$

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

### III - Anestésicos dissociativos e associações

- Os anestésicos dissociativos agem sobre os receptores nicotínicos, muscarínicos, opióides  $\mu$ ,  $\kappa$  e  $\delta$ , sendo que seu efeito hipnótico ocorre por meio do bloqueio de receptores NMDA.
- Para eutanásia é aceita a utilização da associação de anestésicos dissociativos (ex: cetamina) com agonistas de adrenorreceptores alfa-2 (ex: xilazina) (BRASIL-CONCEA, 2018).
- É necessária a aplicação no mínimo 3 vezes a dose anestésica da associação de cetamina a cloridrato de xilazina (AVMA, 2013).
- Recomendação:** todas as espécies.

Espécies	Via de administração	Dose letal xilazina (mg/kg)	Dose Letal cetamina (mg/kg)
Camundongos	IP	30	300
Ratos	IP	30	300
Hamsters	IP	30	600
Coelhos	IM	15	105
	IV	9	30
Suínos	IM	6	60
Primatas ( <i>Callithrix sp.</i> )	IM	3 a 6	15 a 20

#### Exemplo

Espécie: Rato Peso: 300g (0,3kg) Dose: Xilazina 10mg/Kg e Cetamina 90mg/Kg

Concentração dos fármacos: Xilazina 2% (20 mg/mL) e Cetamina 10% (100mg/mL)

Utilizando a fórmula apresentada no item “cálculo de dose para eutanásia” temos:

#### ➤ Xilazina

$$\text{Dose anestésica} = \frac{0,3\text{kg} \times 10\text{mg/kg}}{20\text{mg/mL}} = 0,15 \text{ mL}$$

$$\text{Dose letal} = 0,15 \text{ mL} \times 3 = 0,45 \text{ mL}$$

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

➤ Cetamina

$$\text{Dose anestésica} = \frac{0,3\text{kg} \times 90\text{mg/kg}}{100\text{mg/mL}} = 0,27 \text{ mL}$$

$$\text{Dose letal} = 0,27 \text{ mL} \times 3 = 0,81 \text{ mL}$$

**Vias de administração:** Administrada preferencialmente pelas vias intravenosa e intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa). A via intramuscular deverá ser evitada em ratos e camundongos, uma vez que a massa muscular nesses animais é pequena e a administração pode ser difícil e dolorosa.

## 2.2. PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INALATÓRIOS

- Os fármacos mais indicados, por ordem de preferência levando-se em consideração o bem-estar dos animais e a segurança destes e do operador são: sevoflurano, isoflurano e halotano.
- Por questões de biossegurança o local deve possuir um sistema de exaustão do gás, uma vez que a exposição aos agentes pode promover teratogenicidade, mutagenicidade e problemas respiratórios, além de aumentar a incidência de aborto espontâneo.
- O contato direto do animal com o anestésico em sua forma líquida causa irritação das mucosas, por isso os animais devem ser expostos apenas ao vapor do anestésico.
- Para eutanásia o anestésico é fornecido diluído em oxigênio por um vaporizador e deve ser introduzido na câmara na maior concentração possível. Para pequenos roedores, uma gaze embebida com anestésico pode ser colocada em um recipiente fechado juntamente com o animal de maneira que este fique em contato apenas com o vapor do anestésico.
- Desvantagem: animais podem apresentar excitação, aversão (coelhos).
- **Recomendação:** pelo fato de produzirem um **estado anestésico reversível**, preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal (ex. método físico, exsanguinação). É um **método recomendado para animais adultos** de todas as espécies, com **exceção de coelhos**.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

### 3. MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO PARA MAMÍFEROS

#### 3.1 PROTOCOLO DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INJETÁVEIS

##### I – Tribromoetanol (avertin®)

- Não é citado na legislação atual (BRASIL-CONCEA 2018).
- O fármaco só deverá ser utilizado caso haja adequada diluição e armazenamento. O fármaco é higroscópico, fotossensível e pode sofrer oxidação. O produto de sua degradação é letal. Nunca usar solução amarelada ou com precipitado.
- **Recomendação:** sua utilização é citada na literatura apenas para camundongos. Deverá haver forte justificativa para o uso deste fármaco.

Espécies	Dose anestésica	Dose letal
Camundongo	250mg/kg	750mg/kg*

\*Como os demais anestésicos injetáveis, para eutanásia, devem ser utilizadas no mínimo 3 vezes a dose anestésica.

**Vias de administração:** Via intraperitoneal (IP)

##### II – Uretano

- Uretano é um produto carcinogênico e mutagênico para camundongos e carcinogênico para ratos. A maior preocupação quanto ao seu uso é a segurança para seres humanos. Para sua utilização é necessário o uso de equipamentos de proteção individual e coletiva (EPIs e EPCs).

Espécies	Dose anestésica	Dose letal
Roedores	1000mg/kg	3000mg/kg*

\*Como os demais anestésicos injetáveis, para eutanásia, devem ser utilizadas no mínimo 3 vezes a dose anestésica.

**Vias de administração:** Via intraperitoneal (IP).

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

### 3.2. PROTOCOLO DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO (CO<sub>2</sub>)

- Como todo método aceito com restrição somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA/UNIFESP.
- O tempo até a inconsciência com o uso de CO<sub>2</sub> é inversamente proporcional à concentração utilizada, tendo o potencial de causar distresse por três diferentes mecanismos:
  - As concentrações acima de 40% causa dor devido a formação de ácido carbônico nas mucosas ocular e respiratória;
  - Pode induzir à sensação de sufocamento, “falta de ar”;
  - Causa estimulação direta de canais de íons na amígdala associados a resposta ao medo.
- Quando utilizado, o CO<sub>2</sub> deve ser disponibilizado, exclusivamente, por meio de câmara específica que permita a mensuração da concentração, de modo que o volume de preenchimento esteja na ordem de 20% do volume da câmara por minuto, mantendo o fluxo por pelo menos 1 minuto após confirmação da morte clínica.
- Quando do uso de CO<sub>2</sub>, o excesso de gás deve ser eliminado na porção superior da câmara, paralelamente ao aumento gradual da concentração de CO<sub>2</sub>, de forma que não ocorra pressurização interna, nem entrada de ar ambiente na câmara. Câmaras grandes podem requerer múltiplas entradas de CO<sub>2</sub> para garantir a distribuição homogênea.
- **Recomendação:** pelo fato de produzirem um estado anestésico reversível, preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal (ex. método físico, exsanguinação). É um método aceito com restrição para roedores.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

### 3.3. PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS FÍSICOS

#### I - Deslocamento cervical

- **Como todo método aceito com restrição somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA/UNIFESP.**
- É **obrigatório** o treinamento prévio e a comprovação de qualificação do executor.
- **Descrição do método:** polegar e indicador devem ser posicionados um de cada lado na região cervical cranial (base do crânio) ou um bastão deve ser pressionado nesta região do crânio. Com a outra mão deve-se tracionar a base da cauda ou membros pélvicos caudalmente para causar a separação das vértebras cervicais em relação ao crânio. Após a tração poderá ser palpado um espaço de 02 - 04mm que se forma na base do crânio. Para coelhos jovens de no máximo 1Kg (animais imaturos) o crânio é segurado com uma das mãos e os membros pélvicos com a outra mão. O animal é tracionado (esticado) e o pescoço estendido e girado dorsalmente para separar a primeira vértebra cervical do crânio (CONCEA, 2013).
- **Recomendação:** pode ser utilizado para causar a morte de camundongos e ratos com no máximo 150g, preferencialmente após a anestesia.
- Também é permitido realizar o deslocamento cervical em coelhos abaixo de 1 kg, previamente anestesiados. O método **não deve ser utilizado para hamsters e cobaias**, nem como método secundário devido a forte musculatura cervical que esses animais possuem.

#### II – Decapitação

- **Como todo método aceito com restrição somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA/UNIFESP.**
- É **obrigatório** o treinamento prévio e a comprovação de qualificação do executor.
- Deve ser utilizado equipamento específico para esse fim: tesoura para neonatos e guilhotina para animais adultos. O equipamento deve estar em boas condições de uso, sem ferrugem e

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

passar por manutenção periódica mantendo-se a lâmina amolada. Deve ser realizada sua limpeza após o óbito de cada animal.

**Descrição do método:** a lâmina deve ser posicionada na base do crânio realizando-se um movimento único e preciso que promova a separação da cabeça e do corpo do animal.

**Recomendação:** Camundongos, ratos de até 150g e coelhos com menos de 1 kg, preferencialmente deve ser utilizado após a anestesia.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 4. EUTANÁSIA DE FETOS E NEONATOS DE PEQUENOS ROEDORES

Fetos e neonatos de pequenos roedores altriciais (organismos que são incapazes de se mover por si mesmos logo após o nascimento) devem ser diferenciados de roedores precociais como as cobaias os quais devem ser tratados como adultos.

Em fetos de camundongos, ratos e hamsters até o 14º dia de gestação a percepção da dor é improvável devido ao mínimo desenvolvimento neuronal. Na cobaia, esse período é estendido até o 34º dia de gestação. A partir dessa fase recomendam-se as mesmas técnicas consideradas para os animais adultos (BRASIL - CONCEA, 2018).

Fetos ainda no útero permanecem inconscientes até o momento do nascimento e o método de eutanásia utilizado para a fêmea prenhe é suficiente para promover o óbito deles por meio da perda do suprimento sanguíneo. Dessa forma, não é aconselhável exteriorizar os fetos e induzir a morte de forma individual, pois o início da respiração pode desencadear a consciência. Caso sejam removidos, a morte deve ser induzida o mais rápido possível.

Os neonatos são muito resistentes a hipóxia promovida pelo uso do CO<sub>2</sub> e anestésicos inalatórios, levando aproximadamente 40 minutos para virem a óbito. Dessa forma, **esses agentes não devem ser utilizados para promover a eutanásia de animais nessa fase da vida**, a menos que o objetivo seja **induzir inconsciência para aplicação de um segundo método** (p.e. decapitação). Para tanto a inconsciência deve ser confirmada antes da aplicação do segundo método para eutanásia. Um dos métodos passíveis de avaliação da inconsciência em neonatos é a ausência de reflexo podal.

### 4.1 MÉTODOS RECOMENDÁVEIS

#### I - Sobredosagem de agentes anestésicos injetáveis (via intraperitoneal)

- A doses recomendadas são as mesmas para animais adultos e devem ser ajustadas de acordo com o peso do animal.

#### II – Decapitação

- Trata-se de um método aceito desde que a anestesia interfira com os resultados da pesquisa.
- Para roedores neonatos de até sete dias. A decapitação com deverá ser realizada com lâminas adequadas e por pessoa treinada.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 4.2 MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO

### I – Congelamento rápido

- A imersão em nitrogênio líquido pode ser aceita com restrição para a eutanásia de fetos e neonatos de pequenos roedores e lagomorfos desde que não ultrapassem 0,2g de peso (CONCEA, 2018) ou 05 dias de idade (AVMA, 2013).

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 5. AGENTES E MÉTODOS ACEITÁVEIS APENAS COMO MÉTODOS COMPLEMENTARES

Considerados métodos secundários de eutanásia, os agentes e métodos complementares **só podem ser utilizados em animais previamente anestesiados** com fármacos injetáveis ou inalatórios. Sob nenhuma hipótese podem ser realizados isoladamente.

Além dos agentes e métodos a seguir descritos, o óbito do animal **anestesiado** também pode ser promovido mediante a utilização de um dos métodos físicos, deslocamento cervical ou decapitação, anteriormente descritos na seção 3.3. *Protocolos de eutanásia mediante a utilização de métodos físicos.*

### 5.1 AGENTES INJETÁVEIS UTILIZADOS COMO MÉTODO COMPLEMENTAR PARA EUTANÁSIA

#### I - Cloreto de Potássio (KCl)

Trata-se de um íon cardiotoxíco que produz fibrilação ventricular cardíaca e morte entre um e dois minutos. De administração **exclusiva intravenosa**, o uso de KCl é rápido e tem baixo custo.

Espécies	Dose de eutanásia	Referência
Rato, camundongo e hamsters	75 - 150 mg/Kg	University of Minnesota - Euthanasia Guidelines
Coelhos	75 - 150 mg/kg	

### 5.2 MÉTODOS FÍSICOS UTILIZADOS COMO MÉTODOS COMPLEMENTARES PARA EUTANÁSIA

#### I - Exsanguinação

Realizada por meio de secção das artérias carótidas e veias jugulares (suínos) ou pela punção cardíaca (roedores) em animais previamente anestesiados.

*Outros métodos físicos que podem ser utilizados como métodos complementares estão descritos no item 3.3 Protocolos de eutanásia mediante a utilização de métodos físicos.*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 6. AGENTES E MÉTODOS INACEITÁVEIS PARA MAMÍFEROS

- Formaldeído
- Éter
- Clorofórmio
- Hidrato de cloral
- Uso isolado de bloqueadores neuromusculares, cloreto de potássio ou sulfato de magnésio
- Descompressão
- Embolia gasosa
- Traumatismo craniano
- Incineração *in vivo*
- Afogamento
- Anestésicos dissociativos (ex. cetamina) utilizados de forma isolada
- Qualquer método não descrito na Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal - Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.

*A utilização de qualquer um desses métodos constitui infração ética.*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 7. MÉTODOS RECOMENDÁVEIS PARA PEIXES E ANFÍBIOS

### PEIXES E ANFÍBIOS – CLASSES LISSAMPHIBIA, ACTINOPTERI (PEIXES ÓSSEOS) E CHONDRICHTHYES (PEIXES CARTILAGINOSOS)

- Deve-se levar em conta as diferenças metabólicas, da anatomia e fisiologia respiratória e da grande tolerância à hipóxia cerebral destas espécies.
- Outro aspecto é a dificuldade de se reconhecer a morte nestes animais. Deve-se guiar pelos mesmos padrões sugeridos para mamíferos - assistolia, apneia, mucosas pálidas, ausência de reflexos de dor e corneanos.

#### PEIXES

Quando possível a eutanásia deve ser realizada em duas etapas:

- 1) Anestesia até perda do equilíbrio.
- 2) Método físico ou químico que cause a morte cerebral.

#### ANFÍBIOS

- Deve-se considerar a sensibilidade e permeabilidade cutânea bem como a capacidade de secreção de muco ou substâncias tóxicas.
- A aplicação de gel ou soluções por via cutânea ou mucosa oral pode ser de fácil acesso além de apresentar efeito rápido.

Alertamos que devido à grande variedade de espécies as particularidades devem ser analisadas pelo pesquisador, e este, fica responsável por escolher o método e a dose mais adequada à espécie em questão. Nesses casos, deve-se enviar as referências bibliográficas utilizadas para escolha do método à CEUA.

### 7.1 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE AGENTES PARA IMERSÃO

- Manter o animal na solução anestésica até 10 minutos após cessação dos movimentos operculares ou respiratórios.
- Quando utilizados em fases larvais utilizar um segundo método para assegurar a morte (Strykowski e Schech, 2015).

#### I – Benzocaína

- Pode ser usada para imersão e sistema de recirculação para peixes e anfíbios.
- A forma isolada de benzocaína não é hidrossolúvel e deve ser preparada em álcool.
- Hidrocloridrato de benzocaína é hidrossolúvel e pode ser usado diretamente para anestesia ou eutanásia.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

A eutanásia de algumas espécies pode demorar horas por este método (AVMA, 2013).

Anfíbios	Dose	Via	Referências
Várias espécies	Gel a 20%, aplicação de 2cm x 1mm na região ventral do abdômen	Tópica	AVMA, 2020

Peixes	Dose (hidrocloridrato de benzocaina)	Via	Referências
Várias espécies	>250mg/L	Tópica*	Cornell University - Fish and Amphibian Euthanasia (2018)

\* O peixe deve ser colocado em solução de cloridrato de benzocaína > 250 mg/L.

Alertamos que devido a grande variedade de espécies as particularidades devem ser analisadas pelo pesquisador, e este, fica responsável por escolher o método e a dose mais adequada à espécie em questão. Nesses casos, deve-se enviar as referências bibliográficas utilizadas para escolha do método à CEUA.

## II - Soluções de lidocaína ou bupivacaína (ou forma em gel)

- Causam rápida dessensibilização local seguida de efeitos depressivos no SNC, com inconsciência e parada cardiorrespiratória.
- Método de fácil acesso e baixo custo.
- Dependendo do indivíduo, tamanho e temperatura ambiente pode haver demora entre a inconsciência e a morte. Nestes casos, recomenda-se um método complementar de eutanásia após a perda da consciência.
- Via em anfíbios: injetável nos sacos linfáticos ou uso tópico para absorção transcutânea.

## III - Sulfonato metano de triclaína ou MS222

- Fármaco ácido, quando usado em concentrações superiores a 500 mg/L, a solução deve ser tamponada com solução de bicarbonato de sódio saturada, o que resulta em um pH da solução de 7,0 a 7,5 e, assim, ser injetada nos espaços linfáticos e cavidades pleuroperitoneais.

### Peixes

Método por Imersão:

- ✓ Coloque o peixe numa solução de MS222 dissolvida em água (concentração mínima de 250 mg/L) até que a morte seja alcançada.
- ✓ Verificar se o animal está morto antes de descartar a carcaça monitorando a ausência de movimento opercular por pelo menos 3 minutos.
- ✓ Utilize um método físico para causar morte cerebral.

Método alternativo:

- ✓ Retire o peixe da água e lave as brânquias com uma solução concentrada de MS222 (> 250 mg/L).
- ✓ Utilize um método físico para causar morte cerebral.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## Anfíbios

- ✓ Coloque anfíbio em uma solução 1-5g/L de MS222 dissolvido em água até a morte ser alcançada.
- ✓ Verificar se o animal está morto antes de descartar a carcaça monitorando a ausência de movimento respiratório por pelo menos 3 minutos.
- ✓ Utilize um método físico para causar morte cerebral.

**Obs:** A eficiência deste anestésico é variável e pode apresentar alguns efeitos adversos como perda de muco, irritação das brânquias e olhos, bem como danos a córnea. No homem, causa irritação por contato na pele e por inalação, bem como danos na retina.

## IV - Eugenol e o óleo de cravo da Índia (peixes)

- O óleo de cravo da Índia contém de 70 a 90% de eugenol. O eugenol, da classe dos fenilpropanóides, causa bloqueio neuromuscular competitivo, aparentemente potencializa o ácido gama aminobutírico (GABA) e é antagonista de receptores NMDA. É pouco solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos, como o álcool.

### Método

- ✓ Misture 1-3 mL de óleo de cravo em 10 mL de etanol
- ✓ Misture 10 mL desta solução para 1L de água
- ✓ Mergulhe os peixes até que ocorra a perda de equilíbrio e a parada das aberturas das guelras.
- ✓ Utilize um método físico para causar morte cerebral.

## 7.2 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INJETÁVEIS

### I - Lidocaína ou bupivacaína (anfíbios)

- Pode-se induzir a morte de anfíbios com uma **injeção intracraniana** - via forame magno – de anestésico local.
- Permite a imobilização e dessensibilização quase imediatamente após o término da inoculação.
- Utilizar agulhas hipodérmicas 0,45x13 mm ou 0,38x13 mm, similares as empregadas para administrar insulina.
- Necessita de adequada imobilização manual do animal. Para espécimes de maior porte podem ser necessárias duas pessoas para a contenção do animal.
- Introduce-se a agulha na linha sagital mediana, em ângulo de 45 graus através da pele que recobre a região atlanto-occipital, onde se encontra o forame magno.
- O volume de anestésico local varia 0,5 a 2 mL de acordo com o tamanho do animal.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## II- Barbitúricos (anfíbios)

- Utilização por via intravenosa ou intraperitoneal.
- Espaços linfáticos subcutâneos podem ser utilizados para administrar barbitúricos em anfíbios.
- Podem ser utilizados em sobredosagem ou para produzir anestesia antes de se usar outro método de eutanásia, como, por exemplo, um método físico.

Barbitúrico	Dose de eutanásia
Pentobarbital ou tiopental	60 a 100 mg/kg

Alertamos que devido à grande variedade de espécies as particularidades devem ser analisadas pelo pesquisador, e este, fica responsável por escolher o método e a dose mais adequada à espécie em questão. Nesses casos, deve-se enviar as referências bibliográficas utilizadas para escolha do método à CEUA.

### 7.3 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INALATÓRIOS

- Muitos anfíbios são capazes de reter a respiração, dessa forma, a indução da anestesia inalatória, perda da consciência e tempo até a morte são muito prolongados. Este método é recomendado apenas para espécies que não retêm a respiração, seguido de outro método de eutanásia.
- No caso de peixes, os anestésicos inalatórios podem ser borbulhados na água.
- Os anestésicos podem ser diluídos diretamente na água ou administrados por sistemas de circulação (ele é recolhido num reservatório e novamente utilizado) ou sem circulação (o anestésico passa apenas uma vez pelas brânquias e depois é descartado).
- A água que contém o anestésico pode ser distribuída por meio de tubos de tamanho compatível com a boca do peixe, por meio de gravidade ou manualmente utilizando-se uma seringa grande ou uma bomba de infusão.
- Deve-se criar um mecanismo antipoluição, para que o operador não tenha contato com os gases.
- Deve-se utilizar uma concentração de cinco a dez vezes a utilizada para anestesia.
- Os peixes, ao serem submetidos à anestesia, também podem, como em outras espécies, passar por uma fase de excitação antes de atingir o plano anestésico.
- É aconselhável cobrir o tanque de água e deve-se umedecer constantemente os animais que eventualmente precisem ser retirados da água.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## Isoflurano

Espécie	Dose letal	Via	Referência
Várias espécies PEIXES	5-20 mL/L	Imersão	Carpenter, 2017
Várias espécies - ANFIBIOS	0,9mL/100mL	Tópica (banho)	Carpenter, 2011
Várias espécies - ANFIBIOS	9mL em gel lubrificante a base de água (3,5mL) e água (1,5mL)	Tópico	Carpenter, 2011

Doses recomendadas acima são resultado do cálculo de 3 x a dose anestésica descrita em literatura. Pode-se aumentar a concentração das soluções.

Alertamos que devido à grande variedade de espécies as particularidades devem ser analisadas pelo pesquisador, e este, fica responsável por escolher o método e a dose mais adequada à espécie em questão. Nesses casos, deve-se enviar as referências bibliográficas utilizadas para escolha do método à CEUA.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 8. MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO

Como todo método aceito com restrição somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA/UNIFESP.

### 8.1 - MÉTODOS FÍSICOS

#### I - Congelamento rápido

- A imersão em nitrogênio líquido pode ser aceita com restrição para a eutanásia de pequenos **peixes** desde que não ultrapassem 0,2g de peso (CONCEA, 2018).

#### II - Hipotermia

- Não é um método recomendável dada à formação de cristais de gelo na pele e tecidos, o que causa dor e sofrimento.
- Animais euritérmicos (que suportam grandes variações de temperatura **não** devem ser submetidos a este método.
- Espécies de peixes estenotérmicos (de áreas tropicais ou subtropicais e de pequeno porte) **podem** ser eutanasiados por 2 diferentes protocolos:
  - o resfriamento rápido (2°C a 4°C) até a perda de orientação e movimentos operculares, seguida de manutenção em imersão em água gelada por períodos definidos de acordo com os protocolos compatíveis pela idade e tamanho, referenciados em “dias pós-fertilização” (dpf).
  - imersão em água com gelo (0°C a 4°C) por 10 minutos até a perda de movimentos operculares ou no caso de difícil visualização do movimento opercular. Manutenção na solução por até 20 minutos após cessar qualquer movimento para assegurar a morte por hipóxia.

**Larvas** até 15 dpf – quando utilizado um dos dois métodos descritos anteriormente deve-se assegurar o óbito adicionando-se uma parte de 6,15% de hipoclorito de sódio para cinco partes de água.

**Embrões** < 3dpf, após a imersão em água com gelo durante 20 minutos, deve-se realizar imersão em solução de hipoclorito de sódio (500 mg/L) ou cálcio (500 mg/L) a fim de garantir a morte.

#### III - Eletronarcose

- Em peixes, quando, por questões de incompatibilidade experimental, diante da total impossibilidade de uso de outros métodos que possam comprovadamente interferir nos resultados da pesquisa. Nestes casos deve ser seguida de exsanguinação ou de outro método que assegure a morte.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

#### IV – Decapitação

- Para **pequenos anfíbios** este método é aceito com restrição e em condições excepcionais desde que haja interferência comprovada da anestesia sobre os resultados da pesquisa.
- A atividade cerebral permanece por até 14 segundos após a decapitação.
- Como o SNC de anfíbios é tolerante à hipóxia e hipotensão, a perfuração do crânio deve ser realizada imediatamente após a decapitação.
- **Não é aceita para peixes.**

#### 8.2. 2-FENOXIETANOL

- É aceito com restrição em peixes, desde que os outros métodos recomendáveis interfiram comprovadamente nos resultados da pesquisa.
- A morte ocorre por colapso respiratório e os peixes devem ser mantidos imersos na solução por pelo menos 10 minutos após cessar o movimento opercular.

Espécies	Dose anestésica
Peixes	0,5 a 0,6 mL/L ou 0,3 a 0,4 mg/L

#### Anfíbios

- A eutanásia de embriões, fetos ou estágios larvais de anfíbios deve ser considerada de modo especial, de acordo com a espécie e o tempo de desenvolvimento.
- Ao confirmar a morte da gestante, os fetos também vão apresentar óbito na sequência. Entretanto, por serem mais resistentes à hipóxia, podem apresentar um tempo maior de sobrevida. Dessa forma, não é aconselhável exteriorizar os fetos e induzir a morte de forma individual, pois o início da respiração pode desencadear a consciência.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 9. AGENTES E MÉTODOS ACEITÁVEIS APENAS COMO MÉTODOS COMPLEMENTARES

### I - Perfuração craniana

- Apenas após a indução da inconsciência
- A maior parte dos anfíbios pode ser submetida à perfuração craniana ou outro método físico.
- Em anfíbios, o ponto de perfuração é o foramen magnum, identificado por uma leve depressão da pele na linha média dorsal com o pescoço flexionado.
- Ressalta-se que este **NÃO** é um método recomendado (Gentz, 2007).

## 10. AGENTES E MÉTODOS INACEITÁVEIS

### Peixes

- Deslocamento cervical isoladamente
- Decapitação/secção da medula espinhal
- Hipotermia em algumas espécies
- Maceração
- CO<sub>2</sub>
- Métodos não descritos nesta diretriz

### Anfíbios

- Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)
  - Não deve ser empregado em anfíbios devido à acidez da substância e manutenção prolongada da atividade cerebral.
  - Não é indicado para anfíbios, pois estes apresentam uma baixa frequência respiratória e o efeito é mais lento que outros agentes inalatórios e intravenosos.
- Monóxido de carbono (CO)
- Qualquer método não descrito na Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal - Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.

*A utilização de qualquer um desses métodos constitui infração ética.*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 11. MÉTODOS RECOMENDÁVEIS PARA AVES

### 11.1 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INJETÁVEIS

- O método de escolha é o uso de anestésicos gerais intravenosos.
- Em aves, a via intracelomática não é utilizada na rotina devido à presença dos sacos aéreos.
- Via intravenosa - jugular, axilar, basilar, metatársica medial, intracardíaca.

#### I – Barbitúricos

- Causam depressão do SNC descendente com perda da consciência, progredindo para anestesia, apneia e parada cardíaca (AVMA, 2013).
- Causam mínimo desconforto desde que a injeção seja rápida.
- Recomendação: todas as espécies.

Espécies	Fármaco	Dose letal (mg/kg)*	Referência
Várias espécies (doses maiores em passeriformes)	Pentobarbital	120	McGill - Standard Operating Procedure #304 - avian euthanasia

\* Para eutanásia é necessária a aplicação de no mínimo 3 vezes a dose anestésica ou a aplicação de uma dose seguida da complementação com um método secundário (ex. decapitação ou exsanguinação).

**Via:** Barbitúricos podem ser administrados via IV para a eutanásia de aves anestesiadas ou adequadamente contidas. Barbitúricos comumente usados para injeção estão disponíveis como sais de sódio que são alcalinos e podem ser irritantes e dolorosos quando injetados diretamente nos tecidos, ao invés de IV. Portanto, quando a injeção intravenosa é impossível, os agentes de eutanásia injetáveis podem ser administrados via intracoelômática, intracardíaca ou intraóssea somente se a ave estiver inconsciente ou anestesiada.

Alertamos que devido à grande variedade de espécies as particularidades devem ser analisadas pelo pesquisador, e este, fica responsável por escolher o método e a dose mais adequada à espécie em questão. Nesses casos, deve-se enviar as referências bibliográficas utilizadas para escolha do método à CEUA.

### 11.2 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INALATÓRIOS

- Quando a morte induzida pelos anestésicos inalatórios for lenta, um segundo método deve ser aplicado para garantir a morte rápida, antes que o animal restabeleça a consciência.
- Recomenda-se administrar a maior concentração possível a fim de acelerar a perda de consciência, tornando o método mais humanitário.
- Podem ser utilizados, por exemplo, sevoflurano, isoflurano e halotano.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

- O animal deve ser observado por 10 minutos após a interrupção do fornecimento do agente inalatório para assegurar a morte.
- A câmara de eutanásia deve ser grande o suficiente para permitir que o(s) animal(is) apoie(m) os membros e tenha(m) espaço para virar(em) e ajustar(em) a postura. O sistema de fornecimento do gás ou anestésico inalatório deve garantir um controle da concentração ou fluxo utilizados.

## 12. MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO

Como todo método aceito com restrição somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA/UNIFESP.

### 12.1. MÉTODOS FÍSICOS

#### I - Deslocamento cervical

- Pode ser usado com restrição para causar a morte de aves de até 3 kg.
- Para aves de pequeno porte, o deslocamento cervical é um método comum de causar a morte, mas a perda da consciência pode persistir por até 13 segundos. Esse tempo não é acelerado mesmo que se realize a exsanguinação na sequência.

#### II - Pistola de insensibilização por ar comprimido (percussiva não penetrativa) e de dardo cativo (percussiva penetrativa).

- Animais de grande porte da classe Aves.

#### III - Decapitação

- Pode ser usado para causar a morte de aves de até 3 kg, quando a anestesia, comprovadamente, interfira no resultado da pesquisa.
- A atividade cerebral permanece por até 14 segundos após a decapitação.
- Preferencialmente, os animais deveriam ser anestesiados previamente ao uso deste método.

#### IV - Compressão torácica

- Pode ser utilizada para a eutanásia de aves de vida livre de pequeno porte (<50g), exclusivamente em situação de campo.
- O método maximiza o aproveitamento da carcaça por não danificar nenhum órgão interno.

### 12.2. Nitrogênio e o Argônio

- Têm sido usados para a eutanásia de frangos, mas não são recomendados para a eutanásia de aves de companhia.
- O método apenas é apropriado se for possível mensurar a concentração de O<sub>2</sub> e esta deverá estar <2%.
- Outros métodos de eutanásia são preferíveis.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

### 12.3. Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (com exceção de neonatos)

- O tempo até a inconsciência com o uso de CO<sub>2</sub> é inversamente proporcional à concentração utilizada;
- À concentrações acima de 40% causa dor devido a formação de ácido carbônico nas mucosas ocular e respiratória;
- Pode induzir à sensação de sufocamento, “falta de ar”;
- Causa estimulação direta de canais de íons na amígdala associados a resposta ao medo;
- Quando utilizado deve ser disponibilizado, exclusivamente, por meio de câmara específica que permita a mensuração da concentração de CO<sub>2</sub> e de modo que o volume de preenchimento esteja na ordem de 20% do volume da câmara por minuto, mantendo o fluxo por pelo menos 1 minuto após confirmação da morte clínica.
- Quando do uso de CO<sub>2</sub>, o excesso de gás deve ser eliminado na porção superior da câmara, paralelamente ao aumento gradual da concentração de CO<sub>2</sub>, de forma que não ocorra pressurização interna, nem entrada de ar ambiente na câmara.
- Os frangos também exibem sinais de aversão, dor e sofrimento quando do uso de CO<sub>2</sub>.

**Recomendação:** pelo fato de produzirem um estado anestésico reversível, preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal (ex. método físico, exsanguinação).

## 13. AGENTES E MÉTODOS INACEITÁVEIS

- Atordoamento isoladamente
- Monóxido de Carbono (CO)
- Maceração
- Qualquer método não descrito na Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal - Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.

*A utilização de qualquer um desses métodos constitui infração ética.*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 14. MÉTODOS RECOMENDÁVEIS PARA REPTÉIS

### 14.1 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INJETÁVEIS

#### I- Barbitúricos

- Causam depressão do SNC descendente com perda da consciência, progredindo para anestesia, apneia e parada cardíaca (AVMA, 2013).
- Causam mínimo desconforto desde que a injeção seja rápida.
- Para eutanásia é necessária a aplicação de no mínimo 3 vezes a dose anestésica ou a aplicação de uma dose seguida da complementação com um método secundário (ex. decapitação ou exsanguinação).
- Recomendação: todas as espécies.

Fármaco	Dose letal (mg/kg)	Referência
Pentobarbital	>100 IP ou IV	University of Minnesota - Euthanasia Guidelines

**Obs:** O tiopental é comercializado em frascos com 0,5 a 1g. Segundo a recomendação do fabricante deve-se fazer a diluição para a concentração de 2,5% acrescentando 20 mL de água estéril para injeção ou cloreto de sódio 0,9% no frasco de 0,5g ou 40mL de solução estéril de cloreto de sódio 0,9% no frasco de 1g.

**Via:** exclusivamente por via intravenosa.

#### II- Propofol

- Promove depressão do SNC através de ação em receptores gabaérgicos.
- Para eutanásia é necessária a aplicação de no mínimo 3 vezes a dose anestésica ou a aplicação da dose anestésica seguida da complementação com um método secundário (ex. decapitação ou exsanguinação).
- Recomendação: todas as espécies.

Espécie	Dose letal (mg/kg)	Referência
Serpentes e lagartos	>30	Exotic Animal Formulary
Tartarugas gigantes	>6	
Testudineos e crocódilios	>45	

**Via:** exclusivamente por via intravenosa.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 14.2 PROTOCOLOS DE EUTANÁSIA MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS INALATÓRIOS

- Muitos répteis e anfíbios, incluindo os quelônios, são capazes de reter a respiração, realizar metabolismo anaeróbico e sobreviver por longos períodos de anóxia de até 27 horas para algumas espécies.
- A indução da anestesia inalatória, perda da consciência e tempo até a morte são muito prolongados.
- Lacertídeos (lagarto, lagartixa, camaleão) e serpentes não retêm a respiração da mesma forma que outros répteis e anfíbios e podem ser submetidos à eutanásia com os agentes inalatórios. Em seguida deve ser realizado outro método de eutanásia.

Alertamos que devido à grande variedade de espécies as particularidades devem ser analisadas pelo pesquisador, e este, fica responsável por escolher o método e a dose mais adequada à espécie em questão. Nesses casos, deve-se enviar as referências bibliográficas utilizadas para escolha do método à CEUA.

## 15. MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO

**Como todo método aceito com restrição somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA/UNIFESP.**

### 15.1. MÉTODOS FÍSICOS

#### I - Concussão cerebral (atordoamento)

- A concussão cerebral (golpe no crânio) só pode ser utilizada em circunstâncias excepcionais para alívio do sofrimento em situação de emergência, de animais intensamente traumatizados, quando não houver outro método disponível no momento ou diante da total impossibilidade de uso de outros métodos que possam comprovadamente interferir nos resultados da pesquisa.
- Sempre deve ser seguido por outro método que assegure a morte, como decapitação, perfuração craniana ou exsanguinação.
- Apenas em condições a campo.

#### II – Decapitação

- A decapitação é aceita com restrição em pequenos répteis após atordoamento, desde que haja interferência comprovada da anestesia sobre os resultados da pesquisa.
- A decapitação com grandes lâminas ou guilhotinas pode ser efetiva para algumas espécies com características anatômicas viáveis e a perfuração do crânio deve ser realizada imediatamente após a decapitação.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

### III - Pistola de Insensibilização

- Em crocodilianos e outros grandes répteis, pode-se utilizar pistola de insensibilização por ar comprimido ou de dardo cativo ou ainda tiro com arma de fogo no crânio.
- É fundamental o posicionamento correto para o alvo.

## 16. AGENTES E MÉTODOS INACEITÁVEIS

- CO<sub>2</sub>
- Perfuração craniana como método isolado
- Qualquer método não descrito na Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal - Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.

*A utilização de qualquer um desses métodos constitui infração ética.*

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 17. RESUMO DOS MÉTODOS DE EUTANÁSIA POR ESPÉCIE

### ROEDORES - CAMUNDONGOS, RATOS, HAMSTERS E COBAIAS

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sobredose de barbitúricos por via intravenosa ou intraperitoneal.</li> <li>Sobredose de outros anestésicos gerais intravenosos (ex: propofol).</li> <li>Sobredosagem da associação de anestésicos dissociativos (e.g. cetamina) e agonistas de adrenorreceptores alfa-2 (e.g. xilazina) administrada pelas vias intravenosa, intramuscular, ou intraperitoneal.</li> <li>Sobredose de anestésicos inalatórios (isoflurano, halotano) e preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal.</li> <li>Após a perda do reflexo corneal, os métodos acima podem ser complementados por cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.</li> </ul>
Aceitos com restrição  (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>CO<sub>2</sub>.</li> <li>Deslocamento cervical (ratos &lt; 150g, camundongos).</li> <li>Decapitação com equipamento de uso específico e comercialmente disponível.</li> <li>Nitrogênio líquido para fetos e neonatos de ratos e camundongos.</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Monóxido de carbono (CO), éter, nitrogênio, argônio e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

### COELHOS

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sobredose de barbitúricos por via intravenosa ou intraperitoneal.</li> <li>Sobredose de anestésicos gerais intravenosos (propofol).</li> <li>Sobredose de anestésicos inalatórios (isoflurano, halotano) e preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal.</li> <li>Exsanguinação por punção cardíaca <u>após anestesia geral</u>.</li> <li>Após a perda do reflexo corneal, os métodos acima podem ser complementados por cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.</li> </ul>
---------------	---

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

Aceitos com restrição (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deslocamento cervical (&lt; 1kg), apenas se previamente anestesiado.</li> <li>• Decapitação (&lt;1kg) com equipamento de uso específico e comercialmente disponível.</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Atordoamento e deslocamento cervical, CO<sub>2</sub>, nitrogênio, argônio, CO e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

## SUÍNOS

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sedação, se necessária, seguido de barbitúricos intravenoso ou intraperitoneal (apenas em recém-nascidos ou em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa), ou outros anestésicos gerais intravenosos. Após a confirmação de inconsciência, dada pela ausência de reflexo corneal, pode-se administrar, caso necessário, cloreto de potássio, associado ou não à bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.</li> <li>• Anestésicos inalatórios, com confirmação da morte ou seguido de outros métodos, para confirmar a morte.</li> </ul>
Aceitos com restrição (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eletrocussão, precedida de anestesia geral com perda de reflexo corneal.</li> <li>• Atordoamento elétrico (eletronarcole) seguido de método que assegure a morte.</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Atordoamento por concussão e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

## PRIMATAS

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sobredose de barbitúricos por via intravenosa.</li> <li>• Sobredose de anestésicos gerais intravenosos (propofol).</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ CO<sub>2</sub>, CO, nitrogênio, argônio e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## ANFÍBIOS

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sulfonato metano de triclaína (TSS ou MS222).</li> <li>Anestésicos locais como a benzocaína, lidocaína ou outros (injeção nos sacos linfáticos subcutâneos ou imersão; para anfíbios, também aceita-se injeção atlanto-occipital, desde que o animal seja contido adequadamente e o responsável tenha comprovada qualificação técnica).</li> <li>Barbitúricos (como, por exemplo, o tiopental e o pentobarbital) por injeção intravenosa ou injetados nos sacos linfáticos subcutâneos ou intra-abdominal.</li> <li>Anestésicos gerais intravenosos.</li> <li>Anestésicos inalatórios (para espécies que não retêm a respiração, seguido de outro método de eutanásia).</li> </ul>
Aceitos com restrição (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Decapitação e perfuração craniana.</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>CO<sub>2</sub>, CO e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

## AVES

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Barbitúricos intravenoso ou intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa).</li> <li>Anestésicos gerais por via intravenosa.</li> <li>Anestésicos inalatórios seguidos, quando necessário, de outros métodos que assegurem a morte.</li> <li>Após a perda do reflexo corneal, os métodos acima podem ser complementados por cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.</li> </ul>
Aceitos com restrição (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Deslocamento cervical (apenas em aves até 3 kg).</li> <li>Pistola de ar comprimido para grandes aves, seguido de outros métodos para assegurar a morte.</li> <li>CO<sub>2</sub> desde que sejam seguidas as recomendações do item 12.3.</li> <li>Nitrogênio ou argônio.</li> <li>Decapitação com equipamento de uso específico e comercialmente disponível tipo guilhotina (não pode ser realizada com tesoura ou lâmina).</li> </ul>

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

	<ul style="list-style-type: none"> <li>Compressão torácica (apenas em aves de vida livre com peso inferior a 50 gramas).</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Atordoamento isoladamente, CO<sub>2</sub> e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

## PEIXES

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Benzocaína ou outro anestésico local (imersão).</li> <li>Sulfonato metano de tricaína (TSS ou MS222) (imersão)</li> <li>Óleo de cravo da Índia ou eugenol (imersão).</li> <li>Barbitúricos por via intraperitoneal.</li> <li>Anestésicos gerais (propofol, etomidato, metomidato) via intravenosa.</li> <li>Anestésicos inalatórios, seguido de outro método para assegurar a morte.</li> </ul>
Aceitos com restrição (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Congelamento com nitrogênio líquido para pequenos peixes [até 200 mg (0,2 g)].</li> <li>Imersão em gelo e água (apenas espécies de peixes estenotérmicos tropicais e subtropicais de pequeno porte seguindo os protocolos detalhados no 8.1.</li> <li>Atordoamento ou anestesia geral e decapitação.</li> <li>Atordoamento e perfuração craniana.</li> <li>Atordoamento e secção da medula espinhal.</li> <li>2-fenoxietanol (imersão).</li> <li>Atordoamento por eletronarcolese, seguido de exsanguinação ou de outro método que assegure a morte.</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>Deslocamento cervical, decapitação, secção da medula espinhal utilizados isoladamente, hipotermia, maceração, CO<sub>2</sub> e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## RÉPTEIS

Recomendáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Barbitúricos por via intravenosa ou intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa).</li> <li>• Anestésicos gerais intravenosos.</li> <li>• Anestésicos inalatórios (para espécies que não seguram a respiração, seguido de outro método de eutanásia).</li> </ul>
Aceitos com restrição (é necessária justificativa à CEUA para utilização destes métodos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pistola de dardo cativo (espécies maiores).</li> <li>• Atordoamento seguido de decapitação e perfuração craniana (apenas em condições a campo).</li> </ul>
Inaceitáveis	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ CO<sub>2</sub> e qualquer método não descrito na Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018.</li> </ul>

## 18. CONFIRMAÇÃO DA MORTE DO ANIMAL

É imprescindível que seja verificada e confirmada a morte antes do descarte da carcaça do animal. Para confirmação do óbito deve-se verificar:

- Ausência de movimento respiratório (apneia).
- Ausência de batimentos cardíacos (assistolia).
- Ausência de pulsação.
- Mucosas pálidas.
- Perda do reflexo corneal ou podal.

## 19. DESCARTE DE CARÇAÇAS

Os animais submetidos à eutanásia por métodos químicos não podem ser utilizados para consumo conforme a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária nº 1.000 de 11/05/2012.

O descarte das carcaças deve obedecer às normas de biossegurança e proteção ambiental vigentes. Carcaças de animais inoculados com micro-organismo (grupo A2) devem ser submetidas a tratamento (ex: autoclavagem) antes da disposição final. Para disposição final as carcaças devem ser colocadas em saco branco leitoso com o símbolo infectante obedecendo a norma NBR 7500. Carcaças provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de micro-organismos (grupo A4) podem ser dispostos, sem tratamento prévio, em local devidamente licenciado para disposição final de resíduos de saúde embaladas conforme descrito acima. Para maiores informações sobre o descarte de carcaças consultar as Resoluções **RDC/ANVISA 306/2004** que dispõe sobre o regulamento técnico para o

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

gerenciamento de resíduos de serviços de saúde; e **CONAMA 358/2005** que dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências.

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

## 20. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. Guidelines for the eutanásia of animals: 2020 edition. Disponível em: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>
- ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE. Texas Tech University. Recommended swine analgesic and anesthetic agentes. Disponível em: [https://www.depts.ttu.edu/iacuc/Anesthetics\\_and\\_Analgesics\\_Swine.pdf](https://www.depts.ttu.edu/iacuc/Anesthetics_and_Analgesics_Swine.pdf)
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 306, de 7 de dezembro de 2004. Diário oficial da União, 10 de dezembro de 2004,
- BRASIL. CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 358, de 29 de abril de 2005. Diário Oficial da União, 4 de maio de 2005, Seção 1, páginas 63-65.
- BRASIL. CONCEA – Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. Resolução Normativa nº 13 de 20 de setembro de 2013. Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal. Diário Oficial da União, 14 de setembro de 2013, Seção I, Pág. 5.)
- BRASIL. CONCEA – Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018. Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal.
- BRASIL. CONCEA – Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. Resolução Normativa nº 30 de 02 de fevereiro de 2016. Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA. Disponível em: <http://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/institucional/concea/paginas/legislacao.html>
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE Disponível em: [https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Vol2/guinea\\_pigs.pdf](https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Vol2/guinea_pigs.pdf)
- CARPENTER, J. Formulario de animales exóticos. 5 ed. Buenos Aires: Inter-Medica, 2017, 152p.
- COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – UNIFESP. Guia de Anestesia e Analgesia em Animais de Laboratório. Disponível em: [https://www.unifesp.br/reitoria/ceua/images/C/Guia\\_anestesia\\_analgesia\\_CEUA\\_UNIFESP\\_v1\\_2017.pdf](https://www.unifesp.br/reitoria/ceua/images/C/Guia_anestesia_analgesia_CEUA_UNIFESP_v1_2017.pdf)
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINARIA. Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais. Conceitos e procedimentos recomendados. Brasília: CFMV, 2013. 66p.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINARIA. Resolução CFMV nº 1000 de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências.
- Cornell University - Fish and Amphibian Euthanasia (2018) Disponível em: <https://www.opefe.com/CARE306.pdf>
- Gentz EJ. Medicine and surgery of amphibians. ILAR J. 2007;48(3):255-9. doi: 10.1093/ilar.48.3.255. PMID: 17592187.  
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17592187/>

Comissão de Ética no Uso de Animais	Data da Emissão:	04/04/2019
<b>Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino</b>	Data da Vigência:	15/01/2024
	Versão nº	02

- Hawk, C. T., & Leary, S. L. (2005). *FORMULARY FOR LABORATORY ANIMALS* (Third Edition).
- INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE, UNIVERSITY OF NOTRE DAME  
Standart operating procedure for eutanásia. Disponível em:  
[https://freimann.nd.edu/assets/262662/fullsize/iacuc\\_clove\\_oil\\_aneseuth\\_pol16\\_2\\_.pdf](https://freimann.nd.edu/assets/262662/fullsize/iacuc_clove_oil_aneseuth_pol16_2_.pdf)
- INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE, BOSTON UNIVERSITY. Disponível em:  
<https://www.bu.edu/researchsupport/compliance/animal-care/workingwithanimals/anesthesia/anesthesia-and-analgesia-iacuc/>
- McGill - Standard Operating Procedure #304 - avian euthanasia  
Disponível em: [https://www.mcgill.ca/research/files/research/304-avian\\_euthanasia\\_-\\_july\\_2021\\_v2.pdf](https://www.mcgill.ca/research/files/research/304-avian_euthanasia_-_july_2021_v2.pdf)
- University of Minnessota - Research of Animal Resources  
Disponível em: <https://research.umn.edu/units/rar/guidelines/euthanasia>
- Strykowski JL, Schech JM. Effectiveness of recommended euthanasia methods in larval zebrafish (*Danio rerio*). *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2015 Jan;54(1):81-4. PMID: 25651096; PMCID: PMC4311746.  
Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25651096/>
- SWINDLE, M. M. Anaesthesia and analgesia in swine. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124175709500179>
- WEISS, J.; ZIMMERMANN, F. Tribromoethanol (Avertin) as an anaesthetic in mice. *Laboratory Animals Ltd. Laboratory Animals* v. 33, p. 192-193, 1999