ANEXO

DIRETRIZ DA PRÁTICA DE EUTANÁSIA DO CONCEA

Esta diretriz se refere aos procedimentos de eutanásia realizados em animais incluídos em atividades de ensino ou de pesquisa científica.

1. Definição de eutanásia em animais (vertebrado vivo não humano, das espécies classificadas no filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*)

1.1. Eutanásia, do grego "eu" – bom - e "thanatos" – morte -, constitui-se no modo humanitário de matar o animal, sem dor e com mínimo estresse. É a prática de causar a morte de um animal de maneira controlada e assistida. A eutanásia se justifica, para o bem do próprio indivíduo, em casos de dor ou sofrimento, que não podem ser mitigados de imediato, com analgésicos, sedativos ou outros métodos ou quando o estado de saúde ou bem-estar do animal impossibilite o tratamento ou socorro (de acordo com o § 1º do art. 14 da Lei nº. 11.794, de 2008) ou para fins didáticos ou científicos.

1.2. Para facilitar as recomendações desta Diretriz, o termo eutanásia será utilizado em todos os casos, ou seja, tanto quando se induz a morte para o bem do próprio indivíduo quanto para fins didáticos ou científicos, uma vez que as técnicas são similares.

2. Critérios a serem adotados para eutanásia

2.1. Esta Diretriz objetiva estabelecer procedimentos que evoquem o mínimo de dor ou sofrimento com a realidade da maioria dos estabelecimentos em que a eutanásia é realizada. Deve-se consultar profissional(is) com experiência na área e nos grupos taxonômicos envolvidos para assegurar a adequação da técnica. No caso de instalações animais, conforme a Lei nº. 11.794/2008, Decreto nº. 6899/2009 e demais disposições legais pertinentes, os procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados, mesmo que de forma não presencial pelo Responsável Técnico pela instalação animal. Este deve ter o título de Médico Veterinário com registro ativo no Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV), da Unidade Federativa em que o estabelecimento esteja localizado, sob Anotação de Responsabilidade Técnica (ART) no referido CRMV, sujeito às mesmas exigências de anotação em livro próprio, com compromisso de horas presenciais de acordo com as atividades desenvolvidas, bem como orientação dos envolvidos nos procedimentos.

2.2. Esta Diretriz se baseia no princípio de que a dor só é reconhecida a partir de um estímulo nociceptivo, isto é, quando o córtex cerebral e estruturas subcorticais forem funcionais. Por outro lado, quando o animal se encontra no estado de inconsciência, não ocorre a percepção da dor. Desta forma, o método de eutanásia não é tão crítico quando o animal se apresentar inconsciente ou anestesiado, desde que o animal não restabeleça a consciência antes do óbito.

2.3. Alguns métodos de eutanásia requerem contenção física do animal, realizada de acordo com a espécie, raça, tamanho, estado de domesticação, comportamento, presença de dor ou doenças e grau de excitação cerebral. Por esta

razão, a manipulação correta do animal é fundamental para minimizar a dor ou o sofrimento para garantir a segurança do pessoal envolvido e para proteger terceiros e outros animais.

2.4. Os critérios comumente adotados para indicação de eutanásia de uma forma individualizada são: animais gravemente feridos, com impossibilidade de tratamento, animais com doenças terminais em sofrimento intenso e animais idosos na falta de recursos para atender às suas necessidades. Entretanto, outras situações que indicam a indução da morte podem ocorrer, como, por exemplo, o abate humanitário de animais para consumo alimentar e quando os animais forem submetidos a atividades de ensino ou de pesquisa científica. No caso de indução da morte devido a atividades de ensino ou de pesquisa científica, o método empregado deve ser o mesmo utilizado para eutanásia, ou seja, de uma forma indolor, rápida e sem sofrimento mental.

2.5. Em todos os casos anteriormente descritos, o mesmo método deve ser utilizado para causar a morte do animal, independente da razão, exceto, em condições excepcionais, quando os animais são mortos como parte de um protocolo e o método tiver de ser compatível com os fins da proposta. No caso específico, o método deve ser avaliado cuidadosamente e poderá ser autorizado a juízo e responsabilidade da Comissão de Ética no Uso de Animais (Ceua) da Instituição, sem conflito com as diretrizes aqui estabelecidas.

2.6. Em atividades de ensino ou de pesquisa científica deve-se estabelecer o ponto final humanitário na proposta encaminhada à Ceua. O ponto final humanitário é o momento no qual o encerramento é antecipado para que a dor, desconforto ou o distresse do animal sejam evitados, aliviados ou finalizados por ações como: i) adoção de tratamento para aliviar a dor, o desconforto ou o distresse; ii) interrupção de um procedimento doloroso; iii) exclusão do animal do estudo; ou iv) morte humanitária do animal, de acordo com Resolução Normativa no 23, de 23 de julho de 2015, referente a Introdução Geral do Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais para Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica do Concea ou outra que a substitua. Nesse caso os critérios para o desfecho e indução de morte dos animais, como, por exemplo, o tamanho do tumor e o sofrimento físico e psíquico, devem ser estabelecidos no sentido de haver uma intervenção imediata para evitar sofrimento desnecessário.

2.7. Em circunstâncias não incluídas nesta Diretriz, deve-se consultar profissional(is) com experiência na área e nos grupos taxonômicos em questão para selecionar as técnicas aceitáveis, bem como observar a legislação vigente à época sobre o tema específico.

3. Condições necessárias para eutanásia do ponto de vista do executor

3.1. A eutanásia exige considerações morais e éticas para que a prática seja realizada de forma humanitária. A exposição constante dos técnicos ao procedimento de eutanásia pode afetá-los psicologicamente sob diversas formas. Causar a morte de animais é difícil do ponto de vista psíquico, particularmente quando ocorre de forma frequente e resulta no envolvimento do executor com os animais. O efeito emocional da eutanásia nas pessoas ocorre mais intensamente quando há necessidade de causar a morte de um grande número de animais e de forma repetida. Alguns indivíduos podem estabelecer mecanismos psíquicos de defesa, de modo a reduzir a empatia e o respeito no manuseio dos animais, já outros podem experimentar um sentimento de pesar e

tristeza pela perda da vida. Os envolvidos não devem trabalhar sob pressão ou estar obrigados a praticar a eutanásia, sugerindo-se que haja uma rotatividade entre os seus executores. A pessoa responsável pela eutanásia deve ter conhecimento técnico, usar métodos humanitários de manuseio, entender o motivo pelo qual o animal está sendo morto, estar familiarizado com o método e informado sobre a finalidade a que se destinará o cadáver.

3.2. A participação ou exposição constante aos procedimentos de eutanásia pode provocar alterações na saúde física e mental dos envolvidos, causar um estado psíquico de profunda insatisfação com o trabalho e alienação, que pode se expressar em absentismo, agressividade, depressão ou falta de cuidado com os animais. Daí a necessidade de adotar medidas relativas à segurança, à qualificação e à preservação da saúde do trabalhador, que considerem os aspectos éticos, psicológicos e físicos que envolvam rotineiramente os funcionários nestas atividades. Deve-se estabelecer um programa institucional para minimizar o problema, como o acompanhamento periódico de profissionais credenciados para supervisão de apoio e para garantir a estabilidade emocional dos envolvidos.

3.3. A conscientização dos profissionais que realizam a eutanásia facilita sobremaneira o manejo, reduzindo o trabalho com os animais, no que concerne à agressividade destes e favorece o bem-estar do animal. Devemse desenvolver atividades interativas entre a equipe, prover rodízio de serviço e entretenimento.

3.4. Para realizar a eutanásia, é necessária qualificação específica que abranja formação técnica, ética e humanitária. O executor que realizará o procedimento deve possuir experiência e qualificação técnica comprovada sobre o(s) método(s) proposto(s), conhecimento da(s) espécie(s), de métodos humanitários de contenção, do reconhecimento da dor e desconforto e das possíveis respostas que inter-relacionem os métodos e as espécies.

3.5. Do ponto de vista do executor que realizará o procedimento, o método deve ser “visualmente” aceitável e de baixo risco para si e para equipe. Também se deve ter cuidado no uso e armazenamento dos fármacos, de acordo com a legislação específica para evitar o risco potencial do abuso do consumo de fármacos classificados como entorpecentes.

4. Condições necessárias para eutanásia do ponto de vista do animal

4.1. A eutanásia não se limita apenas ao momento da morte. Todo o processo desde o alojamento dos animais à contenção física deve ser cuidadoso para minimizar ao máximo o sofrimento, o medo, a ansiedade e a apreensão. A manipulação dos animais deve ser cuidadosa e, muitas vezes, conversar com o animal durante a eutanásia pode ter um efeito calmante em animais acostumados com o manuseio. O uso de baixa luminosidade e um ambiente livre de ruídos também deve ser preconizado. A sedação e a anestesia facilitam o processo.

4.2. Os animais devem ser mortos em um ambiente silencioso, limpo, longe de outros animais e, preferencialmente, no local onde eles vivem, e de forma rápida. Um animal não deve assistir a eutanásia de outro, devendo o cadáver ser retirado do ambiente e o local, bem como os objetos utilizados, serem limpos antes da entrada do próximo animal. Se os animais forem deslocados de seu ambiente, deve-se garantir acesso a alimento e água até o momento da morte, exceto quando a restrição alimentar/hídrica anterior à eutanásia estiver estabelecida. Os animais selvagens, com

injúria ou previamente estressados, são um desafio à parte. Vários métodos utilizados em circunstâncias normais podem ser inadequados e considerações especiais devem ser levadas em conta, por meio de consulta a profissionais experientes no manuseio da(s) espécie(s). Devem-se minimizar ao máximo os estímulos visuais, auditivos e táteis. Quando houver dificuldade de contenção física ou risco para os operadores, deve-se realizar contenção química com sedativos e/ou analgésicos e/ou anestésicos. A via de injeção deve causar mínimo estresse e o uso de dardos e armas de captura podem ser necessários. Nestes casos, pode ser útil o uso de fármacos por via oral, misturados nos alimentos ou água.

4.3. A expressão da dor pode ser muito sutil nos animais. O fato dos animais não aparentarem dor, não indica que estes não a estão sofrendo. É necessária uma qualificação específica para o reconhecimento da dor, mesmo para técnicos e profissionais experientes com a espécie.

4.4. A expressão facial e posturas corporais indicam vários estados emocionais. e devem ser utilizadas escalas de dor, quando disponíveis, para a(s) espécie(s) em questão. Sugere-se que essas informações sejam disponibilizadas facilmente nas instalações, preferencialmente afixadas em locais visíveis ao pessoal que tenha acesso aos animais.

4.5. Algumas respostas comportamentais e fisiológicas a um estímulo considerado nocivo incluem: vocalização, ato de se debater, tentativas de escapar, agressão, salivação, micção, defecação, secreção de glândulas adanais, dilatação da pupila (midríase), aumento da frequência cardíaca (taquicardia) e respiratória (taquipnéia), sudorese, tremores, espasmos e contrações musculares e, no caso dos ruminantes, timpanismo. O medo pode causar paralisia em certas espécies, particularmente em coelhos, ovinos e aves. Esta ocorrência não deve ser interpretada como perda da consciência. A vocalização, a alteração de comportamento e a liberação de odores ou feromônios por parte dos animais sob estresse podem causar ansiedade e apreensão em outros animais, daí a importância da ausência de outros animais no ambiente. Da mesma forma quando do uso de câmaras de inalação, elas devem ser limpas após a morte de cada animal ou grupo de animais para assegurar que os demais não se exponham a resíduos que desencadeiem sinais olfatórios de alarme.

4.6. Do ponto de vista do animal, deve-se avaliar a compatibilidade do método com a espécie, idade e estado de saúde. O método deve ser confiável, irreversível e compatível com as necessidades.

4.7. Sistemas automatizados para fornecimento de agentes inalatórios podem oferecer vantagens para causar a morte simultânea de um grande número de animais, como os roedores. Deve-se garantir a segurança do operador pelo uso de equipamentos de proteção, segundo as normas de segurança vigentes e específicas.

4.8. A eutanásia de embriões, fetos ou estágios larvais de peixes e anfíbios deve ser considerada de modo especial, de acordo com a espécie e o tempo de desenvolvimento. De forma geral, 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. Desta 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 e, caso permaneçam vivos, deve-se assegurar o aquecimento e cuidados necessários para a manutenção da vida.

4.9. Os neonatos são muito resistentes ao efeito do dióxido de carbono (CO_2) e de outros agentes que causam hipóxia. Neste caso, outros métodos devem ser utilizados, como, por exemplo, o deslocamento cervical em camundongos. Os fetos com idade maior que dois terços da fase de desenvolvimento e neonatos devem ser submetidos aos mesmos métodos de eutanásia que os congêneres adultos da mesma espécie.

5. Confirmação da morte do animal

5.1. É imperativa a confirmação da morte antes do descarte do animal, pois animais inconscientes podem parecer mortos, entretanto, podem se recuperar, o que é inaceitável. Todos os sinais a seguir devem ser verificados para confirmar a morte do animal: ausência de movimento respiratório (apneia); ausência de batimentos cardíacos (assistolia), preferencialmente, por meio do uso de estetoscópio, ou equipamento que o substitua, como, por exemplo, dopplerultrassom; ausência de pulsação, mucosas pálidas e perda do reflexo corneal ou àqueles próprios da espécie. A confirmação da morte deve ser realizada por profissional qualificado para este fim, se possível comprovada por uma segunda pessoa da equipe.

5.2. Em determinadas situações, mais de um método pode ser utilizado para eutanásia; um que resulte em perda de consciência e, o outro, que garanta a morte, caso haja alguma dúvida a respeito da morte do animal.

5.3. Para fetos ou recém-nascidos, dois fatores devem ser levados em consideração ao escolher o método de eutanásia: os animais são mais resistentes à hipóxia e a biotransformação dos fármacos é mais lenta. Portanto, dois métodos aceitáveis para a espécie devem ser combinados e a morte deve ser confirmada utilizando os sinais descritos anteriormente.

6. Sumário das diretrizes para eutanásia

6.1. Um protocolo adequado de eutanásia deve:

a. tratar o animal com o máximo de respeito;

b. considerar o manejo pré-eutanásia baseado nas características comportamentais de cada espécie para minimizar o risco de ansiedade, dor ou lesões, antes da perda da consciência;

c. prover a morte sem dor e sofrimento físico e mental;

d. produzir imediata perda da consciência, seguido de parada respiratória e cardíaca e perda da função cerebral;

e. ser apropriado para a espécie, idade e estado de saúde do animal;

f. confirmar a morte antes do descarte do cadáver;

g. envolver pessoas qualificadas e competentes para realizar o método de forma efetiva e humanitária, reconhecer a dor e o sofrimento nas espécies em que atuam, reconhecer e confirmar a inconsciência e morte do animal;

h. levar em consideração o impacto psicológico do pessoal envolvido, mas a prioridade é sempre o bemestar do animal;

i. ser aprovado pela CEUA da instituição;

j. basear-se na consulta de profissional(is) com experiência na área e nos grupos taxonômicos em questão, para selecionar o melhor método de eutanásia, particularmente, se houver pouca informação para a espécie animal envolvida; ou no caso de instalações animais, de acordo com a Resolução Normativa no . 6, de 10 de julho de 2012, os procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados pelo Responsável Técnico Médico Veterinário da instalação animal da Instituição.

k. quando do uso de anestésicos inalatórios, garantir a manutenção e calibração regulares dos equipamentos;

l. realizar um rodízio entre profissionais treinados para este fim para assegurar que o procedimento seja realizado de forma eficiente e humanitária.

7. Modos de ação dos métodos de eutanásia.

7.1. Os agentes usados para a eutanásia atuam por três possíveis mecanismos: 1) hipóxia direta ou indireta, 2) depressão neuronal e/ou 3) interrupção da atividade cerebral e destruição de neurônios vitais.

7.2. No mecanismo de hipóxia direta ou indireta (1), os agentes devem causar inconsciência antes da perda da atividade motora. A perda da atividade motora não pode ser equiparada à perda da consciência e à ausência de estresse. Desta forma, agentes que induzem paralisia muscular sem a perda da consciência, como os bloqueadores musculares, não são aceitos de forma isolada para eutanásia. Outras técnicas que induzem hipóxia podem desencadear atividade reflexa caracterizada por atividade motora após a inconsciência, o que não acarreta sofrimento no animal.

7.3. Os agentes que deprimem os neurônios cerebrais (2) causam inconsciência seguida de morte. Alguns desses agentes podem causar uma fase inicial de excitação ou delírio, quando ocorrem vocalização e contrações musculares, o que é inaceitável, seguido de inconsciência, depressão respiratória e parada cardíaca por hipoxemia. Portanto, devem ser observadas as dosagens adequadas desses agentes, bem como a necessidade de associá-los a outros que evitem esta possibilidade.

7.4. A interrupção da atividade cerebral e destruição de neurônios vitais podem ser causadas por concussão (trauma craniano), destruição direta do cérebro ou despolarização elétrica dos neurônios, que induz rápida inconsciência. A morte ocorre por destruição dos centros que controlam as atividades respiratória e cardíaca ou pelo uso de métodos adicionais ou complementares, como, por exemplo, a exsanguinação para completar a eutanásia. Pode ocorrer atividade muscular exacerbada após a inconsciência e, apesar do aspecto desagradável para o observador, o animal não apresenta sofrimento.

8. Métodos de eutanásia

8.1. 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***. Independentemente do método de eleição, a inconsciência deve anteceder a parada cardiorrespiratória, seguida da perda da função cerebral.

8.2. As características ideais de um método de eutanásia são: capacidade de causar a morte de forma rápida, sem dor, sofrimento, ansiedade e apreensão; irreversibilidade; confiabilidade; compatibilidade com os objetivos e necessidades, como exame post mortem e uso de material biológico, bem como com a espécie, idade e estado de saúde; fácil execução e aprendizado; execução com eficiência pela equipe disponível; segurança para o pessoal envolvido; causar mínimos efeitos emocionais no executor que realiza o procedimento e observadores; custo viável deve-se manter o(s) equipamentos(s) em condições adequadas. Após o uso, o cadáver deve ter um destino seguro e dentro das normas preconizadas pela legislação ambiental e sanitária, para prover segurança para o pessoal envolvido com o descarte, bem como ao meio ambiente e outras pessoas e animais e para que outros animais não possam ter acesso a ele.

8.3. São consideradas características indesejáveis nos métodos de eutanásia: métodos cruentos, uso de vácuo, uso isolado de miorrelaxantes e bem como o animal estar consciente antes da parada cardíaca e respiratória.

8.4. A seleção do método de eutanásia depende da espécie animal envolvida, da idade do animal, dos meios de contenção disponíveis, da habilidade do executor, do número de animais a serem mortos e do objetivo do protocolo.

8.5. Os métodos de eutanásia podem ser divididos em físicos ou químicos. Dentre os químicos, os mais frequentes são os agentes injetáveis ou inalatórios. Normalmente, os agentes químicos, como os anestésicos gerais injetáveis ou inalatórios são preferíveis, quando comparados aos métodos físicos, como o deslocamento cervical e decapitação. Entretanto, o propósito do estudo científico pode obstar o uso dos primeiros.

8.6. Como princípio geral, os animais devem ser mortos pelo método mais humanitário para a espécie. Caso o método de eutanásia afete os resultados da pesquisa e possa inviabilizar as avaliações, pode-se usar um método aceito com restrição, sob aval da CEUA pertinente, desde que todas as precauções necessárias sejam tomadas para minimizar qualquer impacto sobre o bem-estar do animal. Se houver suspeita, mas sem evidência, que um método recomendado possa influenciar os dados, a necessidade de utilizar um método alternativo deve ser validada em um estudo piloto.

8.7. Ao utilizar um método físico de eutanásia, o procedimento deve ser apropriado à espécie e a aplicação do método deve ser precisa. A experiência e a prática do operador e a eficiência dos equipamentos utilizados também são críticas para o procedimento. A equipe deve ter qualificação e capacitação para manusear os animais e aplicar o método de eutanásia de forma a minimizar o estresse nos animais.

8.8. As Tabelas 1 e 2 resumem os métodos de eutanásia de acordo com a espécie, que podem ser classificados como "recomendados", "aceitos com restrições" ou "inaceitáveis".

8.9. Os métodos recomendáveis são os preferidos, por causarem pouco ou nenhum sofrimento e se enquadrarem dentro das características ideais previamente descritas, particularmente por causar a morte de forma consistente e humanitária, quando usado de forma isolada.

8.10. O método aceito com restrição é o que não atende a todos os critérios ideais, por uma ou mais razões, descritas a seguir: não produzir inconsciência tão rápida quanto necessária ou precedida de sofrimento; requerer habilidade e técnica específicas e, portanto, maior possibilidade de erro; ser visualmente desagradável;

apresentar considerações ocupacionais de saúde e segurança associadas ao método, que não possam ser prevenidas; ou não haver documentação científica conclusiva sobre o método. Estes métodos podem ser 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.

8.11. Um método é *inaceitável* se não se enquadrar nos critérios ideais e, por conseguinte, causar sofrimento nos animais, não ser humanitário ou apresentar outros problemas significativos associados ao seu uso.

8.12. Outros métodos além dos citados nas Tabelas 1 e 2 podem ser utilizados em animais inconscientes, desde que estes não restabeleçam a consciência antes do óbito, podendo também ser utilizados os métodos usados para abate humanitário, de acordo com legislação específica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

8.13. Métodos químicos

8.13.1. Baseiam-se no uso de substâncias químicas, preferencialmente, anestésicos, e podem ser subdivididos em injetáveis ou inalatórios. O uso de fármacos controlados deve ser supervisionado pelo médico veterinário, mesmo que não de forma presencial. Podem ser empregados isoladamente, por sobredosagem das substâncias em relação às doses consideradas anestésicas para cada espécie, ou associados a outros métodos que assegurem o óbito após a perda da consciência. Quando o método de escolha for injetável, a via preferencial é intravenosa. No entanto, outras vias poderão ser preconizadas, a depender da espécie.

8.13.2. Sempre que possível, ao se utilizar anestésicos, deve-se realizar jejum prévio, para evitar regurgitação e aspiração do conteúdo gástrico. Cabe salientar que a necessidade de jejum não se aplica a roedores.

8.13.3. Agentes inalatórios

8.13.3.1. Pelo fato do agente inalatório ter de atingir uma concentração alveolar para ser efetivo, esta técnica leva algum tempo para induzir a inconsciência no animal. 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.

8.13.3.2. A adequação do método depende se o animal passa ou não por um período de estresse entre o tempo de início da inalação do agente e o tempo até a perda da consciência. Agentes que induzam convulsão antes da perda da consciência são inaceitáveis.

8.13.3.3. Alguns aspectos devem ser observados no uso de agentes inalatórios:

a. deve-se garantir a manutenção adequada e periódica do equipamento para o seu bom funcionamento;

b. o equipamento deve ser desprovido de ruídos que possam causar desconforto e ansiedade nos animais;

c. os animais agrupados na mesma câmara devem ser da mesma espécie e, se necessário, devem ser contidos separadamente para não machucarem a si ou aos outros;

d. este método não deve ser utilizado em animais com hipoventilação ou que retêm a respiração (ex. algumas espécies de répteis);

e. recomenda-se administrar a maior concentração possível a fim de acelerar a perda de consciência, tornando o método mais humanitário (exceto o CO_2 , cuja concentração deve ser aumentada gradualmente);

f. o animal deve ser observado por 10 minutos após a interrupção do fornecimento do agente inalatório para assegurar a morte.

g. não se recomenda para répteis, anfíbios, animais que mergulham e alguns mamíferos que podem reter a respiração e apresentar metabolismo anaeróbico;

h. os agentes apresentam diversos riscos à saúde humana, como explosão (éter), narcose (anestésicos inalatórios como o isofluorano), hipoxemia (Nitrogênio e Monóxido de Carbono), vício (Óxido Nitroso e isofluorano) e efeitos crônicos (teratogenicidade, mutagenicidade), daí a necessidade de se disponibilizar um sistema antipoluição;

8.13.3.4. Os anestésicos ou agentes inalatórios de escolha para eutanásia devem induzir um início de ação rápido para causar pronta perda da consciência e, portanto, mínimo desconforto. O odor deve ser agradável ou, pelo menos, não ser irritante, e deve-se considerar a segurança do funcionário e do local. Ao se utilizarem estes agentes para causar a morte simultânea de um grupo de animais, recomenda-se que sejam introduzidos animais de mesma idade e que se limite o número de animais na câmara. Agentes de efeito lento, como por exemplo, o éter, são inaceitáveis.

8.13.3.5. Os gases inalatórios utilizados para causar a morte de um grupo de animais eram o Monóxido de Carbono, o Nitrogênio, o Argônio e o CO_2. Estes gases são facilmente disponíveis, inertes, inodoros, não inflamáveis ou explosivos e de baixo custo. Produzem efeito rápido, entretanto, apresentam restrições do ponto de vista humanitário,bem como podem causar danos à saúde dos operadores, como hipoxemia e efeitos crônicos e risco de explosão no caso do Monóxido de Carbono. O uso de Nitrogênio e Argônio é aceito, em casos excepcionais, apenas para aves. O uso de Monóxido de Carbono é vetado para qualquer espécie.

8.13.3.6 A concentração do agente utilizado para causar a morte varia na literatura científica. Se, por um lado, é necessária uma rápida exposição a uma alta concentração do agente, para induzir rápida inconsciência, por outro, particularmente no caso do CO_2, altas concentrações deflagram intensa irritação das vias aéreas.

8.13.3.7. A exposição a anestésicos inalatórios é aversiva em roedores e pode ser estressante para outras espécies, como cães, gatos, furões e coelhos. Em algumas circunstâncias, é aconselhável o uso prévio de sedativos.

8.13.3.8. 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.

8.13.4. Anestésicos inalatórios

8.13.4.1. Dentre os anestésicos inalatórios mais indicados estão o halotano, o isofluorano e o sevofluorano. O halotano apresenta o menor custo e odor agradável. Entretanto, possui a desvantagem de ser biotransformado em até 20% pelo ser humano, o que causa risco à saúde dos operadores.

8.13.4.2. O isofluorano apresenta efeito mais rápido que o halotano. Entretanto, seu odor pungente é desagradável e os animais podem reter a respiração, o que prolonga um pouco o tempo até a perda da consciência. Porém, a biotransformação do isofluorano é quase insignificante no ser humano (ao redor de 0,7%) e, portanto, é mais seguro que o halotano para o pessoal envolvido. Dada a sua menor potência, necessita de concentração em torno de 60% maior para os animais atingirem a inconsciência que a do halotano.

8.13.4.3. O sevofluorano possui odor aceitável, efeito mais rápido que o isofluorano e baixa biotransformação para o ser humano, entretanto seu custo é mais alto. O desfluorano apresenta efeito mais rápido que todos os anteriores. Entretanto, sua baixa potência, que requer altas concentrações, odor pungente e custo alto, são fatores limitantes para o seu uso.

8.13.4.4. Os anestésicos inalatórios podem ser embebidos em algodão ou disponibilizados sob a forma de vapor. No primeiro caso, para pequenos roedores, o algodão embebido com anestésico pode ser colocado em um recipiente fechado juntamente com o animal, com uma separação física entre o animal e o algodão para evitar o contato direto do animal com o líquido no algodão, dada a irritação das mucosas, fazendo com que o animal seja exposto apenas ao vapor. No segundo caso, o anestésico é fornecido, diluído em oxigênio ou ar comprimido medicinal, por um vaporizador utilizado em anestesia inalatória, na maior concentração possível. Esta técnica pode ser utilizada em animais maiores, como cães, gatos e animais silvestres, mas, para este fim, uma câmara específica deve ser utilizada ou uso de máscara em circuito anestésico aberto após prévia sedação.

8.13.4.5. Os agentes inalatórios apresentam algumas questões ocupacionais para os seres humanos, como maior incidência de aborto espontâneo, teratogenicidade, mutagenicidade e problemas respiratórios. Para evitar este risco, devem-se utilizar sistemas de exaustão para minimizar o contato dos operadores com os anestésicos.

8.13.4.6. *Vantagens*: são indicados para animais abaixo de 7 kg ou em casos de dificuldade de venopunção; o halotano, isofluorano, sevofluorano e desfluorano não são inflamáveis e nem explosivos nas concentrações utilizadas.

8.13.4.7. *Desvantagens*: os animais podem se debater e apresentar excitação; há risco à saúde dos operadores e possibilidade de vício; o éter é um método inaceitável, pois, além de causar irritação das vias aéreas e desencadear longo tempo até a morte, é

inflamável e explosivo. Assim, pode ocorrer explosão quando os cadáveres são colocados em incineradores.

8.13.4.8. *Recomendações*: em ordem de preferência, deve se utilizar halotano (vantajoso para o animal, mas não para o operador, dada a alta biotransformação no ser humano), isofluorano, sevofluorano e desfluorano para animais abaixo de 7 kg.

8.13.4.9. *Recomendável*: classes Lissamphibia, Reptilia, Aves e Mammalia, das espécies que não retêm a respiração e Actinopteri (peixes ósseos) e Chondrichthyes (peixes cartilaginosos).

8.13.5. Dióxido de carbono (CO_2)

8.13.5.1. Apesar do CO_2 apresentar efeito analgésico e anestésico geral em altas concentrações, não é um método humanitário para nenhuma espécie. Concentrações a partir de 40-50% são desagradáveis para os seres humanos, pois levam à formação de ácido carbônico na cavidade oral e acima de 50% são nocivas. Este fenômeno também ocorre nos animais. Em contrapartida, o tempo até a inconsciência é inversamente proporcional à concentração utilizada. Diversos efeitos adversos são observados em cães, como dispneia, ataxia, espasmos musculares, micção, salivação, defecação, contrações tônicas e convulsões, o que torna este método inaceitável nesta espécie.

8.13.5.2. Apesar de o CO_2 ser listado como um método de eutanásia, existe uma grande controvérsia mundial em relação ao seu uso. O que existe de consenso entre a maioria da literatura é que, quando o CO_2 é utilizado em concentrações e taxas de preenchimento da câmara inadequados, há alto risco de comprometer o bem-estar animal. Não deve ser empregado em peixes e anfíbios, devido à acidez da substância e manutenção prolongada da atividade cerebral. Da mesma forma, não deve ser empregado em lagomorfos (coelhos), suínos, répteis e em animais que mergulham. Os frangos também exibem sinais de aversão, dor e sofrimento quando do uso de CO_2.

8.13.5.3. O uso do CO_2 como um agente de eutanásia, bem como a sua forma de administração, ainda está em debate. No entanto, para roedores, exceto neonatos, mantidos em instalações de produção, esse é um método aceito, desde que sejam seguidas as recomendações apresentas nessa diretriz em relação ao preenchimento da câmara de eutanásia.

8.13.5.4. *Vantagens*: ausência de odor; rápida depressão do sistema nervoso central (SNC); facilidade de aquisição, quando envasado em cilindros; custo viável; não inflamável e não explosivo; poucos danos à saúde do executor que realizará o procedimento; ausência de resíduos no animal, caso usado para consumo; não altera os marcadores colinérgicos e a concentração de cortisol/corticosterona.

8.13.5.5. *Desvantagens*: densidade maior que a do ar, o que torna necessário o uso de uma câmara de pequena altura, para evitar que os animais assumam posição bípede; concentrações acima de 40% levam à formação de ácido carbônico nas mucosas, o que causa dor e sofrimento; altas concentrações (<80%) podem provocar lesão do trato respiratório cranial e do pulmão; altas concentrações causam estresse e sofrimento aos animais, por outro lado, baixas concentrações não são eficazes; o tempo até o efeito é prolongado em neonatos; alguns animais, como os peixes, animais que

mergulham e que se enterram, apresentam alta tolerância; não indicado para répteis e anfíbios, pois estes apresentam uma baixa frequência respiratória e o efeito é mais lento que outros agentes inalatórios e intravenosos.

8.13.5.6. *Recomendações*: Em roedores, o CO_2 é aceito com a restrição desde que seja utilizado em câmaras específicas que se mensurem o fluxo de CO_2, por meio de fluxômetro. Para causar a morte em roedores deve-se preencher a câmara com um fluxo de 100% de CO_2 na ordem de 20% do volume da câmara por minuto e manter o fluxo por pelo menos um minuto após a morte clínica. O CO_2 da câmara deverá ser removido entre dois procedimentos consecutivos de eutanásia.

8.13.5.7. Quando do uso de CO_2, o excesso de gás deve ser eliminado na porção superior da câmara, paralelamente ao aumento gradual da concentração de CO_2, de forma que não ocorra pressurização interna, nem entrada de ar ambiente na câmara. Câmaras grandes podem requerer múltiplas entradas de CO_2 para garantir a distribuição homogênea. O uso de válvulas de aquecimento em câmaras de fluxo contínuo e prolongado do gás evita a formação de gelo seco dentro das válvulas e sistemas de regulação. Deve-se confirmar a morte dos animais antes de usar ou descartar o cadáver, já que a reversão da consciência pode ser rápida. Alguns roedores podem apresentar apneia, conferindo a falsa impressão de morte. A confirmação da morte deve ser realizada por múltiplos métodos, como descrito anteriormente. Só pode ser utilizado quando armazenado em cilindros, em equipamentos com programa regular de manutenção e desde que o fluxo de CO_2 fornecido ao(s) animal(is) seja mensurado.

8.13.5.8. *Recomendável*: nenhuma espécie.

8.13.5.9. *Aceito com restrição* (desde que as recomendações anteriores sejam seguidas): Aves e Rodentia (com exceção de neonatos).

8.13.6. Nitrogênio e o Argônio

8.13.6.1. Estes agentes induzem hipoxemia. Compõem 78% e 1% do ar ambiente, respectivamente. O uso de 98,5% de Nitrogênio, por 45 a 60 segundos, causa inconsciência em 76 segundos, confirmado pelo eletroencefalograma, e óbito em cinco minutos em cães. Os sinais observados após inconsciência são: hiperventilação, dispneia, vocalização, convulsão e tremores musculares. O uso prévio de acepromazina em cães não é aconselhado, já que prolonga sobejamente o tempo até o óbito, chegando a 51 minutos. Desta forma, o uso de Nitrogênio e o Argônio é altamente questionável do ponto de vista humanitário, uma vez que o Nitrogênio causa morte lenta e sofrimento considerável e o Argônio não é indicado para roedores.

8.13.6.2. *Vantagens*: disponíveis em cilindros; não inflamáveis ou explosivos; baixo custo; baixo risco aos operadores.

8.13.6.3. *Desvantagens*: a perda da consciência ocorre apenas após hipoxemia e hiperventilação, o que causa angústia respiratória; a sedação prorroga muito o tempo até o óbito.

8.13.6.4. *Recomendações*: o Nitrogênio e o Argônio causam estresse em algumas espécies, como os roedores; o método requer concentrações de Oxigênio inferiores a 2%

alcançadas rapidamente, o que é difícil, e os animais devem estar em sedação profunda ou anestesiados. Porém, nestes casos, o tempo até a morte pode ser prolongado. Assim, é um método inaceitável para roedores. É aceito com restrição apenas para causar a morte de frangos. Neste caso, deve-se assegurar que a concentração de CO_2 seja menor que 30% e de O_2 <2%. Este método só é apropriado quando for possível mensurar a concentração de O_2 . O excesso de gás deve ser eliminado da câmara, de forma que não ocorra pressurização interna, nem entrada de ar ambiente na câmara. Só pode ser utilizado quando armazenado em cilindros e em equipamentos com programa regular de manutenção. Outros métodos de eutanásia são preferíveis.

8.13.6.5. *Recomendável*: nenhuma espécie.

8.13.6.6. *Aceito com restrição* (desde que as recomendações anteriores sejam seguidas): frangos.

8.13.7. Monóxido de Carbono

8.13.7.1. O Monóxido de Carbono (CO) é incolor, inodoro, não inflamável, nem explosivo em concentrações de até 10%. Combina-se com a hemoglobina, forma a carboxihemoglobina e bloqueia a captação de O_2 pelos eritrócitos, com consequente hipoxemia fatal.

8.13.7.2. No homem, os sintomas mais comuns frente a uma exposição inicial ao CO são cefaleia, tontura, fraqueza, seguidos, quando do aumento da concentração de CO, de diminuição da acuidade visual, zumbido no ouvido, náusea, depressão progressiva do sistema nervoso central, confusão mental, colapso e morte. A perda da consciência pode ser acompanhada de convulsão e espasmos musculares. Nos seres humanos, exposições de 0,32% a 0,45% de CO, por uma hora, induzem à inconsciência e morte. Desta forma, este agente é extremamente perigoso para o operador, devido à alta toxicidade e dificuldade de detecção, pelo fato de ser inodoro e incolor. Adicionalmente, a exposição crônica de baixas concentrações desencadeia alterações cardiovasculares e efeitos teratogênicos. Mesmo quando do uso de cilindros de CO, este método deve ser evitado pelo alto risco à saúde dos envolvidos.

8.13.7.3. *Inaceitável*: todas as espécies.

8.13.8. Agentes injetáveis

8.13.8.1. Dentre todos os métodos, os agentes injetáveis são os mais indicados para eutanásia na maioria das espécies, pois, desde que o manejo prévio seja realizado de forma adequada, apresentam efeito rápido e confiável; não causam sofrimento físico e emocional para o animal; são de baixo risco aos operadores; apresentam uma maior probabilidade de irreversibilidade; confiabilidade; menor custo e melhor aspecto estético em relação ao uso de agentes inalatórios e métodos físicos. As suas desvantagens são a necessidade de contenção individual dos animais e necessidade de experiência para administração.

8.13.8.2. Quando, para se realizar a administração, a contenção física do animal for difícil ou causar estresse a ele ou risco ao operador, deve-se proceder previamente à contenção química por outra via que não a injetável.

8.13.8.3. Quando a via intravenosa for impraticável para a eutanásia, pode-se utilizar a via intraperitoneal. Como pela via intraperitoneal os animais permanecem por tempo mais prolongado no estágio II (de excitação), estes devem ser colocados em espaços pequenos e em silêncio para evitar traumas. As vias de administração mais apropriadas para cada grupo taxonômico estão especificadas para cada espécie neste documento (Tabela 1).

8.13.8.4. Qualquer fármaco que produza um estado de anestesia geral pode ser utilizado. Entre os de uso mais comum destacam-se o tiopental, o pentobarbital e o propofol. Desde que a inconsciência tenha sido confirmada, os anestésicos gerais podem ser seguidos por métodos complementares, como bloqueadores neuromusculares e/ou Cloreto de Potássio, que causam apneia e assistolia, respectivamente. Em nenhuma hipótese os bloqueadores neuromusculares e/ou Cloreto de Potássio devem ser utilizados em animais sem a confirmação da inconsciência.

8.13.9. Barbitúricos

8.13.9.1. Os barbitúricos causam depressão do SNC, com mínimo desconforto, desde que a injeção seja rápida. Após a inconsciência, ocorre apneia e assistolia, como consequência da hipóxia, por depressão do córtex cerebral, centros respiratório e vasomotor, respectivamente. Dentre os barbitúricos, o pentobarbital possui a vantagem de apresentar maior duração de ação que o tiopental e, portanto, menor probabilidade de reversão do efeito.

8.13.9.2. *Vantagens*: os barbitúricos são anestésicos tradicionais, de efeito rápido, suave e causam mínimo desconforto para os animais. São potentes depressores do SNC, com efeitos amplamente conhecidos e previsíveis. O baixo custo e a estabilidade da solução reforçam a recomendação dos barbitúricos serem a melhor opção para eutanásia de animais de vida terrestre.

8.13.9.3. *Desvantagens*: pode ocorrer respiração agônica em animais já inconscientes, o que pode ser visualmente desagradável e a permanência do fármaco no cadáver pode causar sedação nos animais que consomem a carcaça. Desta forma, o descarte do cadáver deve ser adequado. Podem causar dor e necrose caso haja injeção extravascular, bem como é necessária qualificação para administração do fármaco por via intravenosa.

8.13.9.4. *Recomendações*: é o método de eutanásia mais indicado para mamíferos em geral. Na impossibilidade de uso intravenoso, nas condições citadas anteriormente, pode-se administrar por via intraperitoneal. Em aves, a via intracelomática não é utilizada na rotina devido à presença dos sacos aéreos.

8.13.9.5. *Recomendável*: todas as espécies

8.13.10. Outros anestésicos injetáveis

8.13.10.1. O propofol, etomidato ou metomidato também podem ser utilizados para eutanásia e apresentam características e indicações muito similares à dos barbitúricos. Estes fármacos podem ser administrados exclusivamente por via intravenosa.

8.13.10.2. *Recomendável*: todas as espécies.

8.13.11. Agentes injetáveis aceitáveis apenas como método complementar

8.13.11.1. Os anestésicos dissociativos não devem ser utilizados como agentes únicos para realização de eutanásia porque não promovem inconsciência, mas apenas dissociação do córtex cerebral. Podem causar excitação, catalepsia e convulsão em altas doses e a dose letal é muito alta. Entretanto, para eutanásia, quando associados aos agonistas de adrenorreceptores de alfa-2, como a xilazina, podem ser utilizados para contenção química de animais indóceis, seguido de sobredosagem com a própria associação ou complementação com anestésicos gerais. A sobredosagem da combinação de anestésicos dissociativos e agonistas de adrenorreceptores de alfa-2 pode-ser utilizada para eutanásia de roedores.

8.13.11.2. O cloreto de potássio deve ser precedido de anestesia geral, com confirmação da inconsciência. Os operadores devem ter qualificação específica e conhecimento das técnicas anestésicas para serem competentes para confirmar a inconsciência.

8.13.11.3. Os bloqueadores neuromusculares causam paralisia, dose dependente, da atividade muscular esquelética e cessação da respiração por paralisia dos músculos respiratórios. Portanto, só podem ser utilizados quando os animais estiverem sob anestesia geral profunda.

8.13.11.4. O hidrato de cloral causa depressão cerebral lenta. Logo, a contenção pode ser difícil para alguns animais. A morte ocorre por hipoxemia, resultante de depressão progressiva do centro respiratório, e pode ser precedida por respiração ofegante, espasmos musculares e vocalização. É inaceitável como método único, devido a seus efeitos adversos importantes. Pode ser utilizado apenas após anestesia geral ou associado com anestésicos gerais em equídeos e ruminantes.

8.14. Métodos Físicos

8.14.1. Os métodos físicos de eutanásia incluem pistola de insensibilização, tiro com arma de fogo, deslocamento cervical, decapitação, eletrocussão, irradiação por micro-ondas específicos para eutanásia, armadilhas, compressão torácica, exsanguinação ou sangria, maceração, concussão e perfuração craniana.

8.14.2. Em todos os casos, é imperativa a qualificação e habilidade do executor e, quando for o caso, a manutenção adequada do equipamento. Armadilhas, exsanguinação, concussão e perfuração craniana não são aceitos de forma isolada, mas podem ser utilizados em associação aos agentes anestésicos ou outros métodos que causem inconsciência prévia.

8.14.3. Os métodos físicos são normalmente de aparência desagradável, mas podem ser úteis em situações específicas. Os envolvidos devem estar conscientes a respeito das implicações de aparência do método e informar aos observadores o que pode ocorrer.

8.14.4. Como a maioria desses métodos envolve trauma, deve-se levar em conta o risco para os animais e para o executor. Os cuidados devem ser extremos e a habilidade e experiência do executor são essenciais. A qualificação prévia deve ser realizada em animais mortos ou anestesiados e sob ensino e supervisão de uma pessoa experiente, até que o aprendiz seja proficiente.

8.14.5. Em muitos casos, os animais podem não morrer imediatamente, a depender do grau de injúria cerebral, e, assim, recomenda-se que imediatamente após o procedimento a morte seja garantida pelo emprego de um segundo método, como, por exemplo, a exsanguinação ou perfuração craniana. São métodos aceitos com restrição e não são práticos para causar a morte em um grande número de animais.

8.14.6. Pistola de insensibilização por ar comprimido (percussiva não penetrativa) e de dardo cativo (percussiva penetrativa).

8.14.6.1. A primeira causa insensibilização por concussão cerebral e a segunda destruição imediata do tecido cerebral por trauma penetrante. A pistola de dardo cativo penetrante apresenta maior eficiência, pois produz concussão e laceração do tecido cerebral; já no método de insensibilização com a pistola de dardo cativo não penetrante, a perda da consciência se dá pela concussão cerebral (trauma) e a consciência do animal pode retornar em um espaço de tempo curto. São aceitos com restrição em algumas espécies, desde que seja possível a contenção química ou física adequadas para o correto posicionamento da pistola.

8.14.6.2. A pistola deve ter força suficiente para penetrar o crânio do animal-alvo e a localização correta do impacto varia entre as espécies. Para isso, as pistolas de dardo cativo devem estar em perfeita manutenção, para que o dardo consiga receber energia suficiente e produzir o estado de inconsciência quando atingir o crânio do animal.

8.14.6.3. O posicionamento da pistola e a localização correta do alvo variam de acordo com a espécie. Nos bovinos, deve-se apontar para o osso frontal, na intersecção das duas linhas imaginárias, entre os cornos e os olhos contralaterais. O equipamento deve ser direcionado em ângulo de 90 graus em relação ao osso frontal e em contato direto com o crânio do animal. Nos equídeos, o alvo é pouco acima da intersecção das duas linhas imaginárias traçadas entre a inserção das orelhas e os olhos contralaterais. Nos suínos, traça-se uma linha imaginária transversal no osso frontal que une a porção dorsal (superior) dos dois olhos e a outra longitudinal na linha média frontal, formando uma cruz; a pistola é posicionada a dois cm dorsal (superior) e 0,5 cm lateral para um dos lados do ponto de intersecção entre essas duas linhas imaginárias. Em ovinos e caprinos a pistola é posicionada no centro da linha imaginária que tangencia a borda caudal do corno em sentido paralelo ao eixo longitudinal da cabeça.

8.14.6.4. Ao ser usada a pistola, ocorrem colapso e espasmos musculares. É importante monitorar o equipamento e os sinais de consciência dos animais insensibilizados. Em caso de dúvida, deve-se insensibilizar novamente o animal. Logo após a insensibilização, é necessário causar a morte com outro método. O tempo entre a insensibilização e o procedimento de eutanásia deve ser breve para evitar o retorno da consciência do animal.

8.14.6.5. *Vantagens*: eficiência e baixo custo, pode ser utilizado em condições de campo.

8.14.6.6. *Desvantagens*: visualmente desagradável.

8.14.6.7. *Recomendações*: pode ser usada em equídeos e ruminantes. No caso do uso de pistola de insensibilização por ar (não penetrante), é necessário complementar o procedimento com outra técnica, já que a primeira só causa inconsciência temporária do animal.

8.14.6.8. *Recomendável:* nenhuma espécie.

8.14.6.9. *Aceito com restrição*: animais de grande porte das classes Aves, Reptilia e Lissamphibia, ordem Lagomorpha e Perissodactila, suínos, ruminantes e outros animais selvagens de grande porte.

8.14.7. Tiro com arma de fogo

8.14.7.1. É um dos principais métodos para a coleta de aves em ambiente natural. É insubstituível para as espécies de aves difíceis de serem capturadas, como aquelas que só são acessadas nas copas das árvores. Seu uso para a coleta de aves prediz que sejam mortas rapidamente. Caso o tiro não resulte em morte imediata, deve-se causar a morte por outro método o mais rapidamente possível.

8.14.7.2. Para os demais grupos taxonômicos, deve ser usado apenas tiro na região frontal do crânio ou região torácica, embasado nas mesmas considerações da pistola de ar comprimido e de dardo cativo. Deve ser empregado apenas em casos extremos, como, por exemplo, em situações de campo, em grandes animais domésticos ou silvestres, em que o sofrimento do animal e a indisponibilidade de outros métodos justifiquem a eutanásia imediata do animal. Quando o método for empregado, um operador experiente e habilitado deve manusear a arma com extremo cuidado. Deve-se evitar ao máximo a presença de espectadores e, quando isto não for possível, esses devem ser instruídos dos riscos e implicações visuais desagradáveis.

8.14.7.3. A arma de fogo, bem como o seu porte deve estar legalizada pelas autoridades competentes e o procedimento não deve ser realizado em ambiente fechado. Devem ser utilizados calibres e tamanho de grão (no caso de cartucho) compatíveis com os espécimes que serão submetidos a eutanásia.

8.14.7.4. *Vantagens*: perda da consciência instantânea, desde que o tiro acerte o local correto; necessário em algumas situações de campo, na ausência da disponibilidade ou viabilidade de outros métodos.

8.14.7.5. *Desvantagens:* risco aos operadores e observadores; requer executor experiente e habilitado; é visualmente desagradável; em situações a campo pode ser difícil a imobilização do animal para acertar o alvo; o tecido cerebral é destruído o que pode inviabilizar exames post mortem; necessita equipamento em boa manutenção.

8.14.7.6. *Recomendações*: na ausência de outros métodos, é aceito com restrição em algumas espécies, mas não deve ser usado na rotina, apenas em casos excepcionais.

8.14.7.7. *Recomendável:* nenhuma espécie.

8.14.7.8. *Aceito com restrição*: aves de vida livre em situações de campo, especialmente para espécies difíceis de serem acessadas (por exemplo, copas das árvores – apesar de ser o único método disponível para essas circunstâncias -, é classificado como "aceito com restrição", devido a seu alto risco); animais de grande porte das classes Lissamphibia, Aves e Reptilia (crocodilianos) e ordens Artiodactila e Perissodactila, bem como outros animais selvagens de grande porte. Em todos os casos, apenas em situações de campo.

8.14.8. Deslocamento cervical

8.14.8.1. É fundamental que o executor do procedimento seja bem qualificado, como descrito anteriormente na introdução do tópico sobre métodos físicos. Há poucos estudos científicos que confirmem ser um método humanitário. No entanto, aparentemente, quando bem executado, causa lesão imediata da medula espinhal e inconsciência, seguida de morte.

8.14.8.2. Pode ser usado para causar a morte de aves de até 3 kg, camundongos, ratos (de peso inferior a 150 g) e coelhos (de peso inferior a 1 kg) imaturos. Para camundongos e ratos, o polegar e o indicador devem ser colocados um de cada lado na região cervical cranial (base do crânio) ou um bastão é pressionado na base do crânio. Com a outra mão, a base da cauda ou membros pélvicos são tracionados caudalmente, para causar a separação das vértebras cervicais em relação ao crânio. Para coelhos imaturos, o crânio é contido 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.

8.14.8.3. Para aves de pequeno porte, o deslocamento cervical é um método comum de causar a morte, mas a perda da consciência pode não ser instantânea e pode persistir por até 13 segundos. O tempo até perda da consciência não é acelerado mesmo que se realize a exsanguinação na sequência.

8.14.8.4. *Vantagens*: ausência de contaminação do material biológico; procedimento rápido quando executado de forma adequada e por profissional qualificado.

8.14.8.5. *Desvantagens*: aspecto desagradável; requer grande habilidade do executor; pode ser usado apenas para algumas espécies.

8.14.8.6. *Recomendações*: deve ser executado exclusivamente por profissional experiente e capacitado; não é indicado para hamsters devido à musculatura cervical forte; só deve ser usado quando justificado cientificamente e na impossibilidade de outros métodos para o objetivo do estudo; após a realização do procedimento, deve-se confirmar que o pescoço foi deslocado pela palpação da vértebra e em caso da não separação das vértebras, deve-se complementar com outro método, como por exemplo a decapitação ou exposição ao CO2. Não deve ser usado para causar a morte em um grande número de animais.

8.14.8.7. *Recomendável*: nenhuma espécie.

8.14.8.8. *Aceito com restrição*: coelhos abaixo de 1 kg previamente anestesiados; o método poderá ser utilizado em aves de até 3 kg, camundongos e ratos abaixo de 150 g sem a necessidade de anestesia prévia, desde que haja interferência comprovada da anestesia sobre os resultados da pesquisa.

8.14.9. Decapitação

8.14.9.1. A menos que a anestesia comprovadamente interfira no resultado da pesquisa, os animais deveriam ser anestesiados previamente antes do uso deste método. Pode ser usado para pequenas aves, roedores, coelhos com peso inferior a 1 kg e pequenos anfíbios. A atividade cerebral permanece por até 14 segundos após a decapitação.

8.14.9.2. Há disponibilidade comercial de guilhotinas específicas para roedores adultos e pequenos coelhos.

8.14.9.3. *Vantagens*: Não contamina o material biológico a ser utilizado e não danifica o cérebro; procedimento rápido.

8.14.9.4. *Desvantagens*: o manuseio e a contenção são estressantes para os animais; a permanência de atividade cerebral após a decapitação estabelece controvérsia se o método é humanitário; risco de lesão física no profissional que realiza o procedimento; visualmente desagradável; requer habilidade do profissional.

8.14.9.5. *Recomendações*: método aceito com restrições em pequenas aves, roedores, coelhos < 1 kg e pequenos anfíbios; preferencialmente deve ser utilizado após a anestesia; o equipamento deve estar em boas condições de uso, a lâmina periodicamente amolada e a limpeza realizada após a morte de cada animal; o uso de cones plásticos para contenção física do animal reduz o estresse do manuseio, melhora o posicionamento do animal e reduz a possibilidade de injúria no operador; o operador deve estar bem treinado com o método; deve ser utilizado exclusivamente com guilhotina.

8.14.9.6. *Recomendável*: nenhuma espécie. Aceito com restrição: pequenas aves, roedores, coelhos abaixo de 1 kg e pequenos anfíbios, nas condições de pesquisa em que os objetivos do estudo não permitem outro método de eutanásia, ou seja, desde que seja plenamente justificável que haja interferência comprovada da anestesia sobre os resultados da pesquisa.

8.14.10. Microondas

8.14.10.1. Usado em neurobiologia para fixar os metabólitos in vivo e manter a integridade anatômica cerebral. São produzidos especificamente para eutanásia de ratos e camundongos e possuem potencia de 1,3 a 10 kW, dirigida para o crânio do animal. A potência requerida para cessar a atividade enzimática cerebral depende da eficiência do equipamento, do ajuste da cavidade ressonante e do tamanho do cérebro do animal. Há uma grande variedade de equipamentos e variação do tempo até perda da consciência e eutanásia.

8.14.10.2. Um equipamento de 10 kW, 2.450-MHz, com potência de 9 kW, aumenta a temperatura cerebral de camundongos de 18 a 28 g e ratos de 250 a 420 g, até 79 e 94oC em 330 e 800 ms, respectivamente.

8.14.10.3. *Vantagens*: a inconsciência é atingida em menos que 100 ms e a morte em menos que um segundo; é o método mais eficaz para fixação de tecido cerebral in vivo para ensaios enzimáticos.

8.14.10.4. *Observação importante*: microondas de uso doméstico não podem ser utilizados em nenhuma condição.

8.14.10.5. *Recomendável*: nenhuma espécie.

8.14.10.6. *Aceito com restrição*: uso em camundongos e ratos apenas com equipamentos específicos disponibilizados comercialmente e desde que haja interferência comprovada da anestesia sobre os resultados da pesquisa.

8.14.11. Armadilhas

8.14.11.1. Apesar de poder ser usada para causar a morte de animais de vida livre de pequeno porte para fins comercial, científico ou para proteção humana, o uso de armadilhas mecânicas fatais é bastante controverso, pelo fato de poder causar uma morte lenta e com sofrimento, dada a dificuldade de seleção do equipamento, dependência da proficiência do operador e a possibilidade de causar intenso dano físico em espécies que não sejam o alvo da captura. É preferível o uso de armadilhas que mantenham o animal vivo, seguido de outros métodos aceitáveis de causar a morte. A armadilha deve ser criteriosamente selecionada e testada cientificamente, de acordo com padrões internacionais, literatura disponível, tamanho, conformação, local de colocação (chão versus árvores), tipo de isca, tipo e sensibilidade do disparo. Em condições excepcionais, pode ser aceito com restrição, desde que todos os métodos possíveis tenham sido testados e falharam. Os animais que não apresentarem óbito, após a captura pela armadilha, devem ser submetidos à eutanásia o mais rápido possível por métodos recomendáveis nesta diretriz. O monitoramento deve ser contínuo para evitar que animais sejam presos e continuem vivos.

8.14.11.2. *Recomendável*: nenhuma espécie.

8.14.11.3. *Aceito com restrição*: animais de vida livre de pequeno porte, com equipamentos específicos disponibilizados comercialmente e desde que haja interferência comprovada da anestesia ou outros métodos sobre os resultados da pesquisa.

8.14.12. Compressão torácica

8.14.12.1. A compressão torácica pode ser utilizada para a eutanásia de aves de vida livre de pequeno porte (menos de 50 g de massa), exclusivamente em situação de campo. O método maximiza o aproveitamento da carcaça por não danificar nenhum órgão interno.

8.14.12.2. *Vantagens*: Os animais perdem a consciência rapidamente. Permite maximizar a utilização da carcaça para alguns tipos de estudos, como análises de contaminantes ou aqueles relacionados à anatomia.

8.14.12.3. *Desvantagens:* Dependendo do grau de domínio da técnica pelo executor, pode resultar em situação visualmente desagradável. A morte ocorre por asfixia.

8.14.12.4. *Recomendações*: Deve ser realizada por executor experiente.

8.14.12.5. *Recomendável*: nenhuma espécie

8.14.12.6. *Aceito com restrição*: Para aves de vida livre de pequeno porte (menos de 50 g de massa), exclusivamente em condições de campo. Só deve ser utilizado quando da impossibilidade de realização de métodos recomendáveis de eutanásia.

8.14.13. Resfriamento e congelamento

8.14.13.1. O congelamento rápido é aceito em espécies de peixes estenotérmicos tropicais ou subtropicais de pequeno porte discutidas no item 9.7.4.1, como, por exemplo, o peixe-zebra (Danio rerio) ou em fetos de roedores conforme item 9.1.1. Nos demais casos, os animais devem ser previamente anestesiados garantindo o seu estado de inconsciência.

8.14.13.2. A imersão em nitrogênio líquido pode ser aceita com restrição em fetos e neonatos de pequenos roedores e lagomorfos e em peixes de pequeno porte que não ultrapassem 200 mg (0,2 g) de peso.

8.14.14. Métodos complementares a outros métodos

8.14.14.1. Atordoamento e secção medular induzem inconsciência, mas podem não causar o óbito. Estes métodos devem ser seguidos de outros métodos, como anestésicos, exsanguinação ou decapitação.

8.14.15. Exsanguinação

8.14.15.1. Realizada por meio da secção das artérias carótidas e veias jugulares. Só pode ser utilizada após a inconsciência do animal, como, por exemplo, após o atordoamento, eletrocussão ou anestesia. Nunca deve ser usado isoladamente, nem como primeiro método.

8.14.15.2. No caso de roedores e lagomorfos, a exsanguinação pode ser feita por punção cardíaca desde que o animal esteja sob efeito de anestesia geral e, portanto, inconsciente.

8.14.16. Atordoamento causado por golpe no crânio (concussão)

8.14.16.1 Animais podem ser atordoados por um golpe no crânio ou pelo uso de pistola não penetrante. O uso de pistola já foi abordado anteriormente. Portanto, este

item contempla apenas o atordoamento por golpe no crânio. A perda da consciência após o atordoamento se caracteriza principalmente por perda de reflexo corneal.

8.14.16.2. 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.

8.14.16.3. *Recomendável*: nenhuma espécie.

8.14.16.4. *Aceito com restrição*: anfíbios, répteis e peixes ósseos e cartilaginosos.

8.14.17. Perfuração craniana

8.14.17.1. Um instrumento perfurante fino, pontiagudo e afiado é introduzido com força e rapidez para produzir depressão imediata do SNC. Não é um método aceito de forma isolada, pois há diversas outras opções humanitárias e, desta forma, pode ser usado apenas como método complementar, após o uso de um outro método que garanta a inconsciência do animal. É fundamental a comprovada qualificação e experiência do executor.

8.14.17.2. Em sapos, deve-se primeiro anestesiá-los, com injeção intravenosa ou intraperitoneal de sulfonato metano de tricaína (MS-222) ou outro anestésico local, injeção intracelomática ou nos sacos linfáticos dorsais de pentobarbital sódico ou imersão em solução de sulfonato metano de tricaína ou benzocaína.

8.14.18. Eletronarcose

8.14.18.1. Utilizada em ruminantes, suínos, coelhos, peixes e aves domésticas. Os sinais de atordoamento elétrico efetivo são extensão dos membros, opistótono, rotação ventral do globo ocular, espasmos tônicos seguidos de clônicos, com eventual flacidez muscular. Deve ser seguida de eletrocussão para indução de fibrilação ventricular, exsanguinação ou outro método que garanta a morte.

8.14.19. Eletrocussão

8.14.19.1. Realizada com corrente alternada, causa morte por fibrilação cardíaca, seguido de hipóxia cerebral. Como a perda da consciência ocorre apenas em até 30 segundos após a fibrilação, só é aceito desde que o animal esteja previamente inconsciente, por outro método, inclusive eletronarcose. Não pode ser usado como método único e sempre tem de ser precedido por outro método que cause inconsciência prévia.

8.14.19.2. *Vantagens*: é considerado humanitário, se os animais estiverem previamente inconscientes; não contamina o material biológico; custo baixo.

8.14.19.3. *Desvantagens:* risco ao operador; pouco útil para um grande número de animais; visualmente desagradável pelas contrações musculares espásticas; pode não ser confiável em causar a morte, principalmente em animais abaixo de 5 kg, pois pode haver restabelecimento do batimento cardíaco; inadequado para animais com carapaça (e. g. tatus, jabotis).

8.14.19.4. *Recomendações*: requer habilidade do operador e equipamento adequado que garanta passagem suficiente de corrente elétrica no cérebro; aceito com restrições mesmo que se leve em conta as considerações anteriores; as especificações do equipamento variam de espécie para espécie; usado em ovinos e suínos para fins comerciais. Só é aceito como método complementar, após a confirmação da inconsciência. Neste caso, pode ser aceito com restrição em coelhos, ruminantes, equídeos e suínos.

9. Especificação dos métodos de eutanásia por grupo taxonômico

9.1. Coelhos com peso inferior a 1 kg, camundongos, hamsters, ratos e cobaias – ordens Lagomorfa e Rodentia.

9.1.1. Fetos e neonatos de roedores e lagomorfos

9.1.1.1. O reconhecimento da maturidade do SNC é o balizador para a escolha do método adequado de eutanásia a ser empregado quando o trabalho envolva fetos de animais. Os conceptos que se encontram na fase de desenvolvimento do SNC, no qual sejam capazes de processar estímulos dolorosos, necessitam de tratamento técnicocientífico adequado para minimizar esses estímulos.

9.1.1.2. Em fetos de camundongo, rato e hamster até o 14º dia de gestação, a eutanásia da mãe ou a remoção do feto assegura morte rápida, pela perda do suprimento sanguíneo. Na cobaia, esse período é estendido até o 34º dia de gestação. A partir dessa fase (15º dia de gestação de camundongo, rato e hamster ou do 35º dia em cobaias), recomendam-se as mesmas técnicas consideradas para os animais adultos. Sempre que possível, o método de escolha para a eutanásia da mãe deve assegurar anóxia cerebral rápida para o feto. 9.1.1.3. Para roedores e lagomorfos neonatos de até sete dias, a decapitação com instrumentos que apresentem lâminas adequadas é um método aceito com restrição.

9.1.2. Animais jovens e adultos

9.1.2.1. Camundongos, hamsters, ratos ou cobaias podem ser colocados em uma caixa hermeticamente fechada, com algodão embebido com halotano, isofluorano ou sevofluorano, desde que não haja contato direto do animal com o algodão. Esta deve ser transparente para a visualização do momento do óbito do animal, confirmado a seguir pela ausência de reflexo corneal e batimentos cardíacos.

9.1.2.2. Os anestésicos gerais injetáveis, administrados por via intraperitoneal, também são aceitos quando usados em sobredoses a partir de três vezes a dose requerida para a anestesia geral, em todas as espécies deste item.

9.1.2.3. Também é aceito para eutanásia a sobredosagem da associação de anestésicos dissociativos (e.g. cetamina) com agonistas de adrenorreceptores alfa-2 (exemplo: xilazina), administrada pelas vias intravenosa, intraperitoneal ou intramuscular.

9.1.2.4. A exsanguinação pode ser feita por punção cardíaca, desde que o animal esteja sob efeito de anestesia geral.

9.1.2.5. O deslocamento cervical, a decapitação, o uso de microondas são aceitos com restrição, desde que o objetivo do estudo seja incompatível pelo uso de anestésicos gerais injetáveis ou inalatórios. Nestes casos excepcionais o pesquisador deve justificar e comprovar a qualificação do executor.

9.1.2.6. Os métodos são aceitos com restrição, só podem ser utilizados quando o objetivo do estudo seja incompatível com o uso de anestésicos gerais injetáveis ou inalatórios. Nestes casos.

9.1.2.7. O uso de CO2 é aceito para descarte de roedores em instalações animais de produção,desde que as instalações possuam equipamentos adequados para executar as exigências impostas por essa diretriz.

9.2. Coelhos com peso superior a 1 kg, cães, gatos e furões – ordens Lagomorfa e Carnívora e gambás, cuícas e cangurus - infraclasse Marsupialia.

9.2.1. O método aceito e mais indicado é a sobredosagem de anestésicos gerais por via intravenosa ou em segunda opção sobredosagem de anestésicos inalatórios. Em neonatos ou animais muito pequenos, em que não seja possível a canulação venosa, pode-se utilizar a via intraperitoneal em casos excepcionais.

9.2.2. No caso de coelhos de peso superior a 1 kg, a exsanguinação pode ser feita por punção cardíaca desde que o animal esteja sob efeito de anestesia geral.

9.3. Equídeos – ordem Perissodactila

9.3.1. Dentre os métodos químicos, o mais indicado é o uso de um sedativo, como derivados fenotiazínicos ou agonistas de adrenorreceptor alfa-2, entre outros, especialmente em animais indóceis, seguidos de sobredosagem de tiopental sódico ou outros anestésicos gerais intravenosos. Esses anestésicos podem ser previamente associados a éter gliceril guaiacol e/ou hidrato de cloral e/ou associação de benzodiazepínicos, como o diazepam ou midazolam e anestésicos dissociativos, como a cetamina. Dada à necessidade de grandes volumes de injeção, deve-se introduzir previamente um cateter intravenoso para evitar injeções extravasculares. Após confirmação da inconsciência e perda do reflexo corneal, esses métodos podem ser complementados por injeção de lidocaína na cisterna magna ou cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa e/ou ainda eletrocussão.

9.3.2. Em casos excepcionais, em situações a campo, em animais com injúria intensa e sob extremo sofrimento, na ausência de disponibilidade de anestésicos gerais, pode se considerar o uso de armas de fogo ou pistola de dardo cativo ou de

insensibilização para eutanásia, desde que executados por profissionais experientes e habilitados.

9.4. Ruminantes e suínos – ordem Artiodactila

9.4.1. Ruminantes

9.4.1.1. Para ruminantes, os métodos recomendados são a sedação, normalmente com agonistas de adrenorreceptor alfa-2, seguida de barbitúricos ou outros anestésicos gerais intravenosos. Esses anestésicos podem ser previamente associados a éter gliceril guaiacol e/ou hidrato de cloral e/ou associação de benzodiazepínicos, como o diazepam ou midazolam e anestésicos dissociativos, como a cetamina. Dada à necessidade de grandes volumes de injeção, deve-se introduzir previamente um cateter intravenoso para evitar injeções extravasculares. Após confirmação da inconsciência e perda do reflexo corneal, esses métodos podem ser complementados por injeção de lidocaína na cisterna magna, ou cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.

9.4.1.2. Para as espécies silvestres, quando não há possibilidade de contenção física prévia, pode-se utilizar fármacos que produzam contenção química por meio de dardos anestésicos.

9.4.1.3. Os métodos aceitos com restrição nessas espécies são a eletrocussão precedida de anestesia geral; pistola de dardo cativo ou ainda insensibilização por ar comprimido ou atordoamento elétrico (eletronarcose), seguidos de outro método que assegure a morte. Esses métodos só devem ser realizados por operador experiente e habilitado.

9.4.2. Suínos

9.4.2.1. Nessas espécies deve-se utilizar sedação, que pode ser dispensada para os neonatos, seguida de barbitúricos por via intravenosa, ou intraperitoneal, nos recém-nascidos, outros anestésicos gerais intravenosos ou ainda, anestésicos inalatórios. Antes da administração dos anestésicos gerais intravenosos, pode-se induzir a anestesia com a associação de benzodiazepínicos, como o diazepam ou midazolam e anestésicos dissociativos, como a cetamina. Estes métodos devem ser utilizados até a confirmação da morte ou seguidos de outros métodos para assegurar a morte, como a administração de cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa. Os métodos aceitos com restrição são os mesmos para os ruminantes.

9.5. Animais selvagens

9.5.1. Além das considerações estabelecidas anteriormente, os animais selvagens apresentam características especiais que devem ser levadas em conta, no que concerne a espécie, tamanho, condições de segurança, experiência dos profissionais e localização dos animais (na natureza ou em cativeiro). As diferenças anatômicas são fatores importantes para a contenção mecânica, acesso ao sistema nervoso, quando se trata de métodos físicos e vias de administração, particularmente o acesso venoso. A experiência dos profissionais com a espécie é muito importante para o procedimento. Quando

aplicável, o manuseio e transporte dos animais para outros locais devem assegurar o máximo cuidado para evitar dor e sofrimento.

9.5.2. Para animais selvagens de vida livre, parte dos métodos sugeridos anteriormente não é praticável. Entretanto, as mesmas considerações humanitárias dos animais em cativeiro devem ser levadas em conta, no sentido de se evitar a dor e o sofrimento. Em alguns casos, o uso de zarabatanas ou pistolas para atirar dardos contendo fármacos são extremamente úteis para contenção química, para que, a seguir, seja realizada a eutanásia de acordo com os métodos anteriormente citados para animais domésticos ou de laboratório. Neste caso, é fundamental a qualificação prévia do executor e o ambiente deveria ser evacuado de expectadores, quando for o caso. Em situações extremas, em que não seja possível aproximar-se dos animais para o uso de dardos, pode-se lançar mão de armadilhas específicas para a espécie ou mesmo usar arma de fogo. Da mesma forma, os executores que realizam o procedimento devem ter experiência com ambas as técnicas e deve-se atender à legislação para o porte de armas de fogo.

9.5.3. O uso de jaulas de contenção, em que os animais são pressionados por uma parede móvel, é útil para realizar injeções de anestésicos em animais previamente capturados.

9.6. Aves – classe Aves

9.6.1. O método de escolha é o uso de anestésicos gerais intravenosos. No caso do barbitúrico, também pode ser administrado por via intraperitoneal.

9.6.2. Como segunda opção, pode-se utilizar anestésicos inalatórios em espécies que não retenham a respiração. Para as aves de vida livre que apenas podem ser acessadas nas copas das árvores, pode se realizar a coleta de espécimes por meio de tiro com armas de fogo. Para as aves de pequeno porte de vida livre (com peso inferior a 50 gramas), é aceitável usar a compressão torácica nas condições descritas anteriormente.

9.6.3. Desde que os métodos anteriores comprovadamente interfiram nos resultados da pesquisa, ou quando os animais utilizados na pesquisa forem provenientes ou destinados ao abate, devem-se utilizar os métodos de abate humanitário preconizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ou outro substitutivo legal, ou seja, o uso de CO_2 ou eletronarcose em pequenas aves ou galinhas, seguido de exsanguinação ou outro método que assegure a morte. Aves grandes devem ser submetidas à eutanásia, utilizando-se anestésicos gerais, como anteriormente descrito, ou em casos excepcionais pistolas de atordoamento ou de dardo cativo.

9.7. Anfíbios, peixes e répteis – classes Lissamphibia, Actinopteri (peixes ósseos) e Chondrichthyes (peixes cartilaginosos) e Reptilia

9.7.1. Devem-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.

9.7.2. Quando possível, em peixes, deve ser realizar a eutanásia em duas etapas: 1) anestesia até perda do equilíbrio e 2) seguido de um método físico ou químico que

cause a morte cerebral. Os métodos físicos como a concussão (atordoamento), usados na aquicultura comercial, só devem ser utilizados após a anestesia, exceto quando os animais se encontrarem sob situação de estresse extremo em que o tempo até o preparo da anestesia resultar em sofrimento prolongado.

9.7.3. Em peixes, quando, por questões de comprovada incompatibilidade experimental, diante da total impossibilidade de uso de outros métodos que possam comprovadamente interferir nos resultados da pesquisa e o uso de anestésicos não for possível, o método físico deve assegurar rápida destruição do cérebro por perfuração ou esmagamento após o atordoamento. A eletrocussão não deve ser usada dada a possibilidade de fraturas espinhais e danos musculares.

9.7.4. Em 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.

9.7.5. Agentes injetáveis

9.7.5.1. Os barbitúricos podem ser utilizados por via intravenosa ou intraperitoneal, quando da impossibilidade da injeção intravenosa, a depender das características anatômicas (60 a 100 mg/kg de pentobarbital ou tiopental). Os espaços linfáticos subcutâneos podem ser utilizados para administrar barbitúricos em anfíbios. O animal deve ser acompanhado até a confirmação do óbito.

9.7.5.2. Os anestésicos gerais, como os barbitúricos, propofol, etomidato e metomidato, administrados por via intravenosa, podem ser utilizados em sobredosagem ou para produzir anestesia, antes de se usar outro método para eutanásia, como, por exemplo, o uso de métodos físicos.

9.7.5.3. Anestésicos locais, como a lidocaína ou bupivacaína, deprimem o sistema nervoso central de anfíbios e répteis e podem causar inconsciência e morte. Assim, podem ser usados para se obter eutanásia na forma injetável nos sacos linfáticos. Para anfíbios pode-se também fazer uso tópico, para absorção trans-cutânea.

9.7.5.4. Pode-se ainda induzir a morte de anfíbios com uma injeção intra craniana - via forame magno – de anestésico local. Essa via de inoculação permite a imobilização e dessensibilização quase imediatamente após o término da inoculação. Devem ser utilizadas agulhas hipodérmicas 0,45x13 ou 0,38x13, similares as empregadas para administrar insulina. O procedimento requer adequada imobilização manual do animal. Para espécimes de maior porte podem ser necessárias duas pessoas para a contenção do animal. Introduz-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.

9.7.6. Agentes externos

9.7.6.1. Os agentes utilizados para imersão são indicados para peixes e anfíbios, dados à praticidade e possibilidade de eutanásia simultânea de um grupo de animais. Em diversas ocasiões, estes métodos devem ser seguidos de outros métodos físicos ou

químicos para assegurar a morte cerebral. Pode ser um método de uso difícil em peixes que respiram ar ambiente ou que retêm a respiração.

9.7.6.2. O sulfonato metano de tricaína ou MS222 pode ser administrado por diversas vias para causar a morte. Para peixes e anfíbios pode ser colocado na água. Os peixes grandes podem ser removidos da água e pode-se esguichar uma solução concentrada da substância sob as brânquias. Dada a acidez do fármaco, quando usado em concentrações superiores a 500 mg/L, a solução pode 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.

9.7.6.3. 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.

9.7.6.4. A benzocaína, similar a tricaína, 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. Por outro lado, o hidrocloridrato de benzocaína é hidrossolúvel e pode ser usado diretamente para anestesia ou eutanásia. Os peixes devem ser mantidos imersos na solução por pelo menos 10 minutos após cessar o movimento opercular.

9.7.6.5. Soluções de lidocaína ou bupivacaína, ou mesmo sua forma em gel, podem ser aplicadas nos anfíbios. Causam rápida dessensibilização local, seguida de efeitos depressivos no SNC, com inconsciência e parada cardiorrespiratória. O método é de fácil acesso e baixo custo, além da estabilidade e segurança em trabalhar. 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.

9.7.6.6. O eugenol e o óleo de cravo da Índia podem ser utilizados para eutanásia de peixes. O óleo de cravo da Índia contém de 70 a 90% de eugenol. O eugenol, da classe dos fenilpropanoides, causa bloqueio neuromuscular competitivo, aparentemente potencializa o acido gama aminobutirico (GABA) e é antagonista de receptores NMDA. É pouco solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos, como o álcool.

9.7.6.7. O 2-fenoxietanol é aceito com restrição em peixes, desde que os outros métodos recomendáveis interfiram comprovadamente nos resultados da pesquisa. O_2-fenoxietanol pode ser usado em concentrações de 0,5 a 0,6 mL/L ou 0,3 a 0,4 mg/L para causar a morte em peixes. 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.

9.7.6.8. A hipotermia é aceita com restrição em espécies de peixes estenotérmicos tropicais e subtropicais de pequeno porte, desde que os protocolos detalhados no item 9.7.4.1 sejam seguidos, que outros métodos aceitos cientificamente comprometam os resultados da pesquisa e que a justificativa seja detalhada na proposta submetida a análise pela Ceua da Instituição.

9.7.7. Agentes inalatórios

9.7.7.1. 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. Desta forma, a indução da anestesia inalatória, perda da consciência e tempo até a morte são muito prolongados. Os 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.

9.7.7.2. No caso de peixes, os anestésicos inalatórios podem ser borbulhados na água. Entretanto, mensurar a concentração é difícil e a volatilização pode contaminar o ambiente. Para isso, deve-se criar um mecanismo antipoluição, para que o operador não tenha contato com os gases. Normalmente, deve-se utilizar uma concentração de cinco a dez vezes a utilizada para anestesia.

9.7.7.3. 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. Os anestésicos podem ser diluídos diretamente na água ou administrados por sistemas de circulação ou sem circulação. No último caso, o anestésico passa apenas uma vez pelas brânquias e depois é descartado, enquanto que, no caso de circulação, o mesmo é recolhido num reservatório e novamente utilizado, para evitar o desperdício e contaminação ambiental. Em ambos os sistemas, a água, que contém o anestésico, é 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.

9.7.8. Métodos físicos

9.7.8.1. De forma geral, os métodos físicos devem ser complementares a outros métodos e podem ser usados apenas após os animais se apresentarem inconscientes. Quando usados, a morte deve ser confirmada e, quando necessário, deve-se complementar com outro método para assegurar a morte.

9.7.8.2. A decapitação é aceita com restrição em pequenos anfíbios e em pequenos répteis é apenas aceita com restrição após atordoamento. Em ambos os casos, este método é aceito com restrição em condições excepcionais, 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. Como o SNC de peixes, anfíbios e répteis é tolerante à hipóxia e hipotensão, a perfuração do crânio deve ser realizada imediatamente após a decapitação.

9.7.8.3. 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. Nesses casos é fundamental o posicionamento correto para o alvo.

9.7.8.4. A maior parte de peixes, anfíbios e répteis pode ser submetida à perfuração craniana ou outro método físico, apenas após a indução da inconsciência. A secção ou perfuração da medula espinhal caudal ao crânio pode ser usada em alguns

animais ectotérmicos, entretanto, a morte só ocorre quando o cérebro é perfurado. Para estes animais, esta técnica deve ser seguida de decapitação e perfuração craniana ou por outro método. A perfuração necessita de destreza e habilidade e deve ser realizada apenas por executor com garantida qualificação e competência. 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.

9.7.8.5. Resfriamento e congelamento

9.7.8.5.1. Apesar da refrigeração à temperatura de 4oC reduzir o metabolismo e facilitar o manuseio, não há evidência que este processo minimize a dor. Não é um método recomendável nem sob a forma de congelamento rápido, dada à formação de cristais de gelo na pele e tecidos, o que causa dor e sofrimento. O congelamento rápido só é aceito quando os animais já tiverem sido anestesiados e, por conseguinte, estarem inconscientes.

9.7.8.5.2. Para as espécies de peixes estenotérmicos tropicais ou subtropicais de pequeno porte, o método recomendável é a imersão em anestésico (ex.: benzocaína e tricaína) dissolvido em água, mantendo-se por até 10 minutos após cessar os movimentos operculares. Excepcionalmente, quando esse método interferir nos resultados do estudo, a eutanásia do animal é aceita com restrição por resfriamento rápido (2º a 4ºC) 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". Os peixes estenotérmicos tropicais ou subtropicais de pequeno porte adultos podem ser imersos em água com gelo (0º a 4ºC) por 10 minutos até a perda de movimentos operculares ou no caso de difícil visualização do movimento opercular, como em larvas de 4-7 dpf por 20 minutos após cessar qualquer movimento para assegurar a morte por hipoxia. No caso das larvas de até 15 dpf, para se assegurar o óbito dos dois métodos descritos anteriormente, deve-se adicionar 1 parte de 6,15% de hipoclorito de sódio para cinco partes de água. Em caso de embriões < 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.

9.8. Mamíferos aquáticos

9.8.1. Os mamíferos aquáticos merecem atenção especial devido às adaptações anatômicas e fisiológicas para a vida no ambiente aquático. Deve-se considerar o tamanho e os grupos taxonômicos. O uso de barbitúricos por via intravenosa é indicado para a eutanásia de pequenos pinípedes, pequenos cetáceos e sirênios. Em grandes cetáceos, podem-se utilizar métodos químicos como a sobredosagem de anestésicos gerais injetáveis, como os barbitúricos, associados ou não a outros agentes, como, por exemplo, o cloreto de potássio. Os opióides potentes (etorfina ou carfentanil) são os agentes mais indicados para cetáceos de grande porte e megavertebrados terrestres, como elefantes, rinocerontes e girafas. Há um grande risco ao executor que realiza o procedimento, dada a grande potência desses opióides, já que em casos de injeções acidentais podem causar a morte do profissional.

9.8.2. Pode-se considerar o uso de arma de fogo em situações de campo, diante da inviabilidade de outros métodos. Deve ser empregado por um operador experiente e

habilitado no manuseio da arma. Deve-se evitar a presença de público e, quando isto não for possível, o mesmo deve ser instruído a respeito dos riscos e implicações visuais desagradáveis.

9.8.3. A arma de fogo e seu porte devem estar legalizados pelas autoridades competentes e os calibres devem ser compatíveis com o grupo taxonômico.

9.8.4. Todos os métodos, principalmente quando utilizados em animais de vida livre de grande porte, devem considerar a segurança da equipe envolvida no procedimento e da população.

10. Considerações finais e conclusões

10.1. A eutanásia envolve considerações técnicas e éticas. O método deve garantir a inconsciência antes de qualquer sofrimento físico e mental. De forma geral, o melhor método é a sobredosagem de anestésicos gerais, principalmente os barbitúricos, iniciando-se a partir de três vezes a dose necessária para anestesiar a espécie alvo, com o aumento da dose, caso necessário, até a observação do óbito.

10.2. Estas recomendações se baseiam no conhecimento científico atual, que podem sofrer modificações ao longo do tempo, com inclusão ou exclusão de distintas técnicas. Todos os métodos apresentam seus prós e contras que devem ser pesados para alcançar os objetivos da eutanásia e do procedimento. A observação da legislação vigente, o bom senso e a análise crítica dos profissionais envolvidos e da Comissão de Ética da Instituição são fundamentais. Os membros das Comissões de Ética da Instituição devem ter a oportunidade de presenciar os métodos aprovados pela Comissão para entender as implicações dos procedimentos nos animais e os impactos nos envolvidos, no que concernem os aspectos de risco físico, danos psíquicos e potencial de abuso de substâncias entorpecentes.

10.3. O uso de agentes e métodos já em uso no Brasil e exterior, porém, não descritos nestas recomendações, não podem ser utilizados. Métodos novos que sejam lançados após a publicação destas Diretrizes, só podem ser utilizados desde que comprovados os mecanismos de ação de forma científica, em literatura de impacto internacional e respeitados os preceitos aqui estabelecidos, ou seja, se forem rápidos e não causarem dor ou sofrimento. Em casos de dúvida, a Comissão de Ética deve consultar o Concea.

11. Referências

Australian Code of practice for the care and use of animals for scientific purposes.

84p. 2004 -

AVMA. Report of the AVMA panel on euthanasia. 2013.

Canadian Council of Animal Care guidelines on euthanasia of animals used in science – 2010 - http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Euthanasia.pdf

Canadian Council of Animal Care guidelines on: the care and use of wildlife. 66p. 2003 - http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Wildlife.pdf

Canadian Council of Animal Care guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing, 87p. 2005 - http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Fish.pdf

Close, B. et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. Laboratory Animals, v. 30, 293-316, 1996 - http://la.rsmjournals.com/content/30/4/293.full.pdf

Close, B. et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. Laboratory Animals, v. 31, p.1-32, 1997. http://la.rsmjournals.com/content/31/1/1.full.pdf

Close, B., Banister, K; Baumans, V.; Bernoth, E-M.; Bromage, N.; Bunyan, J.; Erhardt, W.; Flecknell, P.; Gregory, N., Hackbarth, H.; Morton, D.; Warwick, C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. LaboratoryAnimals, v.31, p.1-32, 1997.

Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1000, de 11 de ,maio de 2012 Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_1000.pdf

Directive 2010/63/EU of The European Parliament and of The Council on the protection of animals used for scientific purposes of 22 September 2010. Official Journal of the European Union L 276/33-79.

Guide for the care and use of laboratory animals, 8th ed. – National Research Council (EUA) – 2011 - http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guide-for-the-Care-and-Use-of-Laboratory-Animals.pdf

Humane endpoints, disponível em https://www.nc3rs.org.uk/humane-endpoints

IACUC Guideline Humane Intervention and Endpoints for Laboratory Animal Species, University of Pennsylvania, disponível em http://www.upenn.edu/regulatoryaffairs/Documents/iacuc/guidelines/iacucguideline-humaneendpoints-8%2023%2011.pdf

Luna, S. P. L. & Teixeira, M. W. Eutanásia: considerações éticas e indicações técnicas. Revista CFMV (Brasília), v.13, p.60 - 69, 2007.

Matthews M and Varga Z. (2012) Anesthesia and Euthanasia in Zebrafish ILAR Journal 53(2):192-204.

National Institutes of Health (2009) Final Report to OLAW on Euthanasia of Zebrafish. Report of the ACLAM Task Force on Rodent Euthanasia – 2005 -

Sebben, A. Microdissecação fisiológica a fresco: uma nova visão sobre a anatomia de anfíbios e répteis. In: Nascimento, L. B. & Oliveira, M. E. (eds.). (Org.). Herpetologia no Brasil II. 1ed. Belo Horizonte – MG: Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2007, v. 1, p. 311-325.

Svendsen, O., Kok, L., Lauritzen, B. Nociception after intraperitoneal injection of a sodium pentobarbitone formulation with and without lidocaine in rats quantified by expression of neuronal c-fos in the spinal cord – a preliminary study. Laboratory Animals (2007) 41, 197–203.

University of Oregon (2008) Final Report to OLAW on Euthanasia of Zebrafish.

Vieira, A. M. L., Almeida, A. B., Magnabosco, C., Ferreira, J. C. P., Carvalho, J. L.B., Gomes, L. H., , Reichman, M. L., Paranhos, N. T., Garcia, R. C., Luna, S. P. L, Nunes, V. F. P., Cabral, V. B. Programa de controle de populações de cães e gatos do estado de São Paulo. Boletim Epidemiológico Paulista, Suplemento 7, v.6, 162p., 2009. Disponível em ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/bepa_suple7v6_caesgatos.pdf.

West, G., Heard, D. J., Caulkett, N. Zoo animal and wildlifeimmobilization and anesthesia. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 1st ed. ISBN-13: 978-0-8138-2566-3/2007. 2007, 718p.

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupo taxonômico*

Classe/Ordem/Nome comum	**Método**
Classe Lissamphibia - Anfíbios *(de acordo com a espécie) - exemplo sapo*	
Recomendáveis	Sulfonato metano de tricaína (TSS ou MS222)
	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).
	Barbitúricos (como, por exemplo, o tiopental e o pentobarbital) por injeção intravenosa ou injetados nos sacos linfáticos subcutâneos ou intra-abdominal
	Anestésicos gerais intravenosos (exemplo: propofol)
	Anestésicos inalatórios (para espécies que não retêm a respiração, seguido de outro método de eutanásia)
Aceitos com restrição	Decapitação e perfuração craniana
	Atordoamento e decapitação em animais de porte pequeno com equipamento tipo guilhotina (não pode ser realizada com tesoura ou lâmina)
	Pistola de ar comprimido ou de dardo cativo
Inaceitáveis	CO_2, CO e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Classe/Ordem/Nome comum	Método
Classe Aves *(de acordo com a espécie)*	
Recomendáveis	Barbitúricos intravenoso ou intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa)
	Anestésicos gerais por via intravenosa (e.g. propofol)
	Anestésicos inalatórios seguidos, quando necessário, de outros métodos que assegurem a morte
	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
Aceitos com restrição	Deslocamento cervical (apenas em aves até 3 kg)
	Tiro com arma de fogo (em animais de vida livre, principalmente os de hábitos em copas das árvores, em condições a campo e realizado por atirador habilitado)
	Pistola de dardo cativo para grandes aves
	Pistola de ar comprimido para grandes aves, seguido de outros métodos para assegurar a morte
	CO_2 desde que sejam seguidas as recomendações desta diretriz referentes ao item 8.1.1.2
	Nitrogênio ou argônio
	Decapitação com equipamento de uso específico e comercialmente disponível tipo guilhotina (não pode ser realizada com tesoura ou lâmina)
	Atordoamento por eletronarcose, seguido de exsanguinação ou de outro método que assegure a morte
	Compressão torácica (apenas em aves de vida livre com peso inferior a 50 gramas)
Inaceitáveis	Atordoamento isoladamente, CO, maceração para pintos e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Classe/Ordem/Nome comum	Método
Classes Actinopteri (Peixes ósseos) e Chondrichthyes (Peixes cartilaginosos)	
Recomendáveis	Benzocaína ou outro anestésico local (imersão)
	Sulfonato metano de tricaína (TSS ou MS222) (imersão)
	Óleo de cravo da Índia ou eugenol (imersão)
	Barbitúricos por via intraperitoneal
	Anestésicos gerais (propofol, etomidato, metomidato) via intravenosa
	Anestésicos inalatórios, seguido de outro método para assegurar a morte
Aceitos com restrição	Atordoamento ou anestesia geral e decapitação
	Atordoamento e destruição do cérebro (perfuração craniana)
	Atordoamento e secção da medula espinhal
	2-fenoxietanol (imersão)
	Atordoamento por eletronarcose, seguido de exsanguinação ou de outro método que assegure a morte
	Congelamento com nitrogênio líquido para pequenos peixes [até 200 mg (0,2 g)]
	Imersão em gelo e água (apenas espécies de peixes estenotérmicos tropicais e subtropicais de pequeno porte seguindo os protocolos detalhados no item 9.7.4.1)
Inaceitáveis	Deslocamento cervical, decapitação/secção da medula espinhal, hipotermia, maceração, CO_2 e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Classe Mammalia (Mamíferos)	
Ordem Rodentia - Roedores e pequenos mamíferos – camundongos, ratos, hamster, gerbil, cobaios	
Recomendáveis	Barbitúricos intravenoso ou intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa)
	Anestésicos gerais intravenosos (exemplo propofol)
	Anestésicos inalatórios (e. g. isofluorano)
	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 (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa)
	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
Aceitos com restrição	CO_2, desde que sejam seguidas as recomendações desta diretriz referentes ao item 8.1.1.2
	Deslocamento cervical (ratos <150 g, camundongos)
	Decapitação com equipamentos comerciais de uso específico tipo guilhotina (lâminas e tesouras afiadas apenas em neonatos)
	Micro-ondas específicos para esta finalidade (não é aceito micro-ondas de uso doméstico)
	Congelamento rápido ou nitrogênio líquido para fetos e neonatos de ratos e camundongos
	Atordoamento, seguido de exsanguinação (apenas em animais silvestres em situações de campo)
Inaceitáveis	Éter, clorofórmio, nitrogênio, argônio e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Ordem Lagomorpha – Coelhos	
Recomendáveis	Barbitúricos intravenoso ou intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa)
	Anestésicos gerais intravenosos (e. g. propofol)
	Anestésicos inalatórios, seguido, se necessário, de outros métodos para assegurar a morte
	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
	Exsanguinação por punção cardíaca após anestesia geral
Aceitos com restrição	Deslocamento cervical (<1 kg), apenas se previamente anestesiado
	Decapitação com equipamento de uso específico tipo guilhotina (<1 kg); não pode ser realizada com tesoura ou lâmina
	Atordoamento por eletronarcose, seguido de outro método que assegure a morte
	Pistola de insensibilização ou dardo cativo, seguido de outro método que assegure a morte, em condições a campo e realizado por operador experiente e capacitado (animais selvagens)
Inaceitáveis	Atordoamento e deslocamento cervical (>1kg), CO_2, nitrogênio, argônio, CO e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Classe Mammalia (Mamíferos)	
Ordem Carnivora (Famílias Felidae – gatos, Canidae - cães e Mustelidae – furões) e infraclasse Marsupialia (gambás, cuícas, cangurus)	
Recomendáveis	Barbitúricos por via intravenosa ou intraperitoneal (apenas em animais muito pequenos ou recém-nascidos pela impossibilidade de injeção intravenosa)
	Anestésicos gerais por via intravenosa (e. g. propofol)
	Anestésicos inalatórios, seguido, se necessário, de outros métodos para assegurar a morte
	Após a perda do reflexo corneal, os métodos acima podem ser complementados por: injeção de lidocaína na cisterna magna ou cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa
Aceitos com restrição	Eletrocussão, precedida de anestesia geral com perda de reflexo corneal
	Tiro com arma de fogo em condições de campo, exclusivamente para animais selvagens
Inaceitáveis	Nitrogênio, argônio, CO_2, CO, atordoamento, e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupo taxonômico* (continuação)

Classe/Ordem/Nome comum	Método
Classe Mammalia (Mamíferos)	
Ordem Artiodactila – Ruminantes – bovinos, caprinos e ovinos	
Recomendáveis	Sedação, se necessária, seguida de barbitúricos ou outros anestésicos gerais intravenosos. Esses anestésicos podem ser previamente associados a éter gliceril guaiacol e/ou hidrato de cloral e/ou combinação de benzodiazepínicos, como o diazepam ou midazolam e anestésicos dissociativos, como a cetamina. Após confirmação da inconsciência e perda do reflexo corneal, esses métodos podem ser complementados por injeção de lidocaína na cisterna magna, ou cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.
Aceitos com restrição	Eletrocussão, precedida de anestesia geral com perda de reflexo corneal
	Pistola de dardo cativo ou de insensibilização por ar comprimido (neste caso, seguido de exsanguinação), realizado por operador experiente.
	Atordoamento elétrico (eletronarcose), seguido de outro método que assegure a morte
	Tiro com arma de fogo (apenas em condições a campo e realizado por atirador experiente e habilitado)
Inaceitáveis	Atordoamento por concussão e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Ordem Artiodactila – Suínos	
Recomendáveis	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
	Anestésicos inalatórios, com confirmação da morte ou seguido de outros métodos, para confirmar a morte
Aceitos com restrição	Eletrocussão, precedida de anestesia geral com perda de reflexo corneal
	Pistola de ar comprimido ou de dardo cativo, seguido de exsanguinação ou de outro método que assegure a morte (em condições a campo e realizado por operador experiente)
	Atordoamento elétrico (eletronarcose), seguido de outro método que assegure a morte (realizado por operador experiente)
	Tiro com arma de fogo (apenas em condições a campo e realizado por atirador experiente e habilitado)
Inaceitáveis	Argônio, CO_2, perfuração craniana, CO e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupo taxonômico* (continuação)

Classe/Ordem/Nome comum	Método
Classe Mammalia (Mamíferos)	
Ordem Perissodactila (equídeos ou outros como os Tapiridae e Rhinocerotoidea)	
Recomendáveis	Sedação, se necessária, seguida de barbitúricos ou outros anestésicos gerais intravenosos. Esses anestésicos podem ser previamente associados a éter gliceril guaiacol e/ou hidrato de cloral e/ou combinação de benzodiazepínicos, como o diazepam ou midazolam e anestésicos dissociativos, como a cetamina. Após confirmação da inconsciência e perda do reflexo corneal, esses métodos podem ser complementados por injeção de lidocaína na cisterna magna, ou cloreto de potássio associado ou não a bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.
Aceitos com restrição	Pistola de insensibilização por ar comprimido ou de dardo cativo, seguido de outro método que assegure a morte (apenas em condições a campo e realizado por operador experiente)
	Tiro com arma de fogo (apenas em condições a campo e realizado por atirador experiente e habilitado)
	Eletrocussão, precedida de anestesia geral com perda de reflexo corneal
Inaceitáveis	Atordoamento por concussão e outros métodos não descritos nesta diretriz
Mamíferos marinhos	
Recomendáveis	Barbitúricos intravenoso, seguido ou não de exsanguinação
	Etorfina ou carfentanil
Aceitos com restrição	Arma de fogo (apenas em condições a campo e realizado por pessoa habilitada e experiente)
Ordem Primata - Primatas não humanos – macacos	
Recomendáveis	Barbitúricos por via intravenosa
	Anestésicos gerais intravenosos (exemplo propofol)
	Sedação profunda, seguida de anestésicos inalatórios e, quando necessário, seguido de outros métodos para confirmação da morte
Inaceitáveis	CO_2, CO, nitrogênio, argônio e outros métodos não descritos nesta diretriz

Tabela 1: Agentes e métodos de eutanásia por grupos taxonômicos* (continuação)

Classe Reptilia	
Répteis (tartarugas, jabotis, serpentes, lagartos)	
Recomendáveis	Barbitúricos por via intravenosa ou intraperitoneal (em casos excepcionais quando da impossibilidade de administração intravenosa)
	Anestésicos gerais intravenosos (exemplo: propofol)
	Anestésicos inalatórios (para espécies que não seguram a respiração, seguido de outro método de eutanásia)
Aceitos com restrição	Pistola de dardo cativo (espécies maiores)
	Atordoamento seguido de decapitação e perfuração craniana (apenas em condições a campo)
	Tiro com arma de fogo (apenas crocodilianos)
Inaceitáveis	CO_2 e outros métodos não descritos nestas diretrizes

* ***Métodos recomendáveis*** causam pouco ou nenhum sofrimento e causam a morte de forma humanitária quando usados de forma isolada.
* ***Métodos aceitos com restrição*** não atendem todos os critérios ideais, requerem habilidade e técnica, podem apresentar considerações ocupacionais de saúde e segurança ou podem não apresentar documentação científica conclusiva – apenas podem ser aceitos pela CEUA, se: plenamente justificados para o objetivo científico, ou seja, forem insubstituíveis por outros métodos que comprometam os resultados experimentais; o responsável apresentar comprovada habilidade e qualificação para o emprego do método e se for considerado o devido cuidado à saúde e à segurança ocupacionais.
* ***Métodos inaceitáveis*** não se enquadram nos critérios ideais, não são humanitários ou apresentam outros problemas significativos associados ao seu uso.

Tabela 2: Métodos de eutanásia e suas características.

Agente	Modo de ação	Tempo até efeito	Praticidade	Segurança	Recomendável	Aceitos com restrição	Eficácia e comentários
Barbitúricos*	Depressão direta do córtex cerebral, estruturas subcorticais e centros vitais, depressão do miocárdio, hipóxia	Rápido para anestesia	Contenção necessária, habilidade para injeção	Seguro, exceto pela possibilidade de uso como entorpecente, controle pela vigilância sanitária	Todos os grupos taxonômicos	Não se aplica	Altamente efetivo
Outros anestésicos gerais intravenosos* (e.g. propofol)	Depressão direta do córtex cerebral, estruturas subcorticais e centros vitais, depressão do miocárdio, hipóxia	Rápido para anestesia	Contenção necessária, habilidade para injeção	Seguro, exceto pela possibilidade de uso como entorpecente, controle pela vigilância sanitária	Todos os grupos taxonômicos	Não se aplica	Altamente efetivo
Outros anestésicos gerais injetáveis* (e.g. metomidato)	Depressão direta do córtex cerebral, estruturas subcorticais e centros vitais, depressão do miocárdio, hipóxia	Moderadamente rápido	Fácil utilização em imersão; contenção necessária para injeção	Seguro, exceto pela possibilidade de uso como entorpecente, controle pela vigilância sanitária	Todos os grupos taxonômicos	Não se aplica	Altamente efetivo

Anestésicos dissociativos associados a agonistas de adrenorreceptores alfa-2 (e.g. cetamina e xilazina)*	Dissociação do córtex cerebral, depressão do miocárdio, hipóxia	Moderadamente rápido	Contenção necessária para injeção	Seguro, exceto pela possibilidade de uso como entorpecente; controle pela vigilância sanitária	Roedores	Outras espécies que não roedores	Efetivo, desde que se assegure a irreversibilidade de retorno à consciência
Anestésicos inalatórios*	Depressão direta do córtex cerebral, estruturas subcorticais e centros vitais, hipóxia	Início da anestesia moderadamente rápido; pode ocorrer excitação na fase de indução	Fácil utilização em câmara ou recipiente fechado ou máscara facial; borbulhamento na água para peixes	Usar com sistema antipoluição, para minimizar a exposição dos operadores	Anfíbios, répteis, aves, peixes e mamíferos que não retêm a respiração	Não se aplica	Altamente efetivo, desde que os animais sejam expostos aos anestésicos em concentrações adequadas
Sulfonato metano de tricaína	Depressão do SNC; hipóxia	Muito rápido dependendo da dose	Fácil utilização	Evitar o contato com a pele e olhos e formação de pó e aerossóis; usar em local com ventilação adequada, luvas, proteção ocular e máscara	Peixes, anfíbios	Não é usado em outras espécies	Efetivo

Anestésicos Locais (ex.: benzocaína, lidocaína, bupivacaina)	Depressão do SNC; hipóxia	Muito rápido	Fácil utilização	Seguro	Peixes e anfíbios	Não é usado em outras espécies	Efetivo
Atordoamento por concussão cerebral seguido de decapitação ou perfuração craniana	Interrupção do funcionamento dos centros vitais, depressão cerebral, hipóxia	Rápido	Requer qualificação e habilidade do executor	O uso de guilhotina e de lâminas é arriscado para o executor	Não se aplica	Alguns peixes, anfíbios e répteis	Irreversível, contrações musculares intensas
Decapitação	Interrupção de funcionamento dos centros vitais, depressão cerebral, hipóxia	Rápido	Requer qualificação e habilidade do executor	O uso de guilhotina e de lâminas é arriscado para o executor	Não se aplica	Pequenos anfíbios, pequenas aves, roedores e coelhos (<1 kg)	Irreversível, contrações musculares intensas
Pistola de dardo cativo ou de ar comprimido (neste caso seguido de outro método para assegurar a morte)	Destruição do tecido cerebral	Rápido	Requer habilidade, contenção física adequada e alvo (posicionamento) correto	Seguro, desde que manuseado de forma adequada e por pessoa competente	Não se aplica	Anfíbios, aves, répteis, coelhos e mamíferos de grande porte, incluindo ruminantes de pequeno porte	Perda da consciência instantânea. Entretanto, pode ocorrer atividade motora; usado em condições de campo
Tiro com arma de fogo	Destruição do tecido cerebral	Rápido	Requer, contenção física adequada e alvo	Risco de acidente no executor e	Não se aplica	Mamíferos de grande porte, crocodilianos e	Perda da consciência instantânea,

			(posicionamento) correto	observadores		aves de vida livre; em todos os casos em situações excepcionais e apenas a campo (e.g. espécies encontradas apenas nas copas das árvores)	entretanto pode ocorrer atividade motora; atirador experiente
Deslocamento cervical	Interrupção de funcionamento dos centros vitais, depressão cerebral, hipóxia	Rápido	Requer qualificação e habilidade do executor	Seguro	Não se aplica	Aves pequenas e médias, camundongos, ratos (<200g); coelhos (<1kg) previamente anestesiados	Contrações musculares intensas
Compressão torácica	Hipóxia	Pode ser rápido	Requer qualificação e habilidade do executor	Seguro	Não se aplica	Aves de pequeno porte (menos de 50 gramas) apenas de vida livre	Situações excepcionais em vida livre
Dióxido de carbono (exclusivamente acondicionado em cilindros e seguindo as recomendações	Depressão direta do córtex cerebral, estruturas subcorticais e centros vitais, depressão do	Moderadamente rápido	Uso em câmara fechada	Mínimo risco	Não se aplica	Frangos e pequenos roedores	Inadequado para animais imaturos ou neonatos; irritação das mucosas

desta diretriz referentes ao item 8.1.1.2)	miocárdio, hipóxia						
Argônio, nitrogênio	Hipóxia	Rápido	Fácil utilização em câmara fechada de rápido preenchimento	Seguro, se houver boa ventilação no local	Não se aplica	Frangos	Efetivo, a não ser em neonatos; outros métodos são preferíveis
2 fenoxietanol	Depressão do SNC, hipóxia	Muito rápido dependendo da dose	Fácil utilização	Seguro	Não se aplica	Peixes	Efetivo, mecanismo de ação pouco claro
Óleo de cravo ou eugenol	Bloqueio neuro-muscular competitivo; não está claro se causa anestesia	Muito rápido dependendo da dose	Fácil utilização	Seguro	Peixes	Não se aplica	Efetivo, mecanismo de ação pouco claro
Micro-ondas específico para esta finalidade e, comercialmente disponível	Inativação das enzimas cerebrais pelo aquecimento	Muito rápido	Requer qualificação e equipamento altamente especializado	Seguro	Não se aplica	Camundongos e ratos	Efetivo para necessidades especiais
Atordoamento por concussão, seguido de exsanguinação ou outro método que induza a morte	Destruição do tecido cerebral	Rápido	Requer habilidade, contenção física adequada e força apropriada	Seguro	Não se aplica	Roedores silvestres em situações excepcionais e a campo	Deve ser realizado propriamente por executor experiente
Eletronarcose	Depressão cerebral	Pode ser rápido	Requer qualificação do executor; nem	Risco aos envolvidos	Não se aplica	Coelhos, ruminantes, suínos, peixes e	Contrações musculares intensas; usado

			sempre de fácil realização			frangos	em abatedouros
Hipotermia (gelo e água)	Depressão cerebral, morte por congelamento	Moderadamente rápido	Fácil utilização	Seguro	Não se aplica	Espécies de peixes estenotérmicos tropicais ou subtropicais de pequeno porte	Questionável e pouco humanitário
Nitrogênio líquido	Depressão cerebral, morte por congelamento	Rápido	Fácil utilização	Seguro	Não se aplica	Ratos, hamster e camundongos até dois dias de vida	Questionável e pouco humanitário
Exsanguinação por punção cardíaca após anestesia geral	Choque hipovolêmico	Rápido	Requer habilidade	Seguro	Pequenos roedores e coelhos, desde que precedida de anestesia geral com confirmação da inconsciência	Não se aplica	Efetivo

* Os agentes anestésicos devem ser adquiridos e utilizados de acordo com a legislação vigente.