



Procedimento Operacional Padrão

Número	ME02	Data de expedição:	23/05/2017
Seção	Métodos de Eutanásia	Data de revisão:	___/___/___
Assunto	Injeção de agentes barbitúricos		
Elaborado por:	Comissão Responsável pelo Biotério da Unidade José de Filippi		

Este Procedimento Operacional Padrão (POP) descreve o processo de injeção de agentes barbitúricos na eutanásia de animais de experimentação do Biotério da Unidade José de Filippi.

1. Introdução

- 1.1. A administração de sobredose de barbitúricos em animais é um método de eutanásia aprovado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.
- 1.2. O baixo custo e a estabilidade da solução reforçam a recomendação dos barbitúricos serem a melhor opção para eutanásia de animais de vida terrestre. É recomendado para todas as espécies.
- 1.3. Os barbitúricos causam depressão do Sistema Nervoso Central, com mínimo desconforto, desde que a injeção seja rápida. Após a inconsciência, ocorre apneia e parada cardíaca, como consequência da hipóxia, por depressão do córtex cerebral e dos centros respiratório e vasomotor, respectivamente.
- 1.4. Dentre os barbitúricos mais utilizados, estão: pentobarbital, tiopental e fenobarbital. O pentobarbital possui a vantagem de apresentar maior duração de ação e, portanto, menor probabilidade de reversão do efeito.
- 1.5. 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 realizado de forma adequada, conforme o POP BS02.
- 1.6. A solução de barbitúricos deve ser associada, obrigatoriamente, com anestésico local sem vasoconstritores, geralmente a lidocaína, para minimizar a dor do animal.
- 1.7. O procedimento de aplicação de anestésicos visando a Eutanásia deve ser realizado em ambiente adequado e afastado das salas onde estão os animais.



2. Preparação da solução de barbitúrico e lidocaína para injeção intraperitoneal (IP)

- 2.1.0 pentobarbital (240mg/mL) deve ser diluído com 2% lidocaína (20mg/mL) e deve-se utilizar a razão 1:1 para a injeção.
- 2.2. A solução deve ser preparada previamente ao uso e armazenada em frasco de vidro âmbar. Deve-se se certificar de que a solução não apresenta-se turva.
- 2.3. Misture 0,50 mL do pentobarbital com 0,50 mL de lidocaína para atingir 120mg/mL.
- 2.4. Administre 150 mg/kg via IP no quadrante abdominal inferior direito do animal usando uma agulha de calibre menor que 21G (ratos e camundongos) e volume de 2 a 3 mL (camundongos) ou de 5 a 10 mL (ratos).
- 2.5. Um volume de 0,05 mL da razão 1:1 da solução do pentobarbital + solução de lidocaína pode ser utilizado como uma dose padrão de IP para todos os roedores com peso inferior a 50 gramas e idade superior a 14 dias.
- 2.6. Um volume de 0,025 mL da razão 1:1 da solução do pentobarbital + solução de lidocaína pode ser utilizado como uma dose padrão de IP para todos os roedores neonatais com 1 a 14 dias de idade.
- 2.7. Respeitar as orientações para injeção intraperitoneal dispostas no POP PR02.

3. Preparação da solução de barbitúrico e lidocaína para injeção intravenosa (IV)

- 3.1. O pentobarbital (120mg/mL) deve ser diluído 5 vezes em salina a fim de atingir viscosidade adequada para dosagem IV. Dessa forma misture 0,05 mL de pentobarbital com 0,2 mL de salina para obter 24mg/mL.
- 3.2. Administre 75 mg/kg via IP na veia lateral da cauda do animal usando uma agulha de calibre menor que 23G (ratos) ou 25G (camundongos) e volume de 0,5 mL (rato) ou 0,2 mL (camundongo).
- 3.3. Um volume de 0.1 mL da razão 1:4 da solução de pentobarbital + solução salina pode ser utilizado como uma dose padrão de IV para todos os roedores que pesam menos de 50 gramas.
- 3.4. Respeitar as orientações para injeção intravenosa dispostas no POP PR04.

4. Confirmação da morte



- 4.1. A morte do animal deve ser verificada antes da sua abertura para retirada de tecidos e órgãos. As técnicas de eutanásia devem resultar na rápida perda da consciência, seguida por parada cardíaca e respiratória e perda de toda a função cerebral.
- 4.2. O tempo necessário para a parada cardiorrespiratória completa do animal pode variar de 1 a 5 minutos a depender da via de administração (via IP demorará mais). A ausência de respiração (movimentos costoabdominais), pulsação, batimento cardíaco e reflexo corneano devem ser confirmadas antes da abertura do animal. A confirmação de óbito pode ser complementada pela ausência de reflexo de dor ao pinçamento dos espaços interdigitais de membros posteriores.

5. Manejo das carcaças

- 5.1. As carcaças dos animais devem ser descartadas conforme as orientações dispostas no POP BS02.
- 5.2. Realize a limpeza adequada da área destinada para a eutanásia e dos equipamentos utilizados, retornando-os para o seu local de origem.

REFERÊNCIAS

Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (**CONCEA**)

Guia Para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do Institute of Laboratory Animal Research (2014).

Site do Centro de Bioterismo da FMUSP. “Anestesia e Analgesia”. Endereço: http://www.bioterio.fm.usp.br/pdf/Anestesia_e_Analgesia.pdf.