	BIOTERIO		Código: EXP-PR-05
			Versión: 1.0
	PROCEDIMIENTOS PARA APLICAR EUTANASIA		Fecha de emisión: 30-09-2025
<u>Elaborado por:</u> Médicos Veterinarios Bioterio INDICASAT AIP	<u>Revisado por:</u> Responsable del Bioterio INDICASAT AIP	<u>Aprobado por:</u> Presidente CICUA INDICASAT AIP	Fecha de aprobación: 30-09-2025
			Página: 1 / 5

1. INTRODUCCION / OBJETIVO:

Conocer procedimiento de eutanasia a realizar en los animales del bioterio mediante diferentes procedimientos mediante agentes inhalatorios (isofluorano, CO₂), químicos (Ketamina/xilacina) o físicos (dislocación cervical, decapitación).

El propósito es normalizar el procedimiento de eutanasia para que los animales a los cuales se les aplica este procedimiento no padezcan sufrimiento o estrés.

2. ALCANCE Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Este procedimiento es aplicable a: investigador y/o técnico que tenga bajo su responsabilidad realizar el procedimiento de eutanasia a los animales en el bioterio.

El ámbito de aplicación del presente procedimiento, abarca las actividades realizadas dentro del bioterio para aplicar eutanasia.

3. DEFINICIONES:

Barbitúricos: Los barbitúricos son un grupo de sustancias sintéticas fabricadas como productos farmacéuticos, depresores del Sistema Nervioso Central que se encuentran íntimamente relacionados en su estructura química


Consciencia: es el estado de un animal en el cuál puede recibir estímulos de su ambiente externo y puede responder con la conducta normal de un individuo despierto.

Dislocación cervical: es el desplazamiento de una o más de las siete vértebras cervicales del cuello, causada por un traumatismo.

Dióxido de carbono medicinal (CO₂): El dióxido de carbono medicinal es un producto sanitario, que se suministra en envases a presión en estado gaseosos: CO₂.

Dolor: se puede definir como “una experiencia sensorial aversiva que produce acciones motoras protectoras, dando como resultado el aprendizaje para evitarlo y que puede modificar rasgos de conducta específicos de especie, incluyendo la conducta social”.

Embrión: se puede definir como un animal que se está desarrollando a partir de un óvulo fertilizado sexualmente, o partenogenéticamente activado y que está contenido dentro de las membranas de un huevo o dentro del cuerpo materno. El estado embrionario culmina con la

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

eclosión o el nacimiento de la cría del animal.

Eutanasia: significa muerte buena y debería considerarse como un acto de sacrificio humanitario con el mínimo dolor, temor y angustia.

Guillotina: es un artefacto mecánico que hace caer una hoja de acero afilada, que se sostiene de una estructura metálica.

Inconsciencia: se utilizará para indicar insensibilidad a los estímulos externos, como se esperaría en el coma y durante la anestesia general. Las dos maneras principales de medir la insensibilidad son fijarse en las respuestas físicas y en las del sistema nervioso central (SNC) a nivel cortical.

Isoflurano: es un agente anestésico de actuación rápida, el cual es usado para la eutanasia libre de estrés en volúmenes o concentraciones altas (sobredosis). El isoflurano produce depresión respiratoria y cardiovascular, tiene un olor picante por lo que puede producir inquietud en animales sensibles como los de la línea consanguínea BALB/c. Es particularmente útil para obtener datos referentes a tejido hepático, para estudios toxicológicos y/o microsomales, debido a que el isoflurano no induce metabolismo hepático.


Ketamina: es un anestésico disociativo que actúa como antagonista competitivo de la Fenciclidina, por el receptor excitatorio del Glutamato N-metil D-aspartato (NMDA).

Pentobarbital sódico: es un fármaco de la familia de los barbitúricos que se usa como anestésico en para intervenciones quirúrgicas de hasta 2 horas de duración o como sedante.

Xilacina: es un sedante, analgésico y relajante a nivel muscular, agonista de los receptores alfa α_2 - adrenérgicos. Con composición de clorhidrato 20 mg/ml

4. RESPONSABILIDADES

Actividades	Responsables
Médico Veterinario / investigador	Realizar el procedimiento de eutanasia a los animales del bioterio
Responsable del Bioterio	Vigilar que el procedimiento se realice por personal capacitado y que el método sea el adecuado a la especie, línea y condición fisiológica del o los animales.

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

5. MATERIALES


- Anestésicos inhalatorios volátiles (isoflurano, euflurano, sevoflurano).
- Dióxido de carbono medicinal (CO₂)
- Desecadores (Anexo 1)
- Cajas de Alojamiento 1285L de Polisulfonato. (ratones)
- Cajas de Alojamiento 1291H de Polisulfonato. (ratas)
- Pinzas de cualquier tipo
- Guillotina
- Tijeras

6. EQUIPO

- Cabina de extracción de gases (PNT: MAN-PR-07 del uso de la cabina de extracción de gases)
- Cámara plexiglás para la anestesia

7. CONSIDERACIONES PREVIAS

1. Los animales se sacrifican en los laboratorios o establecimientos de cría por varios motivos: al final de un experimento o cuando los procedimientos que se estén realizando presenten efectos adversos a la salud del animal; para obtener sangre y otros tejidos con un fin científico; cuando los niveles de dolor, angustia y sufrimiento es probable que sobrepasen el nivel previsto en los protocolos aprobados; cuando ya no sean aptos para la cría; animales no utilizados (en excedente) dentro de la colonia, o aquellos que presentan características fenotípicas no adecuadas (mutaciones).
2. Las características primordiales que debe cumplir un método para ser usado en la eutanasia son: que el método sea indoloro, que se consiga una rápida inconsciencia y muerte, que requiera una mínima inmovilización, evite la excitación, que sea apropiado para la edad, especie y salud del animal, que minimice el miedo y el estrés en el animal, sea fiable, reproducible, irreversible, sencillo de administrar (en dosis pequeñas si es posible), seguro para el operador, y en la medida de lo posible, debe ser estéticamente aceptable para el operador.
3. El método de eutanasia por agentes inhalatorios es aceptado por la Asociación Americana de

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

Médicos Veterinarios (AVMA, 2021), por lo que es aplicado como método de eutanasia para los animales en el bioterio de INDICASAT AIP, cualquier otro método debe ser aprobado previamente por el CICUA para su aplicación en el bioterio.

4. Para asegurar la eutanasia, se valora:
 - La respuesta a estímulos tales como: pellizco a nivel de las cuatro (4) extremidades y de la cola.
 - Presencia de Frecuencia respiratoria por movimiento torácico.
 - Presencia de Frecuencia cardíaca por tacto a nivel de la caja torácica.
5. Es importante que los usuarios implicados en la producción y uso de los animales reconozcan entre los signos de dolor y los signos de temor y angustia, en las especies que se mantienen en el bioterio de INDICASAT AIP, de manera que informe al médico veterinario responsable, para la aplicación de la eutanasia.
6. La valoración de signos que conlleven a la decisión de aplicar eutanasia, debe basarse fundamentalmente en las observaciones de conducta anormal y en respuestas fisiológicas que lo demuestren (Tabla 1).
7. Se debe considerar que los embriones en su último tercio de desarrollo y los animales muy jóvenes tienen bien desarrollados los componentes del sistema del dolor, tanto a nivel periférico como a niveles cortical y subcortical; los sistemas neuroquímicos están intactos y las respuestas funcionales al dolor y al estrés, están bien documentadas, por lo que cualquier signo que implique dolor, que no pueda ser tratado, se le debe aplicar eutanasia.
8. Cuando se utilice cualquier anestésico líquido, se debe evitar que entre en contacto con el animal.
9. La exposición a gases anestésicos en concentraciones traza, está reconocida como un riesgo para la salud de los humanos y requiere el empleo de aparatos de recogida de gases, para ser utilizados en el ambiente de trabajo.
10. Todos los sacrificios son registrados en el cuaderno de “registros de sacrificios” del cuarto de procedimientos 2.



BIOTERIO

Código:
EXP-PR-04


Versión: 1.0

PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES

Fecha de emisión:
30-09-2025

Tabla 1. Valoración de signos para la aplicación de la eutanasia


Signos	Indicador específico	Rangos	Medidas
Temperatura corporal	Disminución de temperatura	>1°C leve	observación
		>2°C moderada	
		>3°C severo (APF)	
Aspecto del pelaje + postura + movilidad	Solo Piloerección	Leve	
	Piloerección con postura encorvada con movimiento si se estimula	moderado	
	Piloerección con postura encorvada con cabeza caída, con renuencia a moverse si se estimula	Severo (APF)	
Respiración	Acelerada (taquinea)/jadeo	Leve	
	Forzada (hiperpnea)	moderado	
	Muy forzada	Severo (APF)	
movilidad	letargia	Leve	
	Movimientos carentes de coordinación	moderado	
	Renuencia a moverse si se le estimula	Severo (APF)	
Otros	temblores	Leve	
	Espasmos	moderado	
	convulsiones	Severo (APF)	

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

--

8. DESCRIPCION DE LAS ACTIVIDADES


Eutanasia mediante isofluorano			
N°	Actividad	Responsable	Documento o formulario relacionado
1	Se prepara el desecador: en la parte inferior del desecador se coloca una bandejita de pesaje con un algodón al cual se le coloca el anestésico en la cantidad necesaria, dependiendo del volumen de la cámara (Tabla 2). Se coloca la tapa y se deja impregnar la parte interna con el anestésico, aproximadamente 5 minutos.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	Los anestésicos inhalatorios tales como el isoflurano no requieren ningún tipo de preparación. Estos se usan en la misma concentración 100%, de su presentación.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	El animal al que se le va aplicar la eutanasia se toma por la base de la cola con la mano dominante, y se coloca en la palma de la mano contraria, sosteniéndolo por la cola.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	PNT: EXP-PR-12 de la sujeción de los animales
	Se retira la tapa del desecador y se coloca sobre la rejilla.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	Con el animal dentro de la cámara, se coloca la tapa.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	Luego de que el animal pierda el movimiento, se deja aproximadamente dos (2) minutos más.	Usuario/ Médico veterinario/	

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

		Responsable del Bioterio	
	Se retira de la cámara interna del desecador y se verifica la falta de respuesta a estímulos (punto 4. Consideraciones previas)	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	Si el animal presenta respuestas a los estímulos se devuelve a la cámara interna del desecador.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	9. Si el animal no presenta respuestas a los estímulos se puede aplicar dislocación cervical, en el caso de los ratones.		
	10. Si el animal no presenta respuestas a los estímulos, pero se mantiene frecuencia cardíaca o frecuencia respiratoria, y no se encuentra en condiciones físicas para aplicar dislocación cervical (en el caso de los ratones), se devuelve a la cámara interna del desecador y se deja un tiempo de 5 minutos más.	Usuario/ Médico veterinario/ Responsable del Bioterio	
	Verificada la muerte del animal, se coloca en bolsa roja de bioseguridad y se coloca en el congelador del pasillo de experimentación.		


Tabla 2. Concentración aproximada de anestésico isoflurano

Concentración aproximada de anestésico	Volumen de la cámara (1000 mL) / volumen en mL del anestésico	Volumen de la cámara (500 mL) / volumen en mL del anestésico	Volumen de la cámara (250 mL) / volumen en mL del anestésico
0.1%	1	0.5	0.25
0.5%	5	2.5	1.25
1%	10	5	2.5
2%	20	10	5
3%	30	15	7.5
4%	40	20	10
5%	50	25	12.5

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

Fuente: American College of Laboratory Animal Medicine, 2008. El uso de un porcentaje mayor o menor de la concentración del anestésico dependerá de tiempo requerido para que el animal o los animales, alcancen la condición de anestesia. A mayor concentración más rápido ocurre la inconsciencia del animal

N°	Actividad	Responsable	Documento o formulario relacionado
Eutanasia mediante CO₂			
	Se introduce la cámara de plexiglás dentro de la campana de extracción de gases y se acopla la manguera de la conexión del cilindro del CO ₂ , en el espacio de entrada que se encuentra en la tapa (Anexo 2). Se puede usar las cajas de alojamiento para realizar el procedimiento sin colocar los animales dentro de la cámara plexiglás.		
	Se enciende la cabina de extracción de gases sin ductos (Anexo 2). Para el traslado de los animales se sigue el PNT: EXP-PR-07.		PNT: EXP-PR-07 del traslado de los animales
	Para la eutanasia de los ratones, en sus cajas de alojamiento, se colocan los animales de un mismo sexo, en un número que no supere los 10 animales por caja en el caso de ratones. La manguera del cilindro de CO ₂ se acopla a alguna de las válvulas de la tapa filtro.		
	Para la eutanasia de las ratas, en sus cajas de alojamiento, igualmente, los animales deben ser de un mismo sexo y no deben superar el número de 8 ratas si tienen un peso menor de 200 g. Si tienen un peso entre de 200g y 300 g, no debe superar el número de 6 ratas, y si son mayores a 300 g no debe superar el número de 4 ratas.		
	Acoplada la manguera del cilindro a una de las válvulas de la tapa filtro, se abre lentamente la llave del cilindro y se deja fluir el CO ₂ , evitando que se produzca ruido sibilante, luego de transcurrido aproximadamente un minuto, los animales deben encontrarse sin movimiento.		
	En esta etapa se aumenta el flujo del CO ₂ , por un minuto más aproximadamente. Luego se cierra el flujo del CO ₂ y se dejan		

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
		Versión: 1.0
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Fecha de emisión: 30-09-2025

	los animales dentro de la cámara dos (2) minutos adicionales.		
	Transcurrido este tiempo se retiran los animales de la cámara plexiglás, o de la caja de alojamiento y se hace dislocación cervical a los ratones. En el caso de las ratas se usa una aguja (N° 18), que se introduce a nivel del diafragma y se realizan varios movimientos laterales con el objetivo de romperlo.		
	Los cadáveres se colocan en bolsas rojas de bioseguridad y se depositan en el congelador destinado para este fin.		
	Se registran en el cuaderno de registro de sacrificios del cuarto de procedimientos 2.		
N°	Actividad	Responsable	Documento o formulario relacionado


Eutanasia mediante agentes inyectables

Consideraciones generales

	La Tabla a continuación, presenta las dosis usadas para eutanasia de diferentes anestésicos. Para la eutanasia, estas dosis corresponden a 3 veces la mayor dosis usada para anestesia, siempre dosificándola por peso del animal (Marshall y col. 1994, Noonan 1994).		
	La administración puede realizarse mediante vía intramuscular o intraperitoneal siguiendo, PNT: EXP-PR-06 (administración de sustancias).		

Tabla 1. Dosis de anestésicos para realizar eutanasia

Anestésico Dosis de anestesia	Especie	Dosis de eutanasia (mg/Kg de peso)	Vía	Duración (minutos)
Ketamina (100mg/mL)/ Diacapan (5 mg/mL)	ratón	Ketamina (300mg/mL)/ Diacapan (1 mg/mL)	IP	10
	rata	Ketamina (240mg/mL)/ Diacapan (30 mg/mL)		
Pentobarbital sódico	ratón	(210mg/mL)	IP	10
	rata	(120mg/mL)		
Ketamina (100mg/mL) /	Ratón	Ketamina (450mg/mL)/ xilacina		10

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0


xilacina (20 mg/mL)		(30 mg/mL)	IM/IP	
	rata	Ketamina (270mg/mL)/ xilacina (30 mg/mL)		
<ul style="list-style-type: none"> - Se prepara el o la mezcla de anestésico a usar a la mayor concentración (Anexo 1). - Se sigue el PNT de la sujeción de los animales. - Se administra la solución en el volumen necesario para producir la eutanasia, siguiendo el PNT: EXP-PR-06 (ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS) dependiendo de la vía seleccionada para la administración. - La inducción de la anestesia comienza entre los 3 a 6 minutos administrado el agente inyectable. Por lo que se deben monitorear reflejos de los animales, tales como: falta de respuesta a estímulos aversivos como presión de pellizco en las extremidades, frecuencia cardíaca, decoloración de los ojos, aproximadamente durante 10 minutos, para asegurar la muerte del animal antes de ser colocado dentro de la bolsa de bioseguridad para ser colocado en el congelador. - No se debe descartar los animales sin tener la seguridad de la muerte. 				<p>PNT: EXP-PR-12 de la sujeción de los animales.</p> <p>PNT: EXP-PR-06 de la administración de sustancias</p>

9. FORMULARIOS O DOCUMENTOS RELACIONADOS CONTROL DE CAMBIOS

NA

10. REFERENCIAS

- AVMA guidelines for the euthanasia of animal. 2021. <https://www.avma.org/resources-tools/avma-policies/avma-guidelines-euthanasia-animals>
- Procedimiento Normalizado de Trabajo: OPE_BIO_PAN_005 (de la administración de sustancias)
- American College of Laboratory Animal Medicine. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. 2008. 2da Edición, pág. 86.
- Valentim AM, Guedes SR, Pereira AM, Antunes LM. Eutanasia mediante agentes gaseosos en

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

roedores de laboratorio. *Laboratory Animals* . 2016;50(4):241-253. doi: [10.1177/0023677215618618](https://doi.org/10.1177/0023677215618618)


11. ANEXOS

ANEXO 1. Indicadores de dolor en ratones y ratas

- Pérdida de peso
- Aislamiento
- Automutilación
- Disnea: boca abierta, taquipnea, respiración abdominal
- Rechinar de dientes (frecuente en rata)
- Agresión (frecuente en ratón)
- Actividad física aumentada o reducida
- Pelaje descuidado (frecuente en rata)
- Piloerección
- Postura anormal (arqueamiento dorsal)
- Cromodacriorrea (secreción de porfirina alrededor de los ojos)
- Rigidez muscular, pérdida de tono muscular
- Deshidratación
- Temblores, espamos (rata)
- Vocalización (en la palpación de zona dolorosa)
- Enrojecimiento o edema en la herida

ANEXO 2. Analgésicos usados en la rata y en ratón:

Fármaco	Dosis		Duración
	Ratas	ratones	
Ketoprofeno	5 - 15 mg/kg (SC)	5 - 15 mg/kg (SC)	8-12 horas
Meloxicam	0.5 - 1 mg/Kg/día (SC)	5 mg/Kg/día (SC)	12-24 horas
Carprofeno	5 - 10 mg/kg/día (SC)	5 - 10 mg/kg/día (SC)	12 - 24 horas
Lidocaina	< 2 mg/Kg/ (local)	< 2 mg/Kg/ (local)	30 a 60 min

	BIOTERIO	Código: EXP-PR-04
	PROCEDIMIENTOS DE EUTANASIA PARA ROEDORES	Versión: 1.0

--

12. CONTROL DE CAMBIOS		
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
01	30-09-2025	Emisión inicial