

Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 1

Grupo de Trabajo: Mrs Bryony Close (Presidencia), Dr. Keith Banister, Dr. Vera Baumans, Dr. Eva-Maria Bernoth, Dr. Niall Bromage, Dr. John Bunyan, Profesor Dr. Wolff Erhardt, Profesor Paul Flecknell, Dr. Neville Gregory, Profesor Dr. Hansjoachim Hackbarth, Profesor David Morton y Mr Clifford Warwick

Envío de correspondencia a: Mrs B Close, Battleborough Croft, Battleborough Lane, Brent Knoll, Highbridge, Somerset TA9 4DS, UK

Este documento fue elaborado para la DGXI de la Comisión Europea, para ser utilizado con la Directiva 86/609/EEC del 24 de Noviembre de 1986, *relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos* (Nº L358, ISSN 0378-6978). Se refiere especialmente al Artículo 2(1) publicado por la Comisión Europea en Octubre de 1995, que define “el método de sacrificio humanitario” como “ el sacrificio de un animal con el mínimo sufrimiento físico y mental , dependiendo de las especies “.

Este informe esta publicado en dos partes.

Esta primera parte comprende las Secciones 1 y 2 del informe, junto con una revisión bibliográfica. La Sección 3 del

informe fue publicada en el ejemplar de

Enero de 1997 de Laboratory Animals,

junto con la lista de todas las referencias

citadas en ambas partes y los detalles de

los materiales para entrenamiento. Se

podrá disponer de reimpressiones del

informe, combinando ambas partes,

cursando la solicitud a Mrs S. E.

Wolfensohn, Supervisor of Veterinary

Services, University of Oxford, Veterinary

Services, c/o University Laboratory of

Physiology, Parks Road, Oxford OX1 3PT,

UK. (Tel: +44(0)1865-272545,

Fax: +44(0)1865-272118,

Email: sarah.wolfensohn@vet.ox.ac.uk.

Contenido de la Parte 1

Agradecimientos	2
Prefacio	2
Introducción	3
1.1 Objetivos de la eutanasia	3
1.2 Definición de términos	3
1.3 Signos de dolor y angustia	4
1.4 Reconocimiento y confirmación de la muerte	4
1.5 Personal y entrenamiento	5
1.6 Manejo y inmovilización	5
1.7 Equipamiento	5
1.8 Eliminación de cadáveres y residuos	6
2 Comentarios generales acerca de los métodos de eutanasia	6
2.1 Métodos aceptables de eutanasia	6
2.2 Métodos aceptables con animales inconscientes	13
2.3 Métodos de eutanasia que no son aceptables	14
Lecturas adicionales	14

Agradecimientos

Quisiéramos agradecer a la Comisión Europea DGXI por su provisión de fondos para la realización de este informe y también a Laboratory Animals Ltd por publicarlo y mantener disponibles reimpresiones con el fin de conseguir una amplia distribución.

Quisiéramos agradecer a las siguientes personas y organizaciones su colaboración aportando su valiosa ayuda y comentarios al borrador: Dr. J Anderson (Inspección de Animales [Procedimientos Científicos] Ministerio del Interior, UK), Dr. N Baudrihay (Federación Europea de Asociaciones de Industrias Farmacéuticas), Profesor J Bourne (Instituto para la Salud Animal, UK), Dr. D Forbes (Asociación para las Ciencias del Animal de Laboratorio, LASA, UK), Profesor K Gärtner (Escuela Superior de Medicina de Hannover, Alemania), Mr J A Gregory (Instituto de Tecnología Animal, UK), Profesor O Hänninen (Secretario General, ICLAS), Mrs R Harrison (UK), Dr. F R Homberger (Universidad de Zurich, Suiza), Mr T D Hornett (Glaxo Investigación y Desarrollo, UK), Dr. K Iwarsson (Instituto Karolinska, Suecia), Dr. T Jeneskog (Junta Nacional para los Animales de Laboratorio (CNF), Suecia), Dr. M Jennings (Real Sociedad para la Prevención de la Crueldad con los Animales, UK), Dr. G Mahouy (Instituto de Hematología, Universidad de París, Francia), Profesor R Murison (Universidad de Bergen, Noruega), Mr P Nowlan (Universidad de Dublín, Irlanda), Profesor C Reh binder (Junta Nacional para los Animales de Laboratorio (CNF), Suecia), Mr A Sainsbury (Instituto de Zoología, Londres), Profesor P Schambye (Junta de la Inspección de Experimentos con Animales, Dinamarca), Dr. W Scharmann (Instituto Nacional de Salud de Alemania), Profesor U Schatzmann (Universidad de Berna, Suiza), Dr. Straughan (UK), Dr. P Terpstra (CRC Centro de Investigación por Contrato, Bélgica), Profesor J E van Dijk (Universidad de Utrecht, Holanda), Mrs D Wilkins (Eurogrup para el Bienestar Animal), Dr. J Wong (Consejo Canadiense para Cuidados Animales CCAC).

Prefacio

Se ha realizado este informe con el fin de ayudar al personal relacionado con los animales utilizados en experimentos y para otros fines científicos, a valorar qué método de eutanasia es el más humanitario y apropiado para las especies animales que se estén utilizando. Con

cada método se da una breve descripción, con los argumentos para su aceptación o rechazo. No se dan detalles de como llevar a cabo los diferentes métodos, éstos pueden encontrarse en las referencias citadas y en la lista de lecturas recomendadas.

Los métodos clasificados como "*acceptables*", son aquellos que se consideran humanitarios para ser utilizados con animales conscientes, o ligeramente sedados. Otros métodos solo pueden ser *acceptables* si se utilizan con animales fuertemente sedados o inconscientes. En principio, todos los métodos pueden emplearse con animales inconscientes, a menos que sean inaceptablemente peligrosos para el Personal o que exista el riesgo de que el animal recupere la consciencia antes de que muera. Los métodos incluidos en el grupo de "aceptables para animales inconscientes" son los que se utilizan en la práctica con mayor frecuencia. La última categoría de métodos "no aceptables", no se deben utilizar por las razones que se indican en cada caso.

Hay tres secciones principales en este informe. La Sección 1, trata de las características generales de los requerimientos legales de la Directiva del Consejo de la CEE de 1986, de los requerimientos generales para eutanasia y de las definiciones de términos y otros factores que deban considerarse cuando se sacrifican animales de experimentación. La Sección 2 contiene información sobre los métodos de eutanasia utilizados en vertebrados y se divide, ampliándose, en métodos aceptables físicos y químicos, métodos aceptados para animales inconscientes y aquellos métodos que no se consideran aceptables. La Sección 3, se cubre con información general y específica de cada grupo de especies, desde peces hasta primates, incluyendo recomendaciones para las formas embrionarias y larvianas. Se da una lista de los métodos de eutanasia con una breve discusión. Al final de cada sección de especies, hay una tabla que resume las recomendaciones para cada especie.

Hay además, amplias listas con las referencias citadas y la literatura recomendada para lecturas adicionales (dividida en grupos generales y por especies), junto con información sobre el material de entrenamiento audiovisual, que puede ser utilizado en los programas de entrenamiento, para fomentar las practicas de eutanasia humanitaria.

Se recomienda que todo el Personal se lea la Sección 1. Si se necesita información sobre un método en particular, ésta se obtendrá de la Sección 2 y si se necesita información sobre una

especie en particular, ésta se puede encontrar en la Sección 3.

1 Introducción

Los animales se sacrifican en los laboratorios o establecimientos de cría por varios motivos:

- al final de un experimento o cuando pudieran proseguir con efectos adversos;
- 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;
- cuando el campo de estudio sea la salud o el bienestar de los animales;
- cuando ya no sean aptos para la cría;
- animales no utilizados, o aquellos con sus características no adecuadas, por ejemplo el tipo de animal o el sexo y que por ello no son necesarios.

La Directiva del Consejo del 24 de Noviembre de 1986 (Comisión de las Comunidades Europeas de 1986) *relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos* (86/609/CEE), excluye el sacrificio de un animal a partir de la definición legal de *experimento*, (Artículo 2(d)) si éste es llevado a cabo utilizando el método menos doloroso, aceptado en la práctica moderna y de acuerdo con el fin científico de recoger sangre y otros tejidos de los animales sacrificados, dejando por ello estos procedimientos fuera de la protección de la Directiva. Este documento está diseñado para ayudar, a todos aquellos relacionados con animales de experimentación, a decidir que método es el más humanitario y apropiado (en el contexto del experimento) para sacrificar a los animales con los que estén trabajando. Dado que esta Directiva protege a los vertebrados, este documento sólo tratará de la eutanasia de los mismos. El Artículo 2 (1) define “*el método humanitario de sacrificio*”, como el sacrificio de un animal con el mínimo sufrimiento físico y mental, dependiendo de las especies.

Aunque este documento incluye recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación, se recomienda encarecidamente que se tomen en consideración los controles y líneas directrices, editados en otras directivas y regulaciones de la CE para la eutanasia de los animales (por ejemplo, la Directiva del Consejo 93/119/CE (Comisión de las Comunidades Europeas de 1993)).

1.1 Objetivos de la eutanasia

Los criterios primordiales para la eutanasia en términos de bienestar animal, son que el método sea indoloro, consiga una rápida inconsciencia y muerte, requiera una mínima inmovilización, evite la excitación, sea apropiado para la edad, especie y salud del animal, debe de minimizar el miedo y el estrés en el animal, ser fiable, reproducible, irreversible, sencillo de administrar (en dosis pequeñas si es posible) y seguro para el operador. Y en la medida de lo posible, debe ser estéticamente aceptable para el operador.

1.2 Definición de términos

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

La *Consciencia* es el estado de conocimiento de un animal normal, en el cual puede recibir estímulos de su ambiente externo y puede responder con la conducta normal de un individuo despierto. La *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. El *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” (Zimmermann 1986). La utilización de la palabra dolor implica un conocimiento consciente de los estímulos y no una respuesta refleja inconsciente.

Un *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 eclosión o el nacimiento de la cría del animal (Allaby 1991).

Un *Feto* es el embrión de un mamífero, desde el estado de desarrollo en que se pueden reconocer los rasgos principales del adulto, hasta su nacimiento (Allaby 1991).

Se considera *Larva* la fase durante la cual es móvil y capaz de alimentarse por sí misma, lo que ocurre tras la eclosión del huevo y previo a

las reorganizaciones que suceden al llegar a hacerse adulto (Allaby 1991).

1.3 Signos de dolor y angustia

Para asegurar la eutanasia, esto es, una buena muerte, es importante reconocer los signos de dolor, temor y angustia en las especies más relevantes. Todo el personal debe entrenarse en el reconocimiento de estos signos de sufrimiento en las especies con las que estén trabajando. La valoración de estos factores debe basarse fundamentalmente en las observaciones de conducta anormal y en respuestas fisiológicas que demuestren ansiedad y temor. Dependiendo de las especies pueden incluir:

- vocalizaciones de angustia (no siempre en el rango audible para humanos),
- lucha,
- intentos de huida,
- agresiones defensivas o redirigidas,
- respuesta de paralización/inmovilización,
- jadeo,
- salivación,
- micción, defecación y evacuación de los sacos anales,
- dilatación de pupilas,
- taquicardia,
- sudoración,
- contracciones reflejas de la musculatura esquelética, que originan temblor, tremor y otros espasmos musculares.

Algunas de estas respuestas pueden suceder tanto en animales conscientes como inconscientes. El temor puede causar inmovilidad o paralización en ciertas especies, particularmente en conejos y pollos. Esta respuesta de inmovilidad no se debe considerar como inconsciencia, cuando el animal en realidad está consciente. 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 (Anand & Hickey 1987). El dolor se puede asociar también con la carencia y/o el sufrimiento psicológico, asociados con un trato pobre o un entorno inadecuado.

Cuando se valora el método más humanitario de eutanasia para cualquier animal, la sedación previa puede ser considerada como un método para reducir la posible ansiedad y angustia. Sin embargo, un factor que se debe considerar es que esto implicará más manipulación, lo que

añadirá más ansiedad al animal, anulando la finalidad del sedante.

Al determinar el método de eutanasia, se debe considerar la necesidad de minimizar el temor y el recelo. Las vocalizaciones por angustia, la conducta con miedo y la liberación de ciertos olores o feromonas por un animal atemorizado, pueden causar ansiedad y recelo en otros. Hay que tener presente que muchas de las vocalizaciones son a altas frecuencias y están fuera del rango auditivo humano. Por ello, cuando sea posible, los animales no deben estar presentes durante la eutanasia de otros, especialmente de su misma especie. Esto es particularmente importante cuando las vocalizaciones o la liberación de feromonas pueden producirse durante la inducción de la inconsciencia. Es también conocido que el último animal extraído de un grupo puede alterarse y por ello los dos últimos animales tendrían que extraerse juntos.

1.4 Reconocimiento y confirmación de la muerte

Es esencial que todo el personal esté entrenado para ser capaz de reconocer y confirmar la muerte en todas las especies con las que estén trabajando. Los aspectos más importantes en el reconocimiento de la muerte incluyen el cese del latido cardíaco y la respiración, ausencia de reflejos y en los animales de laboratorio pequeños, la bajada de la temperatura corporal por debajo de 25°C. El método elegido dependerá de las especies que se estén manejando. Si existiese alguna duda en la confirmación de la muerte, se debería utilizar un segundo método para sacrificar al animal.

1.5 Personal y entrenamiento

Todos los métodos de eutanasia son susceptibles de ejecutarse incorrectamente, y por ello, el personal que lleve a cabo la eutanasia de los animales, debe estar adecuadamente entrenado para realizarla del modo más efectivo y humanitario. Se debe buscar asesoramiento profesional.

Los programas de entrenamiento deben incluir cursos sobre la biología de las especies que se utilicen, métodos de eutanasia adecuados para cada especie y regulaciones nacionales y Europeas sobre bienestar animal.

El entrenamiento debe incluir aspectos tales como el reconocimiento del dolor, temor, angustia, ansiedad, insensibilidad y muerte para todas las especies que se utilicen. Se deben añadir cursos detallados sobre métodos de

eutanasia para cada especie, incluyendo la valoración sobre los métodos más humanitarios y adecuados dependiendo de la especie y de los requerimientos experimentales. El personal debe ser físicamente capaz de llevar a cabo varias técnicas de eutanasia, y también debe tener la suficiente experiencia en el manejo e inmovilización de las especies más relevantes, para minimizar la angustia, temor y ansiedad. Los cursos deben incluir métodos para ser usados en la confirmación de la muerte. Los cursos de entrenamiento deben cubrir también el funcionamiento y el mantenimiento de los equipos que se utilicen.

Al finalizar cada curso es necesario realizar una valoración de aptitud del personal.

El personal experimentado que haya desarrollado una relación de confianza en particular con los animales a los que ha de realizar la eutanasia, debería ser el que lleve a cabo la eutanasia de estos animales, ya que esto minimizará en éstos el estrés y la ansiedad. Cualquier persona que lleve a cabo la eutanasia, debería demostrar profesionalidad y sensibilidad hacia el valor de la vida animal. El grado de angustia experimentado por aquellas personas que observan o llevan a cabo la eutanasia en cualquiera de sus formas, es dependiente de sus conocimientos, de su filosofía personal y de sus principios éticos acerca del uso de animales de investigación. El estrés producido al realizar la eutanasia aumenta cuando hay fuertes lazos emocionales entre el personal y animales en particular, o cuando se sacrifican periódicamente gran número de animales. El estrés experimentado por las personas que habitualmente llevan a cabo eutanasia puede producir una fuerte sensación de insatisfacción con el trabajo o alienación, que se puede manifestar como absentismo, belicosidad o un manejo de los animales descuidado o insensible, junto con una alta tasa de rotación del personal. A través de programas de entrenamiento se deben desarrollar aptitudes en los empleados para poder hacer frente a estos problemas. Los efectos de los diversos agentes y métodos pueden ser subjetivos, y están basados en juicios profesionales, experiencia e intuición. En ciertas prácticas, algunas de las desventajas y controversias pueden estar basadas en consideraciones sentimentales y estéticas, más que en datos científicos fidedignos. Algunos métodos físicos pueden ser estéticamente desagradables pero muy humanitarios. La elección del método de eutanasia debe de estar basada primordialmente en principios humanitarios hacia el animal, más que en las sensibilidades del técnico que lleve a cabo la

tarea, o de las personas que llevan a cabo la eutanasia. Sin embargo, al personal se le debe dar la oportunidad de rechazar el llevar a cabo métodos de eutanasia que ellos personalmente encuentran horribles.

1.6 Manejo e inmovilización

Al igual que otros procedimientos aplicados a animales, la eutanasia requiere un cierto control físico sobre el animal. El grado de control y el tipo de inmovilización necesitado vendrá determinado por la especie animal, raza, tamaño, grado de domesticación, presencia de una herida dolorosa o enfermedad, grado de excitación y método de eutanasia. Es vital un control adecuado para minimizar el dolor y la angustia en los animales, para asegurar que no haya peligro para la persona que lleva a cabo la eutanasia y frecuentemente para proteger a otros animales y personas. Una inmovilización suave pero firme por un cuidador conocido, un manejo cuidadoso, acariciar y hablar durante la eutanasia, tienen a menudo un efecto calmante sobre muchos animales. Puede ser necesaria la utilización previa de fármacos, tranquilizantes e inmovilizantes cuando la captura o inmovilización puedan producir dolor, lesiones, ansiedad en el animal, o peligro al operador.

1.7 Equipamiento

Los instrumentos, el equipamiento y las instalaciones utilizadas para aturdir o sacrificar animales deberían estar diseñadas, construidas y mantenidas de modo que se consiga rápidamente el aturdimiento y la muerte. Deben ser periódicamente inspeccionadas y limpiadas para asegurar que estén en buen estado y que funcionarán correctamente en todas las ocasiones. Se debe limpiar la sangre, orina y heces ya que podrían causar ansiedad a los animales que vayan a continuación.

1.8 Eliminación de cadáveres y residuos

Se deben evaluar los posibles riesgos hacia los humanos cuando se conozca que los animales son portadores de agentes zoonóticos, cuando estén tratados con radioisótopos o con productos químicos tóxicos y el personal que maneje estos cadáveres deberá tomar las precauciones necesarias para su protección y la de los demás. Se debe tener cuidado al deshacerse de los cadáveres y otros residuos, (por ejemplo agua que lleve sustancias disueltas) que no supongan peligro para otras personas o para el medio ambiente. Los

métodos químicos (excepto el anhídrido carbónico) no se deben utilizar en animales destinados a consumo humano o cuando el cadáver pueda entrar en la cadena alimentaria. Los técnicos deben asegurarse que cumplen la legislación nacional e internacional.

2 Comentarios generales sobre los métodos de eutanasia

En esta sección hay una lista con la mayoría de los métodos que han sido utilizados para sacrificar animales de experimentación. Para aquellos métodos menos claros que no se mencionan debería asumirse, en general, que no son considerados aceptables hasta que hayan sido cuidadosamente valorados bajo los criterios dados en la Sección 1 y hayan sido considerados humanitarios por una persona cualificada, como un veterinario o la autoridad competente. Junto con esta sección se debe consultar la Sección 1.

Los agentes pueden causar la muerte por tres mecanismos básicos: (1) hipoxia, directa o indirecta; (2) depresión directa de las neuronas esenciales para las funciones vitales; y (3) interrupción física de la actividad del cerebro y destrucción de neuronas esenciales para la vida (Andrews *et al.* 1993, Lumb & Jones 1984). Se pueden obtener detalles adicionales para cada grupo de especies en la Sección 3.

2.1 Métodos aceptables de eutanasia

Métodos físicos

Estos métodos deben producir la inmediata pérdida de consciencia a través del trauma físico del cerebro. Son los más útiles cuando los métodos farmacológicos puedan interferir en el propósito del experimento. Aunque los métodos físicos pueden ser estéticamente menos agradables para los observadores y los que sacrifican a los animales, en manos expertas son rápidos, seguros y posiblemente los que producen menos angustia en el animal. Para todos estos métodos es esencial la formación de especialistas. Estos métodos necesitan inmovilización, lo cual puede causar estrés adicional para algunos animales. Si es posible, el animal no debería ser sacrificado de modo que pueda ser visto u oído por otros animales.

2.1.1 Disparo

El disparo en la cabeza, para asegurar la destrucción inmediata del cerebro, es un método de sacrificio efectivo y humanitario para grandes reptiles y mamíferos (Australian Veterinary Association 1987, Longair *et al.*

1991). Se puede dividir en dos tipos: bala libre o bala cautiva (con penetración o percusión). El tipo de arma utilizada se debe seleccionar de acuerdo con la especie que se ha de sacrificar y el entorno.

(a) *Bala libre*: Se debe tener especial cuidado para evitar el peligro para el operador. Todo el personal debe estar entrenado en estas técnicas para asegurar la posición correcta del arma y así alcanzar directamente el cerebro (Longair *et al.* 1991). No se debe realizar dentro de un edificio el disparo de una bala libre, ya que las balas rebotadas pueden causar daño a las personas, pero se puede usar de modo eficaz en el campo por tiradores expertos. Cuando el animal se pueda sujetar convenientemente es preferible el método de la bala cautiva, ya que es menos peligroso para el personal.

En caballos se prefiere un sacrificio humanitario con bala libre (Blackmore 1985, Dodd 1985, Oliver 1979).

(b) *Bala cautiva*: La bala cautiva penetrante es una herramienta eficaz para conseguir dejar inconscientes a muchos de los animales grandes (Blackmore & Delaney 1988, Daly & Whittington 1989, Green 1987, Longair *et al.* 1991). Los conejos grandes y los perros se pueden sacrificar también de este modo (Dennis *et al.* 1988, Holtzman 1991). Sin embargo, no es siempre efectivo en cerdos grandes ni en toros adultos debido al grosor y densidad del cráneo. El propósito de este aturdimiento por golpe es conseguir que el animal quede inmediatamente insensible al dolor por producirle concusión (Ministry of Agriculture, Food and Fisheries 1993).El animal debe permanecer insensible hasta que se lleve a cabo la exanguinación (Blackmore 1993). Se puede reconocer un golpe eficaz, porque tras el disparo el animal se colapsa inmediatamente quedando su cuerpo y músculos rígidos y no debería presentar el reflejo de la estación. La respiración acompañada normal debería cesar, debería haber pérdida del reflejo palpebral y el ojo debería apuntar hacia fuera y no rotar hacia la zona posterior del cráneo. La efectividad del golpe aturridor depende de la precisión al colocar la pistola, del uso del cartucho adecuado en relación a la especie y tamaño del

animal, el tamaño y la velocidad de la bala cautiva y el mantenimiento en condiciones de la pistola. El lugar de penetración difiere con cada especie y por ello este método debería llevarlo a cabo solamente personal adecuadamente entrenado. Se debe utilizar la inmovilización adecuada que prevenga el posicionamiento

incorrecto de la pistola. La pistola recomendada es aquella que tenga la bala cautiva retirada en el cañón antes de disparar, mejor que aquella en la que la bala cautiva se extiende más allá del cañón, ya que, la que la tiene retirada es más probable que genere una mayor velocidad de la bala cautiva, en el momento del impacto. El operador debería asegurarse que la bala cautiva se retrae completamente tras cada disparo, de no ser así, no debería volver a utilizar la pistola hasta haber sido reparada. La bala cautiva debe limpiarse siempre adecuadamente tras cada uso.

2.1.2 Concusión (aturdimiento por golpe o stunning)

Se puede llevar a cabo de varias maneras dependiendo del tamaño del animal. En animales pequeños como conejos pequeños, gatitos y perritos recién nacidos, ratas, ratones, cobayas jóvenes, hámsters, aves, pequeños reptiles, anfibios y peces (Clifford 1984) un golpe en la cabeza puede ser suficiente para dejar al animal insensible (Green 1987). Para la correcta elección del método a utilizar son esenciales experiencia y entrenamiento.

Con animales mayores se debe utilizar equipamiento especializado del tipo de la bala cautiva no penetrante. *No está indicada la utilización del martillo o del hacha de matadero* como método para aturdir por golpe. Estos métodos deben ir siempre seguidos de la inmediata exanguinación, extracción del corazón o destrucción del cerebro para asegurar la muerte. Para todos los operarios es esencial el entrenamiento. Si no se realiza correctamente puede dar lugar a varios grados de consciencia con dolor concomitante. Es difícil asegurar la estabilidad en la actuación de los operarios, y por ello, sólo se deberían sacrificar, cada vez, unos pocos animales. Se debe confirmar la muerte de cada animal antes de aturdir al siguiente.

Se ha utilizado con éxito un chorro de agua a alta presión para el aturdimiento de cerdos. Es un método aceptado en Suiza (Schatzmann *et al.* 1991, 1994).

2.1.3 Aturdimiento eléctrico

Ha sido utilizado con peces, anfibios, aves, perros y otros carnívoros, aves de corral, cerdos (Lambooy & van Voorst 1986, Laursen 1983) ovejas, terneros, cabras y conejos (Warrington 1974). Los animales con cuernos no se deben aturdir utilizando este método, si éstos dificultan la aplicación de los electrodos con

precisión. No se debería utilizar en gatos debido a la alta conductividad de su pelaje (Green 1987). No es aceptable para utilizar con peces, ya que la corriente alterna estimula la contracción de la musculatura esquelética, cardíaca y lisa, induciendo tetania, no anestesia.

Para este método de eutanasia debería usarse solamente un equipo específico. Se puede utilizar la corriente alterna para aturdir a los animales, (Breazile & Kitchell 1969) pero debe estar seguido por otro método para completar la muerte. De modo alternativo, se puede conseguir inconsciencia inmediata con parada cardíaca si los electrodos se aplican simultáneamente sobre la cabeza y el lomo del animal, pero se deben colocar los electrodos de tal modo que aseguren que la corriente se dirige a través del cerebro, para producir inconsciencia antes de la fibrilación cardíaca (Andrews *et al.* 1993).

Normalmente se aplica la corriente en la cabeza del animal por medio de un par de tenazas semejantes a tijeras, con un electrodo al extremo de cada brazo. Los aturdidores de alto voltaje son más efectivos. Los animales deben estar adecuadamente sujetos, de modo que las tenazas se puedan aplicar con precisión. Los electrodos deben ir de lado a lado del cerebro y ser aplicados firmemente de modo que mantengan su posición cuando el animal caiga al suelo (Ministry of Agriculture, Food and Fisheries 1993).

No es aceptable el aturdimiento de cabeza a cola ni de cabeza a pezuña, ya que no causa la inconsciencia inmediata (Breazile & Kitchell 1969). Los electrodos no se deben aplicar detrás de las orejas o a ambos lados del cuello, porque paralizaría al animal sin llegar a la inconsciencia, dando como resultado dolor intenso y sufrimiento. Se debe tener cuidado para asegurar que el animal no recibe una descarga eléctrica antes de la aplicación correcta de los electrodos, situación que puede darse por contacto con otros animales que estén siendo aturridos o por tener la piel húmeda.

El aparato debe tener un mecanismo que prevenga su funcionamiento si no le llega la cantidad mínima de corriente requerida, así mismo, debe tener mecanismos para medir el tiempo de aplicación, indicadores de voltaje e intensidad de corriente.

Los signos de un aturdimiento eléctrico eficaz son la extensión de los miembros, opistotonos, (arqueamiento del cuerpo y espasmos de las extremidades) rotación hacia abajo de los globos oculares y espasmos tónicos que cambian a clónicos con periodos de flacidez muscular. Tras quince o veinte segundos pueden reaparecer los reflejos y el animal puede volver

a respirar, por ello, debe llevarse a cabo inmediatamente otro método para asegurar la muerte, como la exanguinación (Anil & McKinstry 1991). Si el animal no se aturde correctamente, puede quedar paralizado mientras mantiene plena consciencia y es capaz de sentir dolor .

2.1.4 Dislocación cervical

Este método se utiliza para la eutanasia de peces, aves de corral, ratones, cobayas jóvenes, ratas jóvenes, conejos neonatos y gatos y perros recién nacidos (Clifford 1984, Green 1987, Reilly 1993). Se puede utilizar en ratas de más edad y en conejos de hasta un kilogramo si están sedados o aturdidos antes de la dislocación . Gregory y Wotton (1990) mostraron que utilizando este método no siempre hay inconsciencia inmediata en aves de corral.

Se debe tener cuidado para asegurar la separación completa. Si se lleva a cabo correctamente debe causar graves daños al tallo cerebral y una inconsciencia instantánea (Iwarsson & Rehbindler 1993). Se debe confirmar la muerte por exanguinación o destrucción del cerebro (Blackmore 1993).

Llevarlo a cabo puede resultar estéticamente desagradable para el operador y se recomienda, si el operador no está totalmente seguro de llevar a cabo esta técnica rápida y eficazmente, que utilice otro método. Cuando sea posible, los animales deberían estar sedados o anestesiados antes de la dislocación.

2.1.5 Decapitación

Este procedimiento se ha utilizado para sacrificar peces, anfibios, aves, roedores y conejos pequeños. La decapitación implica la separación del cuello del animal muy cerca de la cabeza utilizando un instrumento afilado. No se recomienda la utilización de tijeras, a menos que sean adecuadas para la especie animal (esto es, que tengan unas cuchillas lo suficientemente largas) y que la presión sea lo suficientemente fuerte para separar el cuello con facilidad al primer intento. La decapitación debería ser realizada utilizando guillotinas especialmente diseñadas con ese fin, para asegurar una separación rápida en la posición correcta (Clifford 1984).

Se ha debatido ampliamente acerca del tiempo que tarda la cabeza decapitada en perder la consciencia, tanto en vertebrados homeotermos (de “sangre caliente”) como en poiquilotermos (de “sangre fría”) (Allred & Berntsen 1986, Andrews *et al.* 1993, Blackmore 1993, Holson

1992, Lorden & Klemm 1987, Mikeska & Klemm 1975, Reilly 1993, Tidswell *et al.* 1987, Vanderwolf *et al.* 1988) y se ha sugerido anestesiarse o sedar antes al animal (Smith *et al.* 1986). Sin embargo, la inyección de sedantes o anestésicos antes de la decapitación podría incrementar el estrés previo a la eutanasia, por lo que no se considera positivo para el bienestar del animal.

En vertebrados poiquilotermos (de “sangre fría”) los animales deben ser aturdidos o insensibilizados antes de la decapitación, ya que son muy tolerantes a la anoxia (Warwick 1986). La investigación en aves ha evidenciado que se pueden evocar respuestas a estímulos visuales hasta 30 segundos después de la decapitación, (Gregory & Wotton 1990) lo que hace que sea inaceptable. En otros animales homeotermos, se considera que la falta inmediata de riego sanguíneo al cerebro y la anoxia subsiguiente deja la cabeza rápidamente insensible, (Derr 1991) haciendo innecesario el aturdimiento o la sedación previa. No se acepta el uso de la puntilla (Comisión de la Comunidades Europeas 1993).

Se prefiere el uso de otros métodos cuando sea posible, hasta que investigaciones más avanzadas puedan hacer evidente una pérdida rápida de consciencia.

2.1.6 Maceración

Está aceptado este método para la destrucción de pollitos de hasta 72 horas de vida que, a menudo, tienen que ser sacrificados en gran número (Bandow 1987, Comisión de la Comunidades Europeas 1993). *Sólo se deben utilizar maceradores específicamente diseñados con este fin, y bajo ninguna circunstancia deberían utilizarse aparatos eléctricos caseros.*

Los peces muy pequeños (<2 cm de largo) se pueden sacrificar introduciéndolos en una unidad de eliminación de residuos (Bannister, comunicación 1995).

2.1.7 Irradiación con microondas

Este método lo usan los neurobiólogos como medio para fijar los metabolitos del cerebro, sin que pierda su integridad anatómica (Morojiet *al.* 1977). Sólo se pueden utilizar aparatos especiales diseñados con este propósito (lo que no incluye los hornos microondas del hogar). Esto implica enfocar con precisión el rayo de microondas a una parte específica del cerebro. Sólo se debe realizar en animales pequeños como anfibios, aves, ratones, ratas y conejos

pequeños (menores de 300 gramos) (Zeller *et al.* 1989). Este método requiere la pericia de un especialista, pero cuando se lleva a cabo correctamente es humanitario, ya que la muerte sucede en cuestión de milisegundos (Andrews *et al.* 1993, Bermann *et al.* 1985, Olfert *et al.* 1993). Hay que tener mucho cuidado para asegurar la posición correcta del rayo de microondas, pero el tiempo que lleve la inmovilización del animal debe ser el mínimo posible para reducir el estrés previo a la eutanasia. Se ha utilizado con éxito la irradiación de todo el cuerpo en ratones a 47-49°C, muriendo los animales en menos de un segundo, (Von Cranach *et al.* 1991a, b) y es aceptable (Schatzmann, comunicación 1995). *Este no es un procedimiento rutinario para eutanasia.* Se deben tomar precauciones, ya que puede ser peligroso para el operador (Bermann *et al.* 1985).

Métodos químicos

Muchos anestésicos se utilizan en sobredosis como agentes eutanásicos. Un anestésico es un agente que produce, de un modo controlado, la ausencia de percepción de cualquier sensación. Produce inconsciencia, analgesia y relajación muscular suficiente para realizar los procedimientos sin dolor. Las manifestaciones por sobredosis de anestésico incluyen: aparición de arritmias cardíacas; el tiempo de llenado capilar aumenta progresivamente hasta 3 o más segundos; la respiración se hace mas lenta, superficial e irregular, se vuelve diafragmática o puede cesar; el color de la piel y de las membranas mucosas puede ser de pálido a cianótico; los reflejos cardiovasculares, del sistema nervioso central, musculoesqueléticos, gastrointestinales y oculares están enormemente disminuidos o abolidos; la presión sanguínea cae rápidamente hasta producir una profunda hipotensión (valor medio <20-30 mmHg).

Agentes inhalatorios

Los agentes inhalatorios son, o bien vaporizados, o bien conducidos como gas hasta cámaras o circuitos anestésicos. Las cámaras que se utilicen para la distribución de estos agentes, deben estar diseñadas adecuadamente, de modo que aseguren la distribución uniforme del gas y la rápida exposición de los animales a una concentración alta del agente. Su utilización es de gran interés en muchos animales pequeños, por ejemplo aves, roedores, gatos y perros pequeños (Smith *et al.* 1986). En conejos es preferible usar otros métodos ya que

reaccionan adversamente a los gases y muestran signos de excitación (Green 1979). Los reptiles y los anfibios pueden aguantar la respiración, lo que conduce a un alargamiento del tiempo de inducción. Los animales recién nacidos son más resistentes a la hipoxia y tardan más tiempo en morir: por ello hay que utilizar otros métodos.

Es importante seleccionar agentes que no sean desagradables al ser inhalados, porque algunos pueden ser irritantes y por ello estresantes. Los agentes que produzcan convulsiones antes de la inconsciencia son inaceptables para la eutanasia. Cuando se administren agentes inhalatorios hay que tomar precauciones de seguridad, utilizando un equipo adecuado de recogida de gases. Se debe confirmar la muerte.

2.1.8 Dióxido de carbono

A concentraciones superiores al 60% el dióxido de carbono (anhídrido carbónico) actúa como un agente anestésico y produce rápidamente la pérdida de consciencia (Green 1987). Es muy eficaz y humanitario para la eutanasia de la mayoría de los animales pequeños utilizándolo por encima del 70% de concentración. El dióxido de carbono estimula el centro respiratorio, lo que puede causar al animal ansiedad y estrés y al mismo tiempo resultar para el observador estéticamente desagradable. El dióxido de carbono puede formar ácido carbonico al contactar con las membranas mucosas nasales, lo cual puede producir un efecto de hormigueo o picazón, que puede resultar moderadamente irritante para algunas especies cuando se utiliza en concentraciones menores (Lucke 1979).

Para la mayoría de los animales, se recomienda situarlos inmediatamente en atmosfera de CO₂ >70% , ya que pierden la consciencia muy rápidamente debido al efecto narcótico del alto aporte de CO₂ al cerebro, sin producir hipoxia (Blackshaw *et al.* 1988, Forslid *et al.* 1986). En animales conscientes el 100 % de CO₂ puede causar grave disnea y angustia (van Zutphen *et al.* 1993).

Se recomienda el 100 % de CO₂ para pollitos de hasta 72 horas de vida, porque son más tolerantes al CO₂. Raj y Gregory (1993, 1994) y Raj *et al.* (1990,1992) mostraron que el uso de un 60% de argón junto con CO₂ inducía la rápida pérdida de las funciones cerebrales en pavos. Las aves de más edad pueden extender sus alas al ser sacrificadas con CO₂ incluso en estado de coma, lo que lo hace estéticamente menos aceptable. Para pollos y pavos se consideran aceptables concentraciones bajas de CO₂ (30%) utilizándolo junto con otro gas inerte. A esta concentración no es

excesivamente picante y actúa como un anticonvulsivante. En peces produce una actividad intensa antes de la pérdida de consciencia y actúa despacio por lo que no esta recomendado. No se debe utilizar para gatos y especies mayores, porque a veces produce excitación (Glen & Scott 1973, Klemm 1964) y algunos animales tienen aversión a su olor picante. Los cerdos vocalizan antes de perder la consciencia, indicando un cierto nivel de angustia (Gregory *et al.* 1987) y otras personas también han indicado que no es humanitario para cerdos, (Clifford 1984, Hoenderken 1983, Hoenderken *et al.* 1980, Reilly 1993) en contra de las recomendaciones de la CE y las nacionales para sacrificio (Comission of the European Communities 1993, Ministry of Agriculture, Food and Fisheries 1993). Otras investigaciones indican que las reacciones violentas pueden producirse después de la inconsciencia (Andrews *et al.* 1993, Erhardt *et al.* 1989, Forslid *et al.* 1986, Mullenax & Dougherty 1963). Es preferible utilizar otros métodos en cerdos hasta que nuevas investigaciones puedan mostrar cualquier reacción adversa, o utilizarlo cuando estén totalmente anestesiados. No es aceptable para los vertebrados poiquilotermos, ya que la inducción es demasiado larga. Los neonatos son particularmente tolerantes al CO₂, (de 30-60 minutos hasta quedar inconscientes (van Zutphen *et al.* 1993) dependiendo de la madurez en el momento del nacimiento (aquellos que nacen más maduros son menos tolerantes al CO₂). Por ello, este método no deberá utilizarse en animales de menos de dos semanas de edad. No se debe usar el dióxido de carbono con animales que bucean, como el visón, debido a su capacidad para aguantar la respiración. Se han llevado a cabo investigaciones examinando las posibles ventajas de añadir oxígeno para asegurar que los animales mueren por narcosis de CO₂, más que por hipoxia (Iwarsson & Rehbindler 1993). En algunas especies parece reducirse el estrés y la ansiedad, pero está acompañado de un tiempo de inducción mas largo (Blackmore 1993). Hewett *et al.* (1993) manifestó que no había ventajas para el bienestar al utilizar mezclas de CO₂/O₂. Puede resultar difícil mezclar gases con precisión para uso rutinario.

El dióxido de carbono es mas pesado que el aire, por ello un llenado incompleto de la cámara eutanásica puede permitir evitar la exposición al gas a los animales altos o que trepen. Por ello la cámara debe ser llenada previamente con CO₂ hasta el 70% antes de introducir los animales en ella. Sin embargo, otros opinan que puede ser mejor llenar la

cámara una vez que los animales han sido colocados en ella. Las cámaras deben estar diseñadas para evitar que se hagan daño los animales y, si es posible, disponer de mecanismos por los que la concentración de CO₂ se pueda medir rápidamente y con exactitud. Hay que tener la precaución de limitar el número de animales que se pongan cada vez en la cámara, para mantener constante la concentración de CO₂.

El dióxido de carbono no es inflamable ni explosivo, por lo que presenta poco riesgo para el operador. Los extintores contra incendios y la nieve carbónica no son aceptables por la baja temperatura de ambos y el ruido que produce el extintor.

2.1.9 Monóxido de carbono

Produce una muerte rápida, ya que se mezcla con los eritrocitos en competencia por el oxígeno, produciendo de este modo hipoxia (Chalifoux & Dallaire 1983). Como no tiene olor la angustia es mínima o no existe, (Blackmore 1993, Breazile & Kitchell 1969, Green 1987, Smith *et al.* 1986). En reptiles no es aceptable debido a su bajo metabolismo y a su tolerancia a la hipoxia. Esta aceptado para pequeños animales, pero en perros y gatos después de la inconsciencia pueden aparecer vocalizaciones y convulsiones, haciéndolo estéticamente desagradable. La muerte debe confirmarse por métodos físicos. El monóxido de carbono se puede conseguir de tres maneras: por interacción química de formiato sódico con ácido sulfúrico; de colectores de motores de combustión interna; y gas CO comprimido comercial. El monóxido de carbono del escape de un motor de gasolina es muy irritante para las vías respiratorias. Para llegar a utilizarse en eutanasia, debe ser enfriado a través de una cámara de agua y filtrado, utilizando una unidad depuradora de gases para retirar los diversos óxidos de nitrógeno, restos de hidrocarburos, óxidos de hidrocarburos y partículas de carbono. Bajo ninguna circunstancia se utilizarán los gases de salida de motores diesel. Solamente está recomendado el CO comercial. Los animales se introducirán en la cámara solamente después de haberla llenado con un 6% en volumen de CO proveniente de una fuente de CO puro. Ya que es extremadamente nocivo y peligroso para el operador, al no ser detectable, sólo debe utilizarse en un aparato de recogida de gases apropiado, tomando precauciones extremas. Deben instalarse en la habitación monitores de monóxido de carbono.

2.1.10 Anestésicos inhalatorios volátiles

Cuando se utilice cualquier anestésico líquido, se debe tener mucho cuidado en no permitir al animal entrar en contacto con él. Se debe asegurar suficiente aporte de aire u oxígeno; durante el periodo de inducción para prevenir la hipoxia (Andrews *et al.* 1993). 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. Los anestésicos inhalatorios volátiles no son inflamables ni explosivos.

Halotano El halotano es un agente anestésico usado comúnmente para pequeños animales de laboratorio y es de actuación rápida y libre de estrés cuando se utiliza en sobredosis para eutanasia. Posee un efecto depresor sobre los sistemas cardiovascular y respiratorio (Green 1987).

Enflurano El enflurano es un agente anestésico usado comúnmente para pequeños animales de laboratorio y es de actuación rápida y libre de estrés cuando se utiliza en sobredosis para eutanasia (Green 1987). Posee un efecto depresor sobre los sistemas cardiovascular y respiratorio. Se le preferirá respecto del halotano cuando se realicen trabajos de metabolismo de fármacos o toxicología, ya que en el hígado se metaboliza una cantidad muy pequeña de esta sustancia.

Isoflurano El isoflurano es un agente anestésico utilizado comúnmente, es de actuación rápida y libre de estrés para eutanasia usado en sobredosis. El isoflurano produce depresión respiratoria y cardiovascular, sin embargo, tiene un olor picante por lo que no debe usarse con animales que sean capaces de aguantar la respiración. Es particularmente útil cuando se vayan a usar tejidos como el hepático, para estudios toxicológicos o microsomales, ya que no experimenta metabolismo hepático.

Agentes para animales acuáticos, para su absorción a través de la piel y las agallas

2.1.11 Benzocaina (etil aminobenzoato)

Este agente, disuelto en acetona antes de añadirlo al agua del tanque, es un método efectivo y humanitario para sacrificar peces y anfibios. Actúa deprimiendo el sistema nervioso central. Posee eficacia pH-independiente, pero

reduce el pH del agua del tanque, por lo que deberá tamponarse a pH 7.5 para reducir la irritación (Brown 1988, Summerfelt & Smith 1990). El tiempo de descomposición en agua es de unas 4 horas lo que hace que sea medioambientalmente seguro y además lo es para el personal. Se ha de confirmar la muerte por medios físicos.

2.1.12 Tricaina metano sulfonato (MS-222 tamponado)

El MS-222 es un método de eutanasia humanitario y seguro para peces y anfibios. Se ha utilizado en serpientes y caimanes inyectándolo intramuscularmente, pero tiene un periodo de inducción largo por lo que crea angustia. Actúa deprimiendo el sistema nervioso central. Es soluble tanto en agua salada como dulce, pero necesita ser neutralizado con bicarbonato, imidazol, fosfato ácido de sodio, o hidróxido sódico para reducir la irritación y el daño tisular (Brown 1988). La efectividad del MS-222 varía con la especie, tamaño, temperatura y dureza del agua. El MS-222 no es estable a la luz solar y las soluciones almacenadas se deberán guardar en botellas de vidrio ámbar u opacas. Se puede utilizar junto con quinaldina o sulfato de quinaldina lo que lo hace más eficaz, necesiéndose menores cantidades que si se utilizasen cualquiera de los agentes por separado.

2.1.13 Etomidato y metomidato

Ambos son agentes hipnóticos no-barbitúricos que actúan deprimiendo el sistema nervioso central. Son de actuación relativamente rápida y están considerados como agentes humanitarios para el sacrificio de peces. Son altamente solubles en agua (Brown 1988, Summerfelt & Smith 1990).

2.1.14 Quinaldina (2-metilquinolina)

Esta sustancia se utiliza en los Estados Unidos de América (USA) para el sacrificio humanitario de peces. Sin embargo, es raramente utilizado y difícil de conseguir en Europa. Se debe disolver previamente en acetona, pero no tiene efectos adversos en los animales. Tiene un periodo de inducción relativamente largo en comparación con otros agentes. La quinaldina se acumula en tejidos ricos en lípidos como el cerebro. Deprime los centros sensoriales del sistema nervioso central (Summerfelt & Smith 1990). También se puede

utilizar el sulfato de quinaldina para la eutanasia de peces.

Agentes inyectables

Muchas mezclas patentadas, específicamente preparadas para la eutanasia de los animales, son sencillamente agentes anestésicos de potencia triple, como el pentobarbital sódico, pero otros pueden llevar incorporados agentes bloqueantes neuromusculares. Es esencial que el animal esté totalmente anestesiado antes de hacer efecto los agentes bloqueantes neuromusculares, para prevenir la angustia en el animal. Antes de utilizar cualquier agente para eutanasia el técnico consultará el prospecto con referencia a la dosis y vía de inyección. En general, cuando se utilizan agentes anestésicos, el doble de la dosis anestésica produce parada respiratoria, mientras que cuatro veces esa dosis produce parada cardíaca cuando se utiliza ventilación asistida. Tres veces la dosis, normalmente, produce la muerte rápida y uniformemente en animales no ventilados.

Se puede administrar la inyección por varias vías. Se prefiere la administración intravenosa porque el efecto es mas rápido y fiable. Es mas fácil de administrar la inyección intraperitoneal, especialmente en especies en las que las venas son pequeñas y difíciles de acceder, pero lleva más tiempo para que actúe pudiendo causar irritación y durante ese tiempo dolor y angustia. Debe evitarse la inyección intrapulmonar debido a las molestias que puede causar. No son aconsejables las rutas oral y rectal debido al prolongado comienzo de la acción, amplio rango de la dosis letal y la irritación potencial de los tejidos. Las vías intramuscular y subcutánea no se deben utilizar ya que tardan mucho tiempo en actuar. La vía intracardiaca es muy dolorosa y no siempre se tiene éxito al primer intento de penetrar el corazón; por ello estas técnicas no se recomiendan excepto en animales insensibilizados.

A los animales excitables y bravos se les tratará previamente con una combinación neuroleptoanalgésica, un tranquilizante u otro depresor del SNC. Es esencial para la utilización de estos métodos que el personal esté entrenado.

Debido a los residuos en la carne, hay que tener cuidado con la eliminación de los cadáveres. También se deben tomar precauciones para asegurar la seguridad del personal.

2.1.15 Barbitúricos

Son los agentes eutanásicos mas ampliamente utilizados y aceptados para la mayoría de los

animales (Hatch 1982). Incluye los derivados del ácido barbitúrico, oxibarbitúricos (Pentobarbital sódico, secobarbital), tiobarbitúricos (tiopental) y varias mezclas de barbitúricos. El pentobarbital sódico esta considerado comúnmente como el agente mas adecuado. Todos ellos actúan deprimiendo el sistema nervioso central (SNC) y producen parada cardíaca y respiratoria. Producen una rápida eutanasia con un mínimo de molestia, dependiendo de la dosis del agente y la ruta de inyección (se prefiere la ruta intravenosa ya que es la más rápida). En algunos países solo se pueden obtener los barbitúricos con licencia.

Pentobarbital sódico Se utiliza generalmente tanto en inyección intravenosa como intraperitoneal en la concentración del 18%, (200 mg/ml) a una dosis de 200 mg/kg para eutanasia. La inyección intravenosa produce una muerte mas rápida, pero la ruta intraperitoneal puede ser mas fácil de realizar en muchas especies, reduciendo de ese modo el estrés causado por la manipulación. Sin embargo, el pentobarbital sódico puede producir irritación del peritoneo lo que se puede evitar diluyéndolo. La inyección intracardiaca sólo puede utilizarse si el animal esta totalmente anestesiado, ya que es muy doloroso y por ello no se considera aceptable. La inyección intracefálica (foramen magnum) es eficaz en aves grandes como las de corral, pero requiere la pericia de un experto.

2.1.16 T-61

Este agente combina un anestésico local, (clorhidrato de tetracaína) un hipnótico y una sustancia curariforme (N-2-(m-metoxifenil)-2-etilbutil-1-gamma-hidroxitiramida (20%, 4,4'-metilen bis-ciclohexiltrimetil ioduro amónico (0,5%) e clorhidrato de tetracaína (0,5 %) en solución acuosa con formamida). Sólo se puede inyectar de modo intravenoso muy lento, ya que de otro modo es doloroso. En aves pequeñas se puede inyectar en el músculo pectoral, pero no es adecuado para aves de corral. Se debe sedar al animal antes de la administración de T-61.

Se suscitó interés acerca de si el fármaco curariforme podía causar el cese de la actividad respiratoria antes de quedar inconsciente, (Barocio 1983, Baumans *et al.* 1988, Eikmeier 1961, Quin 1963, Lumb *et al.* 1978, Rowan 1986) causando por ello angustia al animal, pero Hellebrekers *et al.* (1990) mostró que la pérdida de consciencia y la pérdida de actividad muscular en conejos y perros, aparecían

simultáneamente, haciendo por esto que este agente sea aceptable para la eutanasia. El relajante muscular previene el bloqueo terminal descrito en los barbitúricos, haciéndolo más aceptable para el observador. En algunos perros hay vocalización y actividad muscular. No es una respuesta consciente, pero puede ser estéticamente desagradable. En muchos países no es una sustancia controlada y por ello puede ser más fácil de obtener que los barbitúricos. En otros países, como en Suecia, no está disponible.

2.2 Métodos aceptables con animales inconscientes

2.2.1 Inserción de aguja

Es un método eficaz para el sacrificio de algunos peces, anfibios y reptiles. Se lleva a cabo insertando una aguja afilada a través del foramen magnum hasta la base del cerebro, para asegurar la rápida destrucción del mismo. Si no se lleva a cabo correctamente y rápidamente el animal permanecerá consciente con los consiguientes dolor y angustia. Se debe dejar primero inconsciente al animal por aturdimiento o con anestesia. Este método debe ser realizado por personal competente.

2.2.2 Congelación rápida

La congelación rápida se ha utilizado para minimizar la actividad enzimática, para posteriores estimaciones bioquímicas de tejidos. Las técnicas implican: (a) inmersión del animal intacto en nitrógeno líquido; (b) decapitación e inmersión inmediata de la cabeza en nitrógeno líquido; (c) congelación forzada; congelación *in situ* y túnel congelador. Antes de cualquier método de congelación hay que dejar a los animales totalmente anestesiados, insensibilizados o decapitados, ya que se ha visto que se puede tardar de 10 a 90 segundos en congelar las estructuras profundas por la baja conductividad térmica de los tejidos que rodean al cerebro. Sólo es aceptable bajo determinadas circunstancias cuando el diseño experimental necesita este tratamiento en animales muy pequeños, como embriones, roedores y conejos neonatos (Green 1987, Van Zutphen *et al.* 1993). El personal que realice estas técnicas debe estar bien entrenado y necesita equipamiento especial.

2.2.3 Exanguinación

Sólo se llevará a cabo la exanguinación total después de dejar insensible al animal por otro

método, debido al estrés asociado con la hipovolemia extrema, y el dolor producido al incidir vasos sanguíneos profundos. No se debe exanguinar a un animal de modo que otros animales puedan verlo u olerlo, utilizando otra habitación cuando sea posible. *No es un método aceptable para el sacrificio de aves*, debido a la tendencia de su sangre a formar coágulos, lo que resulta una exanguinación incompleta y por ello una eutanasia inadecuada. *Tampoco es aceptable para reptiles y otros vertebrados poiquilotermos* por su bajo metabolismo y su tolerancia a la hipoxia.

2.2.4 Nitrógeno/argón

El nitrógeno o el argón desplazan el O₂ y producen la muerte por hipoxia. Al 39% de concentración, las ratas quedan inconscientes pero no hasta los 3 minutos, mostrando signos de pánico y angustia (Andrews *et al.* 1993). En animales jóvenes produce inconsciencia pero no la muerte. En perros y gatos la aparición de la inconsciencia tarda 1-2 minutos, con hiperpnea unos diez segundos antes del colapso (Herin *et al.* 1978, Quine 1980, Quine *et al.* 1988, Rowsell 1981, 1990). Por ello, *no es un método aceptable a menos que el animal este anestesiado*.

2.2.5 Etanol

Este método, descrito por Lord, (1989, 1991) consiste en la inyección intraperitoneal en ratones de 500 µl de etanol al 70%. El etanol produce depresión del sistema nervioso central. Los ratones manifiestan una gran pérdida de control muscular, antes de entrar en coma, seguido de una parada respiratoria. Puede haber irritación del peritoneo. Wallgren y Barry III (1970) establecieron que es irritante a concentraciones superiores al 10% peso/volumen y que la mortalidad se debe a trauma inespecífico. *No es aceptable para la eutanasia en vertebrados, a menos que estén anestesiados*.

2.2.6 Hidrato de cloral

Actúa por depresión lenta del sistema nervioso central. No es aceptable su uso por sí solo, ya que carece de efectos analgésicos, tarda mucho en hacer efecto, produce movimientos en el animal estéticamente cuestionables, se necesitan grandes volúmenes y causa irritación en el peritoneo (Breazile & Kitchell 1969, Hatch 1982). Se puede utilizar para grandes animales por vía intravenosa bajo anestesia, (Lumb 1974)

o en combinación con sulfato magnésico o pentobarbital sódico (Olfert *et al.* 1993).

2.2.7 Cloruro potásico

El ión potasio es cardiotoxico. El cloruro potásico produce jadeo, vocalizaciones, espasmos musculares y episodios convulsivos (Lumb 1974). Además no es agradable para el observador. *No es aceptable para eutanasia a menos que el animal este totalmente anestesiado.*

2.2.8 Embolia gaseosa

Consiste en la inyección intravenosa de 5 a 50 ml/kg de aire. Se ha usado ocasionalmente en conejos (Weisbrod *et al.* 1984). Se puede acompañar de convulsiones, opistotonos y vocalizaciones (Hatch 1982). Es un método muy doloroso y poco fiable y *no es aceptable a menos que el animal este totalmente anestesiado.*

2.3 Métodos que no son aceptables para eutanasia

2.3.1 Descompresión/vacío

Este método actúa por inducción de hipoxia cerebral. Puede haber efectos físicos adversos debidos a los gases atrapados en las cavidades corporales (por ejemplo senos, trompas de eustaquio) al expandirse, lo que puede causar dolor intenso y molestias antes de quedar inconsciente el animal (Von Cranach *et al.* 1991a). Existe además la posibilidad de fallo del equipo, resultando una rápida recompresión con dolor intenso y angustia en los animales. El animal inconsciente puede hincharse, sangrar, vomitar, convulsionarse, orinar y defecar y es estéticamente desagradable para el observador (Booth 1978, Hatch 1982). También puede tardar algún tiempo hasta quedar inconsciente (Barber 1972). *Por estas razones no es aceptable como método de eutanasia.*

2.3.2 Hipotermia

La hipotermia consiste en sacrificar a los animales exponiéndolos a muy bajas temperaturas, como por ejemplo en los ultracongeladores. Se sabe que la hipotermia actúa como un agente anestésico hasta cierto punto (Phifer & Terry 1986). *Sin embargo, no es un método de eutanasia aceptable para*

ningún animal. Sólo se pueden utilizar los ultracongeladores para asegurar la muerte una vez que el animal este totalmente inconsciente y sea improbable que se recupere (Summerfelt & Smith 1990).

2.3.3 Hipertermia

Se ha sugerido para algunos vertebrados poiquiloterms la elevación de la temperatura con el fin de sacrificarlos, ya que morirán por encima de su temperatura crítica, la cuál puede ser de solamente unos grados por encima de su rango de actividad normal, pero *esto no es aceptable. Los animales nunca serán introducidos en agua hirviendo ya que causa un dolor intenso y una muerte lenta.*

2.3.4 Ahogamiento/extracción del agua

El ahogamiento no es un método humanitario de eutanasia para ningún vertebrado ya que es lento, produce estrés intenso y ansiedad por la hipoxia. No es aceptable el sacar del agua a los vertebrados con agallas (incluyendo los renacuajos) (Kestin *et al.* 1991).

2.3.5 Rotura de cuello

Se ha utilizado algunas veces este método para sacrificar aves. Se presiona el cuello del ave de pequeño tamaño contra una barra, también pueden usarse alicates especiales o calibres para hueso. Sin embargo, esto sólo produce parálisis por la destrucción de la médula espinal y no daña al cerebro con la posibilidad consiguiente de mantener la consciencia con dolor, temor y angustia. Este método no es aceptable para la eutanasia de aves ni de ningún animal.

2.3.6 Estrangulamiento

Este no es un método aceptable para sacrificar ningún animal, debido al tiempo que tarda en quedar inconsciente, el dolor, la excesiva ansiedad y el estrés que produciría.

2.3.7 Protóxido de nitrógeno

Son necesarias concentraciones hipóxicas de casi el 100% para conseguir la eutanasia y es de actuación lenta causando por ello estrés innecesario. El animal se convulsionará después de perder la consciencia, lo que reduce la aceptabilidad para el observador. No es un agente eutanásico aceptable. Sin embargo, se puede utilizar con otros agentes para acelerar el comienzo de la anestesia.

2.3.8 Ciclopropano

El ciclopropano es un método humanitario de eutanasia para la mayoría de los animales de laboratorio, ya que produce una anestesia rápida y profunda. Sin embargo, es inflamable con aire y explosivo con oxígeno, lo que lo hace peligroso para el técnico. Esto reduce su aceptabilidad como agente para eutanasia.

2.3.9 Éter (éter dietílico)

El éter es irritante para las membranas mucosas y a concentraciones altas, habitualmente encontradas en el interior de los contenedores y campanas, puede ser estresante para los animales, ya que eleva las catecolaminas (Blackshaw *et al.* 1968, Breazile & Kitchell 1969, Green 1987). Si se utiliza con un vaporizador resulta menos irritante (Baumans, comunicación 1995). A altas concentraciones eleva significativamente algunos parámetros bioquímicos sanguíneos (por ejemplo glucosa). Es peligroso para el técnico por sus propiedades explosivas. *No es un método aceptable de eutanasia.*

2.3.10 Cloroformo

Actúa deprimiendo el sistema nervioso central y produce fallo cardíaco y respiratorio. No es aceptable como agente eutanásico ya que es hepatotóxico, nefrotóxico y carcinogénico para el técnico y para otros animales. Antes de la pérdida de consciencia produce excitación (Breazile & Kitchell 1969). Concentraciones traza introducidas en centros de cría han mostrado interferir seriamente con los programas de cría en roedores (Green 1987).

2.3.11 Metoxiflurano

El metoxiflurano se utiliza habitualmente como agente anestésico, pero es de actuación muy lenta y existe una gran probabilidad de recuperación total incluso después de veinte minutos de sobredosis. Es difícil de obtener en Europa.

2.3.12 Tricloroetileno

Debido a que el tricloroetileno es principalmente un agente analgésico y produce solamente anestesia ligera no es aceptable como agente para eutanasia. Es carcinogénico, produce hipercapnia y es peligroso para el técnico.

2.3.13 Gas Cianhídrico

El gas cianhídrico bloquea la captación de oxígeno, causando dificultades respiratorias y convulsiones violentas antes de comenzar la inconsciencia y la muerte (Hatch 1982). Es además muy peligroso para el técnico. No es aceptable para la eutanasia de ningún animal.

2.3.14 2-fenoxietanol

Este agente está diseñado como antibiótico para peces, pero administrado en cantidades suficientemente grandes puede matar. Las dosis deben ser altas y la muerte puede ser lenta, incrementando de ese modo el angustia en el pez. En algunos peces produce hiperactividad antes de la anestesia (Summerfelt & Smith 1990). Su descomposición química en el agua es muy lenta, lo que hace muy difícil su eliminación ya que sería peligroso para el medioambiente si se vertiese por el alcantarillado, porque puede matar a las bacterias de los sistemas de depuración de aguas residuales. No es aceptable para la eutanasia de peces.

2.3.15 Uretano

Se pueden colocar los animales en una solución de uretano al 1-2%. Se utiliza habitualmente como anestésico. Sin embargo, es muy carcinogénico y debido al potencial peligro para el técnico y los problemas de su eliminación segura no es aceptable (Summerfelt & Smith 1990).

2.3.16 Agentes bloqueantes neuromusculares

Bajo ninguna circunstancia se utilizaran para eutanasia agentes bloqueantes neuromusculares y otros agentes que no induzcan pérdida de consciencia previa a la muerte.

2.3.17 Ketamina

*La ketamina no se considera aceptable como agente único para eutanasia, ya que serían necesarios grandes volúmenes. En conejos se producen potentes convulsiones y vocalizaciones que lo hacen estéticamente inaceptable (Baneux *et al.* 1986, Reilly 1993). Puede ser aceptable usado junto con xilacina.*

2.3.18 Sedantes

Los sedantes no son aceptables como agentes eutanásicos debido a los enormes volúmenes que serían necesarios para producir la muerte.

2.3.19 Sulfato magnésico

Se ha utilizado sólo o junto con pentobarbital sódico a 80 mg/kg. Es un agente bloqueante neuromuscular y un depresor del miocardio, no un depresor del sistema nervioso central (Hatch 1982, Olfert *et al.* 1993). Se requieren grandes volúmenes y los animales pueden mostrar espasmos musculares, episodios convulsivos, vocalizaciones, respiración jadeante y defecación antes de morir (Breazile & Kitchell 1969). El animal permanece consciente hasta que el cerebro sucumbe a la anoxia anoxémica. Carece de efectos analgésicos o anestésicos y por ello *no es aceptable como agente único*.

2.3.20 Otros anestésicos inyectables

Se puede inducir la eutanasia con muchos otros agentes, (ejemplo: alfaxolona/alfadolona, propofol) pero debido a que estos agentes poseen un margen de seguridad relativamente amplio, se necesitarían dosis muy altas reduciendo su aceptabilidad.

2.3.21 Otros agentes

Otros agentes que tampoco deben usarse incluyen nicotina (que produce serios efectos colaterales antes de la muerte) y estrolicina (que excita el sistema nervioso central y el animal permanece consciente y con un dolor muy intenso hasta que muere por asfixia) (Hatch 1982, Lumb 1974).

2.4.22 Agentes administrados por vía oral

En algunos establecimientos de cría a gran escala se han añadido agentes al agua de bebida para la eutanasia masiva de algunos animales. Existe siempre el riesgo de que algunos animales no reciban la dosis adecuada y el tiempo de actuación es generalmente lento. Estas sustancias son peligrosas para el técnico y no son aceptables para ser utilizadas como agentes eutanásicos.

2.3.23 Analgésicos narcóticos

Los derivados opiáceos como la morfina y la etorfina, son depresores del sistema nervioso central al igual que los analgésicos. Su sobredosis produce la muerte por depresión de los centros respiratorios en la médula. Hay una gran variabilidad de reacciones en las distintas especies: algunas enloquecen con dosis grandes de estas sustancias. Debido a que no hay mucha

información acerca de cuán humanitarias son estos fármacos, *no son aceptables como agentes eutanásicos*.

Lecturas adicionales

Generales

- Adolph EF (1969) Regulations during survival without oxygen in infant mammals. *Respiration Physiology* **7**, 356-68
- Allert JA, Adams HR (1987) Pharmacologic considerations in selection of tranquilizers, sedatives and muscle relaxant drugs used in inducing animal restraint. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **191** (10), 1241-4
- Anon (1988) Reducing pain magnify stress. The Veterinary Record **November 26**, 559-60
- Anon (1990) Barbituraatvergiftiging bij dieren. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* **115** (5), 241-2
- Bancroft RW, Dunn JE, II (1956) Experimental animal decompressions to a near vacuum environment. *Aerospace Medicine* **36**, 720-5
- Barr FM (1987) Waste anaesthetic gas exposure in veterinary surgeries: a need for scavenging systems. *New Zealand Veterinary Journal* **35**, 68-71
- Battisti GA (1984) CO₂ euthanasia: Letter to the Editor/Editor's note. *Laboratory Animal Science* **34** (3), 228
- Baumans V, Van Herck H, Bartels H, Bertens APMG, Hoenderken R, Schlingmann F (1991) Methods of Euthanasia used for laboratory animals in the Netherlands. Abstract voordracht GV-SOLAS (Lubeck), 9-13 September 1991
- Benson GJ, Thurmon JC (1987) Species difference as a consideration in alleviation of animal pain and distress. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **191**(10), 1227-30
- Billings Ch E (1985) Effects of physical agents. In: *Sodeman's Pathologic Physiology, 7th edn* (W Sodeman, ed) WB Saunders, p 1059
- Booth NH (1982) Inhalant anesthetics. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 5th edn, Ch. 12* (Booth NH, McDonald LE, eds). Iowa: Iowa State University Press, pp 175-202
- Borodkin S, Macy L, Thompson G, Schmits R (1977) Stable nonaqueous pentobarbital sodium for use in laboratory animals. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **66** (5), 693-5
- Brewer NR (1982) The history of euthanasia. *Lab Animal* **11** (4), 17,19
- British Veterinary Association (1988) Killing with kindness. *Proceedings of the BVA Animal Welfare Foundation's Sixth Symposium*
- Broom DM (1988) The scientific assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* **20**, 5-19
- Broom DM (1991) Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of Animal Science* **69**, 4167-75
- Bundesamt für Veterinärwesen (1984) *Blutentnahme bei Labornagetieren, Kanichen und Katzen*.

- Informationsblatt Tierschutz, CH-3097 Liebefeld-Bern 15.2.1984
- Bundesamt für Veterinärwesen (1985) Töten von Versuchstieren (Hund, Katze, Labornagetiere, Vögel, Amphibien und Reptilien, Fische). Informationsblatt Tierschutz, CH-3097 Liebefeld-Bern 25.2.1985
- Bustad LK (1982) An educator's approach to euthanasia. *Laboratory Animals* **11**, 37-41
- Butler MM, Griffey SM, Clubb FJ, Gerrity LW, Campbell WB (1990) The effect of euthanasia technique on vascular arachidonic acid metabolism and vascular and intestinal smooth muscle contractility. *Laboratory Animal Science* **40** (3), 277-83
- Canadian Council on Animal Care (1988) AVMA 1986 Report on Euthanasia. Euthanasia methods-cervical dislocation and decapitation with guillotine. Press release January 1988
- Carstensen J (1978) The need for better specification of the animal model in the test situation. In: *Papers and Abstracts/Symposium on Design of Experiments and Quality of Laboratory Animals, Kuopio 5-7 October 1978*. (Nevalainen T, Pelkonen K, eds)
- Cavaliere U, Andreano C, Raducci G, Andreoni C, Iacovella A (1982) Intossicazione de T-61 (TanaxR). *Minerva Anestesiologica* **48**, 861-3
- Chatrjian GE (1980) Electrophysiologic evaluation of brain death: a critical appraisal. In: *Electrodiagnosis in Clinical Neurology*. (Aminoff MJ, ed). New York: Churchill Livingstone, pp 525-80
- Conway CM (1965) The anaesthetic ethers. *British Journal of Anaesthesia* **37**, 644-53
- Cuadros GR, Ocampo CL, Sumano LH (1982) Estudio económico y comparativo de la eficacia del pentobarbital y T-61 como eutanásico en perros. (Comparative and economical Studie of pentobarbital and T-61 as an euthanasia agent). Short communication. *Veterinaria Mexico* **13** (3), 155-6
- Davison MHA (1965) Chloroform. *British Journal of Anaesthesia* **37**, 655-60
- Deutsche Tierärzteschaft e. V. (1987) Töung von Tieren durch das Präparat T-61. *Deutsches Tierärzteblatt* **8**, 556
- Drawer K, Ennulat KJ, eds (1977) *Tierschutzgerechtes Töten von Wirbeltieren Tierschutzpraxis*, New York: Gustav Fischer Verlag Stuttgart pp 293-300
- Edgson FA, Payne JM (1967) The dangers of poisoning domestic pets with meat from animals subjected to barbiturate euthanasia. *The Veterinary Record* **80**, 364
- Eikmeier H (1962) Experience with a new preparation for painless destruction of small animals (T-61). *Die Blauen Hefte Tieraerztl* **5**, 22-3
- Ewbank R (1983) Is CO₂ euthanasia humane? *Nature* **305**, 268
- Faupel RP, Seitz HJ, Tarnowski W, Thiemann V, Weiss C (1972) The problem of tissue sampling from experimental animals with respect to freezing technique, anoxia, stress and narcosis. *Archives of Biochemistry & Biophysics* **148**, 509-22
- Feldman DB, Gupta BN (1976) Histopathologic changes in laboratory animals resulting from various methods of euthanasia. *Laboratory Animal Science* **26** (2), 218-21
- Flecknell PA (1987) *Laboratory Animal Anaesthesia*. London: Academic Press
- Freed DLJ (1983) CO₂ euthanasia. *Nature* **304** (5926), 482
- Gärtner K, Messow C (1975) Tierschutzgerechtes Töten von Versuchstieren, Töten von Wirbeltieren aus der Sicht des Tierschutzgesetzes vom 24 Juli 1972. *Archiv für tierärztliche Fortbildung* **3**, 85-8
- Gärtner K, Ruppert E (1973) Methoden zur tierschutzgerechten Tötung von Tieren. Uebersetzung von der 2. Aufl, von: UFAW: *Humane Killing of animals* (1968). Potters Bar: UFAW
- Gelfan S, Nims LF, Livingston RB (1950) Explosive decompression at high altitude. *American Journal of Physiology* **162**, 37-53
- Glass HG, Snyder FF, Webster E (1944) The rate of decline of resistance to anoxia of rabbits, dogs and guineapigs to the onset of viability to adult life. *American Journal of Physiology* **140**, 609-15
- Goldbaum LR, Orellano T, Dergal E (1976) Mechanisms of the toxic action of carbon monoxide. *Annals of Clinical Laboratory Science* **6**, 372-6
- Grätz H (1981) CO₂-Betäubung und-Anlagen. *Fleischwirtschaft* **61** (4), 513-16
- Green CJ, Knight J, Precious S, et al. (1981) Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10-year experience. *Laboratory Animals* **15**, 163-70
- Gylstorff I (1976) Tierschutzgerechte Tötung von Wirbeltieren. *Archiv für Tierärztliche Fortbildung* **3**, 52
- Hanson MA (1987) Euthanasia of embryos and fetuses. In: *Euthanasia of Unwanted, Injured or Diseased Animals or for Educational or Scientific Purposes*. Potters Bar: UFAW, pp 15-18
- Heinecke H (1989) *Angewandte Versuchstierkunde*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, pp 254-7
- Hilbrich P (1976) Tierschutzgerechte Tötung von Wilbeltieren. *Archiv für tierärztliche Fortbildung* **3**, 25
- Hughes HC (1976) Euthanasia of laboratory animals. In: *Handbook of Laboratory Animal Science*, vol III. (Melby, Altman, eds). Cleveland: CRC Press pp 553-9
- Hughes HH, Warnick CC (1986) Euthanasia. A comparison of the 1978 and 1986 AVMA Panel Reports. *Laboratory Animals Nov/Dec*, 30-2
- Iwarsson K, Rehbinder C, Warren A, Weihe W (1985) Euthanasia in laboratory animals. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* **27** (2), 60-1
- Keller GL (1982) Physical euthanasia methods. *Laboratory Animals* **11** (4), 20-6
- Kingston RL, Saxena K (1979) Intentional poisoning by injection of veterinary euthanasia drug. *Clinical Toxicology* **15** (4), 492
- Kupper G (1964) T-61 used in large animals. *Die Blauen Hefte Tieraerztl* **8**, 32-3

- Kurasawa T, Tamura H, Shikita J, *et al.* (1981) Use of CO₂ euthanasia cabinet for experimental animals. *Jikken Dobutso* **30** (3), 317-21
- Lambooy E (1984) Bedwelmen en doden van dieren. Voordracht gehouden tijdens de 21e Biotechnische dag, 12 November 1983. Biltoven. *Biotechniek* **23** (6), 81-3
- Lambooy E (1984) Euthanasie van huisdieren. *IVO rapport B-251*: (Zeist, Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'): September 1984, pp 1-36
- Lumb WV (1985) *Veterinary Anesthesia*. Philadelphia: Lea & Febiger
- Lumb WV, Jones EW (1984) *Veterinary Anaesthesia 2nd edn. Ch. 24*. Philadelphia: Lea & Febiger
- Lumb WV, Moreland AF (1982) Chemical methods for euthanasia (veterinary medicine). *Laboratory Animals* **11** (4), 29,33,35
- MacDonald LE, Booth NH, Lumb WV, *et al.* (1978) Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **173** (1), 59-72
- Manser CE (1992) The Assessment of Stress in *Laboratory Animals*. Horsham: RSPCA
- Martinic G (1990) The animal Technicians' role in the euthanasia of laboratory rodents. *Animal Technology* **41** (2), 145-50
- Medina MA, Deam AP, Stavinoha WB (1980) Inactivation of Brain Tissue by microwave irradiation. In: *Cerebral Metabolism and Normal function, Ch. 8* (Passoneau RA *et al.*, eds). Baltimore: Williams & Wilkins
- Messow C. Tötung von Versuchstieren: Tierschutzrelevanz und die Bedeutung des Tötungsvorganges Für die postmortale morphologische und funktionelle Befunderhebung. In: K Gärtner: *Qualitätskriterien de Versuchstierforschung*. VHC-Verlag Weinheim, pp 239-264
- Messow C, Bungenstock H, Korn Wd, Hackbarth H (1987) Morphologische Tötungseffekte am Herzen. *Tierärztliche Umschau*. **42**, 803-96
- National Research Council (1991) *Education and training in the care and use of laboratory animals. A guide to developing institutional programs*. Washington DC. National Academy Press
- Owens CE, Davis R, Smith B (1981) The psychology of euthanizing animals--the emotional components. *International Journal of the Study of Animals Problems* **2** (1), 19-26
- Paton WDM (1983) Is CO₂ euthanasia human? *Nature* **305**, 268
- Poole TB (ed) (1989) *The UFAW handbook of the care and management of laboratory animals*, 6th edn. Harlow: Longman Scientific & Technical
- Port CD, Garvin PJ, Garnote ChE, Sawyer DA (1978) Pathologic changes induced by euthanasia agent (T61). *Laboratory Animal Science* **28**, 448-50
- Rappoport MB (1967) On methods of killing laboratory animals. *Lab-Delo* **6**, 363-5
- Schatzmann U, von Cranach J, Gassmann AB (1990) *Anästhesie, Analgesie und Euthanasie bei Labortieren*. Hauptreferat an der wissenschaftlichen Tagung der Schweizer Gesellschaft für Versuchstierkunde, Bern, 29.3.1990
- Schulze W (1987) Die Fähigkeit zur Euthanasie bei allen Haustierarten gehört zum Können des Tierarztes. *Tierärztliche Praxis* **15**, 123
- Schwink K, Egger EL, (1980) Methods of euthanasia. *Iowa State Veterinarian* **42** (2), 78-81
- Seamer J (1992) Transport of live animals for slaughter. *Veterinary Record* **130** (2), 38
- Universities Federation for Animal Welfare (1987) *Euthanasia of unwanted, injured or diseased animals or for educational or scientific purposes* Universities Federation for Animal Welfare (1988) *Human killing of animals*, 4th edn. Preprint
- Veetch RL, Harris RL, Veloso D, Veech EH (1973) Freeze-blowing: a new technique for the study of brain in vivo. *Journal of Neurochemistry* **20**, 183
- Warren RG (1983) *Small Animal Anaesthesia*. World Society for the Protection of Animals (Scientific Advisory Panel). *Pain Assessment and Euthanasia in Ectotherms*. St Louis: Mosby
- Wright M (1982) Pharmacological effects of ketamine and its use in veterinary medicine. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* **180**, 1462-71

Peces

- Amend DF, Goven BA, Eliot DG (1982) Etomidate: effective dosages for a new fish anaesthetic. *Transactions of the American Fish Society* **111**, 337-41
- Anders JJ, Ostrow ME (1986) Goldfish in research: use and maintenance. *Laboratory Animals* 33-41
- Arena PC, Richardson KC (1990) The relief of pain in cold-blooded vertebrates. *ACCART News* **3** (1), 1-4
- Azam K, Strachan NJC, Mackie IM, Smith J, Nesvadba P (1990) Effect of slaughter method on the progress of rigor of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as measured by an image processing system. *International Journal of Food Science and Technology* **25**, 477-82
- Bell GR (1964) A guide to the properties, characteristics and uses of some general anaesthetics for fish, 2nd edn. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin* **148**
- Bernoth EM, Wormuth HJ (1990) Tierschutzaspekte bei der Tötung von Fischen. *Deutschen Tierärztliche Wochenschrift* **97**, 154-7
- Blasiola GC (1975) Quinaldine sulphate, a new anaesthetic formulation for tropical marine fishes. *Journal of Fish Biology* **10**, 113-19
- Boggers TS Jr, Heaton EK, Shewfelt AL, Parvin DW (1973) Technique for stunning channel catfish and their effects on product quality. *Journal of Food Science* **38**, 1190-3
- Booke He, Hollender B, Lutterbie G (1978) Sodium bicarbonate, an inexpensive, fish anaesthetic for field use. *Progressive Fish- Culturist* **40**, 11-13
- Bové FJ (1962) MS-222 Sandoz--the anaesthetic of choice for fish and other cold-blooded organisms. *Sandoz news* **3**, 12
- Bourne PK (1984) The use of MS-222 (tricaine methanesulphonate) as an anaesthetic for routine

- blood sampling in three species of marine teleosts. *Aquaculture* **36**, 313-21
- Brambell FWR, Chairman (1965) *Report of the Technical Committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems*. Cand 2836. London: HMSO
- Curran CA, Poulter RG, Bruton A, Jones NSD (1986) Cold shock reactions in iced tropical fish. *Journal of Food Technology* **21**, 289-99
- Dawson VK, Gilderhus PA (1979) Ethyl-p-amino-benzoate (benzocaine): efficacy as an anaesthetic for five species of freshwater fish. *US Fish and Wildlife Service Investigations in Fish Control* **87**
- Escoubet P (1982) Utilisation et efficacité du metomidate comme anesthésiant sur dix espèces de poissons méditerranéens. *Sci. Vet. Med. Comp.* **84** (6), 356-62
- Ferreira JT, Smit GL, Schoonbee HJ, Holzapfel CW (1979) Comparison of anaesthetic potency of benzocaine hydrochloride and MS-222 in two freshwater fish species. *Progressive Fish-Culturist* **41** 161-3
- Ferreira JT, Schoonbee HJ, Smit GL (1984) The anaesthetic potency of benzocaine hydrochloride in three freshwater fish species. *South African Journal of Zoology* **19**, 46-50
- Ferreira JT, Schoonbee HJ, Smit GL (1984) The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and skin of three freshwater fish species. *Journal of Fish Biology* **25**, 35-41
- Gilderhus PA (1990) Benzocaine as a fish anaesthetic: efficacy and safety for spawning-phase salmon. *Progressive Fish-Culturist* **52**, 189-91
- Gilderhus PA, Marking LL (1987) Comparative efficacy of 16 anaesthetic chemicals on rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* **7**, 288-92
- Gilderhus PA, Berger BL, Sills JB, Hartman PD (1973) The efficacy of quinaldine sulphate as an anaesthetic for freshwater fish. *US Fish and Wildlife Service Investigations in Fish Control* **49**
- Gilderhus PA, Berger BL, Sills JB, Harman PD (1973) The efficacy of quinaldine sulphate: MS-222 mixtures for the anaesthetization of freshwater fish. *US Fish and Wildlife Service Investigations in Fish Control* **54**
- Gooding JM, Corssen M (1976) Etomidate: an ultrashort-acting nonbarbiturate agent for anaesthesia induction. *Anesthesia and Analgesia* **55**, 286-9
- Hartley WG (1977) The use of electricity for anesthetizing fish. *Journal of Fish Biology* **11**, 377-8
- Hong TL, Wen CT. Studies on the packaging of freshwater aquarium fish. *Aquarama* **1**, 45-9
- Houston AH, Woods RJ (1976) Influence of temperature upon tricaine methanesulphonate uptake and induction of anaesthesia in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry and Physiology C, Comparative Pharmacology* **54**, 1-6
- Johansson N (1978) Anaesthetics of fish. *Salmon Research Institute, Report 5*, Sundsvall, Sweden
- Jolly DW, Mawdesley-Thomas LE, Bucke D (1972) *Anesthesia of fish*. *Veterinary Record* **91** (18), 424-6
- Klontz GW (1964) Anesthesia of fishes. In: *Proceedings of the Symposium on Experimental Animal Anesthesiology* (Sawyer DC, ed). US Air Force School of Aerospace Medicine, Aerospace Medical Division, Brooks Air Force Base, Texas, pp 350-74
- Klontz GW, Smith LS (1968) Methods of using fish as biological research subjects. *Methods of Animal Experimentation* **3**, 383-5
- Kreinberg H, Powell J (1991) Metomidate sedation reduces handling stress in Chinook salmon. *World Aquaculture* **22**, 58-9
- Limsuwan CJ, Grizzle JM, Plumb JA (1983) Etomidate as an anesthetic for fish: its toxicity and efficacy. *Transactions of the American Fisheries Society* **112**, 554-50
- Locke DO (1969) Quinaldine as an anesthetic for brook trout, lake trout, and Atlantic salmon. *US Fish and Wildlife Service Investigations in Fish Control* **24**
- Mischra BK, Kumar D, Mischra R (1983) Observations on the use of carbonic acid anaesthesia in fish fry transport. *Aquaculture* **32**, 405-8
- Muench B (1958) Quinaldine, a new anaesthetic for fish. *Progressive Fish-Culturist* **20**, 42
- Ohr EA (1976) Tricaine methanesulphonate--I. pH and its effect on anaesthetic potency. *Comparative Biochemistry and Physiology C, Comparative Pharmacology* **54**, 13-17
- Orsi J, Short JW (1987) modifications in electrical anesthesia for salmonids. *Progressive Fish-Culturist* **49**, 144-6
- Pickering AD, ed (1981) *Stress in Fish*. Academic Press
- Plumb JA, Schwedler TE, Limsuwan C (1983) Experimental anesthesia of 3 species of fish with etomidate. *Progressive Fish-Culturist* **45** (1), 31-3
- Post G (1979) Carbonic acid anesthesia for aquatic organisms. *Progressive Fish-Culturist* **45**, 30-1
- Randall Dj, Hoar WS (1971) Special techniques. In: *Fish Physiology. Vol 6* (Hoar WS, Randall DJ, eds). New York: Academic Press, pp 511-28
- Ross LG, Ross B (1984) *Anaesthetic and sedative techniques for fish*. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, Scotland
- Sado EK (1985) Influence of the anesthetic quinaldine on some tilapia. *Aquaculture* **46**, 55-62
- Schaeffer DO, Kleinow KM, Krulisch L, eds (1992) *The Care and Use of Amphibians, Reptiles and Fish in Research*. Proceedings from a SCAW/LSUSVM-sponsored conference, April 8-9 1991, Louisiana, Scientists Center for Animal Welfare 1992
- Schoettger RA, Steuke EW (1972) *Anesthetization of fish*. US Patent 3, 644, 625 (22 February 1972)
- Schulz D (1984) Forschungsvorhaben: Tierschutzgerechtes Töten von Fischen/Aalen (Abschlußbericht). *Der Fischwirt* **33**, 11-3, 17-19
- Scottish Salmon Growers Association. *Guidelines for Humane Slaughter of Farmed Atlantic Salmon*

- Smit GI, Schoonbe HJ, Barham WT (1977) Some effects of the anesthetic MS- 222 on freshwater fish. *South African Journal of Science* **73**, 351-2
- Stuart NC (1981) Anaesthetics in fish. *Journal of Small Animal Practice* **22**, 377-84
- Verbeek F (1984) Why anaesthetize fish? *The Catfish Association of Great Britain* **43** (3), 8-13
- Wood EM (1956) Urethane as a carcinogen. *Progressive Fish-Culturist* **18**, 135

Anfibios

- Arena PC, Richardson KC (1990) The relief of pain in cold-blooded vertebrates. *ACCART News* **3** (1), 1-4
- Cooper JE (1987) Euthanasia of captive reptiles and amphibians: report of UFAW/WSPA working party, pp 34-9
- Cooper JE, Ewbank R, Platt C, Warwick C (1986) Euthanasia of reptiles and amphibians (letter). *The Veterinary Record* **November 8**, 484
- Kaplan HM (1969) Anesthesia in amphibians and reptiles. *Federation Proceedings* **28** (4), 1541
- Schaeffer DO, Kleinow KM, Krulisch L, eds (1992) *The Care and Use of Amphibians, Reptiles and Fish in Research*. Proceedings from a SCAW/LSUSVM-sponsored conference, April 8-9 1991, Louisiana, Scientists Center for Animal Welfare 1992

Reptiles

- Arena PC, Richardson KC (1990) The relief of pain in cold-blooded vertebrates. *ACCART News* **3** (1), 1-4
- Calderwood HW (1971) Anesthesia for reptiles. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **159**, 1618-25
- Cooper JE (1987) Euthanasia of captive reptiles and amphibians. In: *Euthanasia of Unwanted, Injured or Diseased Animals or for Educational or Scientific purposes*. Potters Bar: UFAW, pp 34-9
- Cooper JE, Ewbank R, Rosenberg ME (1984) Euthanasia of tortoises. *The Veterinary Record* **114** (24) 635
- Cooper JE, Ewbank R, Platt C, Warwick C (1986) Euthanasia of reptiles and amphibians (letter). *The Veterinary Record* **119**, 484
- Gosfrey C (1985) Euthanasia of tortoises. *The Veterinary Record* **116** (11), 304
- Rosenberg ME (1978) Thermal relations of nervous conduction in the tortoise. *Comparative Biochemistry and Physiology* **60A**, 57-63
- Schaffer DO, Kleinow KM, Krulisch L, eds (1992) *The Care and Use of Amphibians, Reptiles and Fish in Research*. Proceedings from a SCAW/LSUSVM-sponsored conference, April 8-9 1991, Louisiana, Scientists Center for Animal Welfare 1992
- Warwick C (1985) Euthanasia of reptiles (letter). *New Zealand Veterinary Journal* **34**, 12
- Warwick C (1985) Euthanasia of reptiles. *Journal of The American Veterinary Medical Association* **187** (11), 1081

- Warwick C (1985) Euthanasia of tortoises. *The Veterinary Record* **116**, 82
- Warwick C (in press) Observations on collection, handling, storage and slaughter of western diamondback rattlesnakes (*Crotalus atrox*). *Herpetopathologia*

Aves

- Cooper CM (1967) Destruction of birds with carbon dioxide. *The Veterinary Record* **81**, 444-5
- Ewbank R (1987) Euthanasia of day-old chicks. In: *Euthanasia of Unwanted, Injured or Diseased Animals or for Educational or Scientific Purposes*. Potters Bar: UFAW, pp 11-14
- Fedde MR (1978) drugs used for avian anesthesia: a review. *Poultry Science* **57**, 1376-99
- Fiedler HH (1976) Die Töung aussortierter Eintagshähnchen--eine Literaturstudie unter tierschützerischem Aspekt. *Archiv für Geflügelkunde* **40**, 56-60
- Gerriets E (1996) Schlachten und Töten von Hühnern. *Berlin München Tierärztliche Wochenschrift* **82**, 63-5
- Gregory NG, Wotton SB (1991) Euthanasia of chickens (letter) *The Veterinary Record* **128**, 532
- Hilbrich P, von Mickwitz G (1977) Tierschutzgerechte Töten aussortierter Eintagshähnchen und nicht schlupffähiger Küken in Brutei. *Berlin München Tierärztliche Wochenschrift* **90**, 355-8
- Jaksch W (1980) Betrachtungen zur elektrischen Betäubung des Geflügels bei der Schlachtung. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* **67**, 77-86, 321-37
- Jaksch W, Mitterlehner A (1979) Euthanasie von Eintagskuckken in der Massentierhaltung. (Euthanasia of day-old (male) chicks in large-scale poultry production). *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* **66** (2), 37-46, 145-9
- Kaltofen GS, Houben GJT (1973) Het doden van eendagskuikens. *De Pluimveehouderij* **3**: Spelderholt Mededeling 198
- Koktula AW, Dewniak EE, Davies LL (1961) Experimentation with in-line carbon dioxide immobilization of chickens prior to slaughter. *Poultry Science* **40**, 213-16
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Welsh Office (1978) *Disposal of unwanted day-old chicks, turkey poults and hatchety waste*. ADAS P568
- Trapp AL, Taylor RF (1986) Methods of euthanasia in poultry and food-producing animals. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **2** (1), 31-41
- Woolley, SC, Gentle MJ (1988) Physiological and behavioural responses of the domestic hen to hypoxia. *Research in Veterinary Science* **45**, 377-82

Roedores

- Anderson LC (1987) Guinea pigs husbandry and medicine. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* **17** (5), 1045-60
- Applebee KA, Cooper JE (1989) An anaesthetic or euthanasia chamber for small animals. *Animal Technology* **40** (1), 39-43
- Baldwin DM, Colombo JA, Sawyer CH (1974) Plasma prolactin, LH and corticosterone in rats exposed to a novel environment. *American Journal of Physiology* **226**, 1366-8
- Battisti GA (1984) Euthanasia of small laboratory animals. *Laboratory Animal Science* **34** (3), 228
- Bauer P, Forster H, Fortmeyer HP (1983) Einflüsse von Exzitationszeit und Tötungsart auf die Stressreaktion von Ratten. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* **25**, 149
- van den Bogaard AEJM, van Dam E, Weekers FH (1985) Het gebruik van een koolzuurgas euthanasie apparaat voor ratten. *Biotechniek* **24** (3), 34-8
- Britt DP (1987) Humaneness of carbon dioxide as an agent of euthanasia for laboratory rodents. In: *Euthanasia of Unwanted, Injured or Diseased Animals or for Educational or Scientific Purposes*. Potters Bar: UFAW, pp 19-31
- Carney JA, Walker BL (1973) Mode of killing and plasma corticosterone concentrations in the rat. *Laboratory Animal Science* **23** (3), 675-6
- Cate CC (1969) A successful method for exsanguinating unanesthetized mice. *Laboratory Animal Care* **19** (2), 256-8
- Clifford DH, Cruse E, Boatfield MP (1985) Euthanasia by CO₂ and halothane alone and in combination in rats. *Laboratory Animal Science* **35** (5), 540
- Cooke SW (1987) Anaesthesia of guinea pigs and reversing pneumothorax. *The Veterinary Record* **March 28**, 309
- Fawell JK, Thomson C, Cooke L (1972) Respiratory artefact produced by carbon dioxide and pentobarbitone sodium euthanasia in rats. *Laboratory Animals* **6**, 321-6
- Geilen H (1984) Lichtmikroskopische Untersuchungen zum Einfluss von Drei Tötungsarten (Dekapitation, Nembutal Überdosierung, Entbluten in Nembutal Narkose) auf die Morphologie der Nebenniere und der Schilddrüse bei Ratten. Inaugural Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover
- Jaax GP (1988) A mobile CO₂ inhalation chamber for small laboratory rodents. *Lab animal* **17**, 26-7
- Johnson IT (1976) Alternative methods of animal sacrifice: the effects on intestinal function *in vitro*. *Experientia* (Basel) **32**, 347-8
- Lord R, Jones GL, Spencer L (1991) Ethanol euthanasia and its effect on the binding of antibody generated against an immunogenic peptide construct. *Research in Veterinary Science* **51**, 164-8
- Mayevsky A (1978) Ischaemia in the Brain: The effects of carotid artery ligation and decapitation on the energy state of the awake and anesthetized rat. *Brain Research* **140**, 217-30
- Messow C, Fiolna A, Kaup F-J, Hackbarth H (1987) Morphologische Auswirkungen an der Lunge bei Ratten nach der Tötung. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* **29**, 219-27
- Modak AT, Weintraub ST, McCoy TH, Stavinoha WB (1976) Use of 300 ms microwave irradiation for enzyme inactivation: a study of effects of sodium pentobarbital on acetylcholine concentration in mouse brain regions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **197**, 245-52
- Mörch ET, Jobgen EA (1959) Fluothane compared to chloroform and ether in mice. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* **3**, 173-9
- Scott FW, Trick D (1982) Variation of rat serum biochemical values following decapitation or anaesthesia with ether, halothane of Innovar-Vet: rapid Innovar-Vet-induced hyperuricaemia and hyperglycaemia. *Clin Exp* **31**, 514-19
- Schlingmann H (1988) Tekening van de Euthanasierotor. (DUPHAR-WEESP)
- Swaab DF (1971) Pitfalls in the use of rapid freezing for stopping brain and spinal cord metabolism in rat and mouse. *Journal of Neurochemistry* **18**, 2085-92
- Thuring JA, v d Heuvel A, Kamerman J, Attia M (1983) CO₂/O₂ gas mixture as an anesthetic agent in rats in terminal studies. Abstract. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* **25**, 179-80
- Venkataraman BV, Shetty PD, Joseph T (1981) Variations in brain and heart acetylcholine content in rat: cervical dislocation vs guillotine technique. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* **25** (3), 289-91

Conejos

- Adki T, Yoshiura M, Iwamoto T, Ozaki Y, Iriyama K (1983) Changes in rabbit brain norepinephrine and dopamine after decapitation. *Jikeikai Medical Journal* **29** (4), 385-92
- Chiboka O (1981) Stage dependency of the effect of fetal decapitation on gestation and parturition in rabbits. *Zentralblatt Veterinärmedizin Reihe A* **28** (4), 338-44
- Dickel H (1975) Tierschutzgerechtes Töten von Kaninchen, Tierschutzgerechtes Töten von Wirbeltieren, *Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover*
- Hattingh J, Cornelius ST, Ganhoa MF, Fonseca F (1986) Arterial blood gas composition, consciousness and death in rabbits. *Journal of the South African Veterinary Association*, **March 1986**, 13-16
- Hunter AR, Pleuvry BJ, Rees JMH (1968) The respiratory depressant effects of barbiturates and narcotic analgesic in the unanaesthetized rabbit. *British Journal of Anaesthesia* **40**, 927-35
- Veysièere G, Berger M, Jean-Faucher C, De Turckheim M, Jean C (1982) Effects of decapitation on the androgen levels in plasma and testes of fetal rabbits. *IRCS Medical Science Library Compend*. **9** (12), 1089

Carnívoros

- British Standards Institution (1957) *Cabinets for the Electrical Euthanasia of Dogs*. British Standard 2909: 1957
- Carding AH (1968) Mass euthanasia of dogs with carbon monoxide and/or carbon dioxide: preliminary trials. *Journal of Small Animal Practice* **9**, 245-54
- Carding AH (1977) Euthanasia of dogs and cats: an analysis of experience and current knowledge with recommendations for research. *Animal Regulation Studies* **1**, 5-21
- Croft PG (1972) The EEG as an aid to assessment of state of consciousness in the dog. *Journal of Physiology* **151**, 6p-8p
- Dallaire A, Chalifoux A (1985) Premedication of dogs with acepromazine or pentazocine before euthanasia with carbon monoxide. *Canadian Journal of Comparative Medicine (Revue Canadienne de Médecine Comparée)* **49** (2), 171-8
- De Vries HW, Zimmermann ANE, van Leeuwen SW, et al. (1977) An experimental study of acute carbon monoxide intoxication in dogs. *Acta Pharmacology Toxicology* **41** (Suppl), 374-92
- Eisele JH, Eger EI, Muallem M (1967) Narcotic properties of carbon dioxide in the dog. *Anesthesiology* **28**, 856-65
- Fox MN, Carding A (1978) *Euthanasia of dogs and cats*. Washington DC: The Institute for the Study of Animal Problems, pp 23-39
- Griesemer RA, et al. (1978) Laboratory Animal Management--Cats. *ILAR News* **21** (3), C1-C20
- Hicks T, Bailey EM Jr (1978) Succinylcholine choride as a euthanatizing agent in dogs. *American Journal of Veterinary Research* **39**, 1195-7
- Körner E (1984) Tötung von farmgehaltenen Peltztieren. *Tierärztliche Praxis* **12**, 57-30
- Lambooy E, Roelofs JA, van Voorst N (1985) Euthanasia of mink with carbon monoxide. *The Veterinary Record*, April **13**, 416
- Loftsgard G, Braathen S, Helgebostad A (1972) Electrical stunning of mink. *The Veterinary Record* **91**, 132-4
- Moreland AF (1974) Carbon monoxide euthanasia of dogs: chamber concentrations and comparative effects of automobile engine exhaust and carbon monoxide from a cylinder. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **165** (9), 853-5
- Prynn RB, Redding RW (1968) Electroencephalographic continuum in dogs anesthetized with metoxyflurane and halothane. *American Journal of Veterinary Research* **29**, 1913-28
- Sawyer DC (1975) Comparative effects of halothane. *Gaines Dog Research Program* 2-3
- Sevcikova E, Reichel F (1982) Klinicke overovani pripravku Pentobarbital Spofa inj. ad usum veterinarium. (Clinical testing of the preparation pentobarbital spofa inj, ad usum veterinarium). *Biologizace a Chemizace Zivocisne Vyroby-Veterinaria* **18** (4), 375-82
- Simonsen HB, Thordal-Christensen A, Ockens N (1981) Carbon monoxide and carbon dioxide euthanasia of cats: duration and animal behaviour. *The British Veterinary Journal* **137** (3), 274-8
- Vinter FJ (1957) The human killing of mink. *British Fur Farmers Gazette* August **1957**

Grandes mamíferos

- Anon (1982) Guidelines for recommending euthanasia (of the horse, approved by the American Association of Equine Practitioners). *Veterinary Professional Topics: Horse, Equine Professional Topics* **8** (1), 1
- Barford K (1990) Carbon dioxide anesthetization of pigs (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 9-10
- Barton-Gade PA, Nielson NJ, Klovborg H (1990) Practical experience with CO₂ stunning (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 14-15
- Birchall A (1990) Kinder ways to kill. *New Scientist* **126** (1717), 44-9
- Birchall A (1990) The rough road to slaughter. *New Scientist* **24 November**, 33-8
- Blackmore DK, Newhook JC (1981) Insensibility during slaughter of pigs in comparison to other domestic stock. *New Zealand Veterinary Journal* **29**, 219-22
- Blackmore DK, Newhook JC (1983) The assessment of insensibility in sheep, calves and pigs during slaughter. In: *Stunning of Animals for Slaughter* (Eikelenboom G, ed). Boston: Martinus Nijhoff, pp 13-25
- Blackmore DK, Newhook JC, Peterson GV (1979) Electrical stunning and humane slaughter. *New Zealand Veterinary Journal* **27**, 224
- Brambell FWR (1965) *Report of the Technical Committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems*. Cand 2836. London: HMSO
- Dougherty RW (1981) Anesthesia and euthanasia. In: *Experimental Surgery in Farm Animals*, Ch 3. Ames: Iowa State University Press, pp 8-13
- Forslid A (1990) Preslaughter CO₂-anaesthesia in swine. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, p 12
- Gregory NG, Wotton SB (1984) Time to loss of brain responsiveness following exsanguination in calves. *Research in Veterinary Science* **37**, 141-3
- Gregory NG, Mohan -Raj AB, Audsey ARS, Daly CC (1990) Effects of CO₂ on man (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 7-9
- von Hertampf B, von Mickwitz G, Betäubung von Schlachttieren; Teil 1: CO₂-Betäubung. Übersichtsreferat. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **86**, 333-76
- Hoenderken R (1979) Zur Betäubung von Schlachtschweinen. *Schlachten und Vermarkten* **79** (8), 235-7

- Hoenderken R, van Logtestijn JG, Sybesma W, Spanjaard WJM (1979) Kohlendioxid-Betäubung von Schlachtschweinen. *Die Fleischwirtschaft* **11**, 1572-8
- Honkavaara M (1990) Effect of stunning method on early postmortem biochemical changes in pork. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, p 14
- Jones RS (1993) Euthanasia in horses. *Royal College of Veterinary Surgeons Newsletter* February 1993
- Jones RS, Knottenbelt DK, Mason K, O'Donnell E (1992) Euthanasia of horses. *The Veterinary Record* **130** (24), 544
- Lagerwey E (1990) CO₂ inhalation in the pig. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord', Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 10-11
- Lambooy E (1982) Electrical stunning of sheep. *Meat Science* **6**, 123-35
- Lambooy E, Spanjaard W (1980) Euthanasia of young pigs with carbon monoxide. *The Veterinary Record* **107**, 59-61
- Lambooy E Spanjaard W (1982) Electrical stunning of veal calves. *Meat Science* **6**, 15-25
- Lieske R (1980) Die euthanasie von Pferden mit Eutha 77 (Euthanasia of horses with Eutha 77). *Tierärztliche Umschau* **35** (3), 170, 175-7
- Lomholt N (1983) CO₂-Betäubung von Schlachttieren, Behauptungen und Realitäten. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **2**, 66-8
- Von Mickwitz G (1990) The behaviour of pigs during application of different stunning methods. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 16-17
- Ring C, Erhardt W (1990) CO₂ anaesthesia for slaughter pigs: Animal protection and meat quality. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, p 13
- Rose MA, Daly DM, Shaw FD (1991) Humane slaughter of farm animals. *ACCART News* **4** (1), 2-3
- Schatzmann U, Zeller W (1990) The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts (Observation of CO₂ stunning under practical conditions). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord', Zeist); *IVO rapport B-354*, p 15
- Schultz NE (1969) Succinylcholine for euthanasia of swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **154**, 38-9
- Thurmon JC (1986) Euthanasia of food animals. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **2** (3), 743-56
- Trapp AL, Taylor RF (1956) Methods of euthanasia in poultry and food-producing animals. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **2** (1), 31-41
- Troeger W, Woltersdorf W (1989) Die Elektrobetäubung von Schlachtschweinen. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 100-3

Primates

- International Primatological Society (1988) *IPS international guidelines for the acquisition, care and breeding of nonhuman primates*
- Mattsson JL, Stinson JM, Clark CS (1972) Electroencephalographic power-spectral changes coincident with onset of carbon dioxide narcosis in rhesus monkey. *American Journal of Veterinary Research* **33** (10), 2043-9

Animales exóticos

- Anon (1979) Avlivning med kolsyra (CO₂)-en introduktion. (An introduction to the use of carbon dioxide (CO₂) for killing mink for euthanasia). *Vara Palsdjur* **50** (10), 240-1
- Cooper JE (1984) Anaesthesia of exotic animals. *Animal Technology* **35**, 13-20
- Haugen AO, Svendsen MJ, Shult M, Petersburg SJ (1976) Immobilization of adult bison with etorphine. *Proceedings of the Iowa Academy of Sciences* **83** (2), 67-70
- Korner E (1984) Tötung von farmgehaltenen Peltztieren (Euthanasia of fur-animals in farms). *Tierärztliche Praxis* **12** (4), 527-30
- Lambooy E (1984) Electrocutie van vossen: een ethisch acceptabele methode? (Electrocution of foxes; an ethically acceptable method? *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* **109** (11), 460-4
- Rowell SF (1985) Stranded whales. *The Veterinary Record* **116** (6), 167

Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 2

Grupo de Trabajo: Mrs. Bryony Close (Presidencia), Dr. Keith Banister, Dr. Vera Baumans, Dr. Eva-Maria Bernoth, Dr. Niall Bromage, Dr. John Bunyan, Profesor Dr. Wolff Erhardt, Profesor Paul Flecknell, Dr. Neville Gregory, Profesor Dr. Hansjoachim Hackbarth, Profesor David Morton & Mr. Clifford Warwick

Envío de correspondencia a: Mrs. B Close, Battleborough Croft, Battleborough Lane, Brent Knoll, Highbridge, Somerset TA9 4DS, UK

Este documento fue elaborado para la DGXI de la Comisión Europea, para ser utilizado con la Directiva 86/609/EEC del 24 de Noviembre de 1986, *relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados Miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos* (Nº L358, ISSN 0378-6978). Se refiere especialmente al Artículo 2(1) publicado por la Comisión Europea en Octubre de 1995, que define “el método de sacrificio humanitario” como “ el sacrificio de un animal con el mínimo sufrimiento físico y mental , dependiendo de las especies “.

Esta es la segunda parte del informe del grupo de trabajo y engloba la Sección 3 del informe, la lista de todas las referencias citadas en ambas partes y los detalles de los materiales para formación. La primera parte, que comprende las Secciones 1 y 2 del informe, junto con una revisión bibliográfica, se publicó en el ejemplar de Laboratory Animals de Octubre de 1996 (30: 293-316).

Se puede disponer de las reimpressiones del informe en inglés, que combinan ambas partes, cursando la solicitud a:

Mrs. S E Wolfensohn, Supervisor of Veterinary Services, University of Oxford, Veterinary Services, c/o University Laboratory of Physiology, Parks Road, Oxford OX1 3PT, UK.

*(Tel: +44(0)1865-272545,
Fax: +44(0)1865-272118)*

Email: sarah.wolfensohn@vet.ox.ac.uk

Contenido de la Parte 2

3	Métodos de eutanasia para cada grupo de especies	2
3.1	Peces	2
3.2	Anfibios	6
3.3	Reptiles	8
3.4	Aves	11
3.5	Roedores	15
3.6	Conejos	18
3.7	Carnívoros: perros, gatos y hurones	21
3.8	Grandes mamíferos: cerdos, ovejas, cabras, ganado vacuno, caballos	24
3.9	Primates no humanos	27
3.10	Otros animales no utilizados habitualmente para experimentos	27
	Referencias	28
	Materiales de entrenamiento para eutanasia	31

3 Métodos de eutanasia para cada grupo de especies

Antes de tener en cuenta esta sección, se debe consultar la Sección 1.

3.1. Peces

Hay más de 20.000 especies de peces con formas de vida enormemente variables, lo que hace muy difícil generalizar sobre métodos de eutanasia. Los métodos que se indican a continuación pretenden ser una guía y el técnico debe valorar cual es el mejor método para las especies que se deban sacrificar o solicitar información a los expertos. Se presenta un resumen en la Tabla 2. Aunque los peces no tengan las mismas vías espinotalámicas que los mamíferos para la percepción del dolor, existen pruebas de que efectivamente sienten el dolor y por este motivo deben ser sacrificados con el mismo cuidado y consideración.

Todos los peces son sensibles a los cambios en los parámetros físicos y químicos del agua en la que viven (especialmente la temperatura, los niveles de gases disueltos, la salinidad, el pH, etc.) pero unas especies son mucho más tolerantes que otras a los cambios en alguno de estos parámetros. Por ello, a menos que se conozca la respuesta de las especies, es recomendable realizar la eutanasia en el mismo tipo de agua que sea habitual para la especie. Si hay que utilizar sustancias, se reducirá el nivel de agua para asegurar una sedación rápida, pero no demasiado para no producir angustia antes de añadir el agente. La dosificación es siempre preferible a la inyección ya que esta última implica manipulación del pez y esto le produciría estrés. Puede ser necesario que los peces ayunen entre 24-48 h antes de la eutanasia química, ya que esto permitirá una absorción más rápida por el intestino y minimizará el riesgo de regurgitación que podría reducir el efecto de las sustancias químicas sobre las láminas de las agallas (Brown 1988). Los tanques que se utilicen deben permitir al técnico observar los peces y reaccionar rápidamente si hay signos de sufrimiento. En general el enfriamiento del agua reduce los procesos metabólicos y locomotores, facilitando así su manipulación, pero resulta esencial tener en cuenta la temperatura habitual del pez y su grado de tolerancia. Es importante señalar también que en los peces de agua salada se forman cristales de hielo dentro de las células antes de que se congele el agua marina, lo que produciría un dolor muy intenso en el pez. En los peces de agua dulce, se producirá antes la

congelación del agua que la formación de cristales internos. Sin embargo, hay que tener presente que el enfriamiento no reduce la capacidad de sentir dolor.

La sobreexposición a un anestésico se manifiesta primeramente por el cese de los movimientos respiratorios, seguido de la sobreextensión espasmódica o ensanchamiento de los opérculos. Al principio, estos procesos se producen cada 15-30 segundos y después a intervalos más largos. Cuando los intervalos entre espasmos son aproximadamente de 1 minuto, en pocos minutos se producirá la parada cardíaca y la muerte (Tabla 1).

Reconocimiento y confirmación de la muerte

Se puede reconocer la muerte por el cese de la respiración (movimiento opercular) y el cese del latido cardíaco (palpación). Cuando sea posible, se debe confirmar la muerte por destrucción del cerebro.

Larvas

Los peces se pueden clasificar en ovíparos, ovovivíparos o vivíparos, dependiendo de si producen huevos que eclosionan fuera del cuerpo, si los huevos eclosionan dentro del cuerpo o si expulsan individuos jóvenes e independientes (larvas).

Tabla 1 Fases de la pérdida de consciencia, conducentes a la muerte en peces (según McFarland y Klontz, 1969)

(VER PG. 33)

Para simplificar, se considera que se debe proteger a todos los peces desde que eclosionan y los métodos de eutanasia recomendados para adultos se consideran aceptables para las larvas. Los peces vivíparos hay que tratarlos por inmersión o inyectando al progenitor.

Adultos

Los detalles adicionales sobre estos métodos se pueden encontrar en la sección 2.

Métodos físicos

Concusión Esta técnica implica un golpe en la parte trasera de la cabeza y, si lo realiza personal experimentado, es un método humanitario de eutanasia. Se debe confirmar la muerte destruyendo el cerebro.

Dislocación cervical Consiste en romper la espina dorsal cerca de la cabeza. Los peces pequeños y medianos se pueden sacrificar insertando un palo o el pulgar en la boca, inmovilizando el pez con la otra mano y desplazándolo dorsalmente (Clifford 1984). Es factible y eficaz en peces pequeños, pero se debe confirmar la muerte por exanguinación o destrucción del cerebro. El estrés producido por la manipulación reduce la aceptabilidad de este método. *No es posible ni humanitario en peces grandes.*

Maceración Los peces pequeños, de menos de 2 cm de longitud, se pueden sacrificar humanitariamente introduciéndolos en una unidad de eliminación de residuos.

Métodos químicos

Se pueden administrar los agentes disolviendo los productos químicos en el agua del tanque. A menudo la temperatura del agua altera la eficacia del fármaco y la inducción es generalmente más rápida a temperaturas más altas. Sin embargo, no se debe elevar la temperatura hasta niveles que puedan provocar estrés a los peces. También se pueden administrar las sustancias por vía intramuscular o intraperitoneal. Generalmente se utilizan para la eutanasia agentes anestésicos al doble o al triple de la dosis anestésica recomendada. En todos los casos debe confirmarse la muerte destruyendo el cerebro.

Tricaína metano sulfonato (MS-222 tamponado) Actúa deprimiendo el Sistema

Nervioso Central. Es un fármaco del tipo benzocaína y es el método más eficaz para sacrificar a la mayoría de los peces. Es soluble tanto en agua dulce como salada. Sin embargo, es caro y eso puede limitar su empleo, especialmente si hay que sacrificar un gran número de peces. Hay que añadir bicarbonato, imidazol, fosfato ácido de sodio o hidróxido sódico para neutralizar el agua (a pH 7.5) para reducir la irritación y el daño tisular. Para incrementar su efectividad puede utilizarse junto con quinaldina o sulfato de quinaldina.

Benzocaína (etil aminobenzoato) Actúa de un modo similar al MS-222, pero su eficacia es pH-independiente. Sin embargo, debido a que baja el pH del agua, debe tamponarse a pH 7.5. El tiempo de descomposición en agua es de unas cuatro horas, haciendo que esta sustancia sea aceptable en cuanto a la contaminación medioambiental se refiere. Antes de añadirla al agua hay que disolverla en acetona ya que no es hidrosoluble.

Etomidato Es un potente agente de base imidazólica sin propiedades analgésicas. Es muy soluble en agua. Las mediciones de las hormonas del estrés en peces han indicado que con el etomidato se pueden dar menos problemas que con el MS-222 (Zwart et al. 1989) y por ello se le considera aceptable para la eutanasia de peces.

Metomidato Es un agente hipnótico no barbitúrico, de estructura imidazólica, que no tiene propiedades analgésicas. Utilizado en sobredosis, está considerado como aceptable para el sacrificio de la mayoría de las especies de peces.

Quinaldina (2-metilquinolina) Es difícil de obtener en Europa pero se utiliza frecuentemente en USA para eutanasia humanitaria. Las dosis recomendadas para eutanasia varían dependiendo de las especies, temperatura y dureza del agua. Se acumula en los tejidos lipídicos como el cerebro y deprime los centros sensoriales del sistema nervioso central. El sulfato de quinaldina también se considera aceptable como un agente eutanásico eficaz para peces.

Halotano Puede ser burbujeado en el tanque y produce anestesia. Se debe confirmar la muerte por destrucción del cerebro.

Agentes inyectables Se pueden usar los barbitúricos, pero como la extracción del agua y manipulación implican estrés, son preferibles otros métodos. Se recomienda la vía intraperitoneal.

Métodos aceptables para peces inconscientes

Inserción de aguja (Pithing) En peces pequeños se puede usar este método, consistente en introducir una púa metálica en la parte superior de la cabeza entre los ojos, moviéndola hacia delante y hacia atrás para destruir el cerebro y el extremo proximal de la médula espinal. *Este método solamente se debe utilizar en animales inconscientes.* Se considera aceptable este método cuando los métodos químicos no son adecuados para el estudio.

Decapitación Ésta es posible en peces pequeños, pero resulta problemática en peces de mayor tamaño. Sólo debe llevarse a cabo la decapitación de los peces previamente anestesiados o aturcidos, ya que existen algunas dudas acerca de la inmediata pérdida de consciencia. Investigaciones con anguilas, han puesto de manifiesto, que el cerebro todavía estaba en funcionamiento 35 minutos después de la decapitación (Verheijen & Flight 1995) y por ello el cerebro debe ser destruido inmediatamente. Este método es aceptable solamente si no se consideran adecuados otros métodos y bajo las limitaciones antes mencionadas. La sección transversal espinal (corte en el cuello) tampoco es aceptable, excepto con peces insensibles (Flight & Verheijen 1993).

Exanguinación No está considerada como un método aceptable de eutanasia, ya que es muy lenta y resulta muy difícil localizar las venas, a menos que el animal esté insensible.

Métodos no aceptables para la eutanasia de peces

Extracción del agua Esto produce angustia y sufrimiento debido al largo periodo de tiempo que tardan en quedar inconscientes. Este periodo se prolonga considerablemente si se baja la temperatura. No es un método aceptable para la eutanasia de peces (Kestin 1993, Kestin et al. 1991).

Aplastamiento de todo el cuerpo No se considera un método humanitario de eutanasia.

Aturdimiento eléctrico (electrical stunning) Si no se utiliza un circuito aislado, podría ser peligroso para el técnico. El aturdimiento eléctrico no funciona con todos los peces (por ejemplo:

anguilas) y utilizado por sí solo no es necesariamente letal (puede que sólo aturda a los peces de mayor tamaño). La corriente alterna estimula la contracción de la musculatura esquelética, cardíaca y lisa, e induce tetania, no anestesia (Summerfelt & Smith 1990). Aunque es utilizado por expertos en las piscifactorías, a menudo para atrapar peces, no se considera aceptable para eutanasia, en condiciones de laboratorio.

Hipotermia La introducción de los peces en un congelador o en hielo picado, prolonga el periodo de consciencia, y no reduce la capacidad de sentir el dolor. Por este motivo, no se debe utilizar como método de eutanasia.

Hipertermia Cuando se colocan peces en agua caliente cerrarán fuertemente los opérculos, disponiendo de ese modo de una reserva de oxígeno que prolonga su periodo de consciencia. El agua hirviendo producirá un dolor extremo. Por este motivo este método no debe utilizarse para el sacrificio de peces de ningún tipo.

2-Fenoxietanol Se usa principalmente como antibiótico pero también se utiliza como agente anestésico. Se necesitan dosis enormes para conseguir la muerte y, además, tiene un largo periodo de inducción. Algunas especies manifiestan hiperactividad previa a la pérdida de consciencia. No se considera aceptable para ser utilizado en la eutanasia de peces.

Dióxido de carbono No es aceptable para la eutanasia de peces ya que causa actividad intensa previa a la pérdida de consciencia y es de actuación lenta.

Éter dietílico No se debe utilizar debido que provoca la irritación de las membranas mucosas, así como al peligro que comporta para el técnico.

Secobarbital y amobarbital Ambos tienen la desventaja de un periodo de inducción demasiado largo.

Uretano Es carcinogénico y por ello extremadamente peligroso para el técnico.

Hidrato de cloral Posee un largo periodo de inducción y sólo actúa como sedante.

Alcohol amílico terciario Produce irritación durante la inducción.

Tribromoetanol Es irritante y posee un periodo de inducción largo.

Clorbutanol Tiene la desventaja de requerir un amplio rango de dosis para las distintas especies.

Metil pentinol Produce estrés por parada respiratoria.

Piridinas Son peligrosas para el técnico.

3.2. Anfibios

Hay muchas especies de anfibios, lo que dificulta generalizar sobre métodos de eutanasia. Se presenta un resumen en la tabla 3. Su piel es fina y está protegida por una cutícula que contiene numerosas glándulas mucosas. La consecuencia de esto es que son generalmente más sensibles a las agresiones físicas y químicas que otros vertebrados. Debido a que los anfibios son poiquiloterms (de sangre fría) y por ello acostumbrados a las fluctuaciones de su temperatura corporal, su sistema nervioso central (SNC) es menos sensible a la hipoxia y a la anoxia. Incluso cuando se interrumpe el riego sanguíneo a los nervios craneales y al cerebro, estos animales

son capaces de responder a estímulos durante algún tiempo. Aunque la decapitación, por sí sola, no produce inconsciencia rápida en las cabezas separadas de los anfibios, la rápida destrucción del cerebro elimina realmente las respuestas que habitualmente se entiende que indican consciencia. Sin embargo, hay un conjunto de respuestas somáticas a los estímulos que se mantienen intactas –movimientos corporales mantenidos mucho tiempo, retirada de las extremidades como respuesta a estímulos de presión aplicados en los dedos, etc., así como un latido cardiaco que sigue en muchos casos durante horas después de la destrucción del cerebro. Esta continuación de la actividad somática se atribuye a:

- (1) tolerancia prolongada a la hipoxia y a las condiciones de hipotensión de la médula espinal, nervios periféricos y musculatura (lisa, cardiaca y esquelética) y
- (2) un grado de integración mucho mayor de las respuestas somáticas a nivel de la médula espinal en lugar de en el cerebro. (UFAW/WSPA 1989)

Tabla 2 Características de los métodos de eutanasia en peces

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
MS-222	++	++	++	++	++	5	Aceptable
Benzocaína	++	++	++	++	++	5	Aceptable
Etomidato	++	++	++	++	++	5	Aceptable
Metomidato	++	++	++	++	++	5	Aceptable
Concusión	++	+	+	++	-	4	Se debe confirmar la muerte
Maceración	++	++	++	++	+	4	Sólo para peces de menos de 2 cm de longitud
Quinaldina	++	++	++	+	++	4	Difícil de obtener en Europa
Pentobarbital sódico	++	++	-	+	++	3	Puede ser útil para peces grandes, inyección intraperitoneal
Dislocación cervical	++	++	+	++	-	3	No en peces grandes. Debe ser seguida de destrucción del cerebro
Halotano	+	+	++	++	++	2	Son preferibles otros métodos. Se debe confirmar la muerte

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con peces inconscientes: inserción de aguja, decapitación y exanguinación

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de peces: extracción del agua, aplastamiento de todo el cuerpo, aturdimiento eléctrico, hipotermia, hipertermia, 2-fenoxietanol, dióxido de carbono, éter dietílico, secobarbital, amobarbital, uretano, hidrato de cloral, alcohol amílico terciario, tribromoetanol, clorbutanol, metil pentinol, piridinas.

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

Reconocimiento y confirmación de la muerte

Se puede reconocer la muerte por el cese del latido cardiaco y de la respiración y, cuando esto no sea obvio, se puede confirmar por destrucción del cerebro.

Larvas

Los renacuajos y los tritones se pueden sacrificar eficazmente colocándolos en un plato de agua con MS-222 o benzocaína (disuelta en acetona). Estos producen anestesia rápida, y a continuación la muerte.

Adultos

Se pueden encontrar detalles adicionales sobre los métodos en la Sección 2.

Cuando se manipulen estas especies, es importante conseguir una sujeción firme, por ejemplo llevando guantes de textura rugosa pero no abrasivos o sujetándolos en un paño áspero. Bajar la temperatura hasta 3-4 °C reducirá los procesos metabólicos y locomotores, facilitando de ese modo la manipulación previa a la eutanasia. Sin embargo, hay que tener presente que el enfriar no reduce la capacidad de sentir dolor (UFAW/WSPA, 1989).

Métodos físicos

Concusión Este método, si es llevado a cabo por una persona que esté bien entrenada en esta técnica, es un modo eficaz y humanitario de aturdir a todos los anfibios. Hay que sujetar las patas traseras y golpear la superficie dorsal de la cabeza contra un objeto duro, macizo. A modo de alternativa, se puede golpear la superficie dorsal de la cabeza con un instrumento adecuado. Es esencial la precisión para asegurar una inconsciencia y muerte inmediatas. Después de la concusión hay que asegurar la muerte destruyendo el cerebro.

Microondas Es un método de eutanasia extremadamente rápido pero sólo debe llevarse a cabo por personal experimentado que conozca exactamente donde deben dirigirse el haz de calor. Sólo se pueden utilizar aparatos especiales, diseñados con este propósito. *Bajo ninguna circunstancia se utilizarán aparatos microondas para el hogar.* No se considera un método rutinario de eutanasia.

Aturdimiento eléctrico Las ranas insensibilizadas por medios eléctricos pueden recuperarse después de 10 minutos, pero si a continuación se destruye inmediatamente el cerebro, se puede considerar como un método aceptable de eutanasia.

Métodos químicos

Las sustancias se administran mejor disolviéndolas en el agua donde estén los anfibios. Esto reduce el estrés que producen la manipulación y la inyección.

Tricaína metano sulfonato (MS-222 tamponado) Éste es un método rápido, no irritante y humanitario para el sacrificio de anfibios, cuando se disuelve en el agua en la que están. Se recomienda neutralizar la solución con bicarbonato para reducir el efecto irritante sobre la piel sensible de los anfibios.

Benzocaína Disuelta en el agua en la que estén los anfibios la benzocaína es una sustancia eficaz, actuando rápida y humanitariamente sobre el SNC. Como la benzocaína no es soluble en agua, hay que disolverla primero en acetona. Hay que neutralizar la solución para evitar la irritación, dado que la benzocaína reduce el pH.

Pentobarbital sódico Cuando se inyecta esta sustancia por vías intravenosa o intraperitoneal actúa rápidamente sobre el SNC, dejando al animal inconsciente sin apenas producirle angustia. Sin embargo, sólo debe llevarlo a cabo personal experimentado que asegure la inyección en el lugar correcto y una mínima manipulación.

T-61 Inyectado por vía intravenosa, o en el saco linfático dorsal en el caso de las ranas, esta sustancia es eficaz y humanitaria para la eutanasia de anfibios.

Métodos aceptables para anfibios inconscientes

Inserción de aguja (Pithing) Asegura la rápida destrucción del cerebro, lo que produce una inconsciencia inmediata. Este es un método rápido y humanitario para el sacrificio de anfibios si es llevado a cabo por técnicos bien entrenados y con experiencia. *Este método debe realizarse solamente con animales inconscientes.* En algunas especies es difícil curvar la cabeza hacia delante para exponer el espacio atlanto-occipital por lo que en estos casos son preferibles otros métodos.

Decapitación Es aceptable solamente en anfibios insensibles ya que no se conoce el tiempo que tardan en quedar inconscientes debido a que su sistema nervioso es muy tolerante a la anoxia.

Métodos no aceptables para la eutanasia de anfibios

Hipotermia Ésta dejara al animal aletargado pero no reduce el dolor. La congelación no es aceptable, debido a que la formación de cristales dentro de los tejidos corporales es probable que sea extremadamente dolorosa. La congelación puede utilizarse solamente como método para confirmar la muerte después de haber utilizado otro método de eutanasia.

Hipertermia Como método de eutanasia no se debe arrojar a los anfibios en agua caliente o hirviendo ya que es extremadamente doloroso e inhumano.

Exanguinación Junto con el shock hipovolémico y la anoxia consiguientes, puede no dejar a los anfibios inconscientes inmediatamente, lo que hace que no sea un método aceptable de eutanasia.

Estrangulamiento Se considera inhumana y no es aceptable para el sacrificio de anfibios.

Dióxido de carbono Puede causar irritación en la piel, y la inducción requiere demasiado tiempo, por lo que no se considera un método aceptable de eutanasia.

Éter Es irritante para las membranas mucosas y debido a que es peligroso para el técnico, no debe ser utilizado para el sacrificio de anfibios.

Cloroformo Es hepatotóxico y carcinogénico y dado el riesgo que comporta para el personal no debe utilizarse para eutanasia.

Anestésicos inhalatorios volátiles No se consideran aceptables ya que actúan lentamente y pueden irritar la piel.

Tabla 3 Características de los métodos de eutanasia en anfibios

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
MS-222	++	++	++	++	++	5	Aceptable
Benzocaína	++	++	++	++	++	5	Aceptable
Pentobarbital sódico	+	++	-	+	+	4	Implica manipulación e inyección por vía intravenosa o intraperitoneal
Concusión	++	++	+	++	-	4	Aceptable para ser utilizado por personal experimentado
T-61	+	++	-	+	+	3	Implica manipulación e inyección intravenosa
Microondas	++	++	-	+	++	3	Sólo para pequeños anfibios. No es un procedimiento de rutina
Aturdimiento eléctrico	+	+	+	-	-	2	Debe ser inmediatamente seguido de la destrucción del cerebro

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con anfibios inconscientes: inserción de aguja y decapitación

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de anfibios: hipotermia, hipertermia, exanguinación, estrangulación, dióxido de carbono, éter dietílico, cloroformo, anestésicos inhalatorios volátiles, hidrato de cloral, clorhidrato de ketamina, clorbutanol, metil pentinol, 2-fenoxietanol, alcohol amílico terciario, tribromoetanol y uretano

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

Otros agentes no considerados aceptables incluyen: *hidrato de cloral*, *clorhidrato de ketamina*, *clorbutanol*, *metilpentinol*, *2-fenoxietanol*, *alcohol amílico terciario*, *tribromoetanol* y *uretano*.

3.3 Reptiles

Debido a que los reptiles son poiquiloterms (de sangre fría) y por ello acostumbrados a las fluctuaciones de su temperatura corporal, su sistema nervioso central (SNC) es menos sensible a un descenso en la tensión de oxígeno. Incluso cuando se interrumpe el riego sanguíneo a los nervios craneales y al cerebro después de la decapitación, estos animales son capaces de responder a estímulos durante algún tiempo. Aunque la decapitación, por sí sola, no produce inconsciencia rápida en las cabezas separadas de los reptiles (Warwick 1990), la rápida destrucción del cerebro elimina realmente las respuestas que habitualmente se cree que indican consciencia. Sin embargo, hay un conjunto de respuestas somáticas a los estímulos que se mantienen intactas –movimientos corporales mantenidos mucho tiempo, retirada de las extremidades como respuesta a estímulos de presión aplicados en los dedos, etc., así como un latido cardíaco que sigue en muchos casos durante horas después de la destrucción del cerebro. Esta continuación de la actividad somática se atribuye a:

- (1) tolerancia prolongada a la hipoxia y a las condiciones de hipotensión de la médula espinal, nervios periféricos y musculatura (lisa, cardíaca y esquelética) y
- (2) un grado de integración mucho mayor de las respuestas somáticas a nivel de la médula espinal en lugar de en el cerebro. (UFAW/WSPA 1989).

Antes de llevar a cabo la eutanasia es importante utilizar buenas técnicas de inmovilización para asegurar el mínimo estrés.

Deben tomarse precauciones especiales cuando se manipulen especies venenosas, como muchos tipos de serpientes, especialmente cuando no están habituadas a ser manipuladas. Para asegurar una inmovilización firme pero no traumática en la manipulación de lagartos y serpientes resulta muy útil utilizar instrumentos almohadillados. El enfriamiento hasta 3-4 °C reducirá los procesos metabólicos y locomotores en la mayoría de los reptiles (esta temperatura puede matar algunas especies tropicales), facilitando de este modo la manipulación previa a la eutanasia. Sin embargo,

hay que tener presente que el enfriamiento no reduce la capacidad de sentir dolor.

En tortugas terrestres, de mar y de agua dulce, la retracción de la cabeza y la protección del caparazón pueden dificultar la eutanasia. Para ayudar a exponer la cabeza se pueden colocar las tortugas de tierra en agua tibia poco profunda; las especies marinas grandes se pueden colocar sobre un armazón inclinado 45° con la cabeza arriba, induciendo la extensión del cuello; las especies de caparazón blando se pueden poner sobre su espalda para inducir la extensión del cuello.

Para facilitar la manipulación de las especies acuáticas se pueden utilizar guantes de textura rugosa pero no abrasiva.

En la inmovilización de cocodrilos el factor clave para la seguridad del técnico, es la inmovilización de las mandíbulas y la cola, que sólo debe ser realizada por expertos (UFAW/WSPA 1989).

La tabla 4 contiene un resumen de recomendaciones.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

Dado que es difícil determinar en los reptiles cuando están inconscientes o muertos, se recomienda confirmar la muerte por destrucción del cerebro. Frecuentemente, pero no siempre, la falta de reflejo palpebral o de respuesta en la membrana nictitante, excepto en las serpientes que no poseen párpados móviles, implica la falta de consciencia. El rigor mortis y la ausencia prolongada de latido cardíaco y/o circulación son indicadores fiables de la muerte.

Embriones

En el caso de los reptiles hay que considerar dos estadios diferentes: los huevos y los individuos de eclosión reciente. A efectos prácticos, a los reptiles recientemente eclosionados se les puede tratar igual que a los adultos. Como los reptiles nacen como individuos totalmente desarrollados (con la excepción de no ser capaces de reproducirse), el sacrificio de embriones en estadio de huevo se debe realizar de un modo humanitario teniendo en cuenta su potencial desarrollo avanzado. En general los huevos pueden sucumbir a altas y bajas temperaturas, pero algunos pueden resistir la congelación. No se consideran aceptables la hipotermia ni la hipertermia por que no se puede garantizar una muerte humanitaria. El ahogamiento no se considera humanitario ya que produce la muerte por anoxia de un modo lento. Los huevos sin embrión se pueden congelar.

Los métodos recomendados incluyen la rotura del huevo y el sacrificio de los embriones por inyección de pentobarbital sódico, sobredosis anestésica o utilizando un método físico apropiado para destruir el cerebro, el huevo o la forma de vida temprana.

Adultos

Como la clase Reptilia es variada, es mejor considerar tres grupos principales: las serpientes y lagartos (Squamata); tortugas de tierra, marinas y de agua dulce (Testudines); y cocodrilos y caimanes (Crocodylia). Los reptiles de mayor tamaño pueden necesitar ser sedados antes de ser sacrificados. En la Sección 2 se pueden obtener detalles adicionales sobre los métodos.

Métodos físicos

Bala cautiva Este método puede utilizarse en condiciones de laboratorio con relativa seguridad. Se considera un método aceptable para grandes reptiles pero sólo debe ser llevado a cabo por expertos que conozcan exactamente donde situar la pistola. Hay que asegurar cuidadosamente el buen mantenimiento de la pistola, así como que su calibre y la longitud del cartucho utilizado sean adecuados para las especies que se deban sacrificar. Para asegurar el sacrificio humanitario es necesaria una buena inmovilización. Si la bala atraviesa el cerebro, matará al reptil, de otro modo puede aturdirlo solamente. Se debe asegurar la muerte por destrucción del cerebro.

Concusión Los reptiles pequeños y aquellos con estructuras óseas finas, como algunas serpientes y lagartos, se pueden dejar inconscientes mediante un golpe aturridor. Esto implica golpear la parte trasera de la cabeza del animal con un instrumento u objeto duro, ya sea para sacrificar al animal directamente o para dejarlo inconsciente. Lo ideal es dar un golpe con una fuerza tal que produzca el cese de la actividad cerebral. Sólo deben realizar esta técnica las personas entrenadas y experimentadas en la manipulación y sacrificio de reptiles. La concusión debe estar siempre seguida de la destrucción del cerebro.

Disparo (Shooting) Es un método eficaz para el sacrificio de la mayoría de los reptiles grandes, produciendo una destrucción del cerebro rápida y considerable. Se requiere una gran pericia con el fin de alcanzar el cerebro a través de la doble envoltura que poseen muchos reptiles. Este método puede, además, resultar peligroso para el técnico

y por ello sólo se realizará en condiciones de campo. Para animales grandes, como es el caso de los cocodrilos adultos, se requiere un rifle de gran calibre o una escopeta de caza de calibre adecuado. Es necesario asegurar que el animal no mueva su cabeza antes de disparar. Los animales del grupo testudines deben tener su cabeza expuesta e inmovilizada para colocar el arma con precisión.

Métodos químicos

Pentobarbital sódico El pentobarbital sódico es un método efectivo y humanitario para la eutanasia de los reptiles. La vía intravenosa puede ser utilizada por personal bien entrenado. Cuando la vía intravenosa sea difícil se puede utilizar la vía intraperitoneal, pero actúa más despacio. No se inyectará por vía intracardiaca o intrapulmonar ya que están consideradas dolorosas e irritantes.

Métodos aceptables para reptiles inconscientes

Inserción de aguja (Pithing) Sólo se puede llevar a cabo con animales inconscientes y por personal experimentado.

Decapitación Sólo se puede utilizar si el reptil ha quedado inconsciente por otros métodos, como la concusión, ya que se han registrado largos periodos de consciencia post-decapitación (Warwick 1990).

Métodos no aceptables para la eutanasia de reptiles

Sección de la médula espinal Debido a la capacidad de los reptiles para resistir la anoxia y la hipoxemia cerebral, la sección de la médula espinal no es un método aceptable de eutanasia. Se ha visto que los cocodrilos pueden permanecer conscientes hasta 1 h 50 minutos después de la sección de la médula espinal y otros reptiles pueden permanecer conscientes durante periodos de tiempo parecidos.

Hipotermia Esta dejará al animal entumecido pero no elevará el umbral del dolor. La formación de cristales de hielo dentro de los tejidos corporales es probable que sea extremadamente dolorosa. La hipotermia no es un método aceptable de eutanasia.

Hipertermia No se considera aceptable ya que no se conoce el tiempo que se tarda en llegar a la inconsciencia. No debe utilizarse nunca agua hirviendo para sacrificar reptiles.

Exanguinación No se considera humanitaria debido a la tolerancia de los animales a la hipoxia.

Cloroformo Se ha utilizado para el sacrificio de tortugas inyectándolo en la cavidad peritoneal, aparentemente sin efectos indeseables. Se consideran más aceptables otros métodos debido al trauma potencial en el animal inyectado y al peligro para el técnico. El cloroformo es hepatotóxico y carcinogénico para el técnico.

Tricaína metano sulfonato (MS-222) Se ha utilizado inyectándolo por vía intramuscular en serpientes y caimanes. Existe poca información sobre lo humanitario de este método y por ello no se considera aceptable.

Los reptiles son capaces de aguantar la respiración durante un periodo de tiempo relativamente largo y por ello los métodos inhalatorios como el *éter*, *halotano*, *enflurano*, *isoflurano* y *metoxiflurano* no pueden ser considerados factibles ni humanitarios debido a su lenta inducción. Otros agentes que no se deben utilizar para el sacrificio de reptiles incluyen el CO_2 , *agentes bloqueantes neuromusculares*, *clorhidrato de ketamina* (la inducción es demasiado lenta), *hidrato de cloral* y *procaína*.

3.4 Aves

Las aves poseen un sistema respiratorio complejo que consta de pulmones y numerosos sacos aéreos con circulación de aire en un solo sentido. Esto

puede influir en la tasa de absorción de agentes inhalatorios y de ese modo incrementar su eficiencia.

Se presenta un resumen de recomendaciones en la tabla 5.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

Se puede reconocer la muerte por la ausencia de signos respiratorios, parada cardíaca y ausencia de reflejos en la cabeza (esto es, los reflejos de los nervios craneales más que los reflejos de la médula espinal). Los reflejos que se deben comprobar deben incluir el pellizco de las barbas o el de parpadeo. Hay que asegurar la muerte por destrucción del cerebro o asegurando el cese del latido cardíaco.

Embriones

Los embriones de ave a partir del estado en el que se ha desarrollado el tubo neural constituyendo un cerebro funcional (>50% de la gestación) se deben destruir humanitariamente ya que pueden ser capaces de percibir dolor desde esa etapa. El método más empleado habitualmente para la destrucción de huevos es enfriarlos o congelarlos. La temperatura que se recomienda es <4 °C durante cuatro horas. Se debe confirmar la muerte por decapitación o algún otro método adecuado. Cuando por necesidad de los estudios el embrión ha quedado expuesto, la decapitación está considerada como un método aceptable de eutanasia, así como una sobredosis de anestésico.

Tabla 4 Características de los métodos de eutanasia en Reptiles

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
Pentobarbital sódico	++	++	++	+	++	5	Aceptable, pero implica manipulación
Bala cautiva	++	++	++	+	+	5	Aceptable para grandes reptiles
Concusión	+	+	+	++	+	4	Debe ser seguido de la destrucción del cerebro
Disparo	++	++	++	-	+	4	Sólo es aceptable en condiciones de campo

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con reptiles inconscientes: inserción de aguja y decapitación

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de reptiles: sección de la médula espinal, hipotermia, hipertermia, exanguinación, cloroformo, MS-222, éter, halotano, metoxiflurano, isoflurano, enflurano, dióxido de carbono, agentes bloqueantes neuromusculares, clorhidrato de ketamina, hidrato de cloral y procaína

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

También se consideran métodos humanitarios para el sacrificio de embriones de aves la rotura de las membranas y la maceración (en un macerador diseñado con este fin) (Bandow 1987).

Adultos

Los detalles adicionales sobre los métodos se pueden encontrar en la Sección 2.

Métodos físicos

Dislocación cervical La dislocación cervical, si se lleva a cabo cerca de la cabeza, produce lesiones en la región inferior del cerebro, lo que produce una pérdida de consciencia rápida y sin dolor. Esta debe estar siempre inmediatamente seguida por la destrucción del cerebro o por la sección de los grandes vasos sanguíneos del cuello. Sin embargo, hay investigaciones que han puesto de manifiesto que los potenciales visuales evocados pueden permanecer hasta 30 segundos después de la dislocación, lo que puede indicar ausencia de insensibilidad (Gregory & Wotton 1990). Por ello, se consideran preferibles otros métodos. Este método no es estéticamente agradable ya que los reflejos se mantienen presentes durante algún tiempo. No debe utilizarse con aves de más de 3 kg o por encima de cierta edad, casos en los que el tirar del cuello rápidamente resulta difícil. Se puede utilizar este método con pollitos de un día siempre que su número se mantenga bajo para evitar errores humanos debidos al cansancio (Jaksch 1981). Se deben inmovilizar las alas de las aves para evitar el aleteo involuntario (Clifford 1984).

Maceración Este método se puede utilizar para pollitos de hasta 72 horas de vida, utilizando un aparato especial que contiene cuchillas para el sacrificio y cuyo funcionamiento mecánico produce una rotación muy rápida (Comisión de las Comunidades Europeas 1993). Sólo se debe utilizar equipamiento diseñado con este fin y que cumpla los estándares de la Directiva del Consejo 93/119/EC. Las cuchillas deben girar a más de 5.000 r.p.m. Los técnicos deben estar entrenados en la utilización de este equipamiento y también en su mantenimiento para asegurar que funcione correctamente en todo momento. La capacidad y el diseño del aparato deben ser suficientes para asegurar que los animales sean sacrificados inmediatamente, sin posibilidad de que puedan ser lanzados hacia fuera por las cuchillas giratorias. En los aparatos más pequeños hay que dejar caer a los pollitos de uno en uno a través de un conducto especial que reduzca las posibilidades de que sean

lanzados al exterior por las cuchillas, pero los aparatos grandes se han diseñado para poder sacrificar un número mayor de pollitos simultáneamente, sin el riesgo de ser lanzados hacia fuera. Para algunos técnicos este método puede ser estéticamente desagradable. *En ningún caso se deben utilizar aparatos domésticos.*

Concusión Se lleva a cabo con un fuerte golpe en la cabeza y en aves pequeñas (<250 gramos) se puede realizar golpeando la cabeza sobre el canto de una mesa. Aunque no es agradable estéticamente, si se lleva a cabo de modo correcto por una persona entrenada y con experiencia en la técnica, es rápida y humanitaria. Este método puede ser aceptable para cantidades pequeñas de pollitos de un día. A menos que se produzca suficiente lesión en el cerebro dando como resultado la muerte inmediata, debe ser seguida de la destrucción del cerebro.

Microondas Las aves pequeñas se pueden sacrificar rápida y humanitariamente por las microondas emitidas por aparatos especializados (Zeller et al. 1989). *En ningún caso deben utilizarse aparatos de microondas para el hogar.* Los técnicos deben recibir entrenamiento especializado en esta técnica para garantizar la dirección precisa del haz de microondas y así una muerte humanitaria. *Este método no debe considerarse como un método de eutanasia de rutina.*

Aturdimiento eléctrico El aturdimiento eléctrico se usa habitualmente en los mataderos, pero generalmente no se considera aceptable para ser utilizado en el laboratorio, a menos que se haga con equipamiento especializado, seguridad para el personal y bajo controles legales. El ave debe quedar aturdida antes de que se produzca la parada cardíaca (esto es, que se coloquen los electrodos de tal modo que se afecte primero al cerebro).

Métodos químicos

Agentes inhalatorios

Dióxido de carbono Este método se usa a gran escala con pollitos de hasta 72 horas (Clifford 1984). Estos pollitos son jóvenes y relativamente insensibles al CO₂ por lo que pueden necesitar dosis mayores que las aves adultas. Hay que colocar a los pollitos durante al menos diez minutos en bolsas no porosas o en contenedores con el 100% de CO₂ utilizando un sistema de alimentación para gases. Resulta preferible utilizar un sistema cerrado que proporciona una inducción más rápida

que los sistemas abiertos. Se debe tener cuidado para evitar el hacinamiento y se deben monitorizar y mantener los niveles de CO₂. Para aves de corral se puede utilizar el dióxido de carbono junto con argón y oxígeno (Raj & Gregory 1994). El CO₂ produce pérdida de consciencia y el argón produce la muerte por hipoxia. Cuando se sacrificuen aves grandes con CO₂, se debe tener la precaución de verificar que la cámara esté completamente llena antes de poner las aves dentro, para asegurar un nivel uniforme de CO₂ en toda la cámara. Las aves de más edad pueden aletear tras la pérdida de consciencia, lo que puede no ser aceptable para algunos técnicos.

Anestésicos inhalatorios volátiles Se debe suministrar aire u oxígeno durante el periodo de inducción. Con todos estos agentes es necesario utilizar un sistema apropiado de recogida de gases.

Halotano, Enflurano, Isoflurano Estos agentes se consideran aceptables para la eutanasia de la mayoría de las aves. Son seguros para el personal si se utilizan con un aparato de recogida de gases y son eficaces para producir anestesia y eutanasia.

Monóxido de Carbono El monóxido de carbono produce la muerte rápidamente ya que se combina con los eritrocitos con preferencia al oxígeno, produciendo de este modo hipoxia. Sin embargo, es extremadamente peligroso para el personal, debido a que no se detecta fácilmente y debe ser utilizado solamente por personal entrenado en esta técnica y con un aparato de recogida de gases apropiado. Sólo se debe utilizar para eutanasia CO comprimido comercial. Se debe confirmar la muerte por métodos físicos.

Agentes inyectables

Pentobarbital sódico Es un método aceptable de eutanasia para aves de todas las edades. El pentobarbital sódico produce una muerte rápida y relativamente libre de estrés si lo utiliza personal con experiencia. Se debe inyectar por vía intraperitoneal. Algunos técnicos experimentados pueden inyectarlo en el foramen magnum en la base del cráneo (intracéfálico), con lo que se obtienen efectos muy rápidos.

T-61 El T-61 es muy eficaz inyectado intramuscularmente en los músculos pectorales de aves pequeñas. No se debe utilizar en aves mayores o de corral porque tarda algún tiempo en actuar y produce convulsiones.

Métodos aceptables con aves inconscientes

Decapitación Ésta reduce la presión sanguínea muy rápidamente, lo que puede producir inconsciencia, así como trauma masivo a través de la médula a nivel del tronco cerebral, con un efecto ascendente y descendente sobre la actividad nerviosa. Sin embargo, el trabajo llevado a cabo por Gregory y Wotton (1986, 1990) en pollos muestra que hay potenciales visuales evocados hasta 30 segundos después de la decapitación. Se considera preferible utilizar otros métodos hasta que nuevas investigaciones puedan mostrar que las aves quedan insensibles inmediatamente.

Inserción de aguja (Pithing) No es un método aceptable a menos que el ave esté totalmente anestesiada.

Nitrógeno Las aves mueren por anoxia. No se deben sacrificar pollitos de un día con nitrógeno debido a su capacidad para resistir concentraciones bajas de oxígeno. Las respuestas de las aves inconscientes pueden resultar desagradables para el personal. En general no se considera aceptable el uso de nitrógeno para la eutanasia de aves a menos que estén inconscientes.

Cloruro potásico Es cardiotóxico, produce espasmos musculares y ataques convulsivos, haciéndolo de este modo desagradable para el técnico. Se puede utilizar solamente una vez que las aves están totalmente anestesiadas.

Métodos no aceptables para la eutanasia de aves

Rotura de cuello Se presiona el cuello del ave de pequeño tamaño contra una barra, o utilizando alicates especiales, diseñados con este fin. No se sabe si la rotura del cuello produce inconsciencia inmediata (Gregory & Wotton 1990). Este método no se considera aceptable para eutanasia ya que hay otros métodos más humanitarios.

Exanguinación No es un método aceptable para el sacrificio de aves debido a que la sangre se coagula fácilmente, produciendo posiblemente una exanguinación incompleta.

Descompresión (creando vacío) Ésta induce disnea. Después de 20 segundos a 60 mmHg las aves se colapsan. Debido a que no se conoce el tiempo que tardan en quedar inconscientes y a que la descompresión produce la rápida expansión de los gases en los sacos aéreos y en los huesos neumáticos, lo que puede producir dolor, este método no es aceptable en condiciones de laboratorio.

Protóxido de nitrógeno Se necesitan concentraciones hipóxicas de casi el 100% para que sea eficaz y es de actuación lenta. El animal presenta convulsiones después de perder la consciencia, lo que puede disuadir a algunos técnicos. No es aceptable para la eutanasia de aves.

Éter y Cloroformo No se deben utilizar para el sacrificio de aves debido al peligro extremo para el técnico y a la irritación de las vías aéreas del ave.

Ciclopropano Es humanitario y produce una rápida anestesia, pero es inflamable y explosivo con aire. Debido al peligro para el técnico, el ciclopropano no es aceptable para la eutanasia de aves.

Tabla 5 Características de los métodos de eutanasia en aves

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
Pentobarbital sódico	++	++	+	+	++	5	Aceptable
T-61	++	++	+	+	++	4	Requiere práctica: sólo aceptable con aves pequeñas (<250 gramos)
Dióxido de carbono	++	++	++	++	+	4	Método aceptable, especialmente para pollitos
Halotano, Enflurano, Isoflurano	++	++	++	+	++	4	Aceptable
Maceración	++	++	++	++	-	4	Aceptable para pollitos de hasta 72 horas
Dislocación cervical	++	++	-	++	-	4	Aceptable para aves pequeñas y jóvenes (<250 gramos) si va seguido de la destrucción del cerebro
Microondas	++	++	-	++	+	3	Debe ser utilizado solamente por personal con experiencia. No es un procedimiento de rutina
Concusión	++	++	-	++	-	3	Aceptable para aves por debajo de 250 gramos
Monóxido de carbono	+	+	++	-	+	2	Peligroso para el técnico
Aturdimiento eléctrico	+	+	+	-	-	1	Peligroso para el técnico. Son preferibles otros métodos

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con aves inconscientes: decapitación, inserción de aguja, nitrógeno, cloruro potásico

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de aves: rotura de cuello, descompresión, exanguinación, protóxido de nitrógeno, éter dietílico, cloroformo, ciclopropano, gas cianhídrico, tricloroetileno, metoxiflurano, hidrato de cloral, estriquina, nicotina, sulfato magnésico, ketamina y agentes bloqueantes neuromusculares

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

Gas cianhídrico Éste produce muerte rápida e irreversible por hipoxia citotóxica, pero también produce excitabilidad y angustia antes de la muerte, lo que lo hace totalmente inaceptable.

Otros agentes que no se deben utilizar incluyen *metoxiflurano, tricloroetileno, hidrato de cloral, estricnina, nicotina, sulfato magnésico, ketamina como agente único y agentes bloqueantes neuromusculares.*

3.5 Roedores

Los roedores son los animales más habitualmente utilizados con fines experimentales e incluyen ratones, ratas, hámsters, cobayas, gerbillos, musarañas y lirones. Se presenta un resumen de recomendaciones en la tabla 6.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

El cese de la respiración y del latido cardiaco y la ausencia de reflejos son buenos indicadores de la muerte irreversible en roedores. La muerte se puede confirmar por exanguinación o extracción del corazón, evisceración, congelación rápida o decapitación. El personal debe ser entrenado para reconocer y asegurar la muerte cuando sacrifique roedores.

Embriones

El momento en que se ha desarrollado el tubo neural, constituyendo un cerebro funcional (hacia el 60% de la gestación), debe tomarse como punto a partir del cual, el feto puede percibir dolor y por ello, debe ser sacrificado humanitariamente. Hay una gran variación en el grado de desarrollo en el momento del nacimiento de los diversos roedores. Los ratones y las ratas son totalmente dependientes al nacer y tienen muy pocas capas de desarrollo neuronal en la corteza cerebral, mientras que los cobayos están totalmente desarrollados y ya son independientes en el momento del nacimiento. Si se extrae un feto de una madre anestesiada, estando también insensible, se puede sacrificar por decapitación o extracción del corazón. Sin embargo, cuando se vaya a extraer un feto, se debe administrar a la madre una cantidad de anestésico mayor y se debe mantener durante más tiempo para asegurar que el anestésico ha cruzado la placenta. En muchos casos los anestésicos inhalatorios no anestesian a los fetos. Los fetos por debajo de 4 gramos que no estén anestesiados antes de extraerlos de la madre, se pueden sacrificar por

enfriamiento rápido en nitrógeno líquido.

Neonatos

Son roedores recién nacidos de hasta 10 días de edad. Pueden reaccionar a los estímulos dolorosos más como embriones que como adultos. Se pueden sacrificar por decapitación o concusión. Se puede considerar la hipotermia (Phifer & Terry 1986). No se recomienda el dióxido de carbono ya que los neonatos son más resistentes, incrementándose el tiempo que tardan en quedar inconscientes. Son necesarias nuevas investigaciones para valorar qué métodos son los más humanitarios.

Adultos

Se pueden encontrar detalles adicionales sobre los métodos en la Sección 2.

Métodos físicos

Cuando se lleven a cabo métodos físicos para el sacrificio de roedores, se debe considerar una cuidadosa manipulación e inmovilización del animal antes del sacrificio. Es preferible una mínima manipulación e inmovilización. Se puede reducir el temor y la ansiedad del animal con sedación previa o si son manipulados por personas conocidas.

Concusión Es un método rápido y humanitario para el aturdimiento de roedores siempre que lo realicen técnicos experimentados y seguros. Sólo se debe utilizar con roedores de menos de 1 kg. Por encima de este peso se requiere una habilidad considerable y a veces una gran fuerza para realizarlo de manera eficaz. Se debe confirmar siempre la muerte.

Dislocación cervical Es un método de sacrificio humanitario y usado habitualmente para la mayoría de los roedores pequeños (por debajo de 150 gramos (Marshall et al. 1994)) ya que causa grandes lesiones al tronco encefálico produciendo inconsciencia inmediata y muerte. Es más difícil con hámsters y cobayas debido a sus cuellos cortos, con músculos más fuertes y a los pliegues de la piel que cubre cuello y omóplatos. En ratones y ratas se sitúan pulgar e índice a cada lado del cuello junto a la base del cráneo o, de modo alternativo, se presiona una varilla junto a la base del cráneo y en ese momento con la otra mano, se tira rápidamente de la base de la cola o de los miembros posteriores, produciendo la separación entre las vértebras cervicales y el cráneo. Los roedores más grandes y las ratas de más edad deben ser sedados o aturridos

antes de la dislocación. Se debe confirmar la muerte como se indica en la sección *reconocimiento y confirmación de la muerte*.

Decapitación La falta inmediata de riego sanguíneo al cerebro y la anoxia subsiguiente, se cree que dejan la cabeza rápidamente insensible (Derr 1991). En general no se recomienda la anestesia previa ya que implica más manipulación y, por consiguiente, provoca estrés al animal. Son preferibles otros métodos hasta que nuevas investigaciones puedan evidenciar la inconsciencia inmediata. Siempre se utilizarán aparatos especiales. Se debe tener cuidado para asegurar que el aparato se mantenga limpio y las cuchillas estén afiladas.

Microondas Implica el uso de aparatos especiales y sólo se debe llevar a cabo por personal entrenado especialmente en esta técnica para asegurar la correcta posición del haz. Cuando se lleva a cabo correctamente es un método extremadamente rápido para el sacrificio de roedores y por ello muy humanitario. *Bajo ninguna circunstancia deben utilizarse aparatos microondas para el hogar con este fin.* No es un método rutinario de eutanasia.

Congelación rápida Se lleva a cabo poniendo al animal en nitrógeno líquido. Se puede utilizar solamente para fetos y neonatos pequeños (< 4 gramos) sin pelo. Los animales mayores o con pelo no mueren inmediatamente ya que requiere algún tiempo la congelación del interior.

Métodos químicos

Cuando se utilicen métodos químicos para la eutanasia, se debe confirmar la muerte por alguno de los métodos anteriormente citados.

Agentes inhalatorios

Anestésicos inhalatorios volátiles Con estos agentes se pone al roedor en una cámara anestésica o receptáculo apropiado con una gasa o algodón empapado en anestésico. Debido a que estos anestésicos son irritantes en estado líquido, se debe tener cuidado para que los roedores no entren en contacto con el producto químico. Durante el periodo de inducción se debe suministrar aire u oxígeno.

Halotano, enflurano, isoflurano Estos agentes actúan deprimiendo los sistemas cardiovascular y respiratorio. Inducen anestesia y a continuación la muerte. Todos estos son agentes aceptables cuando se utilizan con aparatos de recogida de gases apropiados.

Dióxido de carbono Se recomienda utilizar un mínimo del 70% de CO₂ en oxígeno o aire para la pérdida rápida de consciencia sin hipoxia. Esto produce una anestesia rápida seguida de la muerte, con menor irritación de las vías aéreas. Para cobayas se recomienda el 100% de CO₂ (Noonan 1994). Para la eutanasia de roedores sólo se debe utilizar CO₂ comercial en botellas. Ver la Sección 2 para más detalles.

Monóxido de carbono Aunque es un método relativamente rápido y humanitario para el sacrificio de roedores, debido al peligro que supone para el técnico se debe utilizar con extrema precaución. Si se elige, debe ser utilizado con un aparato apropiado de recogida de gases y sólo se recomienda el gas comercial en botellas. Se deben poner los roedores en un contenedor previamente llenado con al menos un 6% en volumen de CO.

Agentes inyectables

Con los roedores grandes, en los que es posible la venipunción sin excesivo estrés para el animal, se recomienda la inyección intravenosa ya que produce una anestesia rápida y la muerte. Si no se realiza fácilmente la venipunción, es preferible la inyección intraperitoneal, aunque requiere más tiempo para actuar y puede producir irritación del peritoneo. Bajo ninguna circunstancia se debe inyectar por vía intrapulmonar o intracardiaca, a menos que el animal esté totalmente anestesiado.

Pentobarbital sódico El pentobarbital sódico actúa rápida y humanitariamente en el sacrificio de todo tipo de roedores inyectado por vía intravenosa o intraperitoneal. Se debe entrenar a todo el personal en el método de inyección. El pentobarbital sódico produce irritación del peritoneo, lo que puede evitarse diluyéndolo. Se recomienda habitualmente el triple de la dosis anestésica (Marshall et al. 1994, Noonan 1994).

T-61 El T-61 actúa rápidamente pero tiene que ser inyectado por vía intravenosa muy lentamente, lo que no es siempre fácil en roedores. No se debe inyectar por ninguna otra vía en estas especies. Puede ser necesaria la sedación previa para ayudar a la inmovilización durante la inyección. El personal debe estar bien entrenado en las técnicas de inyección intravenosa.

Métodos aceptables con roedores inconscientes

Congelación rápida Sólo puede ser utilizada una vez que el roedor (>4 gramos) está totalmente inconsciente.

Exanguinación Puede ser utilizada una vez que el roedor está inconsciente.

Embolia gaseosa Sólo puede ser utilizada con roedores inconscientes ya que puede ser dolorosa.

Cloruro potásico Es cardiopéxico y produce jadeo, vocalizaciones, espasmos musculares y ataques convulsivos lo que lo hace inaceptable para muchos técnicos. Puede utilizarse una vez que el animal esté totalmente anestesiado.

Etanol Ha sido utilizado inyectado intraperitonealmente al 70% (Lord 1989). Sin embargo, Wallgren & Barry III (1970) establecieron que es irritante por encima del 10%, lo que hace que sea inaceptable para eutanasia a menos que el roedor esté inconsciente.

Tabla 6 Características de los métodos de eutanasia en roedores

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
Halotano, enflurano, isoflurano	++	++	++	+	++	5	Aceptable
Pentobarbital sódico	++	++	+	+	++	5	Aceptable
Concusión	++	++	+	++	-	4	Aceptable para roedores por debajo de 1 kg. Se debe confirmar la muerte por el cese de la circulación
Dislocación cervical	++	++	+	++	-	4	Aceptable para roedores por debajo de 150 gramos. Se debe confirmar la muerte por el cese de la circulación
T-61	++	++	-	+	++	4	Sólo debe inyectarse por vía intravenosa
Dióxido de carbono	+	++	++	++	++	4	Método aceptable a concentración >70%
Microondas	++	++	-	++	+	3	Debe ser utilizado solamente por personal con experiencia. No es un procedimiento de rutina
Decapitación	+	+	+	++	-	2	Son preferibles otros métodos
Monóxido de carbono	+	+	+	-	++	2	Peligroso para el técnico
Congelación rápida	-	+	++	++	+	1	Solamente para pequeños neonatos (<4 gramos)

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con roedores inconscientes: congelación rápida, exanguinación, embolia gaseosa, cloruro potásico, etanol

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de roedores: hipotermia, descompresión, asfixia, ahogamiento, nitrógeno, protóxido de nitrógeno, ciclopropano, éter dietílico, cloroformo, metoxiflurano, gas cianhídrico, tricloroetileno, estriocina, nicotina, hidrato de cloral, sulfato magnésico y agentes bloqueantes neuromusculares

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

Métodos no aceptables para la eutanasia de roedores

Hipotermia Bajo ninguna circunstancia se sacrificarán roedores poniéndolos en un congelador. La congelación sólo puede utilizarse como método para asegurar la muerte.

Nitrógeno Éste mata los roedores por hipoxia haciéndolo inaceptable ya que tarda más que otros agentes para conseguir la inconsciencia. Las ratas exhiben signos de pánico y angustia antes de la inconsciencia (Hornett & Haynes 1984).

Protóxido de nitrógeno Éste mata por anoxia, es lento y los roedores muestran signos de mayor actividad antes de la muerte, indicando un grado de ansiedad que lo hace inaceptable como método de eutanasia.

Ciclopropano Es un agente humanitario y rápido para el sacrificio de roedores pero es extremadamente peligroso para el técnico y por ello no se considera aceptable.

Éter y cloroformo No se deben utilizar bajo ninguna circunstancia para el sacrificio de roedores. Ambos son extremadamente peligrosos para el técnico y el éter produce irritación de las vías aéreas al ser inhalado.

Los siguientes métodos no deben ser usados para sacrificio de roedores: *descompresión, asfixia, ahogamiento, tricloroetileno, metoxiflurano, gas cianhídrico, estricnina, nicotina, hidrato de cloral, sulfato magnésico, fármacos curariformes y agentes bloqueantes neuromusculares.*

3.6. Conejos

Se presenta un resumen de recomendaciones en la Tabla 7.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

El cese de la respiración, del latido cardiaco y la ausencia de reflejos son buenos indicadores de la muerte irreversible en conejos. Se debe confirmar la muerte por exanguinación o extracción del corazón, evisceración o decapitación. Se debe entrenar al personal para reconocer y asegurar la muerte cuando sacrifique conejos.

Embriones

El momento en que el tubo neural se ha desarrollado constituyendo un cerebro funcional (hacia el 60% de la gestación) se debe tomar como punto a partir del cual el feto puede percibir el dolor y por ello debe ser sacrificado humanitariamente. Si se extrae un feto insensible de una madre anestesiada se puede sacrificar por decapitación o extracción del corazón. Sin embargo, cuando hay que extraer fetos, se debe administrar a la madre una cantidad mayor de anestésico y mantenerlo por más tiempo para asegurar que éste atraviese la placenta. En muchas ocasiones los anestésicos inhalatorios no anestesian a los fetos. Cuando se sacrifica a la madre, aquellos fetos que no se extraen morirán por anoxia y no es necesario ningún método adicional para asegurar la muerte de los fetos.

Neonatos

Son los conejos recién nacidos de hasta diez días de edad. Pueden reaccionar a los estímulos dolorosos más como embriones que como adultos. Pueden ser sacrificados por decapitación y concusión. Son necesarias nuevas investigaciones para valorar qué métodos son los más humanitarios.

Adultos

Se pueden obtener detalles adicionales sobre los métodos en la Sección 2.

Métodos físicos

Cuando se utilicen métodos físicos para el sacrificio de conejos se debe considerar una manipulación e inmovilización cuidadosas del animal antes del sacrificio. Es preferible la mínima manipulación e inmovilización. El temor y la ansiedad del animal se pueden reducir con sedación previa o manipulación por personas conocidas.

Concusión Es un método rápido y humanitario para aturdir conejos siempre que sea llevada a cabo por técnicos experimentados y seguros. Ésta implica golpear la base de la cabeza en la parte superior del cuello en la región occipital. Se debe confirmar siempre la muerte por el cese de la circulación.

Dislocación cervical Es un método humanitario para el sacrificio de conejos de menos de 1 kg ya que produce importantes daños al tronco encefálico lo que se traduce en inconsciencia inmediata y muerte. Sólo debe ser llevada a cabo por personal experimentado. Se debe confirmar siempre la muerte por el cese de la circulación. Puede ser necesaria la sedación antes de la dislocación.

Bala cautiva Este método puede ser útil para conejos grandes (por encima de 4 kg) en determinadas situaciones (Holtzmann 1991). Sólo se pueden utilizar balas cautivas especialmente diseñadas para su uso en conejos. El personal debe estar bien entrenado con el fin de asegurar la posición correcta del arma. La bala debe penetrar unos 3 centímetros en el cerebro (Holtzmann 1991). Se debe confirmar la muerte asegurándose del cese de la circulación.

Decapitación La decapitación se puede considerar un método humanitario para el sacrificio de conejos pequeños o jóvenes (por debajo de 1 kg) ya que la falta de aporte sanguíneo asegura una rápida pérdida de consciencia. Sin embargo, ésta no es posible en conejos de mayor tamaño y de más edad en los que el cuello es demasiado grueso y fuerte para una decapitación rápida.

Aturdimiento eléctrico Sólo se pueden utilizar tenazas eléctricas diseñadas con este fin. Se debe tener cuidado para asegurar que pasa un nivel adecuado de corriente directamente a través del cerebro para asegurar la inconsciencia inmediata. Se debe confirmar la muerte por el cese de la circulación.

Microondas Implica el uso de aparatos especiales y sólo debe ser llevado a cabo por personal especialmente entrenado en esta técnica para asegurar la posición correcta del haz. Es un método rápido para la eutanasia de conejos por debajo de 300 gramos. *Bajo ningún concepto se utilizarán aparatos microondas para el hogar.* Éste no es un método rutinario de eutanasia.

Congelación rápida Los fetos de menos de 4 gramos se pueden sacrificar poniéndolos en nitrógeno líquido. Los animales mayores o con pelo no mueren inmediatamente ya que requiere algún tiempo la congelación del interior.

Métodos químicos

Cuando se utilicen métodos químicos de eutanasia,

se debe confirmar la muerte por uno de los métodos citados anteriormente

Métodos inhalatorios

Anestésicos inhalatorios volátiles Los conejos reaccionan adversamente a todos los gases (Green 1979) y cuando sea posible son preferibles otros métodos.

Con estos agentes se pone el conejo en una cámara anestésica o receptáculo adecuado con una gasa o un algodón empapado en anestésico. Se inhalan los vapores hasta que cesa la respiración y sobreviene la muerte. Debido a que estos anestésicos en estado líquido son irritantes, se debe tener cuidado para asegurar que el conejo no entra en contacto con el agente químico. Durante el periodo de inducción se debe suministrar aire u oxígeno. Con todos estos agentes se necesita utilizar un equipo de recogida de gases adecuado.

Halotano, isoflurano, enflurano Estos agentes a altas concentraciones producen anestesia rápida seguida de la muerte. Son todos agentes aceptables cuando se utilizan con un aparato de recogida de gases apropiado.

Dióxido de carbono Los conejos grandes pueden angustiarse inicialmente mientras están todavía conscientes y por ello, si es posible, se consideran preferibles otros métodos. Ha sido recomendado por Von Cranach et al. (1991a) el 100% de CO₂ pero puede producir angustia.

Monóxido de carbono Aunque es un método relativamente rápido y humanitario para el sacrificio de conejos, debido al peligro para el técnico es menos aceptable para uso rutinario. Si se utiliza, debe hacerse con un aparato de recogida de gases adecuado y sólo se usará gas comercial en botellas ya que el humo de los motores de explosión es probable que sea irritante.

Agentes inyectables

En conejos, en los que resulta posible la venopunción en la vena marginal de la oreja (a menos que esté lesionada), se recomienda la inyección intravenosa ya que produce una anestesia rápida y muerte. Se debe entrenar al personal en las técnicas de inyección intravenosa e intraperitoneal. Si la venipunción no se lleva a cabo fácilmente, es aceptable la inyección intraperitoneal, aunque tarda más en actuar. Bajo ninguna circunstancia se debe inyectar por vía intrapulmonar o intracardiaca a menos que el animal esté totalmente anestesiado.

Pentobarbital sódico Inyectado por vía intravenosa, el pentobarbital sódico actúa rápida y humanitariamente en el sacrificio de conejos. Es el agente más aceptable para eutanasia. El pentobarbital sódico puede producir irritación del peritoneo, lo que puede evitarse diluyéndolo.

T-61 El T-61 actúa rápida y humanitariamente pero sólo puede ser inyectado lentamente por vía intravenosa. No debe ser nunca inyectado por ninguna otra vía. Se puede considerar la sedación previa para ayudar en la inmovilización durante la

inyección. Se debe entrenar bien al personal en las técnicas de inyección intravenosa. El personal debe tener un cuidado extremo cuando utilice este agente.

Métodos aceptables con conejos inconscientes

Exanguinación Puede ser utilizado para el sacrificio de conejos una vez estén totalmente inconscientes.

Nitrógeno Los conejos mueren por hipoxia y por

Tabla 7 Características de los métodos de eutanasia en conejos

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
Pentobarbital sódico	++	++	+	+	++	5	Aceptable
T-61	++	++	-	+	++	4	Aceptable. Sólo por vía intravenosa
Dislocación cervical	++	++	-	++	-	4	Aceptable para conejos de menos de 1 kg. Sedación previa a la dislocación. Se debe confirmar la muerte por el cese de la circulación
Bala cautiva	++	++	-	+	+	4	Requiere habilidad. Se debe confirmar la muerte por otro método
Concusión	++	+	-	++	-	3	Se requiere experiencia. Se debe asegurar la muerte por otro método
Aturdimiento eléctrico	++	+	++	-	+	3	Se debe confirmar la muerte por otro método
Microondas	++	++	-	++	+	3	Se debe utilizar por personal experimentado solamente con conejos pequeños. No es un procedimiento de rutina
Decapitación	+	+	+	++	-	2	Aceptable para conejos por debajo de 1 kg, si no se dispone de otros métodos
Halotano, enflurano, isoflurano	++	++	++	+	-	2	Los conejos muestran signos de angustia
Dióxido de carbono	+	+	++	++	+	1	Los conejos grandes manifiestan angustia
Monóxido de carbono	+	+	++	-	++	1	Peligroso para el técnico
Congelación rápida	+	+	++	++	+	1	Solamente para fetos por debajo de 4 gramos. Son preferibles otros métodos

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con conejos inconscientes: exanguinación, nitrógeno, cloruro potásico y embolia gaseosa

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de conejos: hipotermia, descompresión, asfixia, ahogamiento, protóxido de nitrógeno, ciclopropano, éter dietílico, cloroformo, tricloroetileno, gas cianhídrico, metoxiflurano, hidrato de cloral, estricnina, nicotina, sulfato magnésico, ácido cianhídrico, clorhidrato de ketamina y agentes bloqueantes neuromusculares

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

ello no se considera aceptable para la eutanasia de conejos, a menos que estén inconscientes.

Cloruro potásico Es cardiotóxico y produce jadeo, vocalizaciones, espasmos musculares y ataques convulsivos que lo hacen inaceptable para muchos técnicos. Sólo puede ser utilizado una vez que el animal esté totalmente anestesiado.

Embolia gaseosa La inyección intravenosa de aire, a razón de 5-50 ml/kg, produce la muerte rápidamente, pero como se acompaña de convulsiones, opistotonos, dilatación pupilar y vocalizaciones, no es un método aceptable a menos que el conejo esté totalmente inconsciente.

Métodos no aceptables para la eutanasia de conejos

Hipotermia Bajo ninguna circunstancia se deben sacrificar conejos poniéndolos en un congelador.

Protóxido de nitrógeno Produce la muerte por anoxia, actúa lentamente, y los conejos muestran signos de mayor actividad antes de la muerte, indicando un grado de ansiedad. Por ello no se considera un método aceptable.

Metoxiflurano Tarda demasiado tiempo en actuar, con grandes posibilidades de recuperación.

Ciclopropano Puede ser un método de eutanasia humanitario y rápido, pero es muy peligroso para el técnico y por ello no se considera aceptable para uso general.

Éter y cloroformo No se deben utilizar bajo ninguna circunstancia para la eutanasia de conejos. Ambos son peligrosos para el técnico y el éter produce irritación de las vías respiratorias al ser inhalado.

Clorhidrato de ketamina La inyección intravenosa produce contracciones tónicas, acompañadas de vocalizaciones, siendo por ello inaceptable para la eutanasia de conejos.

Otros agentes que no deben ser utilizados para el sacrificio de conejos incluyen *descompresión, asfixia, ahogamiento, tricloroetileno, gas cianhídrico, ácido cianhídrico, estriquina, nicotina, hidrato de cloral, sulfato magnésico y agentes bloqueantes neuromusculares.*

3.7 Carnívoros - perros, gatos, hurones

Se presenta un resumen de recomendaciones en la Tabla 8.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

El cese de la respiración, del latido cardíaco y la pérdida de reflejos son buenos indicadores de la muerte en carnívoros. Se debe confirmar la muerte por exanguinación. Se debe entrenar al personal para reconocer y asegurar la muerte cuando sacrifique perros, gatos, hurones u otros carnívoros.

Embriones

El momento en que el tubo neural se ha desarrollado constituyendo un cerebro funcional se debe tomar como el punto a partir del cual el feto puede percibir dolor (30% de la gestación) y por ello deben ser sacrificados humanitariamente. Si se extrae un feto insensible de una madre anestesiada puede ser sacrificado por decapitación o extracción del corazón. Sin embargo, cuando se vayan a extraer fetos se debe administrar a la madre una cantidad mayor de anestésico y mantenerlo por más tiempo para asegurar que el anestésico atraviesa la placenta. En muchos casos los anestésicos inhalatorios no anestesian a los fetos.

Neonatos

Los neonatos de carnívoros, en general deben tratarse como adultos. El método preferible es el pentobarbital sódico, pero se pueden considerar el CO₂, la dislocación cervical y la concusión (Hall 1972) (ver Sección 2). Se debe entrenar bien a los técnicos en las técnicas físicas para asegurar que las lleven a cabo correcta y humanitariamente. Inmediatamente después de la concusión o de la dislocación cervical se debe exanguinar a los animales.

Adultos

Se dan detalles adicionales sobre los métodos en la Sección 2.

Métodos físicos

En general no se recomienda el uso de los métodos físicos de eutanasia en carnívoros. Sin embargo,

cuando los agentes químicos puedan interferir con los objetivos del experimento, se pueden utilizar los métodos que se describen a continuación. La inmovilización de gatos para métodos físicos puede ser difícil y se recomienda que todos los animales estén sedados antes de la eutanasia.

Bala cautiva Se pueden utilizar balas cautivas especialmente diseñadas con el fin de sacrificar animales de este tamaño. Se debe entrenar al personal en estas técnicas para asegurar la correcta posición de la pistola y la muerte inmediata. Se debe confirmar la muerte por el cese de la circulación por exanguinación.

Disparo El disparo en los carnívoros utilizando una bala libre sólo es aceptable en condiciones de campo, cuando no pueda ser utilizado ningún otro método. Sólo lo realizarán tiradores especializados.

Electrocución Se fijan pinzas en las orejas para asegurar que la corriente pasa a través del cerebro y se confirma la muerte haciendo pasar la corriente a través del corazón. Hay dos fases: aturdimiento con un shock de 500 V entre las orejas, seguido de un shock letal a 1kV que pasa entre una oreja y una pata trasera. Los gatos no deben ser sacrificados por electrocución debido a la alta conductividad de su pelaje. Sólo se utilizarán aparatos especialmente diseñados con este fin y el personal debe estar bien entrenado en esta técnica. Se debe comprobar y mantener el equipo regularmente para asegurar el voltaje correcto. Se debe confirmar la muerte por uno de los métodos descritos en la sección *reconocimiento y confirmación de la muerte*.

Métodos químicos

En general, se prefieren los métodos químicos de eutanasia para perros, gatos, hurones y zorros. Para reducir el estrés y la ansiedad puede ser preferible sedar a los animales antes de la eutanasia.

Métodos inhalatorios

Anestésicos inhalatorios volátiles Incluyen halotano, isoflurano y enflurano. Todos ellos son aceptables para la eutanasia de carnívoros. Para prevenir la exposición del técnico se deben utilizar aparatos apropiados de recogida de gases.

Agentes inyectables

Si es posible se debe administrar la inyección por vía intravenosa con el propósito de conseguir anestesia rápida y eutanasia con el mínimo estrés.

Pentobarbital sódico Inyectado por vía intravenosa, este agente proporciona eutanasia rápida y humanitaria. Las vías de inyección intracardiaca e intrapulmonar no se deben utilizar ya que son extremadamente dolorosas, a menos que se haga bajo anestesia profunda. Todo el personal debe estar entrenado en estas técnicas.

Secobarbital/dibucaína El secobarbital es un análogo de acción corta del tiamilol sódico. La dibucaína es un anestésico local altamente tóxico que produce rápida pérdida de consciencia, parada respiratoria y cardiaca (Herschler et al. 1981, Wallach et al. 1981).

T-61 Este agente es muy eficaz pero sólo se debe administrar por vía intravenosa muy lentamente. Hay que sedar a los animales antes de su administración. Puede producir convulsiones en el animal inconsciente, lo que puede ser estéticamente desagradable.

Métodos aceptables para carnívoros inconscientes

Exanguinación Se puede utilizar para sacrificar carnívoros una vez que estén inconscientes.

Dislocación del cuello Se puede utilizar con animales pequeños bajo anestesia. Se debe confirmar siempre la muerte por uno de los métodos mencionados anteriormente.

Cloruro potásico Se puede utilizar para sacrificar carnívoros inconscientes.

Métodos no aceptables para la eutanasia de carnívoros

Golpe en el tórax en gatos Ha sido sugerido como método de eutanasia pero no se considera humanitario y no debe ser utilizado bajo ninguna circunstancia.

Descompresión Ha sido utilizada como método de eutanasia en USA y Japón. Probablemente

produce mucha ansiedad y estrés a los animales, que pueden experimentar dolor debido a la expansión del aire en los senos y otras cavidades corporales. No se considera aceptable para la eutanasia de carnívoros.

Aunque el *dióxido de carbono* hace que los gatos queden inconscientes en un minuto, éstos se mueven por la jaula, lamiendo, estornudando y tratando de trepar para salir, indicando que puede ser estresante. Además, los animales presentan convulsiones, lo que hace este método estéticamente desagradable para el técnico. No está considerado aceptable como método de eutanasia para carnívoros excepto para neonatos.

Monóxido de carbono A concentraciones superiores al 6% es un método de eutanasia relativamente rápido y está recomendado para el sacrificio de mustélidos (Comisión de las Comunidades Europeas 1993). Sin embargo, produce convulsiones y vocalizaciones que pueden tener lugar todavía en la fase consciente (Chalifoux & Dallaire 1983). Debido a esto y al peligro para

el técnico no se considera aceptable para animales de experimentación.

Nitrógeno En perros y gatos produce inconsciencia en 1-2 minutos, con hiperpnea durante unos 10 segundos antes de que se colapsen. Tras el colapso hay vocalizaciones, opistotonos, convulsiones y jadeo. Las crías de gatos y perros son resistentes a la anoxia; caen inconscientes pero no llegan a morir. No es un método aceptable.

Éter y cloroformo No son métodos de eutanasia aceptables debido a la irritación de las vías respiratorias y al peligro que suponen para el técnico.

Los siguientes agentes tampoco se deben utilizar en el sacrificio de carnívoros: *ahogamiento, concusión* (adultos), *decapitación, asfixia, estrangulación, protóxido de nitrógeno, gas cianhídrico, ciclopropano, metoxiflurano, tricloroetileno, embolia gaseosa, ácido cianhídrico, hidrato de cloral, estricnina, nicotina, sulfato magnésico y agentes bloqueantes neuromusculares.*

Tabla 8 Características de los métodos de eutanasia en perros, gatos, hurones y zorros

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
Pentobarbital sódico	++	++	-	+	++	5	Aceptable. Inyección intravenosa
T-61	++	++	-	+	+	4	Aceptable. Pero solamente por inyección intravenosa lenta bajo sedación
Secobarbital/ dibucaína	++	++	-	+	++	4	Aceptable. Inyección intravenosa
Halotano, isoflurano, enflurano	++	++	+	+	++	4	Aceptable
Bala cautiva	++	++	-	++	+	3	Debe ser seguido de exanguinación
Electrocución	++	++	-	-	-	3	Utilizar solamente equipo especial. Debe ser seguido de exanguinación
Concusión	++	++	+	++	-	2	Sólo debe usarse con neonatos. Debe ser seguido de exanguinación
Disparo	++	++	-	-	-	1	Aceptable sólo en condiciones de campo por tiradores especializados cuando no sean posibles otros métodos

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con carnívoros inconscientes: exanguinación, dislocación del cuello y cloruro potásico

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de carnívoros: descompresión, decapitación, ahogamiento, estrangulación, asfixia, embolia gaseosa, golpe del tórax en gatos, monóxido de carbono, dióxido de carbono, metoxiflurano, nitrógeno, protóxido de nitrógeno, tricloroetileno, ácido cianhídrico, éter dietílico, cloroformo, gas cianhídrico, ciclopropano, hidrato de cloral, estricnina, nicotina, sulfato magnésico y agentes bloqueantes neuromusculares

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

3.8 Grandes mamíferos—cerdos, ovejas, cabras, vacas, caballos

El personal que utilice y tenga que sacrificar cualquier mamífero grande tiene que recibir entrenamiento especializado en manipulación, inmovilización y técnicas de eutanasia para estos animales. Es importante evitar actuaciones que puedan incrementar el que el animal se dé cuenta de la situación inusual. El mejor modo para sacrificar al animal es en un entorno que le resulte familiar. Se recomienda que todos los técnicos consigan y lean las normativas de la CE (Directiva del Consejo 93/119/CE) (Comisión de las Comunidades Europeas 1993) y las regulaciones nacionales sobre métodos de sacrificio que abarcan a la mayoría de estos animales. Puede ser necesario llevar a los animales a mataderos autorizados donde se encuentra disponible equipamiento especializado para la eutanasia humanitaria de estos animales. La eutanasia puede que tenga que ser realizada por una persona que haya sido entrenada y que posea un certificado conforme a la legislación nacional para el sacrificio o por un veterinario con entrenamiento apropiado. Se presenta un resumen de recomendaciones en la Tabla 9.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

El cese de la respiración, del latido cardíaco y la pérdida de reflejos son buenos indicadores de la muerte irreversible. Se debe confirmar la muerte por exanguinación. El personal debe estar entrenado para reconocer y asegurar la muerte cuando sacrifique estos animales.

Embriones

Los fetos de estos grandes mamíferos están bien desarrollados en el momento del nacimiento y por ello se debe tener un cuidado considerable para asegurar que son sacrificados humanitariamente si se extraen del útero. El punto a partir del cual se debe considerar la eutanasia debe ser desde el momento en el que el tubo neural se desarrolla constituyendo un cerebro funcional y de ese modo son capaces de sentir dolor (> 30% de la gestación). También los fetos pueden ser grandes y en general cualquier método utilizado en adultos se considera aceptable.

Neonatos

Debido a que los grandes mamíferos nacen en un

estado de desarrollo avanzado, deben ser tratados como adultos.

Adultos

En la Sección 2 se pueden encontrar detalles adicionales sobre los métodos.

Métodos físicos

Los animales deben ser adecuadamente inmovilizados en aparatos adecuados para asegurar que permanezcan inmóviles y tranquilos de modo que el método de eutanasia sea preciso y rápido. El personal debe permanecer tranquilo y manipular a los animales con cuidado, de modo que reduzca el estrés y la ansiedad en los animales.

Bala cautiva La utilización de la bala cautiva es el método físico más aceptable para grandes mamíferos y es preferible a la bala libre por la seguridad para el técnico. Son preferibles las balas cautivas penetrantes. El personal debe estar bien entrenado en el uso de las pistolas de bala cautiva para asegurar el posicionamiento correcto para las especies que haya que sacrificar (Universities Federation for Animal Welfare 1989). Se debe tener cuidado para asegurar que se utilizan balas y cartuchos de tamaños adecuados, que se conserva el arma limpia y que se mantiene en buen estado de funcionamiento. No se recomienda utilizar pistolas de bala cautiva con cerdos adultos y toros plenamente desarrollados debido al grosor de sus cráneos. Inmediatamente se debe confirmar la muerte por exanguinación o por inserción de aguja a través del agujero producido por la bala.

Bala Libre (Free bullet humane killers) Una bala libre disparada por personal cualificado constituye un método eficaz para el sacrificio de caballos, mulas, burros y animales viejos o de cráneo grueso (Blackmore 1985, Dodd 1985, Oliver 1979). Se debe tener un cuidado extraordinario ya que no es tan seguro como la bala cautiva y por ello sólo se considera aceptable en condiciones de campo. Se debe entrenar a todo el personal en estos métodos para asegurar el posicionamiento correcto del arma y que se utilice la del calibre adecuado. Hay que señalar que varía la posición del arma en función de la especie y de si tiene cuernos o no. Los animales tienden a desplomarse hacia delante al dispararles, lo que debe tener presente el técnico para evitar daños personales.

Los técnicos deben asegurarse de que el arma esté bien mantenida de modo que se minimice la posibilidad de fallar. Inmediatamente se debe confirmar la muerte por exanguinación o por inserción de aguja a través del agujero producido por la bala.

Disparo El disparo de bala libre sólo debe realizarse en condiciones de campo cuando no pueda ser utilizado otro método. Sólo lo llevarán a cabo tiradores especializados.

Concusión Se debe realizar utilizando un instrumento de funcionamiento mecánico que administra un golpe en el cráneo sin fracturarlo. Hay que señalar que la posición para aplicar los aturdidores de percusión difiere respecto de la empleada con las pistolas de bala cautiva. Se debe asegurar inmediatamente la muerte por exanguinación (en los 20 segundos siguientes al aturdimiento) (Blackmore 1979).

Aturdimiento eléctrico Este método sólo debe llevarse a cabo en mataderos donde esté disponible el equipamiento especial para los animales que se deban sacrificar. Se utiliza habitualmente para el aturdimiento de cerdos, ovejas, terneros y cabras. Se deben aplicar las tenazas a cada lado de la cabeza, entre el ojo y el oído, para abarcar el cerebro. Cuando se trabaja con alto voltaje se consideran indeseables las tenazas que incorporan almohadillas de goma espuma humedecidas. Para asegurar un buen contacto eléctrico, las ovejas y las cabras deben ser afeitadas en la zona de situación de las tenazas. No se debe utilizar cuando los cuernos dificulten la correcta colocación de las tenazas. Se debe tener cuidado para asegurar que los animales no reciben descargas eléctricas por contacto con otros animales, por superficies húmedas o por contacto accidental con las tenazas. El aturdimiento en la cabeza solamente, o de cabeza a lomo atravesando la cabeza, son métodos aceptables ya que aseguran la inconsciencia inmediata. Se debe exanguinar a los animales inmediatamente después del aturdimiento para asegurar la muerte. El personal debe asegurarse de que se utiliza el voltaje e intensidad correctos para las especies animales que se deban sacrificar.

Métodos químicos

Métodos inhalatorios

Anestésicos inhalatorios volátiles Se pueden utilizar halotano, isoflurano y enflurano con una

máscara anestésica en corderos y cabritos.

Dióxido de carbono Se ha utilizado el dióxido de carbono para el sacrificio de cerdos. Se introducen los cerdos en grandes cámaras que han sido previamente llenadas con gas CO₂ por encima del 70%. Sólo debe utilizarse un equipo especial. Se debe confirmar la muerte por exanguinación. Se consideran preferibles otros métodos debido a que los cerdos tienden a manifestar signos de estrés. El dióxido de carbono no debe ser utilizado con ningún otro animal grande.

Métodos inyectables

Se debe entrenar al personal en las técnicas de inyección intravenosa y en la manipulación e inmovilización de los animales. Los animales deben ser inmovilizados adecuadamente y/o sedados antes de la eutanasia.

Pentobarbital sódico Inyectado por vía intravenosa, el pentobarbital sódico proporciona una eutanasia rápida. Los animales más grandes pueden requerir grandes volúmenes y esto puede facilitarse insertando un catéter en la vena yugular (Andrews et al. 1993). De modo alternativo se pueden utilizar volúmenes más bajos de soluciones de alta concentración, pero se debe tener en cuenta que esto comporta un mayor peligro para el técnico. Los animales excitables o nerviosos deben ser sedados antes de la inyección con pentobarbital sódico.

Quinalbarbital/Nupercaina Esta mezcla comercial produce la muerte rápida y humanitariamente en caballos. Se debe inyectar por vía intravenosa en un periodo de 5-8 segundos. No está disponible en algunos países.

T-61 El T-61 también es un agente eficaz para la eutanasia de grandes mamíferos, solamente por inyección intravenosa lenta. Puede ser necesario inicialmente sedar a los animales excitables o nerviosos.

Métodos aceptables con grandes mamíferos inconscientes

Exanguinación Puede ser utilizada para sacrificar mamíferos inconscientes.

Hidrato de cloral Puede ser utilizado por vía intravenosa en mamíferos inconscientes o junto con sulfato magnésico y pentobarbital sódico.

Tabla 9 Características de los métodos de eutanasia en grandes mamíferos

Agente	Rapidez	Eficacia	Facilidad de uso	Seguridad del técnico	Valoración estética	Valoración general (1-5)	Observaciones
Pentobarbital sódico	++	++	-	+	++	5	Aceptable por inyección intravenosa
Quinalbarbital/ Nupercaína	++	++	-	+	++	5	Eficaz por vía intravenosa en caballos
Bala cautiva	++	++	+	+	+	5	Debe ser seguido de exanguinación
Bala Libre	++	++	+	-	+	5	Debe ser seguido de exanguinación. En condiciones de campo solamente por Personal cualificado.
T-61	++	++	-	+	++	4	Aceptable por inyección intravenosa
Aturdimiento eléctrico	++	++	+	-	-	4	Solamente utilizando equipamiento especial. Debe ser seguido inmediatamente de exanguinación
Disparo	++	++	-	-	-	2	Sólo en condiciones de campo por tiradores especializados
Concusión	++	+	-	+	+	2	Debe ser seguido inmediatamente de exanguinación
Halotano, isoflurano, enflurano	+	+	+	+	+	2	Recomendado para corderos y cabritos
Dióxido de carbono	+	+	++	++	+	1	Utilizar solamente con cerdos, >70%

Los siguientes métodos sólo pueden utilizarse con grandes mamíferos inconscientes: exanguinación, hidrato de cloral y cloruro potásico

Los siguientes métodos no hay que usarlos para sacrificio de grandes mamíferos: monóxido de carbono, metoxiflurano, tricloroetileno, estricnina, nicotina, sulfato magnésico, tiopental sódico, clorhidrato de ketamina, agentes bloqueantes neuromusculares

Rapidez: ++ muy rápido, + rápido, - lento. **Eficacia:** ++ muy eficaz, + eficaz, - no es efectivo. **Facilidad de uso:** ++ fácil de utilizar, + requiere práctica, - requiere entrenamiento de especialización. **Seguridad para el técnico:** ++ sin riesgo, + riesgo pequeño, - peligroso. **Valoración estética:** ++ estéticamente bueno, + aceptable para la mayoría, - inaceptable para muchos. **Valoración general:** de 1 a 5, siendo el 5 el más recomendable

Cloruro potásico Puede ser utilizado para el sacrificio de mamíferos inconscientes.

Métodos no aceptables para la eutanasia de grandes mamíferos

Monóxido de carbono Algunos animales, incluidos los cerdos, muestran signos de excitación severa y vocalizaciones, algunas veces antes de alcanzar la inconsciencia, con niveles altos de monóxido de carbono. No es un agente aceptable para eutanasia.

Los siguientes agentes tampoco son aceptables para la eutanasia de grandes mamíferos: *metoxiflurano, tricloroetileno, estricnina, nicotina, sulfato magnésico, tiopental sódico, clorhidrato de ketamina, productos curariformes y otros agentes bloqueantes neuromusculares.*

3.9 Primates no humanos

El personal que manipule primates debe estar especialmente entrenado para estos fines. Si hay que sacrificar primates, es preferible que lo haga personal que les resulte conocido, con el fin de reducir el estrés y la ansiedad. Para todos los grandes primates, se debe administrar sedación (por ejemplo ketamina) antes de la eutanasia. El cese del latido cardiaco, de la respiración y la ausencia de reflejos se pueden considerar como buenos indicadores de la muerte.

Embriones

Todos los fetos en los que el tubo neural se haya desarrollado constituyendo un cerebro funcional deben ser sacrificados humanitariamente. Algunas veces se necesitan fetos con fines experimentales pero raramente se sacrifica a la madre para

proceder a la extracción de los fetos del útero. Estos fetos pueden ser sacrificados por sobredosis de anestésico o por métodos físicos después de anestesiárselos.

Adultos

El único método recomendado para el sacrificio de primates es por sobredosis de anestésico. El pentobarbital sódico inyectado por vía intravenosa es el agente más aceptable. La exanguinación bajo anestesia inhalatoria también se considera aceptable, pero debe ser seguida por perfusión.

Las crías de algunas especies como los marmosets pueden ser difíciles de inyectar y esto requiere la pericia de un especialista.

3.10 Otros animales no utilizados habitualmente para experimentos

Como los animales vertebrados varían tanto en tamaño y fisiología, el método elegido para el sacrificio de cualquier animal no contemplado anteriormente debe ser elegido de entre los métodos para los animales que más se les parezcan biológicamente. Se debe obtener consejo de un veterinario. En general, una sobredosis de pentobarbital sódico inyectado por vía intravenosa se puede considerar como un método humanitario para el sacrificio de la mayoría de los animales. En la mayoría de los casos es aconsejable sedar al animal antes de la eutanasia.

Referencias

- Allaby M (1991) *Concise Oxford Dictionary of Zoology*. Oxford University Press
- Allred JB, Bernston GG (1987) Is euthanasia of rats by decapitation inhumane? *The Journal of Nutrition* **116** (9), 1859-61
- Anand KJS, Hickey PR (1987) Pain and its effects in the humane neonate and fetus. *New England Journal of Medicine* **317**, 1321-9
- Anil MH, McKinstry JL (1991) Reflexes and loss of sensibility following head-to-back electrical stunning in sheep. *The Veterinary Record* **128**, 106-7
- Andrews EJ, Taylor Bennett B, Clark JD, et al. (1993) Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **202**, 229-49
- Australian Veterinary Association (1987) Guidelines on humane slaughter and euthanasia. *Australian Veterinary Journal* **6 November**, 4-7
- Bandow JH (1987) *The humane disposal of unwanted day old chicks and hatchery eggs in the poultry industry*. Report for the Canadian Federation of Humane Societies, Ontario, Canada
- Baneux PJR, Garner D, McIntyre HB, Holshuh HJ (1986) Euthanasia of rabbits by intravenous administration of ketamine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **189** (9), 1038-9
- Barber BR (1972) Use of standard autoclave for decompression euthanasia. *Journal of the Institute of Animal Technicians*, **23** (3), 106-10
- Barocio LD (1983) Review of literature on use of T-61 as an euthanasic agent. *International Journal for the Study of Animal Problems* **4** (4), 336-42
- Baumans V, Hellebrekers LJ, Bertens APMG, Hartman W (1988) Evaluation of T-61 as an euthanasia agent in rabbits and dogs. *26th Scientific Meeting of the Society for Laboratory Animal Science, Basel 13-15 September 1988*
- Berman E, King JB, All J, Carter HB, Rehnberg B, Stead AG (1985) Lethality in mice and rats exposed to 2450 MHz circulatory polarized microwaves as a function of exposure duration and environmental factors. *Journal of Applied Toxicology* **5** (1), 23-31
- Blackmore DK (1976) Non-penetrative percussive stunning of sheep and calves. *The Veterinary Record* **105**, 372-5
- Blackmore DK (1985) Energy requirements for the penetration of heads of domestic stock and the development of multiple projectile. *The Veterinary Record* **115**, 36-40
- Blackmore DK (1993) Euthanasia; not always eu. *Australian Veterinary Journal* **70**, (11), 409-13
- Blackmore DK, Delaney MW (1988) *Slaughter of Stock. A Practical Review and Guide*. Publication No 118, Veterinary Continuing Education, Massey University, Palmerston North, New Zealand
- Blacksaw JK, Fenwick DC, Beattie AW, Allan DJ (1988) The behaviour of chickens, mice and rats during euthanasia with chloroform, carbon dioxide and ether. *Laboratory Animals* **22**, (1), 67-75
- Booth NH (1978) Effect of rapid decompression and associated hypoxic phenomena in euthanasia of animals: a review. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **173** (3), 308-14
- Brown LA (1988) Anesthesia in fish. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* **18** (2), 317-20
- Breazile JE, Kitchell RL (1969) Euthanasia for laboratory animals. *Federal Proceedings* **28**, 1577-9
- Chalifoux a, Dallaire A (1983) Physiologic and behavioral evaluation of CO₂ euthanasia of adult dogs. *American Journal of Veterinary Research* **44** (12), 2412-17
- Clifford DH (1984) Preanesthesia, anesthesia, analgesia, and euthanasia. In: *Laboratory Animal Medicine* (Fox JG, Cohen BJ, Loew FM, eds.). Orlando: Academic Press, pp 527-62
- Commission of the European Communities (1986) *Council Directive of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals*

- used for experimental and other scientific purposes. 86/609/EEC. ISSN 03780 6978
- Commission of the European Communities (1993) *Council Directive on the protection of animals at the time of slaughter or killing*. 93/119/EC. No L 340/21
- Daly CC, Whittington PE (1989) Investigations into the principal determinants of effective captive bolt stunning of sheep. *Research in Veterinary Science* **46**, 406-8
- Dennis MB Jr, Dong WK, Weisbrod KA, Elchlepp CA (1988) Use of captive bolt as a method of euthanasia in larger laboratory animal species. *Laboratory Animal Science* **38** (4), 459-62
- Derr RF (1991) Pain perception in decapitated rat brain. *Life Sciences* **49** (19), 1399-1402
- Dodd K (1985) Humane euthanasia. I. Shooting a horse. *Irish Veterinary Journal* **39**, 150-1
- Eikmeier H (1961) Erfahrungen mit einem neuen Präparat zur schmerzlosen Tötung von Kleintieren (T-61). *Die Blauen Hefter für den Tierärztliche*, H.L. 536-537
- Erhardt Von W, Ring Chr, Kraft H, et al. (1989) Die CO₂-Betäubung von Schlachtschweinen aus anästhesiologischer Sicht. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **96**, 92-9
- Flight WGF, Verheijen FJ (1993) The 'neck-cut' (spinal transection): not a humane way to slaughter eel, *Anguilla anguilla* (L). *Aquaculture and Fish Management* **24**, 523-8
- Forslid A, Ingvar M, Rosen I, Invgar DH (1986) Carbon dioxide narcosis: influence of short-term, high concentration carbon dioxide inhalation on EEG and cortical evoked responses in the rat. *Acta Physiologica Scandinavica* **127**, 281-7
- Glen JB, Scott WN (1973) Carbon dioxide euthanasia of cats. *British Veterinary Journal* **129**, 471-9
- Green CJ (1987) Euthanasia. In: *Animal Anaesthesia. Laboratory Animals Handbook*. London.: Laboratory Animals Ltd, pp 237-41
- Green CJ (1987) Euthanasia. In: *Laboratory Animals: An Introduction for New Experimenters*. (Tuffery AA, DE.). Chichester: John Wiley & Sons, pp 171-7
- Gregory NG, Wotton SB (1986) Effect of slaughter on the spontaneous and evoked activity of the brain. *British Poultry Science* **27**, 195-205
- Gregory NG, Wotton SB (1990) Comparison of neck dislocation and percussion of the head visual evoked responses in the chicken's brain. *The Veterinary Record* **126**, 570-2
- Gregory NG, Moss Bw, Leeson RH (1987) An assessment of carbon dioxide stunning in pigs. *The Veterinary Record* **121**, 517-18
- Hall LW (1972) The anaesthesia and euthanasia of neonatal and juvenile dogs and cats. *The Veterinary Record* **90**, 306-6
- Hatch RC (1982) Euthanatizing agents. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 5th edn.*, (Booth NH, McDonald Le, eds). Ames: Iowa State University Press, pp 1059-64
- Hellebrekers LJ, Baumans V, Bertens APMG; Hartman W (1990) On the use of T-61 for euthanasia of domestic and Laboratory animals; an ethical evaluation. *Laboratory Animals* **24**, 200-4. (In Dutch: *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* **115** (13), 625-31)
- Herin Ra, Hall P, Fitch JW (1978) Nitrogen inhalation as a method of euthanasia in dogs. *American Journal of Veterinary Research* **39** (6), 989-91
- Herschler Rc, Lawrence Jr, Schlitz RA (1981) Secobarbital/dibucaine combination as an euthanasia agent for dogs and cats. *Veterinary Medicine & Small Animal Clinician* **76** (7), 1009-12
- Hewett TA, Kovacs MS, Artwohl JE, Bennet BT (1993) A comparison of euthanasia methods in rats, using carbon dioxide in prefilled and fixed flow rate filled chambers. *Laboratory Animal Science* **43**, 579-82
- Hoenderken R (1983) Electrical and carbon dioxide stunning of pigs for slaughter. In: *Stunning of Animals for Slaughter*. (Eikelenboom G, de). Boston: Martinus Nihoff, pp 59-63
- Hoenderken R, Lamboy E, van Logtestijn JC, Sybesma W (1980) Dutch research on stunning of slaughter animals. *Proceedings of the 26th European Meeting of Meat Research Workers*. Colorado Springs, USA
- Holson RR (1992) Euthanasia by decapitation: evidence that this technique produces prompt, painless unconsciousness in laboratory rodents. *Neurotoxicology and Teratology* **14**, 253-7
- Holtzmann M (1991) Tierschutzgerechtes töten von versuchskaninchen mit bolzenscußgeräten. (Killing of experimental rabbits with captive bolt guns according to animal welfare regulations). *Journal of Experimental Animal Science* **34**, 203-6
- Hornett TD, Haynes AP (1984) Comparison of carbon dioxide/air mixture and nitrogen/air mixture for the euthanasia of rodents. Design of a system for inhalation euthanasia. *Animal Technology* **35** (2), 93-9
- Iwarsson K, Reh binder C (1993) A study of different euthanasia techniques in guineapigs, rats and mice. Animal response and postmortem findings. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **20**, 191-205
- Jacksch W (1981) Euthanasia of day-old male chicks in the poultry industry. *International Journal for the Study of Animal Problems* **2** (4). 203-13
- Kestin SC (1983) *Pain and Stress in Fish*. A report prepared for the RSPCA, Horsham, UK
- Kestin SC, Wotton SB, Gregory NG (1991) Effect of slaughter by removal from water on visual evoked activity in the brain and reflex movement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Veterinary Record* **128**, 443-6

- Klemm WR (1964) Carbon dioxide in cats. *American Journal of Veterinary Research* **25**, 1201-5
- Lamboy E, van Voorst N (1986) Electrocution of pigs infected with notifiable diseases. *The Veterinary Quarterly* **8** (1), 80-2
- Laursen AM (1983) Choosing between CO₂ and electrical stunning of pigs. A preliminary examination of stress and ethics. In: *Stunning of animals for slaughter*. (Eikelenboom G, ed.) Boston: Martinus Nijhoff, pp 64-72
- Logair J, Finley GG, Laniel MA, et al. (1991) Guidelines for euthanasia of domestic animals by firearms. *Canadian Veterinary Journal* **32**, 724-6
- Lord R (1989) Use of ethanol for euthanasia of mice. *Australian Veterinary Journal* **66** (8), 268
- Lord R (1991) Humane Killing. *Nature* **350** (11 April), 456
- Lorden JF, Klemm WR (1987) Letters on AVMA report about decapitation. *Laboratory Animal Science* **37** (2), 148-51
- Lucke JN (1979) Euthanasia in small animals. *The Veterinary Record*. **104** (14), 316-18
- Lumb WV (1974) Euthanasia by noninhalant pharmacologic agents. *Journal of the American Veterinary Association* **165** (9), 851-2
- Lumb WV, Jones EW (1964) Euthanasia. In: *Veterinary Anesthesia 2nd edn.*, Philadelphia: Lea & Febiger, pp 631-48
- Lumb WV, Doshi K, Scott RJ (1978) A comparative study of T-61 and pentobarbital for euthanasia of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **172** (2), 149-52
- Marshall s, Milligan A, Yates R (1994) Experimental techniques and anaesthesia in the rat and mouse. ANZCCART Facts sheet. *AZCCART News* **7** (1) 4pp
- Mcfarland WN, Klontz GW (1969) Anesthesia in fishes. **28** (4), 1535-49
- Mikeska JA, Klemm WR (1975) EEG evaluation of humaneness of asphyxia and decapitation euthanasia of the laboratory rat. *Laboratory Animal Science* **25** (2), 175-9
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Welsh Office Agriculture Department (1993) *Welfare of red meat animals at slaughter. Code of Practice*
- Moroji T, Takahashi K, Ogura K, Toishi T, Arai S (1977) Rapid microwave fixation of rat brain. *Journal of Microwave Power* **12** (4), 273-86
- Mullenax CH, Dougherty RW (1963) Physiologic responses of swine to high concentrations of inhaled carbon dioxide. *American Journal of Veterinary Research* **24**, 329-33
- Noonnan D (1994) The guinea pig (*Cavia porcellus*). ANZCCART fact Sheet. *ANZCCART News* **7** (3), 8 pp
- Olfert DE, Cross BM, McWilliam AA, eds. (1993) Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Volume 1. Canadian Council on Animal Care, Ontario, Canada
- Oliver DF (1979) Euthanasia of horses. *The Veterinary Record* **105** (10), 224-5
- Phifer CB, Terry LM (1986) Use of hypothermia for general anesthesia in preweanling rodents. *Physiology and Behaviour* **38**, 887-5
- Quin AH (1963) Observations on a new euthanasia agent for small animals (T-61). *Veterinary Medicine* **58**, 494-5
- Quine JP (1980) Euthanasia by hypoxia using nitrogen. A review after 4 years of operation involving 20 500 animals. *Canadian Veterinary Journal* **21**, 320
- Quine JP, Buckingham W, Sstunin L (1988) Euthanasia of small animals with nitrogen; comparison with intravenous pentobarbital. *Canadian Veterinary Journal* **29**, 724-6
- Raj M, Gregory NG (1993) Time to loss of somatosensory evoked potentials and onset of changes in the spontaneous electroencephalogram of turkeys during gas stunning. *The Veterinary Record* **133**, 318-20
- Raj M, Gregory NG (1994) An evaluation of humane gas stunning methods for turkeys. *The Veterinary Record* **135**, 222-3
- Raj M, Gregory NG, Wotton SB (1990) Effect of carbon dioxide stunning on somatosensory evoked potentials in hens. *Research in Veterinary Science* **49**, 355-9
- Raj M, Wotton SB, Gregory NG (1992) Changes in the somatosensory evoked potentials and spontaneous electroencephalogram of hens during stunning with a carbon dioxide and argon mixture. *British Veterinary Journal* **148**, 147-56
- Reilly JS, de. (1993) Euthanasia of Animals Used for Scientific Purposes. ANZCCART 1993. Glen Osmond. SA Australia
- Rowan AN (1986) T-61 use in the euthanasia of domestic animals: a survey. In: *Advances in Animal Welfare Science*. Boston: Martinus Nijhoff, pp 79-86
- Rowell HC (1981) The present status of euthanasia by nonanaesthetic gases. *Canadian Veterinary Journal* **22** (1), 8
- Rowell HC (1990) Euthanasia: acceptable and unacceptable methods of killing, Ch. 21. In: *Experimental Animals in Biomedical Research*, Vol. 1. pp 31-91
- Schatzmann U, Leunberger T, Fuchs P (1991) Jet injection: The possibility of using a high pressure water jet for the stunning of slaughter pigs. *Fleischwirtschaft* **71**, 899-901
- Schatzmann U, Howard J, Pittino J, Fuchs P (1994) Jet injection for the stunning of slaughter pigs. *Fleischwirtschaft International* **3**, 18-19
- Smith AW, Houpt KA, Kitchell RL, et al. (1986) Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *Journal of The American Veterinary Medical Association* **188** (3), 252-68
- Summerfelt RC, Smith LS (1990) Anesthesia, surgery, and related techniques. In: (Schreck CB, Moyle PB, eds).

- Methods for Fish Biology*. Bethesda: American Fisheries Society, pp 213-72
- Tidswell SJ, Blackmore DK, Newhook JC (1987) Slaughter methods: electroencephalic (EEG) studies on spinal cord section, decapitation and gross trauma of the brain in lambs. *New Zealand Veterinary Journal* **35**, 46-9
- Universities Federation for Animal Welfare (1989) *Guidelines on the care of laboratory animals and their use for scientific purposes. II. Pain, analgesia and anaesthesia*. Potters Bar: UFAW
- UFAW/WSPA (1989) *Euthanasia of Amphibians and Reptiles*. Report of a Joint Universities Federation for animal Welfare/World Society for the Protection of Animals Working Party. Potters Bar: UFAW
- Vanderwolf CH, Buzsaki G, Cain DP, Cooley RK, Robertson B (1988) Neocortical and hippocampal electrical activity following decapitation in the rat. *Brain Research* **451**, 340-4
- Verheijen FJ, Flight WFG (1995) Commercial slaughter of eel: Experimental tests show methods are unacceptable. *Ecology of Freshwater Fish* (submitted)
- Von Cranach J, Gassmann-Langmoen AB, Schatzmann U (1991a) *Euthanasie bei Labornagetieren*. Anaesthesiabteilung der Kliniken, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Bern, Switzerland
- Von Cranach J Gassmann- Langmoen AB, Schatzmann U (1991b) *Euthanasie chez les rongeurs de laboratoires*. Resume. Source de référence pour toute l'étude: Office fédéral vétérinaire, Schwarzenburgstr 161, 3097 Liebefeld
- Wallach MB, Peterson KE, Richards RK (1981) Electrophysiologic studies of a combination of secobarbital and dibucaine for euthanasia of dogs. *American Journal of Veterinary Research* **42** (5), 850-3
- Wallgren H, Barry III H (1970) *Actions of Alcohol, Vol I, Biochemical, Physiological and Psychological Aspects*. Amsterdam: Elsevier
- Warrington R (1974) Electrical stunning, a review of the literature. *The Veterinary Bulletin* **44** (10), 617-35
- Warwick C (1986) Euthanasia of reptiles---decapitation: an inhumane method of slaughter for the class 'Reptilia'. *Canadian Veterinary Journal* **27**, 34
- Warwick C (1990) Crocodilian slaughter methods, with special reference to spinal cord severance. *Texas Journal of Science* **42** (2), 191-8
- Weisbrod KS, Dennis MD, Dong WK, Ramos B, Rusell RG, Bower A (1984) Physical methods of euthanasia for rabbits. *Laboratory Animal Science* **34**, 516
- Zeller von W, Mettler D, Schatzmann U (1989) Untersuchungen zur tierschutzgerechten Betäubung des Schlachgeflügels mit Mikrowellen (2500 MHz). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **96**, 285-332
- Zimmermann M (1986) Behavioural investigations in animals. In: *Assessing pain in farm animals*. (Duncan IJH, Moloney V, eds). Luxembourg: Commission of the European communities, pp 16-27
- Zutphen LFM van, Baumans V, Beynen AC eds (1993) *Principles of Laboratory Animal Science*. Amsterdam: Elsevier
- Zwart P, Vries HR de, Cooper JE (1989) Humane methods of killing fish, amphibians and birds. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* **114** (10), 557-65

Material para entrenamiento en eutanasia

Inter-act animal care training programmes

Es una serie especial de programas diseñados y producidos por la Association of the British Pharmaceutical Industry (ABPI) como un medio para el entrenamiento del personal del laboratorio implicado en el uso y cuidado de los animales bajo el Acta de los Animales (Procedimientos Científicos) 1986. El Tema 7 trata sobre la eutanasia. Utiliza tecnología de imagen interactiva. La serie completa de 11 programas (en 10 discos compactos) se puede solicitar a Mr M. Connelly, Redway Interactive Video, 34 Redway, Kerridge, Macclesfield, Cheshire SK10 5BA, UK.

Principles of proper laboratory animal use in research

Éste es un programa básico para investigadores, técnicos y personal de apoyo. Este programa establece la base apropiada para la utilización de animales en investigación biomédica. Es una plantilla de software modular, flexible y fácil de usar. El programa consiste en una plantilla dividida en una serie de módulos que contienen información sobre los siguientes temas: regulaciones, ética, eutanasia, anestesia y analgesia, cuidados pre y post operatorios, seguridad, enfermedades, nutrición, alternativas y modelos, información sobre las especies, USDA Animal Welfare Act. El programa está diseñado con muchas aplicaciones en memoria. Funciona con ordenadores Macintosh e IBM compatibles y necesita disco duro y memoria RAM de 640K. MTM Associates Inc., PO Box 1606 Manassas, Virginia 2110, USA. Item no. 4211 WP.

Using animals in research: guidelines for investigators (1986)

Esta película es la grabación íntegra del curso patrocinado por la USDA/ Agricultural Research Service y presentada a los investigadores el 25 de marzo de 1986. Los ponentes del Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), National Institutes of Health (NIH), Public Health y Agricultural Research Service presentan información sobre leyes, normas y prácticas que afectan a la utilización de laboratorios de investigación; y suministran referencias para aquellos que quieran aprender más acerca de procedimientos específicos. Cinta 1: temas sobre la regulación desde la perspectiva de un APHIS. Cinta 2: la película "Unnecessary Fuss" (alboroto innecesario), montada por PETA a partir de la documentación de investigación de la University of Pennsylvania. Cinta 3: Principios y normas para el uso de los animales en los programas extramuros del NIH. Cinta 4: Principios y normas para el uso de los animales en el área de Beltsville. Cinta 5: información técnica y oportunidades de entrenamiento para usuarios de animales. Cinta 6: Discusión del grupo de expertos sobre las preguntas de la audiencia. Cinta de vídeo, U-matic, 3/4", NTSC, en lengua inglesa, 240 min. (6 cintas). National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 186.

Euthanasia interactive video programme

Para proporcionar a los alumnos la comprensión de los requerimientos legales del Programa 1(UK) y las regulaciones de Alderley Park que se pueden encontrar en "Humane Policy for Euthanasia of Protected Species". Muestra el procedimiento correcto de eutanasia cuando se utilizan los siguientes métodos: sobredosis de anestésico, métodos físicos y dióxido de carbono. Aporta un sistema por el cual se puede valorar la comprensión de los alumnos.

Duración aproximada 1 hora y cuarto. Se puede obtener una copia impresa de las respuestas de los alumnos a las preguntas propuestas durante el programa. Se puede visualizar sin el componente interactivo -de este modo dura 25 minutos. Sólo en lengua inglesa. Persona de contacto Mr Bob Kemp, Zeneca Pharmaceuticals, Mereside, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, UK. Tel: +44-1625-512726; Fax +44-1625-583074/586278.

Common procedures and techniques and survival surgery: tape II (1988)

Manejo de animales de laboratorio para recogida de sangre, dosificación oral, inyección y eutanasia: hace énfasis en la minimización de las molestias a los animales. Cinta de vídeo, NTSC/U-matic/VHS, en lengua inglesa, 21 min. MDA-TV, University of Texas Cancer Centre, 151 Holcombe Houston, Texas 77030, USA. Order no. 861188.

Practical methodology: reptiles part III special laboratory (1988)

Es la segunda parte de una serie de dos. Este programa abarca técnicas de laboratorio como sexado, muestreo de sangre, colocación de catéteres, puntos de inyección, dosificación oral, intubación, inmovilización, anestesia y eutanasia en reptiles. La cinta de vídeo va acompañada de un manual. Cinta de vídeo, 1/2" VHS, NTSC, en lengua inglesa, 18 min. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 414 Part II.

Biomethodology of the mouse

Este vídeo muestra primeros planos detallados exponiendo las técnicas adecuadas de manipulación e inmovilización, identificación, inyección y muestreo de sangre. Las técnicas que se presentan son las más habituales, reproducibles, seguras y menos estresantes para los animales. Vídeo, VHS (1/2") U-matic (3/4") standard tape formats. MTM Associates Inc., PO Box 1606, Manassas, Virginia 2110, USA. Item no. 3211V.

The mouse: handling restraint, and other techniques (1975)

Este programa muestra las habilidades técnicas básicas que se necesitan para el adecuado uso y cuidado de los ratones en investigación biomédica. Incluye manipulación e inmovilización, administración de medicamentos por inyección y por vía oral, recogida de sangre y orina, sexado, identificación, anestesia y eutanasia. El juego de diapositivas va acompañado de un manual. 48 diapositivas, cinta de audio, 12 minutos, en lengua inglesa. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Slide no. 227, Part 2.

Biomethodology of the laboratory mouse (1987)

Una exposición de las técnicas básicas en torno a los ratones de laboratorio incluyendo identificación, inmovilización, inyección, extracción de sangre y eutanasia. Cinta de vídeo 1/2", VHS (NTSC), en color, en lengua inglesa. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 200.

The mouse, rat and hamster (1988)

Esta película para entrenamiento suministra información sobre el uso y cuidado humanitarios de los roedores de laboratorio para científicos, técnicos de laboratorio y estudiantes. Las recomendaciones están de acuerdo con la "guide for the care and use of laboratory animals" del Public Health Services y con las regulaciones establecidas por la USDA. Los temas incluyen alojamiento, nutrición, ambiente, libros de registro, cuidados sanitarios de los animales, salud ocupacional, manipulación e inmovilización, técnicas experimentales y eutanasia. La cinta de vídeo se acompaña de un guión, un test y la clave de respuestas. Cinta de vídeo 1/2", VHS (NTSC), en lengua inglesa, 34 minutos. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Slide no. 338, Vol. 2.

The laboratory rat, biology, husbandry, and research methodology (1977)

Este juego de diapositivas describe e ilustra la anatomía y fisiología básicas de las ratas de laboratorio, discute sobre los procedimientos normales para el alojamiento de ratas en el laboratorio y familiariza al alumno con la metodología básica empleada en el manejo de las ratas en investigación. La metodología en investigación incluye manipulación, inmovilización, recogida de sangre, anestesia y eutanasia. Se acompaña de una guía en la que hay una lista de los valores biológicos. 59 diapositivas, cinta de audio, en lengua inglesa. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Slide no. 221.

Biomethodology of the rat (1987)

Exposición de técnicas básicas en torno a los animales de laboratorio incluyendo identificación, inmovilización, inyección, extracción de sangre y

eutanasia. Cinta de vídeo 1/2" VHS, en lengua inglesa, 16 minutos. National Agriculture Library, Beltsville, Maryland 2075, USA. Videocassette no. 200.

Biomethodology of guineapig (1987)

Exposición de las técnicas básicas en torno a los animales de laboratorio incluyendo identificación, inmovilización, inyección, extracción de sangre y eutanasia. Cinta de vídeo 1/2" VHS, en lengua inglesa. National Agriculture Library, Beltsville, Maryland 2075, USA. Videocassette no. 200.

Biomethodology of the rabbit (1987)

Exposición de las técnicas básicas en torno a los animales de laboratorio incluyendo identificación, inmovilización, inyección, extracción de sangre y eutanasia. Cinta de vídeo 1/2" VHS, en lengua inglesa, 15 minutos. National Agriculture Library, Beltsville, Maryland 2075, USA. Videocassette no. 200.

Biomethodology of the cat (1987)

Esta película expone a los técnicos en animales las técnicas básicas para el manejo, inmovilización y control de los gatos en investigación. Comprende cómo extraerlos de las jaulas, vías de inyección, recogida de sangre y eutanasia. Cinta de vídeo 1/2", VHS (NTSC), en color, 15 minutos, en lengua inglesa. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 337.

The dog and cat (1988)

Este programa suministra información sobre el uso y cuidado humanitarios de los perros y gatos de laboratorio para científicos, técnicos de laboratorio y estudiantes. Las recomendaciones están de acuerdo con la "guide of the care and use of laboratory animals" del Public Health Services y con las regulaciones establecidas por la USDA. Los temas incluyen alojamiento, nutrición, ambiente, libros de registro, cuidados sanitarios de los animales, salud ocupacional, manipulación e inmovilización, técnicas experimentales y eutanasia. La cinta de vídeo se acompaña de un guión, un test y la clave de respuestas. Cinta de vídeo 1/2", VHS (NTSC), en color, en lengua inglesa, 35 minutos. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 338, Vol. 4.

Biomethodology of the dog (1987)

Esta película presenta a los técnicos en animales técnicas seguras y humanitarias para el manejo de los perros en investigación incluyendo cómo extraerlos de las jaulas, vías de inyección, recogida de sangre y eutanasia. Cinta de vídeo 1/2" VHS (NTSC), en color, 15 minutos, En lengua inglesa. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 335.

Biomethodology of the primate (1987)

Esta película expone las técnicas para el manejo de primates en investigación. Incluye inmovilización manual y química, identificación, vías de inyección, extracción de sangre y eutanasia. Cinta de vídeo 1/2" VHS (NTSC), en color, en lengua inglesa. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Videocassette no. 336.

The non-human primates (1988)

Este programa suministra información sobre el uso y cuidado humanitarios de los primates de laboratorio para científicos, técnicos de laboratorio y estudiantes. Las recomendaciones están de acuerdo con la "guide for the care and use of laboratory animals" del Public Health Services y

con las regulaciones establecidas por la USDA. Los temas incluyen alojamiento, nutrición, ambiente, libros de registro, cuidados sanitarios de los animales, salud ocupacional, manipulación e inmovilización, técnicas experimentales y eutanasia. La cinta de vídeo se acompaña de un guión, un test y la clave de respuestas. Cinta de vídeo 1/2", VHS (NTSC), en lengua inglesa, 29 minutos. National Agricultural Library, Beltsville, Maryland 20705, USA. Slide no. 338, Vol. 5.

Información adicional sobre materiales de entrenamiento

Se puede obtener información sobre los materiales de entrenamiento de:

- (1) Dept of Laboratory Animals Science (Dr Jan Nab, Ing T.P. Rooymans) Utrecht University, Postbus 80.166, 3508 TD Utrecht, The Netherlands.
- (2) Base de datos NORINA. Base de datos en lengua inglesa de los medios audiovisuales para ser utilizados en ciencias biológicas. Contactar con Karina y Adrian Smith, Laboratory Animal Unit Norwegian College of Veterinary Medicine, PO Box 8146 Dep., 00033 Oslo 1, Norway. Fax +47 22 96 45 35, Telephone +47 22 96 45 74, email: adrian.smith@veths.no.

Tabla 1 Fases de la pérdida de consciencia, conducentes a la muerte en peces (según McFarland y Klontz, 1969)

Nivel	Denominación	Parámetro(s)
0	Normal	Reacciona a estímulos externos; equilibrio y tono muscular normales
1	Sedación ligera	Ligera pérdida de respuesta a estímulos externos visuales y táctiles; equilibrio normal
2	Sedación profunda	Pérdida total de respuesta a estímulos externos excepto a presión fuerte; ligera disminución del movimiento opercular; equilibrio normal
3	Pérdida parcial del equilibrio	Perdida parcial del tono muscular; natación errática; incremento del movimiento opercular; respuestas sólo ante estímulos táctiles fuertes y vibratorios
4	Pérdida total del equilibrio	Perdida total del tono muscular y del equilibrio; movimiento opercular rápido; respuesta sólo ante estímulos de presión profundos
5	Pérdida de respuestas reflejas	Perdida total de respuesta; movimiento opercular muy superficial; latido cardíaco muy lento
6	Colapso medular	Cese del movimiento opercular inmediatamente después de boquear, seguido por parada cardíaca