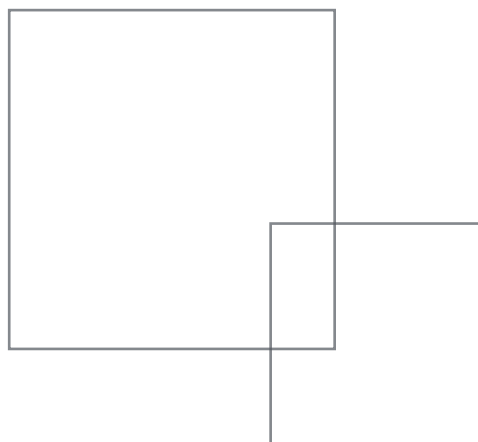


**ASPECTOS TÉCNICOS Y NORMATIVOS PARA
LA EUTANASIA DE LOS ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN**

UNIDAD DIDÁCTICA



XUNTA DE GALICIA

**ASPECTOS TÉCNICOS Y NORMATIVOS PARA
LA EUTANASIA DE LOS ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN**

Edición revisada por pares

XUNTA DE GALICIA

Consellería do Medio Rural

Santiago de Compostela 2017

Coordinación:

María Julia Melgar Riol

Marcos Pérez López

Jesús Juan Cantalapedra Álvarez

Autores.

María Julia Melgar Riol. USC

Marcos Pérez López. UEX

Jesús Juan Cantalapedra Álvarez. XUNTA

Mercedes Camiña García. USC

María del Mar Yllera Fernández. USC

José Luis Puerta Villegas. XUNTA

José Luis Toubes Conde. CHOU

Federico Melenchón Ramírez. USC

Eutanasia en los animales de experimentación y su relación con el BA

Melgar, MJ; Pérez, M; Cantalapedra, J

Agentes utilizados para inducir la muerte en los animales

Pérez, M; Melgar, MJ; Cantalapedra, J

Legislación relativa a la eutanasia animal en centros de experimentación. Métodos permitidos y capacitación del personal

Puerta, J; Yllera, M; Camiña, M

Casos prácticos y preguntas

Toubes, JL; Melenchón, F

Colaboraciones

José Pedro Pinto Araújo. IPVC

Joaquim Lima Cerqueira. IPVC

Víctor Arce Vázquez. USC

Alberto Centeno Cortés. CTF

Daniel Franco Ruiz. CETECA

María Dolores Lopez Pedrouso. USC

José Manuel Lorenzo Rodríguez. CETECA

Asesoramiento lingüístico:

Antonia Vega Prieto

Edita: Xunta de Galicia. Consellería do Medio Rural

Año: 2017

Índice

Introducción	9
Consideraciones previas sobre la eutanasia en los centros de experimentación animal	10
Definiciones de interés	11
Finalidad de los procedimientos	14
Eutanasia en los animales de experimentación y su relación con el BA	15
Fisiología del dolor	18
Consideraciones sobre conducta animal... y humana	20
Las razones para practicar la eutanasia en centros de experimentación animal: cuándo y cómo	22
Mecanismos de acción de los agentes utilizados para provocar la muerte de los animales	25
Confirmación de la muerte del animal y gestión de SANDACH	26
Evaluación de los métodos de inducción de eutanasia	27
Agentes utilizados para inducir la muerte de los animales	30
1. Agentes químicos (I). Agentes inhalatorios	32
1.1 Anestésicos inhalatorios: éter, halotano, isoflurano, sevoflurano, enflurano	32
1.2 Nitrogeno/ Argón	33
1.3 Monóxido de carbono	35
1.4 Dióxido de carbono	37
1.5 Agentes para animales acuáticos (absorción por piel y branquias)	39
2. Agentes químicos (II). Agentes farmacológicos no inhalados	40
2.1 Derivados del ácido barbitúrico	40
2.2 Solución T-61 para la inducción de eutanasia	42
2.3 Sulfato de magnesio (MgSO ₄) y cloruro potásico (KCl)	43
2.4 Hidrato de cloral	44
2.5 Etanol	44
3. Métodos físicos	45
3.1 Pistola de bala cautiva o de clavija perforadora	45
3.2 Impacto de bala	47
3.3 Conmoción cerebral (concusión, aturdimiento por golpe o stunning)	48
3.4 Electrocuci3n	49
3.5 Dislocaci3n cervical	51
3.6 Decapitaci3n con guillotina	52
3.7 Exanguinaci3n (d.t. sacrificio, en los animales de renta)	53

3.8 Irradiación por microondas	54
3.9 Congelación rápida	55
3.10 Maceración	56
3.11 Embolia gaseosa	56
3.12 Inserción de aguja	56
4. Otros métodos no aceptables como inductores de eutanasia	57
4.1 Descompresión/ vacío	57
4.2 Hipotermia	58
4.3 Hipertemia	58
4.4 Ahogamiento	58
4.5 Rotura de cuello	58
4.6 Estrangulamiento (ahorcamiento)	58
4.7 Descompresión en campana de vacío	58
4.8 Protóxido de nitrógeno	59
4.9 Cloroformo	59
4.10 Gas cianhídrico	59
4.11 Tricloetileno	60
4.12 Uretano	60
4.13 Ketamina	60
4.14 Sedantes	60
4.15 Fármacos curariformes	60
4.16 Estricnina	61
4.17 Nicotina	61
4.18 Éter	61
Legislación relativa a la eutanasia en centros de experimentación. Métodos permitidos y capacitación del personal	62
Caso práctico 1	69
Caso práctico 2	69
Cuestionario de preguntas. Eutanasia	70
Bibliografía	75
Agradecimientos	81

Introducción

El creciente interés que despiertan todos los temas relacionados con el bienestar animal (BA) al que asistimos en nuestro entorno social, hace que cada vez se dé más valor al modo en que tratamos a nuestros animales. Este interés se centra no sólo en aquellos animales con los que con frecuencia las personas establecen lazos afectivos, sino hacia todas las formas de vida en general. Es lógico que esta inquietud se manifieste también en las personas a la hora de evitar, en la medida de lo posible, los sufrimientos innecesarios en el animal agónico, en el sacrificio de animales destinados a la investigación, la alimentación humana, así como en la eliminación de animales no deseados, por motivaciones humanitarias, sanitarias u otras razones de justificación variable.

En esta revisión se aborda concretamente el tema de la inducción de la eutanasia en los animales de los centros de experimentación. Las conclusiones, consideraciones y criterios éticos aplicables a la actuación sobre estos animales, también lo son a otras especies, aunque es posible que las técnicas descritas no sean aplicables en ellos y se precisen métodos diferentes o más específicos.

En definitiva este manual o guía de buenas prácticas tiene por objeto el concienciar y despertar el interés de los profesionales, con competencias en estas actividades, hacia la correcta y eficaz práctica de este cometido; así como alentar su papel como divulgadores de los conocimientos que poseen en *pro* del BA y la lucha contra aquellas conductas que de acuerdo con los criterios y normas actuales, pueden ocasionar malestar innecesario en los animales, especialmente en los momentos previos a la muerte.

Consideraciones previas sobre la eutanasia en los centros de experimentación animal

Dentro de las disposiciones del Tratado de Funcionamiento de la UE se incluye entre otras, la obligación de los Estados Miembros de tener plenamente en cuenta el BA en la política de investigación y de desarrollo tecnológico. Es por ello que en la actualidad en el ámbito europeo es de aplicación la Directiva 2010/63 (UE), de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos traspuesta en España por el RD 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las norma básicas aplicables para la protección de los animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

Este RD supuso un importante avance en el campo del BA al regular:

- El reemplazo y reducción de la utilización de animales en procedimientos y el refinamiento de la cría, el alojamiento, los cuidados y la utilización de animales en tales procedimientos.
- El origen, cría, marcado, manejo, instalaciones y la eutanasia de los animales.
- Las actividades de los criadores, suministradores o usuarios.
- La evaluación y autorización de proyectos en cuyos procedimientos se utilicen animales.

La finalidad evidente de esta ley es asegurar la protección animal, y en particular que:

- El número de animales utilizados en los procedimientos se reduzca al mínimo, aplicando en lo posible métodos alternativos.
- No se les cause innecesariamente dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero.
- Se evite toda duplicación inútil de procedimientos.
- Que a los animales utilizados, criados o suministrados para fines científicos se les concedan los cuidados adecuados.

El ámbito de aplicación de esta norma abarca:

- La utilización o posible utilización de animales en procedimientos o cuando se críen animales específicamente para que sus órganos o tejidos puedan utilizarse con fines científicos.

- El tiempo que transcurre desde que comienza el experimento hasta que a los animales se les aplique la eutanasia, o sean realojados o reintegrados a un hábitat o sistema zootécnico conveniente.
- Se incluirán todos los animales utilizados en los procedimientos, aunque se haya conseguido la eliminación del dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero mediante el empleo satisfactorio de analgesia, anestesia, u otros métodos permitidos.

En concreto se aplicará a los animales:

- Vertebrados y otros incluidos por las normas europeas (Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio).
- Que se encuentren en una fase de desarrollo anterior si se va a permitir que el animal viva más allá de esa fase de desarrollo y como resultado de los procedimientos realizados sea probable que padezca dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero después de haber alcanzado dicha fase de desarrollo.

Quedan excluidas del cumplimiento de esta norma:

- Las prácticas agropecuarias no experimentales.
- Las prácticas veterinarias clínicas no experimentales.
- Los estudios veterinarios clínicos necesarios en el marco de la obtención de la autorización de comercialización de medicamentos veterinarios.
- Las prácticas realizadas con fines zootécnicos reconocidos y con el objetivo principal de identificar un animal.
- Las prácticas en las que no sea probable que se les ocasione dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalentes o superiores a los causados por la introducción de una aguja conforme a la buenas prácticas veterinarias.

Definiciones de interés

- **Centro o establecimiento:** Toda instalación, edificio, grupo de edificios u otros locales e instalaciones móviles, incluidos aquellos no totalmente cerrados o cubiertos.
- **Criador:** Cualquier persona que críe animales de las especies incluidas en el anexo I

del RD 53/2013 (cuadro 1) con el fin de utilizarlos en procedimientos o para utilizar sus tejidos u órganos con fines científicos, así como cualquier persona que críe animales de otras especies principalmente con estos fines, con o sin ánimo de lucro.

1	Ratón	<i>Mus musculus</i>
2	Rata	<i>Rattus norvegicus</i>
3	Cobaya	<i>Cavia porcellus</i>
4	Hámstersitio (dorado)	<i>Mesocricetus auratus</i>
5	Hámsterenano chino	<i>Cricetulus griseus</i>
6	Jerbo de Mongolia	<i>Meriones unguiculatus</i>
7	Conejo	<i>Oryctolagus cuniculus</i>
8	Perro	<i>Canis familiaris</i>
9	Gato	<i>Felis catus</i>
10	Todas las especies de primates no humanos	
11	Rana	<i>Xenopus laevis</i>
		<i>Xenopus</i>
		<i>tropicalis Rana</i>
		<i>temporaria Rana</i>
12	Pez cebra	<i>Danio rerio</i>

Cuadro 1: Especies incluidas en el anexo 1 (RD 53/2013)

- **Eutanasia:** La interrupción de la vida de un animal con el menor sufrimiento posible, de acuerdo con su especie y estado.
- **Órgano competente:** Los entes, autoridades o unidades administrativas de las CCAA competentes en cada una de las materias reguladas con esta norma.
- **Órgano habilitado:** Organismo público, o asociación o sociedad privada, autorizada y designada por el órgano competente para realizar algunas de las funciones específicas que se establecen en el RD 53/2013. Cabe distinguir, a este respecto, el órgano habilitado para la evaluación de proyectos que se prestará en régimen de libre concurrencia, de la habilitación para la realización de otras actuaciones de carácter técnico, que se registrarán por lo que al efecto, disponga el órgano competente.

- **Primate:** Cualquier primate no humano.
- **Procedimiento:** La utilización, tanto invasiva como no invasiva, de un animal con fines experimentales u otros fines científicos, cuyos resultados sean predecibles o impredecibles, o con fines educativos siempre que dicha utilización pueda causarle al animal un nivel de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja conforme a las buenas prácticas veterinarias. Asimismo, se considera procedimiento cualquier intervención que de forma intencionada o casual provoque, o pueda provocar, el nacimiento de un animal, la eclosión de un huevo o la creación y mantenimiento de una línea de animales modificados genéticamente en las condiciones de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero citadas en el párrafo anterior. No se considera procedimiento la eutanasia de los animales cuando se realiza con el único fin de utilizar sus órganos o tejidos. Un procedimiento se considerará concluido cuando ya no se va a hacer ninguna observación ulterior para dicho procedimiento o, en el caso de nuevas líneas animales modificadas genéticamente, cuando la progenie no se observe ni se espere que experimente dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja.
- **Proyecto:** Programa de trabajo con un objetivo científico definido y en el que se realicen uno o varios procedimientos.
- **Suministrador:** Cualquier persona, distinta del criador, que adquiera o mantenga animales con el fin de que éstos se utilicen en procedimientos o de que sus tejidos u órganos se utilicen con fines científicos, y suministre dichos animales con alguno de estos fines, con o sin ánimo de lucro.
- **Usuario:** Cualquier persona que utilice animales en procedimientos, con o sin ánimo de lucro.

Finalidad de los procedimientos

La utilización de animales en los procedimientos sólo podrá tener lugar cuando se persiga alguno de los siguientes fines:

- Investigación fundamental.
- Investigación traslacional o aplicada, y los métodos científicos con cualquiera de las finalidades siguientes:
 - ❖ La prevención, profilaxis, diagnóstico o tratamiento de enfermedades, mala salud u otras anomalías o sus efectos en los seres humanos, los animales o las plantas
 - ❖ La evaluación, detección, regulación o modificación de las condiciones fisiológicas en los seres humanos, los animales o las plantas.
 - ❖ El bienestar de los animales, en particular la mejora de las condiciones de producción de los animales criados con fines agropecuarios.
 - ❖ El desarrollo y la fabricación de productos farmacéuticos, alimentos, piensos y otras sustancias o productos, así como la realización de pruebas para comprobar su calidad, eficacia y seguridad, con cualquiera de las finalidades anteriormente.
 - ❖ La protección del medio natural en interés de la salud o el bienestar de los seres humanos o los animales.
 - ❖ La investigación dirigida a la conservación de las especies, la enseñanza superior o la formación para la adquisición o mejora de las aptitudes profesionales y la medicina legal y forense.

Eutanasia en los animales de experimentación y su relación con el BA

El término eutanasia procede del griego *euthanasía* (εὖ, bueno, y θάνατος, muerte) que en su acepción médica se refiere a la muerte tranquila, dulce, sin padecimientos, fácil o indolora. En este sentido, el Diccionario de la RAE de la Lengua castellana, actualmente en vigor, la define como “la acción u omisión que, para evitar sufrimientos a los pacientes desahuciados, acelera su muerte con su consentimiento o sin él”, y en una segunda acepción habla de “una muerte sin sufrimiento físico”, definición a la que consideramos que debería añadirse también la ausencia de sufrimiento psíquico.

Y en este entorno de términos, ha de diferenciarse claramente de la distanasia, que podría definirse como “el tratamiento terapéutico desproporcionado que prolonga la agonía de un enfermo terminal”.

Frecuentemente se recoge de modo implícito en el término eutanasia la actuación humana deliberada (es decir, como sinónimo de inducción de eutanasia o eutanogénesis), e incluso, se engloban en algunas definiciones sus motivaciones (humanitarias, piadosas, compasivas etc.), y los casos en que convendría aplicarla, indicando qué tipo de personal es el adecuado para practicar estas técnicas.

Con el fin de evitar en lo posible ambigüedades y confusiones, en el desarrollo de este trabajo se hará referencia al término eutanasia con el significado de "muerte sin dolor", diferenciándolo así de las técnicas de inducción humanitaria de la muerte, o sacrificio humanitario, que como veremos no siempre alcanzan su objetivo que es justamente la eutanasia, ya que si así lo hicieran los consideraríamos métodos apropiados para la inducción de la eutanasia en los animales.

Los criterios para considerar una muerte indolora son la rápida inducción de la inconsciencia, seguida de paro respiratorio o cardíaco, y que se mantiene hasta la muerte.

La angustia o aflicción que puedan experimentar las personas cuando observan la inducción de eutanasia o la muerte en un animal dependen del propio observador y son independientes del estado en que se encuentra el animal, de este modo, con un criterio inadecuado, éstos pueden relacionar cualquier tipo de movimiento del animal con la consciencia y la falta de movimiento con la inconsciencia.

Este tipo de reacciones desagradables deben minimizarse en el perfeccionamiento de los métodos de inducción de eutanasia, pues las técnicas en las que se presenta un mínimo movimiento del animal o ninguno son las que mejor se aceptan desde el punto de vista estético por parte de los observadores.

Es importante tener en cuenta que la inducción de la eutanasia requiere un control físico o sujeción del animal. El grado de sujeción necesario y el método de contención a utilizar dependerán de.

- La especie, raza, tamaño y grado de domesticación.
- Presencia o no de dolor, heridas o enfermedad.
- Grado de excitación.
- Método de inducción de eutanasia que se vaya a utilizar.

La aplicación de un método de sujeción adecuado resulta vital para minimizar el dolor en los animales, para garantizar la seguridad del personal operante y con frecuencia para proteger a otras personas y animales.

La selección del método de inducción de eutanasia más apropiado en cualquier situación que se presente depende:

- De la especie del animal considerado.
- Los medios de contención disponibles
- La destreza del personal.
- El número de animales.
- Los factores económicos.
- Los objetivos del procedimiento, etc.

La muerte de un animal a manos del ser humano, sea aquel de experimentación, compañía o producción, constituye un punto fundamental dentro del importante campo del “bienestar animal/ protección animal”. Recordemos que Aristóteles proclamó (¡han pasado muchos siglos desde aquello!), con respecto a los seres humanos, que “no se considere feliz a un hombre hasta el momento de su muerte”, entendido en su contexto. Se hace referencia en esta frase a la

importancia del tránsito hacia la muerte, pues la percepción de toda una vida de buenos momentos, de felicidad más o menos plena, puede truncarse por una muerte inadecuada y dolorosa.

La vida de un animal es marcadamente diferente, no puede discutirse este hecho, sobre todo por nuestra perspectiva humana de cara a un futuro, a unos objetivos siempre a medio o largo plazo, algo de lo que carecen nuestros compañeros animales. Pero si bien el animal carece (al menos al nivel de nuestros conocimientos actuales) de la idea de futuro a largo plazo, en general se considera que puede que exista alguna capacidad de presentimiento futuro a corto plazo (entendiendo la palabra “corto” como un rango variable según la especie implicada). La controversia sobre si este actuar de cara al futuro próximo es “pensamiento futuro” o es simplemente el seguimiento de un instinto natural queda en el aire, pero muy especialmente en los propietarios de animales de compañía, consideraremos que los animales pueden sentir y organizarse con respecto a acciones que van a acontecer en un futuro cercano.

En resumen, todo ello nos lleva a considerar, en palabras de Bernard E. Rollin, las 5 circunstancias de las que el animal debería estar exento:

- Hambre y sed.
- Incapacidad para expresar su comportamiento normal.
- Miedo y aflicción.
- Incomodidad.
- Dolor, lesión o enfermedad.

En este entorno, es donde debemos volver la vista y mirar a nuestro alrededor, y plantearse qué espera la sociedad del concepto de eutanasia animal, desde la perspectiva bienestarista y de una ética profesional. La evolución de estos conceptos, de la forma de abordarlos, puede quedar palpable, por ejemplo, en las palabras del Consejo Canadiense de Cuidado Animal (CCAC, *Canadian Council on Animal Care*, en su forma original), concretamente en el módulo relativo a la eutanasia en animales de experimentación: “este proceso será todo lo humanitario posible, sin dolor, minimizando el temor y la ansiedad en el animal, será irreversible, simple y seguro, y cuando sea posible se ajustará a unos criterios estéticos aceptables tanto para el operario como para cualquier persona observadora”

Fisiología del dolor

Para establecer los criterios de valoración de las diferentes técnicas con las que se provoca la muerte en los animales, como métodos de inducción de eutanasia más o menos aceptables, es necesario aclarar el concepto de dolor incluido en la propia definición de eutanasia.

Dolor es aquella sensación o percepción que resulta de la aferencia de impulsos nerviosos a la corteza cerebral específicamente a través de vías neuronales nociceptivas, es decir, existen vías neuronales específicas para los mecanismos del dolor. Es necesario decir también que la percepción implica un proceso de elaboración de una representación o imagen interna y consciente del estímulo, que supone el reconocimiento o detección de la actuación del mismo, estimación y discriminación de sus características, etc.

En estudios con animales, sólo es cuantificable como efecto la respuesta refleja final a la estimulación sensitiva, sin embargo, en base a experiencias realizadas en humanos, sabemos que la respuesta refleja puede ser o no obligada y, en la mayoría de los casos, tiene lugar la percepción.

El agente nocivo es aquel que trata de dañar a los tejidos o aquel que realmente los daña. Inducen el inicio de impulsos nerviosos actuando sobre grupos específicos de receptores, denominados nociceptores que responden a una excesiva forma de energía, ya sea mecánica, térmica o química.

Algunas sustancias químicas endógenas como iones de hidrógeno, serotonina, histamina, bradiquinina, prostaglandinas, así como las corrientes eléctricas, son capaces de generar impulsos nerviosos a través de nociceptores. La actividad nerviosa en forma de impulsos, generada por los nociceptores, es conducida hasta la médula espinal o hasta el tronco encefálico a través de las fibras nociceptoras aferentes primarias. Dentro de la médula espinal o del tronco encefálico, los impulsos nerviosos son transmitidos a dos grupos de redes neuronales. Uno de estos grupos está relacionado con los reflejos nociceptivos y el segundo consiste en vías ascendentes hacia la formación reticular, tálamo y corteza cerebral para su procesamiento sensorial.

La transmisión de la actividad neuronal nociceptiva es altamente variable. Bajo ciertas condiciones tanto los reflejos nociceptivos como las vías ascendentes pueden quedar suprimidas, como ocurre por ejemplo en la anestesia quirúrgica profunda. Bajo otras condiciones, pueden existir reflejos nociceptivos, pero se suprime la actividad de las vías ascendentes; de modo que los estímulos dolorosos no son percibidos como dolor, como por ejemplo en la anestesia quirúrgica ligera.

Es incorrecto utilizar el término dolor cuando se hace referencia a estímulos, receptores, reflejos, o vías, porque estos se pueden activar sin dar lugar a la percepción dolorosa, y el término dolor implica percepción.

El dolor se divide en dos amplias categorías:

- **Discriminativo-sensorial**, la cual indica el lugar de origen y la fuente de energía dando lugar al dolor. El procesamiento discriminativo-sensorial de los impulsos nociceptivos es ejecutado, probablemente, por mecanismos cerebrales similares a aquellos utilizados para el procesamiento de otras aferencias sensoriales discriminativas que proporcionan al individuo información sobre la intensidad, duración, localización y calidad del estímulo.
- **Emotivo-afectiva**, en la cual se percibe la intensidad del estímulo y se determina la respuesta del animal.

El procesamiento emotivo-afectivo implica a la formación reticular ascendente para la conducta y el despertar cortical. También se ven implicadas las rutas aferentes a través del hipotálamo hacia el interior del cerebro anterior y sistema límbico para percepciones como padecimiento, temor, ansiedad y depresión. Las redes neuronales emotivo-afectivas tienen también importantes vías de entrada hacia el interior del hipotálamo y del sistema nervioso autónomo para las actividades reflejas de los sistemas cardiovascular, pulmonar y adrenal-hipofisario.

Las respuestas activadas por estos sistemas ejercen un retro control hacia el interior del cerebro e intensifica las percepciones derivadas de las aferencias de la vía emotivo-afectiva. Basándose en la experiencia neuro-quirúrgica en el hombre, es posible separar los componentes discriminativo-sensoriales de los componentes emotivo-afectivos del dolor. Desde un punto de vista anatómico parecería que estas vías discriminativo-sensoriales son más pequeñas que aquellas del hombre, mientras que las emotivo-afectivas son más numerosas y más diversas en los animales.

Para que se pueda dar percepción dolorosa, el córtex cerebral y las estructuras sub-corticales deben ser funcionales. Un animal inconsciente no puede percibir el dolor porque el córtex cerebral no es funcional en ese momento. Si la corteza cerebral deja de funcionar como consecuencia de una hipoxia, depresión por fármacos, choque eléctrico o conmoción cerebral, no es posible la percepción dolorosa.

Los estímulos que podrían evocar el dolor en el animal consciente, en el animal inconsciente sólo pueden desencadenar repuestas reflejas que se manifiestan con movimientos. Por ello los movimientos indeterminados de un animal no son indicadores fiables de la percepción dolorosa.

Por el contrario un animal puede percibir dolor a pesar de que no se presenten movimientos corporales como respuesta al estímulo del agente nocivo, si por ejemplo al animal se le han administrado fármacos de tipo curare, succinilcolina, gallamina, pancuronio, nicotina o decametonio. Estos agentes no inducen la inconsciencia ni deprimen la corteza cerebral ni otros mecanismos neuronales implicados en la percepción dolorosa.

Consideraciones sobre conducta animal... y humana

En los animales se han descrito expresiones faciales y actitudes corporales que indican varios estados emocionales. La persona implicada en el proceso de percepción del dolor en el animal deberá reconocer adecuadamente los signos de sufrimiento en las especies con las que esté trabajando.

Algunos de estos signos claros de sufrimiento en el animal, han quedado recogidos en las Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación preparadas por el grupo de trabajo liderado por Mrs. Bryony Close. Las respuestas de conducta y psicológicas a la estimulación nociva incluyen:

- Vocalizaciones de angustia (no siempre en el rango audible para humanos): aullidos, gimoteos, ladridos. Siseos (en gatos)...
- Lucha y/o intentos de huida.
- Agresiones defensivas o redirigidas, contra los humanos o incluso contra ellos mismos u otros objetos inanimados.
- Respuesta de paralización/inmovilización.
- Jadeo e hiperventilación.
- Salivación. Micción, defecación y evacuación de sacos anales.
- Erección del pelo.
- Dilatación de pupilas.
- Taquicardia.

- Sudoración.
- Contracciones reflejas de la musculatura esquelética, que originan temblor, tremor y otros espasmos musculares.
- Inmovilidad o rigidez, por ejemplo en algunas aves o lagomorfos.

Algunas de estas respuestas se pueden desencadenar tanto en el animal consciente como en el inconsciente. El temor puede causar la inmovilidad del animal de modo involuntario en ciertas especies, particularmente conejos y gallinas. Esta respuesta de inmovilidad no debe interpretarse como signo de inconsciencia cuando, de hecho, sí está consciente.

En los animales muy jóvenes, las reacciones reflejas y autónomas son evidentes; pero por otra parte las respuestas en el comportamiento pueden diferir de aquellas de los adultos. Se debe tener en cuenta la necesidad de minimizar el temor o el miedo en la elección del método de inducción de la eutanasia.

Los gemidos de angustia, comportamientos temerosos, y la liberación de ciertas feromonas por parte del animal asustado, pueden desencadenar ansiedad y temor en otros animales. Por lo tanto y siempre que sea posible, los animales no deberán presenciar la muerte de otros, especialmente si pertenecen a la misma especie. Esto es particularmente importante cuando se pueda presentar vocalización o liberación de feromonas. Una ligera sujeción del animal, preferiblemente en un ambiente familiar, un manejo cuidadoso y el hablar durante la inducción de la eutanasia con frecuencia, tienen un efecto tranquilizador en algunos animales de compañía. De cualquier modo, algunos de estos métodos pueden no resultar factibles con animales violentos, heridos o enfermos.

Cuando la captura o el método de contención puedan ocasionar dolor, lesiones, agitación, ansiedad en el animal, o daño al operador, puede hacerse necesaria la utilización de fármacos tranquilizantes o inmovilizantes. No se debe realizar la sujeción del animal en posturas dolorosas. El manejo previo a la inducción de la muerte debe ser lo menos estresante posible. Debería evitarse la aplicación de choques eléctricos u otros recursos que activen los movimientos del animal.

Los imperativos éticos y morales asociados a la inducción de la muerte y eutanasia de modo masivo o individual, deberían ser consecuentes con un ejercicio o hábito humanitario aceptable. La selección del método y su empleo deberían ser realizados en todos los casos observando los valores éticos y de conciencia social más elevados.

Cuando se evalúe cuál es el método más humanitario de eutanasia para cualquier animal, la sedación previa es una medida que siempre debe ser considerada, al menos para reducir marcadamente la ansiedad y angustia que sufren los animales. Sin embargo, en el otro lado de la balanza deberemos situar siempre el exceso de manipulación que esta actividad conlleva, lo que puede acabar generando más estrés al animal que el que se desea evitar. Dependerá del profesional en cada caso, obviamente, el decidir en dónde se encuentra el punto medio acertado de la actuación.

Por otra parte, un apartado importante que debe ser también considerado es el efecto que la práctica de la eutanasia puede poseer sobre el propio operador. En una persona normal de tipo medio, el pasar mucho tiempo dedicándose a sacrificar animales puede provocar un efecto fisiológico profundo y negativo. En el caso de tratarse de técnicos, investigadores, veterinarios... estas acciones pueden llevar a provocar lo que algunos expertos han denominado “estrés moral”, asociado a la paradoja de que justamente aquella persona que decidió seguir una vía profesional para cuidar, proteger y ayudar a los animales, al final acaba en una actividad continuada de muerte, difícil (al menos inconscientemente) de entender y/o aceptar.

Esta situación puede incluso llevar a alteraciones psicogénicas como asma o colon irritable, dependencia de drogas, alienación familiar e insatisfacción laboral. Este aspecto, no lo olvidemos, debe ser recordado y tratado correctamente con metodologías lo menos cruentas posible con los animales y con los manipuladores.

Las razones para practicar la eutanasia en centros de experimentación animal: cuándo y cómo

La eutanasia es un punto clave de actuación y conocimiento en lo referente al BA. La decisión de eutanasiar a un animal sea este de experimentación, compañía, producción o salvaje es un tema muy complejo, al menos desde la perspectiva ética y moral, y que en no pocas ocasiones suscita discusiones de difícil solución.

En este sentido la Sociedad Mundial para la Protección de los Animales (en inglés, WSPA, *World Society for the Protection of Animals*) ha considerado, al igual que otras muchas instituciones veterinarias, que la aplicación de la eutanasia de forma general debería estar aceptada en los siguientes supuestos:

- Cuando el paciente no pueda ser tratado por padecer una enfermedad terminal o incurables.

- Cuando el paciente esté en una situación de sufrimiento permanente, psíquico o físico.
- Cuando el paciente sea agresivo y no pueda ser resocializado adecuadamente bajo ningún concepto.
- Cuando constituya la única opción ante un riesgo epidemiológico real y confirmado de enfermedad zoonótica grave.

A estas condiciones se podría añadir en el caso de animales de experimentación los objetivos del procedimiento y su grado de severidad.

La normativa vigente establece que al término de todo procedimiento se decida si los animales deben mantenerse con vida o ser sacrificados. La muerte como criterio de punto final de un procedimiento debe evitarse en lo posible y sustituirse por un criterio de finalización más humanitario que se pueda observar y aplicar en un momento anterior del procedimiento.

Esta decisión será tomada por un veterinario, o en casos justificados, por otra persona capacitada. Por consiguiente se deberá optar por la eutanasia de los animales siempre que sea probable que vayan a padecer un nivel moderado o severo de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero.

En la experimentación animal se define el punto final (PF) como el momento exacto en el cual se termina, minimiza o reduce el dolor y/o sufrimiento de un animal mediante el sacrificio, el cese anticipado de un procedimiento doloroso o la administración de un tratamiento para aliviar el dolor y/o sufrimiento” (CCAC, 2010).

De este modo el PF se podría considerar como un método de refinamiento o como el primer indicador de dolor y/o sufrimiento basado en en signos clínicos, pre-clínicos, biomarcadores fisiológicos o moleculares.

En caso de que no pueda evitarse la muerte como criterio de punto final, el procedimiento estará concebido de tal manera:

- Que muera el menor número de animales posible.
- Que se reduzcan al mínimo posible la duración e intensidad del sufrimiento del animal y en la medida de lo posible, se garantice una muerte sin dolor.

Por tanto existan una serie de consideraciones y requisitos a considerar para llevar a cabo correctamente la práctica de la eutanasia de los animales en los centros de experimentación, tales

como:

- Partir de un correcto diagnóstico, una historia clínica lo más completa posible y un razonamiento coherente acerca de la situación actual y el futuro inmediato del animal implicado (Cuadro 2).
- Debe realizarse con un elevado respeto hacia a los animales, siendo apropiada a la especie, edad y estado del animal.
- Efectuarse por personal especializado, con conocimiento preciso acerca del animal, de su comportamiento y de las técnicas más adecuadas en cada caso para garantizar una muerte sin dolor ni sufrimiento minimizando los riesgos para el operario.
- Debe reducirse el posible impacto ambiental.
- Esta actuación ha de tener siempre como objetivo final el provocar la inconsciencia seguida de la muerte de forma irreversible, algo que debe comprobarse escrupulosamente al finalizar todo el proceso y en todo momento asegurar el dolor y la menor angustia posibles, para lo cual se desarrollará todo un protocolo, tanto del animal como de su entorno.
- Que el protocolo de eutanasia no afecte al desarrollo del experimento ni a los datos y resultados que de él se deben extraer.
- Realizarse en un establecimiento de un criador, suministrador o usuario, salvo que se trate de un estudio de campo o que le sea aplicable alguna excepción contemplada en el Reglamento (CE) 1099/2009.

Pérdida de peso muy rápida (15 a 20 %) en días consecutivos.
Cuerpo encorvado.
Automutilaciones.
Midriasis/ cianosis.
Diarreas y debilidad en 2-4 días.
Abdomen distendido.
Pérdida de peso progresiva hacia el estado de delgadez extrema.
Álopecia generalizada. y pelo hirsuto.
Tos, dificultad para respirar y abundantes descargas nasales/oculares.
Abundantes descargas nasales/oculares.
Ictericia, anemia y neoplasias generalizadas.
Signos neurológicos como parálisis, parexia., trémor, convulsiones, ataxia, espasticidad.
Hemorragias por orificios naturales.
Poliuria o anuria.
Lesiones que compliquen la toma de alimentos o agua.

Cuadro 2: Algunos criterios a considerar previos a la eutanasia

Mecanismos de acción de los agentes utilizados para provocar la muerte en los animales

Estos agentes pueden acabar con la vida del animal básicamente por tres mecanismos: hipoxia directa o indirecta, depresión directa de neuronas esenciales para función vital y daños físicos al tejido cerebral.

Hipoxia directa o indirecta. En este punto se puede actuar a diferentes niveles y dar origen a distintos períodos de establecimiento de la inconsciencia. Con algunos agentes la inconsciencia se puede alcanzar antes de que cese la actividad motora muscular. De este modo y aunque incluso los animales muestren contracciones musculares, no están percibiendo dolor. Aun así el observador desinformado puede encontrarlos difícilmente aceptables.

Por el contrario, los relajantes musculares inducen una parálisis muscular flácida, en la que además el animal permanece consciente hasta que sobreviene la muerte como resultado de la hipoxia e hipercapnia. Así, mientras el animal parece relajado, en realidad permanece en un estado de angustia o pánico y puede percibir el dolor. Estéticamente y sólo de modo aparente esta técnica de

sacrificio puede parecer un método adecuado de inducción de eutanasia pero no lo es.

Entre los agentes que no inducen la rápida pérdida de consciencia anterior a la muerte se incluyen: curares, succinilcolina (frecuentemente como cloruro: suxametonio, Anectine®), gallamina, nicotina, sales de magnesio o de potasio, pancuronio, decametonio, estricnina y otros fármacos relacionados. Su utilización en solitario, sin anestesia previa, para el sacrificio de animales es absolutamente reprobable.

Depresión directa de neuronas esenciales para función vital. Se incluyen aquellos agentes que deprimen en primer lugar las células nerviosas, bloqueando la desconfianza o recelo, y la percepción dolorosa, seguida de inconsciencia y muerte. Algunos de estos agentes "liberan" el control muscular durante las primeras fases de la anestesia provocando una fase de excitación o delirio, durante la que pueden producirse vocalizaciones y algunas contracciones musculares. Y aunque puedan parecer cuestionables estas reacciones, no lo son. La muerte se produce por la hipoxia y la depresión directa de los centros respiratorios.

Daños físicos al tejido cerebral. La conmoción, o el flujo directo de corriente eléctrica a través del cerebro producen inconsciencia instantánea. Se puede producir una exagerada actividad muscular posterior a la inconsciencia. Cuando la electrocución se aplica bien, la pérdida de funciones motoras acompaña a la pérdida de consciencia; con los otros métodos de este grupo pueden presentarse contracciones musculares que, aunque pueden ser desagradables para el observador, no provocan sufrimiento en el animal.

Se puede emplear el electroencefalograma (EEG) u otras mediciones fisiológicas para evaluar las respuestas a los agentes inductores de eutanasia.

Confirmación de la muerte del animal y gestión de SANDACH

Una vez practicada la eutanasia el técnico que la aplique deberá cerciorarse de la muerte del animal mediante la comprobación de una serie de indicadores como son:

- La ausencia de contracciones cardiacas y pulso.
- Pérdida de coloración de membranas mucosas.
- Pérdida de reflejo corneal.
- Pérdida de brillo y humedad de las córneas.

- Ausencia de movimientos torácicos y señales de respiración
- Aparición de rigor mortis.

Posteriormente a la eutanasia es necesaria una gestión correcta del cadáver de acuerdo a la normativa vigente. En la actualidad es de aplicación el Reglamento (CE) nº 1069/2009 (que deroga el R(CE) nº (1774/2002) y que establece las normas sanitarias a los subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano (SANDACH) con el objeto de garantizar y preservar el medio ambiente, la salud humana y animal.

Los cuerpos enteros o sus partes, incluidas las pieles de los animales de experimentación o utilizados para otros fines científicos, se incluyen como materiales de categoría 1. Estos materiales tienen como destino la co-incineración, incineración, transformación con ciertas particularidades o para la utilización en actividades de diagnóstico, educativas e investigación autorizadas.

La autoridad competente es la encargada de realizar los controles oficiales oportunos en todas las fases y a todos los operadores. Una vez que estos productos se identifican, etiquetan y categorizan adecuadamente su destino puede ser la eliminación previo tratamiento, su valorización para otros productos o su utilización como alimento para otros animales.

Ya que existe la posibilidad durante todo el proceso que se diseminen patógenos, enfermedades o se produzca una contaminación ambiental en la recogida, transporte y almacenamiento de los SANDACH se deben de aplicar normas de bioseguridad y de prevención de riesgos laborales para los operarios.

Evaluación de los métodos de inducción de eutanasia

Se utilizan varios requerimientos que recogen conceptos fisiológicos, toxicológicos, de comportamiento, de seguridad etc, que definen, según diversos autores, al agente eutanásico ideal, como aquel que se ajuste más a ellos:

- **Indoloro.** Debe ser capaz de inducir la muerte sin dolor. Será tan indoloro como sea factible bajo las circunstancias del momento.
- **Rápido.** El tiempo requerido para la pérdida de consciencia será el más breve posible.
- **Eficaz.** El tiempo requerido para producir la muerte o tiempo letal también será reducido. Provocará inconsciencia y muerte instantáneamente o en pocos minutos.

- **Fiabilidad e irreversibilidad.** El medio elegido causará la muerte cada vez que se utilice correctamente.
- **Seguridad.** No debe ser peligroso para el personal que aplica estas técnicas.
- **Potencialidad para minimizar la tensión psicológica del animal.** De modo que no provoque ansiedad indebida, alarma, temor, lucha, gritos, espasmos musculares, ni otros síntomas clínicos de activación autónoma. El método de sujeción tampoco causará estas reacciones.
- **Fácil administración.** Será de aplicación sencilla por el personal especialmente adiestrado.
- **Uso práctico.** Debe haber compatibilidad con las razones y fines que se persiguen: evaluación histopatológica, toxicológica, consumo humano, etc.
- **Estéticamente aceptable.** No debe causar efectos emocionales sobre los observadores y operarios. Será estéticamente aceptable para ellos.
- **Económico.** Disponibilidad de medios y factibilidad económica.
- **No provoque** contaminación ambiental, ni **problemas sanitarios** y su potencial abuso por parte del hombre (si se hubiese advertido este riesgo), deberá ser regulado por la administración competente.
- **No debe** provocar cambios tisulares que compliquen la necropsia.
- **No debe** dejar residuos tisulares en animales destinados al consumo humano.
- **Aislado.** Se realizará en una localización remota y separada de los restantes animales.

No existe ningún agente ideal que se ajuste a la totalidad de estas normas, que además, en algún caso, resultan subjetivas; pero sí nos orientan y nos permiten seleccionar aquel que más se ajusta a nuestras condiciones de trabajo. En todo caso, y seguramente sobre las demás consideraciones, adquiere una relevancia capital la facilidad de empleo del método, pues estará en la base de un proceso adecuado y correcto ética y clínicamente. La dislocación cervical, por ejemplo, o la bala cautiva, necesitan de un entrenamiento adecuado para poder ser realizado correctamente, sin riesgos ni para el manipulador ni para el animal (en este caso, refiriéndonos a buena práctica de la

eutanasia, sin dolor físico o psíquico), y obviamente nunca debería ser aplicado por un personal sin la suficiente preparación.

A la sencilla pregunta de ¿cuál es el mejor método de eutanasia? No podemos dar una respuesta simple, al no ser sólo la parte científica la que debe contestar, sino verse implicada también la ética. Muchos métodos actualmente aceptados no parecen ser todo lo correctos que deberían, y las nuevas líneas de trabajo deberían justamente enfocar este problema. El reto de los investigadores debería ser, seguramente, el conseguir dar una “buena muerte”..., pero dejando siempre el beneficio de la duda del lado del animal.

Agentes utilizados para inducir la muerte en los animales

Como comentamos anteriormente no existe en la actualidad ningún agente que cumpla completamente con todos los criterios indicados en la evaluación de los métodos de inducción de eutanasia expuestos, por lo que no existe el agente eutanásico ideal. De otra parte algunos de esos criterios pueden además ser muy subjetivos (¿qué es ser económico?, ¿dónde está el límite para saber que un agente es de uso seguro?...), y depender exclusivamente del punto de vista del usuario.

Con estas consideraciones, existen dos grandes familias de métodos para inducir eutanasia a las distintas especies animales:

- Métodos físicos (disparo en la cabeza, electrocución, fractura de cuello, conmoción,...)
- Métodos químicos (barbitúricos, dióxido de carbono,...).

En ambos casos, las técnicas a las que se puede recurrir para sacrificar a un animal dependerán de factores muy variados, como por ejemplo la especie animal implicada, y la finalidad buscada con el proceso. Un animal destinado a servir de alimento a los humanos no podrá recibir los mismos agentes químicos que una mascota, o que el animal involucrado en el desarrollo de un complejo estudio científico.

De forma general, los agentes químicos que están disponibles para la eutanasia son variados, y se pueden clasificar en.

- Compuestos inyectables (aplicados por vía i.v. básicamente, como barbitúricos, hidrato de cloral y T-61)
- Compuestos volátiles (anestésicos, CO, CO₂, que actúan por vía inhalatoria).

Por su parte, los métodos físicos son los que se emplean habitualmente en los mataderos con los animales de abasto y en los sacrificios de urgencia para evitar la propagación de enfermedades, por lo que están recogidos en la correspondiente legislación ya indicada. Se trata de métodos tales como: disparo (con bala o con proyectil cilíndrico), electrocución, dislocación de la nuca, decapitación o la conmoción.

Sea cual sea el método que se decide escoger, en general, todos ellos funcionarán de acuerdo a uno de los tres siguientes modos de acción:

- Hipoxia, aconteciendo la muerte por reducción de la cantidad de oxígeno en las células y tejidos.
- Depresión directa de las células nerviosas en los centros respiratorios cerebrales.

- Interrupción física de la actividad cerebral a través de cualquier manipulación, destruyéndose las zonas cerebrales que controlan las funciones cardíacas y respiratorias.

Por último, conviene recordar que todo el personal debe estar entrenado para ser capaz de reconocer y confirmar la muerte en todas las especies con las que estén trabajando. El cese del latido cardíaco y la respiración, la ausencia de reflejos y en los animales de laboratorio pequeños, la bajada de la temperatura corporal por debajo de 25°C, serán algunos de los signos que deberán observarse para evitar dramáticas equivocaciones.

1. Agentes químicos (I). Agentes inhalatorios

La exposición profesional a agentes inhalatorios constituye un riesgo para la salud humana. Como resultado de la exposición a cantidades traza de agentes inhalatorios se ha observado un incremento en los abortos espontáneos y anomalías congénitas. Los niveles de exposición para líquidos anestésicos volátiles (éter, halotano, isoflurano, metoxiflurano) deben ser inferiores a 2 ppm, e inferiores a 25 ppm para el óxido nítrico, mientras no existan estudios controlados probando que tales niveles de anestésicos son seguros. Estas concentraciones fueron establecidas porque se demostraron alcanzables en condiciones hospitalarias. Es necesario emplear procedimientos efectivos que protejan al personal de la acción de los agentes anestésicos, y el equipamiento deberá estar en condiciones óptimas de mantenimiento para evitar fugas peligrosas.

En cuanto a la eutanasia en los animales, para ser efectivos deben alcanzar una cierta concentración en los pulmones de los animales afectados, lo que conlleva que la muerte no sea inmediata, sino que necesite un proceso más o menos prolongado. Por ello cualquiera de estos agentes que provoque cuadros convulsivos debe ser inmediatamente eliminado de nuestro protocolo eutanásico. Por otra parte, conviene recordar que los animales jóvenes son más resistentes a los efectos de bajas concentraciones de oxígeno, tardando más tiempo en morir por hipoxia que sus semejantes adultos. Por último, también los animales heridos, viejos... pueden necesitar más tiempo para que sobre ellos actúen estos agentes, al tener a veces la capacidad respiratoria reducida.

1.1 Anestésicos inhalatorios: éter, halotano, isoflurano, sevoflurano, enflurano

Los anestésicos inhalatorios, principalmente: éter, halotano e isoflurano han sido utilizados para inducir la eutanasia de muchas especies. Para su empleo se sitúa al animal en un receptáculo cerrado conteniendo un algodón o una gasa impregnada con el anestésico. Los vapores son inhalados hasta que la respiración cesa y sobreviene la muerte. Como la mayoría de los agentes inhalatorios son irritantes tópicos en estado líquido, deben ser vaporizados previamente. Además, debe suministrarse aire u oxígeno durante el período de inducción. Si se trata de animales de experimentación (especialmente en estudios fármaco-toxicológicos) es más aconsejable usar iso y enflurano, pues a diferencia del halotano, en el hígado se metabolizan débilmente.

Ventajas

- Los anestésicos inhalatorios son particularmente útiles en la inducción de eutanasia en pájaros, roedores, gatos, perros jóvenes y en general aquellos animales en los que la punción venosa se considere difícil.
- Son útiles en animales previamente anestesiados quirúrgicamente, cuando no se desea que estos recobren el conocimiento.

Inconvenientes

- Los animales muestran, muchas veces, reacciones de defensa e irritación, con lo cual en general no suelen ser aconsejables como agentes eutanásicos en animales de gran porte (>7 kg).
- El éter es inflamable y explosivo, y no debe ser empleado cerca de una llama u otras fuentes de ignición.
- El personal u otros animales pueden resultar perjudicados en la exposición a estos agentes.
- Halotano, isoflurano y enflurano son relativamente caros.
- Algunos de estos fármacos son susceptibles de abuso por parte del ser humano.

1.2 Nitrógeno/Argón

Ambos son gases incoloros e inodoros que se encuentran en estado inerte, no inflamables y no explosivos. La inducción de la eutanasia se realiza en un contenedor cerrado en el que se introduce el gas puro rápidamente a presión atmosférica. En todo caso la muerte se produce por desplazamiento del O₂, causando la muerte por anoxia. Sin embargo, las ratas por ejemplo tardan 3 minutos en quedarse inconscientes, y muestran signos de pánico y angustia.

El equipo para la inducción de eutanasia con N₂ consiste en una cámara cerrada, un monitor de O₂ para asegurarnos de que su presión es menor o igual al 1% a los 45-50s y un cronómetro para asegurar una exposición adecuada. Cuando se abre la cámara, el N₂ se mezcla con el aire de la habitación y supone un riesgo mínimo si se encuentra adecuadamente ventilada. En estudios

realizados con perros, se ha observado que con una concentración de N₂ del 98.5% administrada en 45-50s los perros alcanzan la inconsciencia hacia los 76s, el EEG se vuelve isoelectrico en una media de 80s y la presión arterial no era detectable a los 204 s.

Aunque todos los perros hiperventilan antes de alcanzar la inconsciencia, los autores han concluido que este método induce la muerte sin dolor. En algunos perros, se han observado siguiendo a la pérdida de consciencia, aullidos, jadeos, convulsiones y temblores musculares. Todos los animales habían muerto al cabo de los 5 minutos de exposición.

Los perros, conejos y conejillos de indias recién nacidos pueden sobrevivir a una atmósfera de N₂ durante mucho más tiempo que los adultos. Se ha visto que perros y gazapos recién nacidos han sobrevivido 31 minutos y los conejillos de indias 6 minutos mientras que los perros y conejillos de indias adultos sobreviven 3 minutos y los conejos adultos 1,5 minutos. En perros y gatos la aparición de la inconsciencia tarda 1-2 minutos, con hiperpnea unos 10 segundos antes del colapso.

En resumen, la idoneidad de este método, al menos en animales de compañía, no está del todo confirmada, y la evidencia actual aconseja no practicarlo con estos animales, al existir además otros sistemas más humanitarios.

Ventajas

- Fácilmente disponibles.
- Pueden ser rápidos y fiables.
- Riesgos para el personal mínimos.

Inconvenientes

- Inducción de la eutanasia lenta en animales jóvenes (incluso a veces sólo induce inconsciencia, no muerte).
- Un flujo rápido de gas puede producir ruido y asustar a los animales.
- Reacciones estéticamente desagradables en el animal inconsciente.

- La entrada de bajas concentraciones de O₂ en la cámara (<6%) antes de la muerte puede llevar a la recuperación inmediata del animal.
- Cuando la velocidad de flujo es baja, el tiempo hasta la muerte puede ser excesivamente largo.

Recomendaciones

- El efecto del N₂ puede ser rápido y seguro cuando se utiliza adecuadamente. Sin embargo las reacciones del animal antes de la muerte pueden resultar estéticamente desagradables.
- Aunque resulta un agente efectivo se prefieren otros agentes en la inducción de la eutanasia.
- No se acepta su uso en animales de edad inferior a los 4 meses.
- Debe existir un sistema de escape o ventilación correcta para evitar la exposición del personal a concentraciones de gas altas.
- Es un método que para animales de experimentación se considera adecuado sólo con animales inconscientes.

1.3 Monóxido de carbono

Produce una muerte rápida, al mezclarse con los eritrocitos en competencia por el oxígeno, pero ante la falta de olor, la angustia es mínima. Sin embargo, hay que descartarlo para reptiles, pues estos poseen un bajo metabolismo y una alta tolerancia a la hipoxia. Así mismo en perros y gatos tras la inconsciencia pueden aparecer vocalizaciones y convulsiones, por lo cual muchos países no lo aceptan como agente eutanásico para los mamíferos de compañía.

Existen tres métodos prácticos para generar CO para la inducción de la eutanasia en masa:

- Interacción química de formiato sódico y ácido sulfúrico.
- Gases de escape de la combustión interna de motores de gasolina.
- Bombonas comerciales de CO comprimido.

Al generar CO con formiato sódico y ácido sulfúrico en la inducción de eutanasia en perros, se ha visto reducido el tiempo letal cuando se alcanzan concentraciones del 2-3% de CO.

Cuando el CO se genera por combustión se debe evitar el malestar del animal por la acción de los

óxidos de nitrógeno, hidrocarburos, óxidos de hidrocarburos y el calor generados. Esto se puede lograr haciendo pasar los gases de escape a través de una cámara de agua y un filtro de malla metálica con una lámina de tela. La cámara de agua enfría los gases, elimina algunas partículas de carbón, y atrapa los óxidos de nitrógeno, hidrocarburos y óxidos de hidrocarburos. El filtro de tela elimina las partículas de carbón, permitiendo una relativa limpieza de modo que el CO que se introduce en la cámara no resulta irritante.

El funcionamiento en vacío del motor con una mezcla de combustible rica, proporciona la máxima concentración de CO en el gas eliminado. El CO producido de este modo es tan efectivo como el utilizado a partir de bombonas de CO comprimido y es considerablemente más barato. La concentración de CO por gases de escape puede alcanzar con rapidez el 8% que ocasiona una saturación del 70% de la hemoglobina total. Sin embargo, bajo ninguna circunstancia se usarán los vapores de salida de los motores diesel.

El manejo del CO se debe considerar como extremadamente arriesgado para el personal porque es altamente peligroso y difícil de detectar por los sentidos. Resulta imprescindible disponer de un sistema de eliminación o ventilación eficiente para prevenir la exposición accidental en seres humanos.

El CO se ha utilizado en la inducción de la eutanasia para visones y chinchillas. Los animales se colapsaron en 1 minuto, la parada respiratoria sobrevino a los 2 minutos y se consideraron muertos cuando el corazón dejó de latir entre 5-7 minutos. En los animales de peletería debe alcanzarse al menos un 1% en volumen de CO, en el momento de la introducción de los animales en la cámara.

En experiencias realizadas con perros para evaluar las respuestas psíquicas y de comportamiento a la exposición a concentraciones de CO del 6%, no se pudo determinar con precisión el tiempo en que se alcanzaba la inconsciencia. Los registros del EEG revelaron un período de 20-25 s de función cortical anormal anterior a la inconsciencia. En este período es cuando se pueden presentar agitación y vocalizaciones; estas reacciones no se deben necesariamente al dolor, pero son causadas probablemente por la hipoxia cortical. Algunos autores han concluido que el CO reúne los criterios mayoritariamente aceptados en la inducción en masa de la eutanasia en perros adultos. La premedicación con un tranquilizante como la acepromacina disminuye significativamente o elimina el comportamiento y las reacciones fisiológicas desagradables asociadas a la inhalación única de CO. Experiencias comparativas utilizando CO de escape de motores y una mezcla del

70% CO₂ + 30% O₂ revelaron que el tiempo transcurrido hasta el establecimiento de la sintomatología y para completar la inmovilización era mayor con CO₂ + O₂ (90s aproximadamente) que con CO (56s aproximadamente). Se manifestaron convulsiones en ambos casos, pero estas no se observaban en las últimas etapas del proceso, si se procedía al previo llenado de la cámara con CO (de gases de escape).

Una cámara hermética conectada a los conductos de escape de motores de gasolina alcanza niveles de CO que sobrepasan el 8% rápidamente. La saturación de la hemoglobina al 70% se produce más rápidamente cuando las concentraciones de CO superan el 6%, la cual ha sido descrita como óptima.

Ventajas

- El CO induce una muerte rápida y sin dolor.
- La hipoxia se establece en el animal de forma insidiosa de modo que el animal permanece completamente indiferente.
- Cuando se administra adecuadamente, la inconsciencia se alcanza sin malestar o dolor perceptible.

Inconvenientes

- Es necesario tomar medidas para prevenir la exposición accidental de las personas.
- En la generación química de CO por formiato sódico y ácido sulfúrico, deben eliminarse los gases irritantes del ácido sulfúrico pasándolos por una solución al 10% de hidróxido sódico.
- Los gases de escape deben ser filtrados y enfriados para prevenir el malestar en los animales.

1.4 Dióxido de carbono

Junto con el monóxido de carbono, es muy eficaz y humanitario en animales de pequeño tamaño, al usarlos a altas concentraciones. El dióxido estimula el centro respiratorio, lo que puede causar algo de ansiedad al animal, y además ser estéticamente desagradable. En peces en concreto

provoca un incremento de la actividad antes de la pérdida de la consciencia, por lo que está contraindicado. Y tampoco se debe usar en gatos o especies mayores, pues a veces es excitante. Tampoco se debe usar con animales de menos de dos semanas de vida, ni con animales que bucean (es el caso de algunos mustélidos), pues estos aguantan la respiración.

En todo caso, estos agentes han de suministrarse en cámaras especialmente diseñadas y revisadas, para evitar todo riesgo para los manipuladores y personal auxiliar.

El aire en condiciones normales contiene una concentración del 0,04% de CO₂. Las concentraciones superiores al 7,5% poseen un efecto anestésico rápido. Una inhalación del 60% de CO₂ conduce a la inconsciencia en menos de 45 s, y al fallo respiratorio en menos de 5 minutos.

El dióxido de carbono se ha utilizado para la inducción de eutanasia de pequeños animales de laboratorio a concentraciones del 30-40% y también en el pre-sacrificio de cerdos para consumo humano en cintas transportadoras que los conducen a las cámaras de gas, aunque se han observado estados de excitación con vocalización previos a la inconsciencia, de modo indeseable, de aproximadamente 40 segundos.

De todos modos se cree que los animales no detectan el CO₂ inmediatamente, y su acción depresiva pasa casi desapercibida para ellos. Los signos de anestesia por CO₂ son aquellos asociados a la anestesia quirúrgica profunda, como la falta de los reflejos de retirada y de reflejo palpebral. Según la legislación española debe utilizarse una concentración mínima del 70% para cerdos.

Ventajas

- Están bien demostrados los efectos de rápida depresión y anestesia del CO₂
- Se puede adquirir en bombonas o en estado sólido como "hielo seco".
- No es caro, ni inflamable, ni explosivo, y representa un riesgo mínimo para el personal cuando se utiliza con un instrumental diseñado apropiadamente.
- No origina acumulación de residuos si el animal es destinado a la producción de carne.

Inconvenientes

- Como el CO₂ es más pesado que el aire, un llenado incompleto de la cámara puede permitir que animales de cierta talla, o aquellos que puedan trepar eviten la exposición y sobrevivan.
- En animales jóvenes, el tiempo letal puede ser substancialmente mayor.

Recomendaciones

- El diseño de la cámara debe permitir el previo llenado con CO₂ y permitir su limpieza así como posibilitar la retirada de los animales muertos con una pérdida mínima de CO₂
- El CO₂ comprimido en bombonas es preferible al hielo seco. La afluencia de CO₂ a la cámara de inducción de eutanasia se puede regular de modo exacto utilizando CO₂ comprimido. La tasa de flujo óptima se estima que es aquella que desplace aproximadamente el 20% del volumen de la cámara por minuto.
- Si se usa hielo seco, debe evitarse el contacto con el animal para prevenir escalofríos y congelaciones.
- Deben existir dispositivos que indiquen la concentración de CO₂ dentro de la cámara.

1.5 Agentes para animales acuáticos (absorción por piel y branquias)

Conviene nombrar a una serie de agentes muy utilizados con los organismos acuáticos, sean estos destinados a experimentación o a producción. Por ejemplo, la benzocaína (etilaminobenzoato), disuelta en acetona antes de añadirla al tanque, es muy efectiva y humanitaria, al actuar deprimiendo el sistema nervioso central. Además, se descompone rápidamente en el agua, con lo que su efecto medioambiental es escaso, al igual que carece de riesgos para el personal.

La tricaína metano sulfonato (MS-222) se usa en peces y anfibios, y también deprime el sistema nervioso central. Su efectividad depende de la especie, tamaño del animal, temperatura y dureza del agua. Se puede combinar con quinaldina o sulfato de quinaldina, permitiendo reducir las dosis efectivas de ambas. Esta quinaldina se usa mucho en USA, pero es complicada de obtener en Europa, y se acumula en los tejidos ricos en lípidos, como el sistema nervioso central.

Etomidato y metomidato son agentes hipnóticos que también deprimen el sistema nervioso central. Son de efecto relativamente rápido y muy aconsejables en peces.

2. Agentes químicos (II). Agentes farmacológicos no inhalados

Los agentes no inhalados que se pueden utilizar para la inducción de eutanasia son muy variados en cuanto a su composición química. Aunque la muerte se puede inducir por la administración de estos agentes a través de diferentes vías (intravenosa, intracardíaca, intraperitoneal, intratecal, intramuscular, intratorácica, subcutánea y oral), se prefiere la administración intravenosa porque el efecto es más rápido y seguro. Debe evitarse la inyección intrapulmonar.

Las vías de administración oral, rectal e intraperitoneal no son aconsejables para la inducción de la eutanasia, pues implican un prolongado establecimiento de acción, poseen un amplio rango de dosis letales y pueden ser causa de irritación de tejidos. Puede transcurrir incluso más de una hora desde su administración hasta la muerte. Algunos fármacos como el hidrato de cloral y la solución T-61, cuando se administran intraperitonealmente, son irritantes y causan dolor abdominal. Otros pueden ocasionar cambios tisulares, dependiendo de la dosis y la vía de administración.

La vía de administración intracardíaca es censurable, porque después de una inyección incorrecta puede dar lugar a luchas y gritos. Se requiere destreza para penetrar el corazón de un animal con una sola introducción de la aguja hipodérmica, sobre todo cuando la sujeción del animal no resulta fácil. No se recomienda la inyección intracardíaca de fármacos, excepto en animales deprimidos, anestesiados o comatosos. No se recomienda la inyección intratecal en animales no anestesiados porque resulta imposible realizarla sin lucha y dolor.

Si el animal al que se va a inducir la eutanasia es violento o excitable, se recomienda el uso de analgésicos, tranquilizantes, narcóticos, ketamina, xilacina, u otros agentes similares, previamente al agente inductor de eutanasia.

2.1 Derivados del ácido barbitúrico

Son con total seguridad los agentes más empleados y aceptados en los animales, y entre ellos se encuentran los derivados del ácido barbitúrico, los oxibarbitúricos (pentobarbital sódico, secobarbital), tiobarbitúricos (tiopental) y varias mezclas. Todos deprimen el sistema nervioso central inespecíficamente y en orden descendente, comenzando por la corteza cerebral. A los pocos segundos de la administración intravenosa, se induce la inconsciencia, que progresa a anestesia profunda. La apnea, acompañada frecuentemente de un ligero temblor de los músculos, aparece como consecuencia de la depresión del centro respiratorio bulbar y es seguida rápidamente por el fallo cardíaco en pocos minutos. Son aceptables varios barbitúricos, pero el más comúnmente

utilizado para la inducción de eutanasia es el pentobarbital sódico. Su dosis letal segura para perros, en la administración intravenosa, se considera generalmente como 40-60 mg/kg de peso vivo, que es aproximadamente el doble de la empleada en anestesia quirúrgica, induciendo así la inconsciencia con suavidad y rapidez. En los animales de compañía el resultado es muy adecuado, pues no hay expresión de dolor audible o de otro tipo, el animal simplemente “se duerme”. Como mucho, a veces algún animal presenta una última bocanada de aire, pero aunque pueda resultar algo molesto al observador no profesional, hay que indicar que se trata sólo de un acto reflejo (conviene advertirlo previamente). Se puede emplear la vía intraperitoneal con estos fármacos, pero en este caso la inducción de la eutanasia será más prolongada. Además en este caso la combinación del barbitúrico con fenitoína (agente anticonvulsivo cardiotóxico) no es aconsejable, pues la segunda puede actuar sobre el corazón antes de que pueda efectuar su acción el barbitúrico, y por tanto antes de la pérdida completa de consciencia. En cuanto a la vía intracardiaca, ha de realizarla alguien experimentado, pues si no puede causar un gran dolor al animal (se aconseja en todo caso que el animal esté anestesiado para esta vía).

Ventajas

- Su rápido modo de acción. Su efecto depende de la dosis, la concentración y velocidad de inyección.
- Los barbitúricos inducen la eutanasia suavemente, con el mínimo malestar para el animal, y una favorable impresión para el observador porque el animal muere tranquilamente.

Inconvenientes

- Para obtener los mejores resultados es necesaria la inyección intravenosa, para la que se necesita personal cualificado.
- El animal debe sujetarse previamente.
- Algunos de estos fármacos pueden ser objeto de abuso por parte del ser humano.

Recomendaciones

- Las ventajas exceden con mucho a los inconvenientes en el uso de los barbitúricos para

la inducción de la eutanasia en pequeños animales de modo individual, pero no en la inducción de eutanasia en masa.

- La inyección intravenosa de un derivado barbitúrico es el método preferible para la inducción de eutanasia en perros, gatos y otros pequeños animales, sin embargo la administración intraperitoneal es una alternativa aceptable para roedores de laboratorio y animales en los que la vía intravenosa resulte inviable, e incluso se ha utilizado la vía intratorácica con pentobarbital cuando la vía IV y otras vías no son practicables.
- Los animales nerviosos o violentos pueden requerir tranquilización o sedación previa a la inyección del barbitúrico.

2.2 Solución T-61 para la inducción de eutanasia

La solución T-61 no contiene barbitúricos y no es narcótica. Se trata de una mezcla de 3 compuestos: un anestésico local (clorhidrato de tetracaína), un hipnótico y un agente curariforme, lo que combina la parálisis muscular con la anestesia local y general. Los tres agentes tienen velocidades diferentes de absorción, con lo cual el producto debe ser aplicado lentamente; si se hace muy rápido el animal puede estar consciente cuando sobrevenga el colapso respiratorio, lo que resultaría muy doloroso y con sufrimiento. Debe ser inyectado de forma intravenosa muy lenta para evitar el dolor, pero en aves pequeñas se puede inyectar en el músculo pectoral, pero no se debe usar en aves de corral. El animal debe ser sedado previamente. La muerte sobreviene por depresión severa del SNC, hipoxia y colapso circulatorio.

Un estudio comparativo de T-61 y pentobarbital (a razón de 57,1 mg/kg PV) señala que ambos agentes inducen la eutanasia suavemente. De la solución T-61 se administraron las dos terceras partes de la dosis total (0,3 ml/kg PV) a razón de 0,2 ml/s, con el último tercio a razón de 1,2 ml/s. Con ambos agentes el EEG evoluciona desde un patrón normal de vigilia a uno de baja frecuencia y amplitud incrementada en aproximadamente 5s, seguido rápidamente del silencio eléctrico.

Ventajas

- La solución T-61 puede ser administrada por vía intravenosa en perros, gatos, caballos, animales de laboratorio y pájaros.
- Con T-61 no se evidencia el gemido terminal que puede acompañar a la inducción de la

eutanasia con pentobarbital.

Inconvenientes

- La solución T-61 debe ser administrada por vía intravenosa porque la administración extravascular resulta dolorosa.
- Si se inyecta de modo demasiado veloz puede parecer que el animal experimenta dolor o malestar inmediatamente antes de alcanzar la inconsciencia.
- Dosis mayores que la recomendada pueden ocasionar edema pulmonar y otras lesiones tisulares.
- No se debe utilizar en animales destinados al consumo humano.

Recomendaciones

- Si no es posible la utilización de barbitúricos, se pueden suplir con T-61, pero sólo cuando es administrado por vía intravenosa por personal muy bien adiestrado, a las dosis recomendadas y velocidades de inyección adecuadas.

2.3 Sulfato de magnesio (MgSO₄) y cloruro potásico (KCl)

Ambos agentes se aconsejan como eutanásicos en animales de compañía, pero de forma condicionada. El sulfato magnésico es un agente bloqueante neuromuscular. En una solución salina saturada, por vía endovenosa lleva a paro cardiorrespiratorio seguido de muerte. Pero causa parálisis muscular sin pérdida previa de consciencia. Además, no posee propiedades analgésicas o anestésicas que controlen los efectos secundarios dolorosos, con lo cual su uso de forma única no es considerado adecuado en animales de compañía. Algunos perros muestran espasmos, contracciones violentas, vocalización, dan bocanadas de aire y tienen convulsiones previas a la muerte, lo que muestra que hay dolor y sufrimiento. Al igual que el cloruro potásico, sólo debe ser usado con animales que ya estén anestesiados, y por tanto, inconscientes. En animales de experimentación, de hecho, aparece recogido como no aceptable para la eutanasia (al menos no aceptable como agente único)

En cuanto al cloruro de potasio, es cardiotóxico, provocando su inyección un paro cardíaco tanto

por vía intravenosa como intracardiaca. No es tampoco ni analgésico ni anestésico, causando un dolor intenso previo a la muerte. Provoca jadeos, vocalizaciones y episodios de convulsiones, no siendo además nada agradable al observador

En ambos casos, la persona que los aplique debe estar muy entrenada y debe conocer los medios de anestesia. Conviene insistir: nunca debe usarse en animales que no estén completamente anestesiados.

Recomendaciones

- Las sales de Mg y K no deben ser utilizadas en solitario para la inducción de la eutanasia por su falta de efecto analgésico o anestésico.
- El KCl se puede administrar a animales anestesiados como medio eficiente y barato de provocar el fallo cardíaco y la muerte.

2.4 Hidrato de cloral

Debido a que el hidrato de cloral deprime el cerebro lentamente, la sujeción del animal durante la inducción puede resultar problemática en algunos animales. Su mecanismo de actuación se asocia a la depresión de los centros cerebrales responsables de controlar la respiración. Por esta razón, previamente a la muerte se pueden manifestar gemidos, espasmos musculares y vocalización, lo que indica sufrimiento. No posee, al igual que los agentes anteriores, efecto analgésico ni anestésico, haciéndolo inaceptable para perros y gatos. Incluso empleando anestésicos previos, su mecanismo de acción es muy lento y las grandes dosis que se requieren lo hacen inaceptable para la eutanasia. En el caso de los animales de experimentación, se considera aceptable con animales inconscientes. En grandes animales se puede usar por vía intravenosa bajo anestesia o en combinación con sulfato de magnesio o pentobarbital sódico.

2.5 Etanol

Mediante inyección intraperitoneal en ratones (500 µl de una solución al 70%) produce depresión del sistema nervioso central. El roedor presenta una gran pérdida de tono muscular antes de entrar en coma, seguido de parada respiratoria. Usado en animales de experimentación, no es aceptable nunca en vertebrados, a menos que estén anestesiados.

3 Métodos físicos

Dentro de los métodos físicos para el sacrificio de animales se incluyen la utilización de pistolas de bala cautiva, conmoción cerebral, dislocación cervical, decapitación, exanguinación, descompresión, electrocución, irradiación con microondas, congelación rápida y embolia gaseosa.

Es necesario que cualquiera de estos métodos utilizados en la inducción de la eutanasia lo practiquen personas expertas y bien adiestradas. Este requerimiento es especialmente importante en aquellos métodos que impliquen traumatismos sobre el animal.

Estos métodos con frecuencia resultan estéticamente desagradables, por otra parte, cuando se practican de modo adecuado, la inconsciencia se establece de forma rápida y la muerte sobreviene sin angustia ni dolor para el animal. En algunas aplicaciones, el temor ocasionado en los animales es menor que si se emplean métodos químicos.

Por diversas razones, muchas de ellas obvias, son métodos desaconsejados en los animales de compañía, pues causarán dolor y sufrimiento a los animales. Además en no pocas ocasiones podrá fallar el equipo. Sólo podrá considerarse apto para estas especies alguno de ellos (por ejemplo, disparar una bala), cuando los otros métodos no estén disponibles. En este apartado, el estrés para el operador puede ser mayor, lo que puede causar mayor descuido en el correcto manejo del animal.

3.1 Pistola de bala cautiva o de clavija perforadora

Totalmente desaconsejado en animales de compañía, este método se utiliza en rumiantes, caballos, cerdos, animales de peletería y se está ensayando en conejos de laboratorio. El propósito de los métodos de bala cautiva y percusión no penetrante es dañar la corteza cerebral y el tronco encefálico, de modo que el animal quede inconsciente, hasta que se lleve a cabo la exanguinación. Las balas cautivas penetrantes o no penetrantes son impulsadas por detonación o por aire comprimido. Los modelos no penetrantes normalmente son menos efectivos para la inducción de la inconsciencia. La bala cautiva es un proyectil cilíndrico de acero que avanza unos 2,5 cm sin abandonar totalmente el cañón del instrumento. Los animales deben ser sujetos correctamente para asegurar una buena ubicación de la bala.

El cañón de la pistola debe orientarse en un ángulo correcto con el cráneo y dirigido hacia el centro del cerebro. Se ha sugerido que un proyectil múltiple sería más efectivo especialmente en

ganado mayor. En el cerdo, la bala cautiva debe dirigirse hacia el cerebro desde un punto medial ligeramente por encima de una línea imaginaria situada entre los ojos.

En el ganado vacuno el impacto se practica en la intersección de dos líneas imaginarias trazadas entre la base de cada cuerno y el respectivo globo ocular contra lateral.

En los solípedos, el impacto se practica de igual manera en la intersección de dos líneas imaginarias trazadas entre la base de cada pabellón auditivo y el respectivo globo ocular contra lateral. En el ganado ovino y caprino se suele practicar por detrás de la base de los cuernos y en dirección a la boca.

La evaluación de la inconsciencia puede resultar problemática. Algunos de los métodos empleados son el EEG, pérdida de respuesta a los estímulos visuales, pérdida de la respuesta a la aproximación rápida de la mano hacia el ojo del animal, pérdida de movimientos coordinados y dilatación pupilar.

Los signos de la conmoción cerebral efectiva son el colapso inmediato, y un período de espasmos tetánicos de unos 15 s, seguidos por movimientos de los miembros posteriores de frecuencia creciente. La respiración acompasada debe cesar.

INDICADORES DE UN MAL ATURDIMIENTO	INDICADORES DE UN BUEN ATURDIMIENTO
Parpadeo espontáneo	No hay reflejo corneal
Reflejo corneal	Pupilas dilatadas
Respiración rítmica	Globo ocular fijo
Nistagmo (rotación del globo ocular)	No hay ritmo respiratorio
Cabeza y cuello no relajados	Cabeza y cuello relajados
Intentos para incorporarse	Pataleo mínimo

Cuadro 3 - Resumen de los principales signos de un buen o mal aturdimiento con el sistema de pistola de perno cautivo. Fuente: Dalmau et al (2010):

Ventajas

- Es un método humanitario para su utilización en mataderos, y en la investigación cuando la administración de fármacos está contraindicada.

Inconvenientes

- Resulta estéticamente desagradable.
- No se pueden utilizar con efectividad en el cerdo ni en el toro adulto las balas cautivas no penetrantes, debido al grosor y densidad del cráneo.
- La muerte puede no sobrevenir con rapidez y el animal puede huir herido y asustado si no se realiza correctamente.

Recomendaciones

- La utilización de pistolas de bala cautiva penetrante, cuando se siguen de exanguinación, es un método de inducción de la eutanasia aceptable en caballos, rumiantes y cerdo cuando no se pueden utilizar agentes químicos.
- Comprobar después de cada disparo que la clavija retrocede toda su longitud. De no ser así, el instrumento debe ser reparado.
- Las pistolas de bala cautiva no penetrante, no se recomiendan.

3.2 Impacto de bala

En ciertas situaciones, el disparo puede ser el único método práctico en la inducción de la eutanasia. Debe ser practicado por personal altamente cualificado y entrenado, utilizando un rifle o pistola adecuado a cada situación. El proyectil debe dirigirse certeramente para que penetre en el cerebro, provocando la inconsciencia instantánea. De hecho se considera un método humanitario y efectivo para grandes reptiles y mamíferos. Específicamente en caballos, se considera un sacrificio muy humanitario.

Ventajas

- La inconsciencia se alcanza de modo inmediato.
- En condiciones de campo puede ser el único método efectivo.

Inconvenientes

- Es extremadamente peligroso para el personal, e incluso para otro personal

(transeúntes, colaboradores,..), e incluso no debería ser nunca empleado en recintos cerrados por el riesgo de rebote del proyectil.

- Resulta estéticamente desagradable.
- En condiciones de campo puede resultar difícil alcanzar el cerebro, por ello es poco fiable.

Recomendaciones

- Cuando no se pueden utilizar otros métodos, el disparo efectuado correctamente es un método de inducción de eutanasia aceptable incluso en animales de compañía.
- Si se puede sujetar al animal convenientemente es preferible la utilización de la pistola de bala cautiva.

3.3 Conmoción cerebral (concusión, aturdimiento por golpe o stunning)

La conmoción puede provocar la inconsciencia en un animal, y se puede llevar a cabo de varias maneras dependiendo del tamaño del animal. Esta inconsciencia sólo se alcanzará si el golpe sobre la cabeza se realiza de modo adecuado. Si no se efectúa correctamente, pueden originarse diferentes grados de consciencia y por tanto dolor.

Puede practicarse en especies de pequeño tamaño o inmaduros, asiendo con una mano el cuerpo y proporcionándoles un golpe rápido, preciso y contundente en la cabeza contra una superficie dura. Está, especialmente, asociada a animales de experimentación pequeños (conejos, ratas, ratones, cobayas, hámster, pequeños reptiles, aves, anfibios y peces)

Ventajas

- La conmoción resulta humanitaria con inconsciencia rápida cuando se efectúa correctamente.
- Permite la recolección de sangre y otros tejidos sin contaminación química.

Inconvenientes

- La conmoción no resulta humanitaria ni provoca una inconsciencia rápida si no se efectúa

correctamente.

- Es imposible asegurar la fiabilidad y efectividad en la realización del método por el personal.
- Puede resultar estéticamente desagradable.

Recomendaciones

- La conmoción por contusión en la cabeza de roedores de laboratorio y conejos es discutible como método de inducción de eutanasia debido al riesgo de no alcanzar la inconsciencia inmediata. Se hace necesaria, pues, una alta experiencia del personal que la realice. Además, es necesaria la estabilidad física y mental del operario, con lo cual sólo se deben sacrificar, cada vez, unos pocos animales, confirmando la muerte de cada animal antes de aplicarla al siguiente.
- Debe utilizarse con posterioridad otro método para asegurar la muerte del animal inconsciente: exanguinación, extracción del corazón o destrucción del cerebro.

3.4 Electrocutación

La electrocución como método de sacrificio ha sido empleada en especies como perros, peces, anfibios, conejos, ganado vacuno, ovejas, cerdos y aves. Experiencias con perros han demostrado la necesidad de hacer pasar el flujo eléctrico a través del cerebro, de modo que se produzca un aturdimiento inmediato con pérdida de la consciencia que denominamos “electronarcosis”.

En el perro, cuando se hace circular la electricidad entre los miembros anteriores y posteriores, o entre el cuello y los pies, se produce la fibrilación cardíaca, pero no la pérdida de la consciencia, esta se mantiene un mínimo de 12s después de la fibrilación cardíaca, y finalmente se pierde como consecuencia de la hipoxia cerebral. Las condiciones adecuadas en animales de compañía no se consiguen nunca en la práctica, lo que hacen que en estos casos se considere un método totalmente inhumano.

Conviene señalar que, en concreto con los gatos es si cabe todavía menos recomendable, ya que su pelaje es muy buen conductor. Tampoco es aceptable hoy en día con los peces, pues la corriente estimula la contracción de la musculatura esquelética, cardíaca y lisa, induciendo tetania, no anestesia.

Los signos de un aturdimiento eficaz son: extensión de los miembros, opistótonos, rotación ventral de los globos oculares y espasmo tónico que se convierte en clónico, con la consiguiente flaccidez muscular. Los electrodos deben situarse de tal forma que se asegure que la corriente se dirige a través del cerebro, para que haya inconsciencia antes de la fibrilación cardíaca.

Fase tónica 10-12 segundos	Fase clónica 20-25 segundos
Animal colapsado y rígido	Pataleo incontrolado
Respiración arrítmica	Girado del ojo
Patás anteriores extendidas	Parpadeo salivación
Patás traseras flexionadas hacia el cuerpo	

Cuadro 4 - Indicadores de un aturdimiento eléctrico eficaz. Fuente: FAO (2001)

Debería utilizarse, con posterioridad a este método, otro para asegurar la muerte del animal, pues si no, tras unos pocos segundos, el animal puede recuperar los reflejos y volver a respirar.

De todas formas, aunque el método es aceptable, si se reúnen las condiciones mencionadas, las desventajas pesan más que las ventajas en muchas de sus aplicaciones:

Ventajas

- Es un método inductor de eutanasia si el flujo eléctrico atraviesa el cerebro.
- No origina residuos químicos en los tejidos.
- Resulta económicamente factible.

Inconvenientes

- Resulta muy peligroso para el personal.
- No es aplicable en la eutanasia en masa porque se requiere mucho tiempo para cada animal.
- No es aplicable a animales violentos.
- Resulta estéticamente desagradable debido a la violenta extensión y endurecimiento de los miembros, cabeza y cuello.

- En pequeños animales, la electrocución puede no originar la muerte, debido a que el colapso y la fibrilación no siempre persisten después del cese del flujo eléctrico.

Recomendaciones

- La electrocución en la inducción de la eutanasia y en el pre- sacrificio de animales, requiere personal especialmente adiestrado y un equipo que asegure un buen contacto y un flujo de electricidad suficiente a través del cerebro el tiempo necesario, seguida de la inducción eléctrica de la fibrilación del corazón.
- El animal debe estar bien inmovilizado, para permitir una buena colocación de las tenazas.

3.5 Dislocación cervical

La dislocación cervical se utiliza para sacrificar en general animales de experimentación (peces, aves, ratas, ratones, cobayas jóvenes, conejos neonatos) e incluso se ha llegado a emplear con gatos y perros recién nacidos, pero con estos dos últimos está totalmente desaconsejada.

Para ratón y rata, la técnica consiste en colocar los dedos pulgar e índice a ambos lados del cuello, o bien de modo alternativo presionando con una varilla en la base del cráneo. Con la otra mano se tracciona rápidamente de la base de la cola o de los miembros posteriores, provocando la separación de las vértebras cervicales del cráneo.

Ventajas

- La dislocación cervical es una técnica que puede provocar la inconsciencia inmediata.
- Se obtienen tejidos sin contaminación química.
- Se efectúa con rapidez.

Inconvenientes

- Puede resultar estéticamente desagradable.
- Su utilización se restringe a animales de experimentación.
- El personal debe estar perfectamente entrenado en su aplicación.

Recomendaciones

- Cuando se lleva a cabo apropiadamente puede ser un método adecuado para el sacrificio humanitario de aves, ratones y ratas con peso vivo inferior a 200 g, y conejos con peso vivo inferior a 1 kg. En ratas y conejos más pesados, la mayor masa en la región cervical hace que la dislocación se vea físicamente dificultada y por ello no deberá practicarse, o si se practica, el animal deberá ser previamente anestesiado.
- Debido a que puede no alcanzarse la inconsciencia inmediatamente, es preferible anestesiarse o sedar ligeramente al animal previamente.
- El personal debe estar previamente adiestrado.

Para conejos inmaduros se procede sosteniendo la cabeza en una mano y los miembros posteriores en la otra; se estira al animal dejando el cuello en hiperextensión y se torsiona dorsalmente para separar las vértebras cervicales del cráneo.

Si se realiza correctamente debe causar daños graves al tallo cerebral y una inconsciencia instantánea. La muerte debe confirmarse por exanguinación o destrucción del cerebro.

3.6 Decapitación con guillotina

La decapitación se utiliza con mayor frecuencia en la inducción de la eutanasia en roedores y conejos pequeños, así como en peces, anfibios y aves. Este método posibilita la recogida de tejidos y líquidos corporales sin contaminación química. Además proporciona a los neurobiólogos un medio de obtención del tejido cerebral no dañado para su estudio. En este último caso, la cabeza se introduce inmediatamente en nitrógeno líquido para detener los procesos metabólicos. No se recomienda la utilización de tijeras, a menos que sean adecuadas para la especie animal (esto es, con cuchillas con una longitud adecuada) y que la presión sea suficientemente fuerte para separar el cuello con facilidad al primer intento. Por ello el mejor instrumento es la guillotina.

Ventajas

- Las guillotinas que están bien diseñadas para la decapitación instantánea son relativamente económicas.

Inconvenientes

- Pueden resultar estéticamente desagradable.
- Los datos sugieren que los animales no pierden la consciencia en un período de 13-14 s después de la decapitación, lo que parece sugerir el interés en una anestesia o sedación previa. Sin embargo esta terapia previa podría ser más estresante que el propio método físico.

Hasta que se disponga de más información para averiguar si los animales guillotizados perciben el dolor, la técnica deberá utilizarse sólo después de haber sedado o anestesiado ligeramente al animal, a menos que posteriormente al corte la cabeza sea inmediatamente congelada en nitrógeno líquido.

Concretamente, los animales poiquilothermos (de sangre fría) deberían ser aturridos o insensibilizados antes, pues resisten mucho tiempo la anoxia. En las aves, por su parte, se han comprobado respuestas visuales hasta 30s tras la decapitación, no haciéndola aceptable para ellas. En los restantes animales, la falta de oxígeno en el cerebro hace que la cabeza quede insensible, siendo innecesario el aturdimiento previo.

3.7 Exanguinación (d.t. sacrificio, en los animales de renta)

La exanguinación se recomienda para asegurar la muerte inducida por conmoción o por electrocución. Debido a la ansiedad que se asocia a la hipovolemia, la exanguinación sólo será realizada en animales sedados, conmocionados o anestesiados previamente. No se debe aplicar nunca a un animal de forma que puedan verlo u olerlo otros animales. No es aceptable para aves, debido a la tendencia de su sangre a formar coágulos, ocasionando por ello un proceso incompleto e inadecuado para la eutanasia. Tampoco se acepta en reptiles y otros vertebrados poiquilothermos, por su bajo metabolismo y su tolerancia a la hipoxia aumenta el riesgo de que desaparezcan la inconsciencia y la insensibilidad provocadas por el aturdimiento previo. Las incisiones deben ser rápidas y precisas.

Recomendaciones

- Se sangrará a los animales lo antes posible después del aturdimiento (15 segundos como máximo).

- El sangrado será rápido profuso y completo.

3.8 Irradiación por microondas

Se utiliza en neurobiología como método de fijación de los metabólicos cerebrales sin pérdida de la integridad anatómica del cerebro. Existen aparatos de microondas específicamente diseñados o modificados para la inducción de la eutanasia en animales pequeños de laboratorio (anfibios, aves, roedores).

Ventajas

- La inconsciencia y la muerte se producen en un período inferior a un segundo.
- Es el método más efectivo para fijar la actividad química del tejido cerebral en animales pequeños.

Inconvenientes

- Los equipos son caros.
- Con los aparatos comúnmente disponibles sólo es posible su utilización en animales del tamaño de los ratones y las ratas.

Recomendaciones

- Es un método de inducción de eutanasia en animales pequeños de laboratorio con equipos adecuados.
- Sólo pueden ser utilizados aparatos de energía suficiente y de microondas dirigidas.
- Este método requiere la pericia del operario. No es un procedimiento rutinario de eutanasia, y se deben tomar precauciones, pues puede ser peligroso para el operario.

Estos instrumentos dirigen la mayoría de la energía de las microondas hacia la cabeza del animal. La potencia máxima de salida varía entre 2-20 kW. La energía requerida para la interrupción de la actividad química del cerebro en un tiempo determinado depende de la talla del animal. Un equipo de 2450 MHz (6,5 kW) elevará la temperatura cerebral de un ratón de 30 g hasta 90 °C en 325 ms, mientras que un aparato de 915 MHz (25 kW) requiere para alcanzar la misma

temperatura alrededor de 1 s en una rata de 300 g. La utilización de hornos microondas inicialmente destinados a la cocina doméstica es, obviamente, totalmente reprochable.

3.9 Congelación rápida

La congelación rápida ha sido utilizada en el sacrificio de animales para la inactivación de la actividad enzimática cerebral en estudios de neurobiología, y por tanto se centra su uso en animales de experimentación. Se trata de un método aceptable pero únicamente si el animal está inconsciente (anestesiado, insensibilizado o decapitado).

Sólo se acepta en ciertas experimentaciones con animales muy pequeños (embriones, roedores, conejos neonatos). Las técnicas implican:

- Inmersión del animal intacto en nitrógeno líquido.
- Decapitación e inmersión inmediata de la cabeza en nitrógeno líquido.
- Congelación forzada, congelación in situ y túnel congelador.

Ventajas

- La congelación rápida es un método de inducción de la eutanasia en roedores si se ejecuta adecuadamente.

Inconvenientes

- La inmersión en nitrógeno líquido sólo se puede realizar con animales de peso inferior a los 40 g porque en animales más pesados no se alcanza rápidamente la inconsciencia.
- Requiere personal adiestrado y un equipo apropiado.
- Puede resultar estéticamente desagradable.

Recomendaciones

- Los animales alcanzan rápidamente la inconsciencia.
- La inmersión de animales no anestesiados en nitrógeno líquido sólo debe utilizarse en animales de peso inferior a los 40 g.
- Los animales de peso superior a los 40 g deben ser anestesiados previamente.

3.10 Maceración

Aceptado para destruir pollitos de hasta 72 horas de vida que, a menudo, han de ser sacrificados en gran número. Sólo se deben usar maceradores específicamente diseñados con este fin y bajo ninguna circunstancia deberían usarse aparatos eléctricos caseros. Los peces de menos de 2 cm de largo podrían destruirse mediante su introducción en una unidad de eliminación de residuos.

3.11 Embolia gaseosa

La inyección de 5-50 ml/kg de peso vivo de aire, en conejos, induce rápidamente la muerte. Sin embargo puede acompañarse de convulsiones, opistótonos y vocalización. Sólo resulta aceptable en animales de experimentación previamente anestesiados, pues es un método muy doloroso y poco fiable.

3.12 Inserción de aguja

Eficaz para algunos peces, anfibios y reptiles. Se inserta una aguja afilada a través del foramen magnum hasta la base del cerebro, para asegurar la rápida destrucción del mismo.

Si no se hace correctamente el animal está consciente con mucho dolor y angustia. Primero hay que dejar inconsciente al animal, con aturdimiento o anestesia, y siempre debe realizarlo personal competente.

4. Otros métodos no aceptables como inductores de eutanasia

Con frecuencia se practica el sacrificio de animales por personas no específicamente adiestradas o desconocedoras de los métodos de inducción de eutanasia aceptables y compatibles con los conocimientos actuales. Estas prácticas tienen un grado de aceptación social variable y resultan cuando menos discutibles. Independientemente de que se recojan como legales o no por las legislaciones autonómicas, estatales o europeas, se intentan defender en base a justificaciones de tipo económico, deportivo, de tradición cultural, políticas, profesionales, religiosas, lúdicas, por comodidad, desidia, desconocimiento, etc. Así, es poco frecuente que tengan como propósito final la satisfacción de nuestros hábitos zoófagos, u otras motivaciones que justifiquen adecuadamente y siempre a nuestro modo de ver la muerte dolorosa de un animal, especialmente cuando existan otras posibilidades factibles y más adecuadas.

Bajo ninguna circunstancia y con arreglo a los conocimientos actuales se podrá considerar a estos métodos como inductores de eutanasia. Cualquier método para ser considerado como inductor de eutanasia, deberá conseguir de forma rápida, precisa y efectiva la afuncionalidad del córtex cerebral, independientemente de la funcionalidad de los otros tejidos y sistemas orgánicos. Existe un largo etcétera de métodos que junto a los citados no reúnen los criterios necesarios para ser considerados como humanitariamente aceptables.

En resumen, la solución a esta problemática viene dada fundamentalmente en base a una mejora educacional y de concienciación a todos los niveles, ya desde los más básicos, en que el niño debe empezar a conocer y respetar a todos los seres vivos a través de una adecuada educación medioambiental. Y con medidas reeducadoras como el evitar la difusión, por parte de los medios de comunicación, de actos y escenas crueles con animales y más todavía si estos conllevan la muerte no eutanásica de los mismos, salvo que estas escenas se utilicen como ejemplo pedagógico de lo que no debería suceder.

4.1 Descompresión/vacío

Este método requiere cámaras de descompresión. En teoría la baja presión de aire ambiental en ausencia de oxígeno causa hipoxia cerebral, con pérdida de conocimiento y muerte. Pero la expansión de los gases atrapados en las cavidades de los cuerpos causa efectos adversos, dolor y sufrimiento, con ansiedad y estrés. Además, el efecto estético es desagradable, pues el animal se

hincha, sangra, vomita, orina y/o defeca.

4.2 Hipotermia

El animal se expone a muy bajas temperaturas, por ejemplo con ultracongeladores, pero el efecto es anestésico solo hasta cierto punto. Sólo se debería usar una vez que el animal ya esté inconsciente y es improbable que se recupere.

4.3 Hipertemia

En algunos vertebrados poiquiloterms se ha sugerido este método, pero no es aceptable. El animal nunca será introducido en agua hirviendo pues causa dolor intenso y muerte lenta.

4.4 Ahogamiento

La muerte prolongada por asfixia tras inmersión en agua causa miedo, estrés y dolor. Del mismo modo, no es aceptable sacar a los organismos acuáticos del agua (incluyendo renacuajos).

4.5 Rotura de cuello

Se ha usado a veces para sacrificar aves. Pero este procedimiento sólo produce parálisis por destrucción de la médula espinal y no daña al cerebro, con lo que hay consciencia, dolor, temor y angustia.

4.6 Estrangulamiento (ahorcamiento)

No es aceptable para sacrificar ningún animal, debido al tiempo que tarda en quedar inconsciente, el dolor, la excesiva ansiedad y el estrés.

4.7 Descompresión en campana de vacío

Este método se utiliza en determinadas circunstancias para animales de consumo como codornices, perdices y faisanes. Se ha utilizado en algunos países para la eliminación de perros no deseados. La descompresión es un método para inducir la inconsciencia y muerte provocada por la anoxia cerebral. A nivel del mar la presión atmosférica es de 760 mmHg, y la presión que se intenta alcanzar es de 68,6 mmHg que es la que correspondería a unos 16.500 metros sobre el nivel del mar. Así la presión parcial de O₂ en ambas situaciones es de 159 mmHg y 14 mmHg,

respectivamente. Este rápido decrecimiento de la presión parcial de O₂ provoca inconsciencia y muerte. La pauta más utilizada en algunas perreras es de 12,56 mmHg/s durante 40-60 s lo que implica una velocidad de descompresión demasiado elevada. Existen efectos adversos originados por las descompresiones rápidas, desde gases acumulados en las cavidades corporales (senos, trompas auditivas, oído medio e intestino), que siguiendo la ley de Boyle ($P \cdot V = \text{cte. si } T = \text{cte.}$) se expanden proporcionalmente al grado de descompresión, originando también burbujeo del nitrógeno disuelto en sangre y dolor intenso. Por ello la velocidad de descompresión resulta importante y, cuanto más lentamente se produzca, menor será el malestar y el dolor ocasionado al animal por la expansión de los gases.

4.8 Protóxido de nitrógeno

Se necesitan concentraciones muy elevadas para lograr la eutanasia, y actúa muy lentamente. El animal convulsiona tras la inconsciencia.

4.9 Cloroformo

A pesar de que el cloroformo no es explosivo, su utilización cerca de una llama puede producir gas fosgeno (gas de guerra altamente tóxico). Debido a su potencial peligro para los seres humanos (hepatotóxico, nefrotóxico y carcinogénico) la utilización del cloroformo se desaconseja como agente eutanásico, incluso con los animales de experimentación. Además, antes de la pérdida de consciencia existe excitación.

4.10 Gas cianhídrico

El gas cianhídrico es uno de los venenos de actuación más rápida. El cianuro reacciona fácilmente con el ion férrico de la citocromo oxidasa mitocondrial para formar un complejo citocromo oxidasa-cianuro induciendo hipoxia citotóxica. El gas cianhídrico para eutanasia se utilizó en el pasado colocando comprimidos de cianuro sódico en ácido sulfúrico. El cianuro produce una intensa estimulación respiratoria y puede causar excitación, causando sonidos de angustia antes de la muerte. El ácido cianhídrico posee un olor amargo y bastante desagradable. Por su alta toxicidad, se requiere una cámara hermética para confinar el gas. En el Reino Unido se utiliza en la lucha contra conejos, zorros y en guaridas de tejones. En el animal afectado genera dificultades respiratorias y convulsiones muy violentas, con signos de dolor, antes de causar inconsciencia y

muerte. Además, este agente es extremadamente peligroso también para los operadores.

4.11 Tricloetileno

Es sobre todo un analgésico y produce solamente anestesia ligera, por lo que no se acepta como eutanásico. Es carcinogénico, produce hiperapnea y es muy peligroso para el operario.

4.12 Uretano

Se usa habitualmente como anestésico. Sin embargo es carcinogénico, y por los riesgos para el operario y su mala eliminación, su uso no es aceptable.

4.13 Ketamina

No es aceptable como agente único de eutanasia, pues necesitaría grandes volúmenes. En conejos genera convulsiones y mucha vocalización.

4.14 Sedantes

Desaconsejables debido a los grandes volúmenes que requieren para la eutanasia.

4.15 Fármacos curariformes

Fármacos como curares, succinilcolina (frecuentemente como cloruro: suxametonio, anectine), pancuronio y otros relajantes musculares inducen la muerte por inmovilización de los músculos respiratorios, originando una sofocación fatal sin acción depresiva a nivel del SNC. Pacientes humanos a los que se han administrado estos fármacos han descrito períodos de plena consciencia acompañados de inmovilidad muscular completa y ansiedad intensa. En experiencias en las que se ha estudiado el efecto electroencefalográfico y la respuesta respiratoria a la administración de succinilcolina en perros, se ha observado una bradicardia inicial y presión arterial elevada. Como el miocardio falla, se produce una taquicardia a la que sigue una bajada de la tensión arterial. El EEG indica que no existe pérdida de consciencia, ya que la onda normal de vigilia progresa hacia un EEG activo. La actividad electroencefalográfica continúa más allá de la parada respiratoria (7 min) antes de volverse isoelectrico. Comúnmente, acompañando a su acción, se produce micción, salivación y defecación, así como fasciculaciones musculares. En algún momento se pueden presentar luchas asfícticas acompañadas de violentas fasciculaciones y movimientos de cabeza. Se concluye que los perros son conscientes durante prolongados períodos de tiempo antes del fallo

respiratorio o cardíaco, por ello no se deberá administrar estos agentes en solitario para el sacrificio de animales.

La utilización de fármacos curariformes u otros tipos de relajantes musculares en solitario resulta absolutamente reprobable.

4.16 Estricnina

La estricnina es el alcaloide principal de la nuez vómica, semilla del árbol nativo de la India *Strychnos nux-vomica*. En cualquier presentación de sus sales (ej. sulfato), incrementa la excitabilidad del SNC. El animal está consciente y presenta hiperestesia. La estricnina provoca convulsiones violentas asociadas a contracciones dolorosas de la musculatura esquelética. El sacrificio de animales con estricnina es totalmente reprobable.

4.17 Nicotina

La nicotina es un alcaloide obtenido de la planta del tabaco (*Nicotianatabacum*). En forma de sulfato es un compuesto soluble en agua, claro e inodoro. Se pueden absorber dosis letales a través de las mucosas y de la piel intacta, lo que la hace peligrosa para los operarios. El sulfato de nicotina induce un breve período de excitación seguido de bloqueo de los ganglios autónomos. Cuando se inyecta en cantidad suficiente induce un efecto de relajación muscular con parálisis de los músculos respiratorios seguida de la muerte por hipoxia. Con frecuencia los animales presentan salivación, vómitos, defecación y convulsiones antes de la muerte.

Debido a que es un fármaco extremadamente peligroso para el personal manipulador, resulta inhumano para los animales e induce severos efectos indeseables, su utilización para el sacrificio de animales es totalmente reprobable.

4.18 Éter

Es altamente inflamable y volátil, pudiendo ser explosivo. Es irritante para las mucosas (vías nasales, ojos) del animal y del operador, y a las altas concentraciones que se requieren en la eutanasia, puede ser también estresante para el animal. Con un vaporizador es menos irritante. A altas concentraciones, eleva ciertos parámetros sanguíneos, y dados los riesgos que conlleva también para el operador, se desaconseja completamente en la eutanasia.

Legislación relativa a la eutanasia animal en centros de experimentación. Métodos permitidos y capacitación del personal

Existen actualmente un gran número de normas legales y recomendaciones relacionadas con la eutanasia de los animales dedicados a la experimentación. En la elaboración de estas normas y recomendaciones intervienen diferentes organismos y administraciones con competencias a distintos niveles: mundial, europeo, estatal y autonómico.

La **Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE)** en su Código Sanitario para los Animales Terrestres, le dedica el capítulo 7.8 a la “Utilización de Animales en la Investigación y Educación”. En estas recomendaciones si bien se comentan aspectos de formación del personal y de asesoramiento veterinario sobre la eutanasia no se contemplan métodos o procedimientos específicos para realizarla. La versión de 2016 se puede consultar en el siguiente enlace:

http://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_aw_research_education.htm

El **Consejo de Europa (CoE)**, organismo de cooperación distinto de las instituciones de la UE, aprobó el Convenio europeo para la protección de animales vertebrados y otros propósitos científicos (denominado Convenio 123)¹, considerado como el punto de partida de las posteriores reglamentaciones europeas. Se puede consultar dicho convenio en el siguiente enlace:

http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/convenio123_tcm7-5525.pdf

En la **UE** se han sucedido en el tiempo diferentes regulaciones, estando vigente a día de hoy la Directiva 2010/63/UE, de 22 de septiembre de 2010, del Parlamento Europeo y el Consejo, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos, incluyendo la docencia.

Esta directiva ha sido transpuesta al ordenamiento jurídico español a través del Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación. En su Anexo 3 se resumen los métodos de eutanasia a utilizar en las distintas especies (cuadro 5).

Animales/ Métodos	Peces	Anfibios	Reptiles	Aves	Roe- dores	Conejos	Perros, gatos, hurones y zorros	Grandes mamíferos	Primates
Sobredosis de anestésico	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
Pistola de clavija perforadora	X	X	(2)	X	X		X		X
Dióxido de Carbono (CO₂)	X	X	X		(3)	X	X	X	X
Dislocación cervical	X	X	X	(4)	(5)	(6)	X	X	X
Conmoción cerebral/ Golpe contundente en la cabeza				(7)	(8)	(9)	(10)	X	X
Decapitación	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Aturdimiento eléctrico	(13)	(13)	X	(13)	X	(13)	(13)	(13)	X
Gases inertes (Ar, N₂)	X	X	X			X	X	(14)	X
Disparo con rifles, pistolas y municiones adecuados	X	X	(15)	X	X	X	(16)	(15)	X

Cuadro 5: Métodos de eutanasia para animales de experimentación.

Descripción de los requisitos señalados en el cuadro anterior:

- 1) Debe utilizarse, en su caso, previa sedación del animal.
- 2) Únicamente en reptiles grandes.
- 3) Únicamente con liberación paulatina del gas. No utilizar en fetos de roedores y en roedores neonatos.
- 4) Únicamente para aves de menos de 1 kg. Las aves de más de 250 g deben sedarse.
- 5) Únicamente para roedores de menos de 1 kg. Los roedores de más de 150 g deben sedarse.
- 6) Únicamente para conejos de menos de 1 kg. Los conejos de más de 150 g deben sedarse.
- 7) Únicamente para aves de menos de 5 kg.
- 8) Únicamente roedores de menos de 1 kg.
- 9) Únicamente para conejos de menos de 5 kg.

- 10) Únicamente en neonatos.
- 11) Únicamente para aves de menos de 250 g.
- 12) Únicamente si no se pueden utilizar otros métodos.
- 13) Requiere material especial.
- 14) Únicamente en cerdos.
- 15) Únicamente en condiciones de campo por tiradores expertos.
- 16) Únicamente en condiciones de campo por tiradores expertos, si no se pueden utilizar otros métodos.

No obstante, se permite utilizar otros métodos diferentes, a los contemplados en el cuadro anterior, en los siguientes supuestos:

- Si los animales están inconscientes, a condición de que no recobren el conocimiento antes de morir.
- Si los animales se utilizan en el marco de una investigación de índole agropecuaria, cuando el objetivo del proyecto disponga que los animales se mantengan en condiciones similares a las de los animales de las explotaciones comerciales, en cuyo caso, podrán ser sacrificados de conformidad con los requisitos establecidos en la norma aplicable a los animales de producción¹.

Una vez realizada la eutanasia, por cualquiera de los procedimientos previstos, debe completarse o comprobarse por alguno de los siguientes métodos:

- Confirmación del cese permanente de la circulación.
- Destrucción del cerebro.
- Luxación cervical.
- Desangramiento.
- Confirmación del comienzo de rigor mortis.

¹ Reglamento (CE) n° 1099/2009, que regula la matanza de animales de producción.

Sin embargo, la normativa permite que el órgano competente pueda conceder excepciones a los requisitos anteriores en los siguientes supuestos:

- Para permitir el uso de otro método siempre que a partir de pruebas científicas se considere que el método posee al menos, la misma ausencia de crueldad;
- Si se justifica científicamente que la finalidad del procedimiento no puede conseguirse utilizando ninguno de los métodos de eutanasia contemplados.

En el RD 53/2013 también se regula la formación del personal que trabaja en experimentación animal, estableciendo distintas categorías y grados de capacitación. En concreto en el artículo 15 se detallan las siguientes funciones:

- Cuidado de los animales.
- Eutanasia de los animales.
- Realización de los procedimientos.
- Diseño de los proyectos y procedimientos
- Asumir la responsabilidad de la supervisión in situ del bienestar y cuidados de los animales.
- Asumir las funciones de veterinario designado.

Como desarrollo del RD 53/2013 y, en concreto de los aspectos de formación y capacitación se publica la Orden ECC/566/2015, por la que se establecen los requisitos de capacitación que debe cumplir el personal que maneje animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos incluyendo la docencia.

Esta orden ministerial contempla principalmente los siguientes aspectos:

- Los requisitos de capacitación propios de cada una de las funciones involucradas en el manejo de los animales. Estos requisitos consisten (con las peculiaridades propias de cada función) en las titulaciones académicas y acreditaciones profesionales pertinentes; los cursos de formación específica de carácter modular, cuyo contenido se basa en directrices recientemente aprobadas por la UE, y, en algunas funciones, la realización del trabajo bajo supervisión, como último eslabón para poder desempeñarlas de manera autónoma.
- El reconocimiento de la capacitación por los órganos competentes (OC), mediante la expedición de una certificación que habilite para el desempeño de la función de que se

trate de manera autónoma, una vez comprobado el cumplimiento de los requisitos aplicables a dicha función.

- Los requisitos de los cursos de formación y de las entidades que los imparten, así como su reconocimiento por las autoridades competentes (AC).
- El mantenimiento de la capacitación mediante actividades de formación continua.
- El régimen transitorio aplicable a las personas que hubiesen obtenido el reconocimiento de su capacitación conforme a la normativa anterior (RD1201/2005).

Respecto a la capacitación y formación específica en eutanasia en centros de experimentación animal, la Orden ECC/566/2015 establece que las personas que trabajen en estos centros con estos animales deben poseer los conocimientos y destrezas necesarios para desempeñar esta función de manera autónoma.

Para obtener la capacitación de esta función es necesario:

- Estar en posesión de un título de formación profesional o certificado de profesionalidad que contemplen los resultados de aprendizaje incluidos en los módulos correspondientes a esta función. O bien.
- Superar los cursos de formación dirigidos a alcanzar los resultados de aprendizaje incluidos en los módulos correspondientes a esta función, acompañado del desarrollo de un período de trabajo bajo supervisión hasta la adquisición de la destreza necesaria para realizar dicha función de manera autónoma.

Estos cursos de formación constarán obligatoriamente de un módulo fundamental y un módulo específico sobre los métodos incruentos de sacrificio.

El módulo fundamental o troncal deberá proporcionar información acerca de los principios del sacrificio incruento y de la necesidad de disponer en todo momento de alguien que pueda sacrificar a un animal de forma rápida y adecuada si fuese necesario. Incluirá información y descripciones de.

- Los diferentes métodos disponibles.
- Datos detallados de las especies para las que estos métodos son apropiados.
- Información para ayudar a los alumnos a comparar los métodos permitidos y determinar cómo seleccionar el más adecuado.

Los resultados de aprendizaje de este módulo permitirán a la persona en formación ser capaz de:

- Describir los principios del sacrificio incruento (p. ej., qué constituye una «buena muerte»).
- Describir los diferentes métodos mediante los cuales está permitido sacrificar a unos animales concretos y la influencia que los diferentes métodos puedan tener en los resultados científicos y cómo seleccionar el más adecuado.
- Razonar por qué debe haber alguien competente disponible en todo momento para el sacrificio de los animales (ya se trate de personal cuidador o de la persona que realice los procedimientos).

El módulo específico de función ofrece formación práctica para reflejar la información y los principios impartidos en el módulo fundamental y se acompaña de formación práctica en los métodos adecuados para la especie y para la confirmación de la muerte, de tal forma que la persona en formación sea capaz de:

- Realizar de forma competente e incruenta la eutanasia utilizando las técnicas adecuadas en las especies de animales de experimentación pertinentes.
- Demostrar competencia para confirmar la muerte y a qué tratamiento o método de eliminación deberán someterse los cadáveres (SANDACH).

La capacitación para el ejercicio de esta función se hará mediante la expedición de un certificado por parte de los órganos competentes. Este conocimiento habilitará para el desempeño de esas funciones de manera autónoma y surtirá efecto en todo el territorio nacional.

Conforme al principio de reciprocidad el reconocimiento de la capacitación para la realización de esta función por parte de las autoridades competentes de otro Estado miembro de la UE será en todo el territorio nacional y en el caso de terceros Estados se garantizará el reconocimiento previo basado en unos requisitos equivalentes. Los órganos competentes desarrollarán el procedimiento dirigido al reconocimiento de la capacitación.

El desarrollo de una misma función en animales de un grupo de especies diferentes a las reflejadas en el certificado de capacitación requerirá superar los resultados de aprendizaje de los módulos con contenidos específicos para el nuevo grupo de especies animales. Además se exigirá, en su caso, el correspondiente trabajo bajo supervisión previo a la expedición del certificado de capacitación.

Se considera capacitado para asumir la función eutanasia de los animales al personal reconocido u

homologado anteriormente a la publicación de esta orden que tuviesen la categoría A (cuidado de los animales), B (lleva a cabo los procedimientos) y D2 (especialista en salud animal), siendo los OC los encargados del dicho reconocimiento.

Completando este apartado sobre normativa hemos de destacar dos leyes que son de aplicación al tema que nos ocupa. Por un lado la:

- La Ley 32/2007, del 7 de noviembre, para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. Con esta disposición, se completa la normativa de bienestar animal, y se incorporan al ordenamiento jurídico algunos aspectos de la legislación comunitaria. Destacan, especialmente la tipificación de la “infracciones y sanciones”. Es decir sobre esta norma se tramitarían, en vía administrativa, las posibles infracciones en la materia.
- La Ley Orgánica 15/2003, del 25 de noviembre que modificó la Ley Orgánica 10/1995, del Código Penal, que permitiría en determinados supuestos, que los hechos relacionados con una actuación irregular en esta materia pueden tramitarse por vía penal, ya que está prevista la consideración de delito para el maltrato a los animales, en los casos más graves y la consideración como falta únicamente para los supuestos leves.

Para terminar este resumen normativo es necesario recordar que si se utilizan agentes químicos para realizar la eutanasia es necesario cumplir la normativa sobre uso de medicamentos en lo que respecta a la prescripción, tenencia, receta, libro de tratamientos, etc, en concreto la:

- Ley 29/2006 ,de 26 de julio de garantías y uso racional de los medicamentos.
- RD 17/2015 de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de medicamentos y productos sanitarios.
- RD 1675/ 2012 de 14 de diciembre, por el que se regulan las recetas oficiales y los requisitos especiales de prescripción y dispensación de estupefacientes para uso humano y veterinario.
- RD 109/1995, de 27 de enero sobre medicamentos veterinarios.
- RD 1132/2010, de 10 de septiembre por el que se modifica el RD 109/ 1995, de 27 de enero, sobre medicamentos veterinarios.

Caso práctico 1

En el Laboratorio de Microcirugía Experimental del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHOU) se está desarrollando un proyecto de ensayo para determinar los distintos métodos de sujeción de malla abdominal. Para ello se utilizarán ratas adultas que serán sometidas a un procedimiento quirúrgico.

1. Durante el desarrollo del procedimiento, en 5 ratas se produce un fracaso de la técnica quirúrgica y presentan un lesión abdominal irreversible. ¿Se realizará en ellas la eutanasia? ¿Cuándo y quién lo decide?
2. ¿Qué método considerarías más adecuado?
3. ¿Quién podría practicar la eutanasia?
4. Indica la procedencia de cada uno de los métodos de eutanasia.
5. De ser necesario el uso de barbitúricos ¿sería necesaria alguna medida de control?- ¿Cuál?
6. ¿Cómo diagnosticarías la muerte del animal?
7. ¿Qué se haría con los cadáveres de estos animales?

Caso práctico 2

En un proyecto en el que se utilizan 100 conejos se desea probar la eficacia de 4 nuevos analgésicos y sus efectos sobre estos animales. Para ello se trabaja con 4 grupos de 25 conejos cada uno. A mayores en todos los grupos se quiere estudiar el posible efecto hepatológico de los fármacos utilizados tomando muestras en vivo mediante punciones en hígado aplicando anestesia previa.

1. ¿Qué normativa sería de aplicación?
2. ¿Qué documentación debemos presentar para autorizar el proyecto y a quién se la debemos presentar?
3. ¿A qué órgano habilitado debemos recurrir para que nos evalúen el proyecto? ¿A qué categoría pertenece nuestro proyecto (I, II o III) y es necesaria la evaluación retrospectiva?
4. ¿Qué sistema/as recomendaría para la eutanasia?
5. ¿Quién puede practicar la eutanasia (qué categorías)?
6. Si en vez de trabajar con ratas trabajásemos con perros y cerdos habría diferencias en las respuestas de las preguntas anteriores

CUESTIONARIO DE PREGUNTAS. EUTANASIA.

1. ¿Dónde puede plantearse el sacrificio de animales?

- a) Solamente en una explotación o en un centro de experimentación.
- b) En un centro especializado para tal fin.
- c) En ningún caso en la explotación.
- d) En una explotación, en un centro de experimentación o durante el transporte de los animales.

2. Cuando se elige un método de eutanasia se tendrá en cuenta:

- a) La especie, raza, tamaño y edad.
- b) Evitar y reducir el estrés, sufrimiento y dolor.
- c) Elegir métodos cómodos y fáciles de realizar.
- d) Todas las respuestas anteriores son correctas.

3. Al sacrificar animales con destino al consumo humano:

- a) Tendremos en cuenta, únicamente, el método de eutanasia aplicar.
- b) Deberá realizarse un control de los productos obtenidos.
- c) La higiene y limpieza de las instalaciones.
- d) Son correctas las respuestas b) y c).

4. La eutanasia en animales la podemos asimilar a:

- a) Sacrificio, con muerte sin dolor.
- b) Faena de matar.
- c) Sacrificio doméstico.
- d) Ninguna respuesta es correcta.

5. Los criterios para tener en cuenta una muerte indolora son:

- a) La angustia o aflicción que puedan experimentar las personas cuando observan la inducción de eutanasia o la muerte en un animal.
- b) La rápida inducción de la inconsciencia, seguida de paro respiratorio o cardíaco mantenido hasta la muerte.
- c) La presencia o ausencia de cualquier tipo de movimiento del animal, asociados con la consciencia o inconsciencia del mismo.
- d) Ninguna respuesta es correcta.

6. ¿La inducción de la eutanasia requiere un control físico o sujeción del animal?

- a) Sí, al igual que en otras técnicas realizadas en animales.
- b) Sí, a diferencia de lo que sucede en otras técnicas realizadas en animales.
- c) No, en ningún caso.
- d) No, solamente en algunos casos.

7. El grado de sujeción necesario y el método de contención a utilizar se adaptarán a:

- a) La especie, raza, tamaño y grado de domesticación.
- b) Grado de excitación.
- c) Método de inducción de eutanasia que se va a utilizar.
- d) Todas las respuestas anteriores son correctas.

8. La aplicación de un método de sujeción adecuado resultaría vital para:

- a) Minimizar el dolor en los animales.
- b) Garantizar la seguridad del personal operante.
- c) Frecuentemente para proteger a otras personas y animales.
- d) Todas las respuestas anteriores son correctas.

9. La selección del método de inducción de eutanasia más apropiado depende de:

- a) La especie del animal considerado.
- b) Los medios de contención disponibles y de la destreza del personal.
- c) Son correctas las respuestas anteriores.
- d) Ninguna respuesta es correcta es correcta.

10. Un animal inconsciente:

- a) No puede percibir el dolor.
- b) No percibe el dolor, hasta que deja de funcionar la corteza cerebral.
- c) Sí, puede percibir el dolor.
- d) Ninguna respuesta es correcta.

11. Indique la contestación correcta:

- a) En un animal inconsciente los estímulos pueden desencadenar movimientos.
- b) Los estímulos, en un animal inconsciente, provocan dolor.
- c) Los movimientos indeterminados de un animal son indicadores fiables de que percibe dolor.
- d) Son correctas las respuestas b) y c).

12. Un animal puede percibir dolor aunque no presente movimientos corporales como respuesta a un estímulo:

- a) Sí, solamente en algunas situaciones.
- b) Sí.
- c) No.
- d) Ninguna respuesta es correcta.

13. Las respuestas de conducta y psicológicas a la estimulación dolorosa incluyen:

- a) No existen respuestas de conducta al estrés.
- b) Micción y defecación.
- c) Dilatación de pupilas.
- d) Son correctas las respuestas b) y c).

14. La inmovilidad o rigidez que puede aparecer en algunos animales, puede interpretarse como signo de inconsciencia:

- a) Sí.
- b) No.
- c) No aparece en ningún caso.
- d) Sí, solamente en algunos casos.

15. Cuando se va a realizar eutanasia en un animal de experimentación debemos observar:

- a) Cumplir únicamente con la normativa vigente.
- b) Utilizar las buenas prácticas del profesional que la va a realizar.
- c) Deberá solicitarse además el consentimiento al dueño del animal, o su representante legal.
- d) Son correctas las respuestas a) y b).

16. Se puede realizar el sacrificio fuera del Centro de Experimentación:

- a) Únicamente en ovinos y caprinos.
- b) Únicamente en animales de peletería y de consumo doméstico.
- c) Únicamente en pollitos de un día y huevos embrionados.
- d) Se podrá realizar siempre que se solicite una autorización excepcional.

17. La electrocución y el dióxido de carbono se consideran métodos de inducción de eutanasia:

- a) Químicos.
- b) Físicos.
- c) Físico en el primero caso y químico en el segundo.
- d) No son aceptados como agentes eutanásicos.

18. La dislocación cervical, en animales de experimentación, es un método de eutanasia:

- a) Utilizado en todas las especies.
- b) Utilizado en todas las especies, excluyendo aves, roedores y conejos mayores de 1 kg.
- c) Se usa en roedores, aves y conejos de menos de 1kg, con sedación previa según pesos indicados.
- d) Son correctas las respuestas a) y b).

19. Son métodos recomendables de inducción de muerte en primates:

- a) La inmersión en nitrógeno líquido
- b) El uretano
- c) El alcohol en corazón mediante sonda
- d) Todas las respuestas anteriores son falsas

20. Entre los agentes inductores de eutanasia, los de más riesgo para el profesional son:

- a) Agentes inhalatorios.
- b) Electrocutación.
- c) Barbitúricos.
- d) Todas las respuestas anteriores son correctas.

21. Cualquier método de eutanasia provoca los siguientes modos de acción:

- a) Hipoxia, muerte por reducción de la cantidad de oxígeno en las células y tejidos.
- b) Depresión directa de las células nerviosas.
- c) Interrupción física de la actividad cerebral a través de cualquier manipulación.
- d) Todas las respuestas son correctas.

22. ¿Qué signos deben observarse para confirmar que se produjo la muerte del animal?

- a) El cese del latido cardíaco y la respiración y ausencia de reflejos
- b) . En roedores, bajada de la temperatura corporal por debajo de 25°C.
- c) Son correctas las respuestas a) y b).
- d) Ninguna respuesta de las anteriores es correcta.

23. La eutanasia en animales acuáticos se realiza preferentemente:

- a) Usando diferentes fármacos disueltos en el agua del tanque.
- b) Empleando fármacos, disueltos en el tanque, que provocan depresión del sistema nervioso central.
- c) Descargas eléctricas en el tanque.
- d) Ninguna es correcta.

24. Si el animal al que se le va a inducir eutanasia es violento o excitable:

- a) Deberá realizarse una sujeción mucho más enérgica.
- b) Administrar previamente al agente inductor de la eutanasia, analgésicos o tranquilizantes.
- c) No podrá realizarse la eutanasia hasta que se tranquilice el animal.
- d) Se realizará la eutanasia de manera ordinaria.

25. Una vez que se produce la eutanasia, los cadáveres se eliminarán:

- a) En los contenedores de residuos de uso doméstico.
- b) Siguiendo la normativa establecida y según el tipo de categoría al que pertenezcan.
- c) Al ser un residuo SANDACH, se observará en que categoría está incluido y la eliminación se hará en función de lo establecido en cada grupo.
- d) Son correctas las respuestas a) y b).

BIBLIOGRAFÍA

1. ACLAM (2005). Report of the ACLAM Task Force on Rodent Euthanasia: http://www.aclam.org/Content/files/files/Public/Active/report_rodent_euth.pdf
2. Adams H.R. (1988). Farmacología colinérgica: Agentes bloqueantes neuromusculares, en Booth N.H., McDonald L.E. Farmacología y terapéutica veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza: 155-172.
3. Autoridad de Seguridad de los Alimentos Europea – Panel de Bienestar y Salud Animal. Informe científico (2005). Aspects of the biology and welfare of animals used for experimental and other scientific purposes. Anexo a la Revista del EFSA, 292: 1-136.
4. Australian Code of practice for the care and use of animals for scientific purposes(2004): 84p. http://www.nhmrc.gov.au/_files_nhmrc/publications/attachments/ea16.pdf
5. Beaver B.V., Reed W., Leary S., Mc Kiernan B., Bain F., Schultz R., Bennett B.T., Pascoe P., Shull E., Cork L.C., Francis-Floyd R., Amass K.D., Johnson R., Schmidt R.H., Underwood W., Thornton G.W., Kohn B. (2001). 2000 report of the AVMA panel on euthanasia. J Am Vet Med Assoc,218: 669-696.
6. Benestar animal.Manual para formadores. Xunta de Galicia. Consellería do Medio Rural (2011).Santiago de Compostela.
7. Bishop, Y (2005). The Veterinary Formulary, SextaEdición. Prensa Farmacéutica, The University Press, Cambridge, Gran Bretaña en conjunto con la Asociación Veterinaria Británica.
8. Canadian Council of Animal Care guidelines (2010). euthanasia of animals used in science: <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Euthanasia.pdf>
9. Canadian Council of Animal Care guidelines (2003). the care and use of wildlife: 66p. <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Wildlife.pdf>
10. Canadian Council of Animal Care guidelines (2005). the care and use of fish in research, teaching and testing: 87 p. <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Fish.pdf>
11. Close B. *et al* (1996). Recommendations for euthanasia of experimental animals. Part 1. Lab Anim, 30: 293-316. <http://la.rsmjournals.com/content/30/4/293.full.pdf>

12. Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução no 1000, de 11 de maio de 2012 Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_1000.pdf
13. Capó Martí M.A. (1989). Veterinaria Legal con Deontología. Ediciones Universitarias y Técnicas S.A., Madrid.
14. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E.M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. (1996). Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. *Lab Anim*, 30: 293-316.
15. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E.M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. (1997). Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. *Lab Anim*, 31: 1-32.
16. Comisión Ética de AVEPA (2004). Veterinarios y el final de la vida. Eutanasia: Un acto clínico complejo. AVEPA, Barcelona.
17. CONCEA. Diretrizes da prática de eutanásia do Conceca (2013).
18. Cooper J.E., Cooper M.E. (2007). Introducción a la medicina forense veterinaria y comparada. Editorial Acribia, Zaragoza.
19. Danneman P.J., Stein S., Walshaw S.O (1997). Humane and practical implications of using carbon dioxide mixed with oxygen for anaesthesia or euthanasia of rats. *Lab AnimSci*, 47: 376 – 385.
20. Dennis M.B., Dong W.K., Weisbrod K.A. (1988). Use of captive bolt as a method of euthanasia for larger laboratory animal species. *Lab AnimSci*, 38 (4): 459– 462.
21. Decreto 254/2000, de 24 de julio, por el que se establecen los métodos de eutanasia para los animales de compañía que se tienen que sacrificar. Departamento de Medio Ambiente, Generalitat de Catalunya.
22. Decisión del Consejo 88/306/CEE, de 16 de mayo de 1988, relativa a la aprobación del Convenio europeo sobre la protección de los animales de sacrificio. (D.O.L. nº 137 de 2 de junio de 1988).

23. 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 (D.O.L. 358).
24. Directiva 93/119/CE del Consejo, de 22 de diciembre de 1993, relativa a la protección de los animales en el momento de su sacrificio o matanza (D.O.L. 340).
25. Directive 2010/63/EU of The European Parliament and of The Council on the protection of animals used for scientific purposes of 22 September 2010. Official Journal of the European Union L 276/33-79.
26. Eckenhoff R.G., Longnecker D.E. (1991). Los gases terapéuticos, oxígeno, dióxido de carbono, helio y vapor de agua, en Goodman A., Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8ª ed. Editorial Médica Panamericana, México: 332-344.
27. Fudin C.E. (1992). Cuando un animal de compañía se muere: entendiendo y ayudando a su dueño a soportar el problema. Waltham International Focus, 2(3): 24-27.
28. National Research Council (EUA) (2011). Guide for the care and use of laboratory animals, 8th ed.: <http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guide-for-the-Care-and-Use-of-LaboratoryAnimals.pdf>
29. Giorgi M. y Bertini S. (2000). TANAX (T61): An overview. Pharmacological Research, 41 (4): 379–383.
30. Grier R.L., y Schaffer C.B. (1990). Evaluation of intraperitoneal and intrahepatic administration of a euthanasia agent in animal shelter cats. J Am Vet Med Assoc, 197: 1611–1615.
31. Grove D.M. y Ramsay E.C. (2000). Sedative and physiological effects of orally administered 2-adrenoceptor agonists and ketamine in cats. J Am Vet Med Assoc, 216: 1929–1932.
32. Hatch R.C. (1988). Euthanating agents, en Booth N.H., McDonald L.E. Veterinary pharmacology and therapeutics. Iowa State University Press, Iowa: 1143-1148.
33. Haffe J.H. (1991). Drogadicción y abuso de drogas, en Goodman A., Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8ª ed. Editorial Médica Panamericana, México: 513-561.

34. Hernández S. (2006). El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *BIOMEDICINA*, 2 (3): 252-256.
35. Hewett T.A., Kovacs M.S., Antwohl J.E., Taylor-Bennett B (1993). A comparison of euthanasia methods in rats, using carbon dioxide in pre-filled and fixed flow rate filled chambers. *Lab AnimSci*, 43: 573–582.
36. Ley 22/2003, de 4 de julio, de protección de los animales. Departamento de la Presidencia, Generalitat de Catalunya.
37. Ley 32/2007, del 7 de noviembre, para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.
38. Ley Orgánica 15/2003 por la que se modifica la Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre, del Código Penal.
39. Luna S. P. L. y Teixeira M. W (2007). Eutanásia: considerações éticas e indicações técnicas. *Revista CFMV (Brasília)*, 13: 60-69.
40. Marshall B.E., Longnecker D.E. (1991). Los anestésicos generales, en Goodman A., Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, 8ª ed. Editorial Médica Panamericana, México: 289-331.
41. Melgar M.J., Esteban I.T. (1998). Inducción de la eutanasia en los animales: criterios y técnicas. Servicio de publicaciones, Diputación Provincial de Lugo, Lugo.
42. Navarro J.H., Ramírez R.O.A., Villagrán C.(2012). Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales, SAMSARA.
43. Orden de 14 de junio de 1976 (BOE de 14 de julio, nº168), por la que se dictan normas sobre medidas higiénico-sanitarias en perros y gatos de convivencia humana. Ministerio de la Gobernación.
44. Orden de 19 de abril de 2010, por la que se establecen los tratamientos obligatorios de los animales de compañía, los datos para su identificación en la venta y los métodos de sacrificio de los mismos en la Comunidad Autónoma de Andalucía (Consejería de Agricultura y Pesca).

45. Passantino A., Fenga C., Morciano C., Morelli C., Russo M., Di Pietro C., Passantino M. (2006). Euthanasia of companion animals: a legal and ethical analysis. *Ann Ins Super Sanità*, 42(4): 491-495.
46. Rall T.W. (1991). Hipnóticos y sedantes; etanol, en Goodman A., Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, 8ª ed. Editorial Médica Panamericana, México: 345-380.
47. Real Academia Española (2001). *Diccionario de la Lengua Española*. Espasa-Calpe, Madrid.
48. Real Decreto 1201/2005 (BOE 67 de 18.3.88), de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.
49. Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.
50. Reglamento (CE) nº 1099/2009, del Consejo, de 24 de septiembre de 2009, relativo a la protección de los animales en el momento de la matanza.
51. Rollin B.E. (2006). *An Introduction to Veterinary Medical Ethics. Theory and cases*. Blackwell Publishing, Iowa.
52. Rollin B.E. (2009). Ethics and euthanasia. *Counseling and Values*, 50: 1081-1086.
53. Sherped G.M. (1985). *Neurobiología*. Labor, Barcelona.
54. Smith A.W., Houpt K.A., Kitchell R.L., Kohn D.F., McDonald L.E., Passaglia M., Thurmon J.C., Ames E.R. (1986). 1986 Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *JAVMA*, 188(3): 252-268.
55. Svendsen O., Kok L., Lauritzen B. (2007). Nociception after intraperitoneal injection of a sodium pentobarbitone formulation with and without lidocaine in rats quantified by expression of neuronal c-fos in the spinal cord – a preliminary study. *Lab Anim*, 41: 197–203.
56. Tasker L. (2012). *Métodos de eutanasia para perros y gatos: comparación y recomendaciones*. World Society for the Protection of Animals, Londres (03/2012): http://www.rabiesblueprint.com/IMG/pdf/Link72_Euthanasia_WSPA.pdf.

57. Veterindustria (2011-12).Guí @VET: Guía de productos zosanitarios y dietas de prescripción para animales de compañía, 12ª edición.
58. West G., Heard D. J., Caulkett N. (2007). Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 1st ed.: 718p. ISBN-13: 978-0-8138-2566-3/2007.
59. Yeates J.W. (2010). When to euthanasia. Veterinary Record, 20: 370-371.
60. Yeates J.W., Main D.C.J. (2011). Veterinary opinions on refusing euthanasia: justifications and philosophical frameworks. Veterinary Record, 168: 263-267.

AGRADECIMIENTOS

Este manual es una modificación del libro **Bienestar Animal: Métodos de eutanasia y aturdimiento**, publicado en el año 2015 por la Consellería do Medio Rural y en este caso destinado específicamente a la formación en experimentación animal.

Los autores desean agradecer a todas las personas que participaron de una u otra forma en su elaboración especialmente al laboratorio de microcirugía de la unidad de investigación del Complejo hospitalario de Orense (CHOU).

galicia

