

La Eutanasia en los Animales de Laboratorio

Centro de Investigación. Hospital General Universitario de Valencia

La palabra eutanasia significa etimológicamente "muerte sin dolor", y en sentido aplicativo, "arte de sacrificar o matar animales de forma piadosa, evitando el sufrimiento físico y psíquico". Obviamente, esto no se logra si el animal lucha o presenta síntomas de miedo durante la maniobra empleada, o si recupera el conocimiento después del proceso.

Se podría calificar de buen método de eutanasia aquél en el que se alcanza con rapidez el estado de inconsciencia y éste se mantiene hasta el momento de la muerte, es decir, la verdadera eutanasia supone una insensibilización rápida, mantenida hasta que se produzca la muerte.

Según el Anexo II al artículo 5 de la Directiva del Consejo de 24 de Noviembre de 1986, respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (86/609/CEE), en el punto 3.12. referente al Sacrificio humanitario de los animales, se especifica que:

3.12.1. Todo método humanitario de sacrificio de los animales exige conocimientos que sólo pueden adquirirse mediante una formación adecuada.

3.12.2. Se puede desangrar animales en estado de inconsciencia profunda pero no conviene emplear, sin anestesia previa, ni los medicamentos que paralizan los músculos antes de que se produzca la inconsciencia, ni los de efecto curarizante, ni la electrocución sin paso de corriente por el cerebro.

No debe permitirse la eliminación de los cadáveres antes de que sobrevenga el rigor mortis.

INTRODUCCION

Los métodos de eutanasia más sofisticados seguidos para los animales domésticos rara vez son prácticos en el caso de los animales salvajes, o los animales que no estén acostumbrados a estar encerrados o a ser manipulados.

La eutanasia de animales de laboratorio en general resulta más difícil que en el caso de los animales de compañía o de granja.

El proceso de eutanasia debe caracterizarse por ser:

- a) humano y libre de dolor, temor o lucha;
- b) seguro para el personal de laboratorio;
- c) fácil de realizar;
- d) rápido en su acción;
- e) apropiado para la edad, especie, salud y número de animales;
- f) fiable y reproducible;
- g) irreversible;
- h) libre de impactos ambientales negativos;
- i) sin gran derroche de fármacos;
- j) económico;
- k) libre de efectos químicos a nivel tisular;
- l) incapaz de inducir alteraciones histológicas en el animal de estudio.

La eutanasia en animales de laboratorio puede ser necesaria por la aparición de dolor severo o prolongado resultado de un experimento, por ser parte integral de un experimento agudo, o porque el animal haya sufrido un accidente, esté enfermo o porque el/los animales rebasan las necesidades del laboratorio.

La eutanasia en general puede ser provocada de dos modos:

- *Por métodos físicos:* disparo, aturdimiento, desnucado y otros.
- *Por sustancias químicas:* utilizándose generalmente anestésicos sobredosificados.

Las técnicas de sacrificio varían según la especie y el propósito para el que se esté sacrificando al animal, es decir, el método de eutanasia será distinto si lo que queremos es eliminar al animal o si vamos a necesitar posteriormente el cuerpo para experimentar en él. Así, el pentobarbital sódico a altas concentraciones produce una congestión de los alveolos capilares, además de una esplenomegalia congestiva y alteraciones a nivel del sistema enzimático microsomal hepático; además, este tipo de sustancias afectan al feto, estando contraindicadas para la realización de las histerectomías con el fin de producir animales SPF o gnotobióticos. A su vez, la T-66 produce edema pulmonar y necrosis endotraqueal de los pulmones, además de una edematización endotelial de los vasos glomerulares a nivel del riñón. Por otra parte, incluso el dióxido de carbono, componente natural del cuerpo, produce hemorragia alveolar focal y edema perivascular de los pulmones en ratas, al emplearse para inducir la eutanasia. En definitiva, cada agente químico induce una serie de efectos específicos, como por ejemplo alteraciones en las lecturas de valoración del sistema enzimático del hígado o de los citocromos.

El investigador debe verificar la defunción del animal, o bien asegurarse de que se ha producido parada cardíaca, antes de desechar los restos. Debe recordarse que algunos animales que se hallan en estado de parada cardíaca pueden presentar una ventilación mínima, o bien pueden no haber consumido todas sus reservas de oxígeno, con lo cual es posible la recuperación respiratoria con posterioridad. Cuando se emplean anestésicos, dos veces la dosis habitual suele producir parada respiratoria; cuatro veces la dosis anestésica induce parada cardíaca en animales ventilados artificialmente; y tres veces dicha dosis suele producir la muerte de forma rápida y eficaz en animales no ventilados. Existe una variabilidad considerable en cuanto a las dosis con efectos anestésicos y letales, p.ej., con el pentobarbital en ratones puede necesitarse el doble de cantidad que en el gato. La toracotomía tras inducir la parada respiratoria asegura la irreversibilidad del procedimiento.

Los métodos físicos de sacrificio son rápidos, humanitarios y prácticos si se realizan adecuadamente, no obstante, es imprescindible realizarlos con seguridad y resolución.

Algunos conllevan a la formación de magulladuras y hemorragias en el lugar de la herida y por esta razón pueden resultar inadecuados en ciertos casos, aunque en otros, utilizando la decapitación o la dislocación cervical, sirven para examinar las vísceras abdominales.

MÉTODOS FÍSICOS

Los métodos físicos más generalizados son los que a continuación pasaremos a describir; no obstante, en la tabla I quedan reflejados otros, así como su uso o no en los mamíferos de sangre caliente.

Tabla I. Métodos físicos de eutanasia en mamíferos.

	Captive bolt	Descompresión	Electrocución	Exanguinación	Decapitación	Dislocac. cervical	Golpe cabeza
Gato	NR	NR	NR	A	NR	NR	NR
Ganado	A	NR	NR	A	NR	NR	A
Perro	A	NR	A	A	NR	NR	NR
Jerbo	NR	NR	NR	NR	A	A	NR
Cabra	A	NR	A	A	NR	NR	A
Cobaya	NR	NR	NR	A	NR	A	NR
Hamster	NR	NR	NR	NR	A	A	NR
Ratón	NR	NR	NR	NR	A	A	NR
Mono	NR	NR	NR	A	A	A	NR
Conejo	NR	NR	NR	A	A	A	NR
Rata	NR	NR	NR	A	A	A	NR
Oveja	A	NR	A	A	NR	NR	A
Cerdo	A	NR	A	A	NR	NR	NR
Paloma	NR	NR	NR	NR	A	A	NR
Aves domésticas	NR	NR	A	A	A	A	NR
Codorniz	NR	NR	NR	NR	A	A	NR
Aves acuáticas	NR	NR	A	A	A	A	NR
Mamíferos acuát.	A	NR	A	A	NR	NR	A

NR: No recomendado; A: Aceptable

La Electrocución se acepta siempre y cuando se utilice un equipo y un proceso específico para tal fin.

La Exanguinación siempre se realizará con el animal anestesiado y después de haber practicado un método físico.

Desnucado, decapitación y aturdimiento

Estos métodos sólo deben utilizarse para sacrificar animales que pueden manejarse con facilidad y que tengan el cráneo relativamente fino. Es preciso cierta habilidad manual pero una vez se haya familiarizado el trabajador con la técnica, el recelo y el sufrimiento del animal es mínimo, y la muerte es rápida. Por otro lado, es habitual que muchas personas no se presten a efectuar estos procedimientos y prefieran usar otros métodos. Sin embargo, no se debe permitir que los sentimientos humanos influyan en la utilización de las técnicas más humanitarias. Aunque éstas puedan ser del desagrado del trabajador, son a menudo menos angustiosas para el animal que otros procedimientos más complicados con el uso de productos químicos y otros medios.

La electrocución

La electrocución puede resultar o indolora o muy dolorosa siendo esenciales tanto el conocimiento técnico como la habilidad para el uso adecuado de este método. Si se quiere lograr una electrocución humanitaria, es preciso que pase por el cerebro del animal una corriente alterna lo suficientemente potente; los métodos que matan pasando la corriente por el corazón pero no por el cerebro no pueden ser calificados de humanitarios.

El disparo

Existen dos tipos: los que disparan un proyectil y lo que se suele denominar "martillo neumático" ("captive bolt").

En cualquier caso, el aparato debe dispararse con el cañón situado firmemente contra la cabeza del animal, enfocado en la dirección correcta. Es preciso que el disparo penetre en el cerebro, y teniendo en cuenta que éste es de un tamaño relativamente pequeño, es necesario sujetar firmemente al animal.

Con este método se destruye el cerebro y el estado de inconsciencia se alcanza inmediatamente; sin embargo, el corazón seguirá latiendo hasta su debilitación por la hemorragia ocasionada.

En el caso de los gatos y perros de tamaño medio, la herida inicial en la cabeza alcanza algunos de los principales vasos sanguíneos y ocasiona una salida considerable de sangre. Después del aturdimiento en los animales más grandes, el desangrado debe acelerarse cortando los principales vasos sanguíneos del cuello. Esta pérdida de sangre acelerará la parada cardíaca.

MÉTODOS QUÍMICOS

La UFAW (The Universities Federation for Animals Welfare) ha realizado pruebas exhaustivas de los métodos químicos de eutanasia más adecuados; las recomendaciones que se describen a continuación han sido aprobadas por el Scientific Advisory Committee.

Podemos hacer una división de los agentes químicos utilizados en eutanasia en dos categorías:

A) Aquéllos que producen la acción por inhalación, (tabla II).

B) Agentes no inhalatorios, (tablas III y IV).

Agentes químicos inhalatorios

Eter

Normalmente se utiliza en una cámara cerrada para sacrificar pequeños roedores, pero presenta algunas desventajas. Muchos autores dudan de que sea un método humanitario por provocar una irritación de piel y mucosas siendo altamente estresante para el animal. Además, al ser un agente inflamable, presenta riesgos en el laboratorio, teniendo que extremar las precauciones sobre todo del destino de las bolsas en las que se hayan introducido los animales muertos.

El tracto respiratorio se ve seriamente afectado, produciéndose secreciones bronquiales y edema pulmonar; ésto, inevitablemente va a interferir en la interpretación de los cortes histológicos. Por otro lado, no se recomienda cuando se vaya a realizar un análisis lipídico de los tejidos del animal muerto.

Monóxido de carbono

La inhalación de CO causa inmediatamente la muerte por combinarse con la hemoglobina eritrocitaria produciendo anoxemia. El efecto es tan rápido que la pérdida de consciencia ocurre antes de que el animal se estrese.

El animal se introduce en una cámara y el CO se producirá por un motor de combustión o por la interacción química entre cristales de formato sódico y ácido sulfúrico. En cuanto a las concentraciones de CO utilizadas, la bibliografía recoge desde 0.5 a 14 %. Los animales quedan inconscientes a los 40 s, dejan de respirar a los 2 min y la parada respiratoria sobreviene de 5 a 7 min después.

Si en nuestro estudio quisieramos realizar una valoración de la hemoglobina, es evidente que este método no debe utilizarse.

Cloroformo

No es recomendable por ser hepatotóxico para el personal y para los mismos animales.

Dióxido de Carbono

Aunque hasta la actualidad se han utilizado otros agentes volátiles para la eutanasia de animales pequeños, la UFAW recomienda el CO₂ como el agente químico más adecuado tanto para el animal, como para el trabajador.

El CO₂ es 1.5 veces más pesado que el oxígeno y no es combustible, no huele y es incoloro. Se almacena en balas como líquido bajo presión. La mayoría de las balas llevan un aparato sencillo de cierre que se sustituye por un manómetro reductor antes de utilizarse. Para conectar la salida de la válvula con el contenedor o cabina en el que el gas tiene que introducirse, se utiliza un tubo de plástico o de goma.

La eutanasia por CO₂ puede realizarse bien en bolsa de plástico, o mediante una cabina especial diseñada por la UFAW.

a) Eutanasia por CO₂ mediante una bolsa de plástico.

El animal se coloca en una jaula dejando que se acostumbre a su nuevo medio. En el caso de los ratones, ratas, hámsters, conejos, periquitos, pichones y pollos, pueden

colocarse varios animales (de la misma especie) en la misma caja siempre que haya suficiente superficie y que los animales no luchan entre sí. Los gatos (con la excepción de los jóvenes), los visones y otros carnívoros pequeños, deben enjaularse individualmente.

Una vez se haya tranquilizado el animal, la jaula se coloca dentro de una bolsa de polietileno transparente aproximadamente cinco veces más grande que el volumen de la jaula. La bolsa se aprieta contra los lados de la jaula y se introduce el tubo elástico que conduce el CO₂ por la boca de la bolsa. El experimentador aprieta la boca de la bolsa alrededor del tubo con una mano y con la otra gira la llave de la bala produciéndose una paulatina liberación del gas. La bolsa de plástico comenzará a hincharse y cuando la mitad del volumen de la misma esté ocupado por el gas, el animal se habrá narcotizado o estará inconsciente. El tiempo que puede transcurrir hasta la inconsciencia varía según la distancia entre la cabeza del animal y el suelo de la jaula. Los ratones suelen mantener la nariz muy cerca del suelo, perdiendo el conocimiento entre los 10 y 20 s. Los gatos pueden tardar hasta 2 min.

Cuando la bolsa de plástico esté llena de gas, pero sin presión, se retira el tubo y la boca de la bolsa se cierra atándole un elástico o una cinta. En estos momentos el animal ya estará inconsciente, pero debe mantenerse bajo observación hasta que se note la ausencia total de respiración. Cuando esto ocurra, hay que dejar al animal otros 10 min en contacto con el gas, después de los cuales se puede abrir la bolsa, y retirar y vaciar la jaula.

b) Eutanasia por CO₂ utilizando una cabina de eutanasia de la UFAW. (figura 1).

Se coloca el animal o animales en una jaula dejando pasar un tiempo suficiente como para que se acostumbre a su nuevo ambiente.

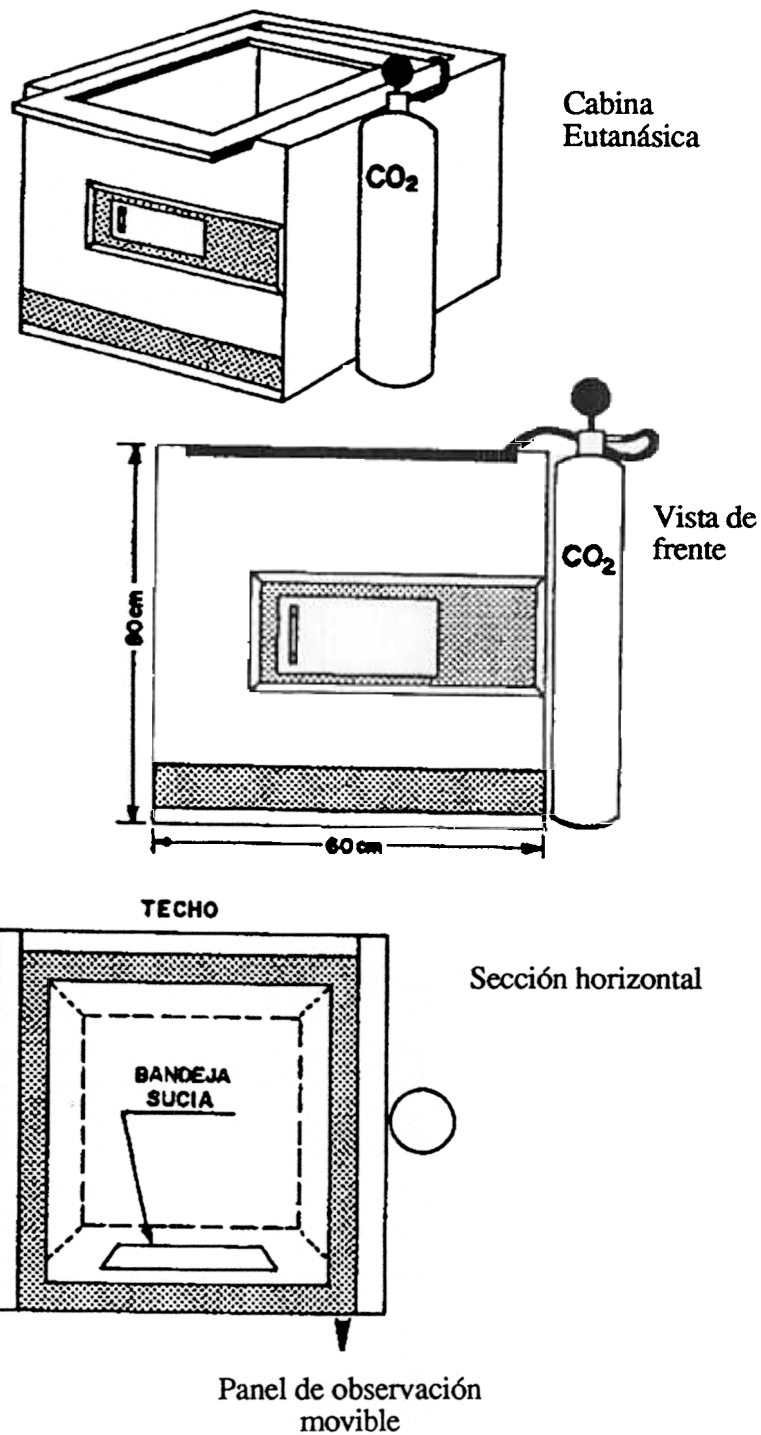
Hay que asegurarse de que la bandeja de tierra (o excrementos) de la cabina, esté firmemente colocada. Se abre la tapadera de la cabina deslizándola hacia fuera y se introduce el tubo de entrada del gas de modo que la punta descansa sobre la bandeja. Se abre el gas para que entre paulatinamente, ya que una entrada fuerte de gas produciría turbulencia.

Tabla II. Eutanasia en mamíferos por inhalación de gases.

	CO	CO ₂	CO ₂ más Cloroformo	Nitrógeno	Argón	Cianida
Gato	A	A	A	NR	NR	NR
Ganado	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Perro	A	NR	NR	NR	NR	NR
Jerbo	A	A	A	NR	NR	NR
Cabra	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Cobaya	A	A	A	NR	NR	NR
Hamster	A	A	A	NR	NR	NR
Ratón	A	A	A	NR	NR	NR
Mono	A	NR	NR	NR	NR	NR
Conejo	A	A	A	NR	NR	NR
Rata	A	A	A	NR	NR	NR
Oveja	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Cerdo	NR	A	A	NR	NR	NR
Paloma	NR	A	A	NR	NR	NR
Aves domésticas	NR	A	A	NR	NR	NR
Codorniz	NR	A	A	NR	NR	NR
Aves acuáticas	NR	A	A	NR	NR	NR
Mamíferos acuát.	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR: No recomendado; A: Aceptable

Figura 1. Cabina de eutanasia por CO₂ ideada por la UFAW.



Según se llene la cabina con el CO₂, se desplaza el aire hacia arriba. El nivel del gas puede averiguarse introduciendo una cerilla encendida; el dióxido de carbono no es combustible, y el nivel al que se extingue la cerilla indica la altura del gas; cuando el nivel llegue a 5 cm del techo, la jaula con el animal se coloca con cuidado dentro de la cabina descansándolo en la bandeja y se desliza la tapa del armario hacia el tubo, de forma que la holgura permitirá la salida del aire.

Hay que observar al animal de cerca y cuando esté inconsciente se sigue introduciendo gas durante otros 15s, después de los cuales se retira el tubo y se cierra la tapadera de la cabina lo más herméticamente posible. Debemos observar al animal hasta que deje de respirar, y la jaula permanecerá dentro de la cabina durante otros 10 min, después de los cuales puede retirarse y vaciarse.

Tras el proceso quedará una cantidad de gas considerable en la cabina de forma que si se van a sacrificar más

animales sólo hay que rellenarlo hasta el nivel necesario y continuar según se describió anteriormente. Cuando hayamos terminado el trabajo, se puede vaciar el gas sacando la bandeja. Si la cabina está en una mesa por encima del nivel del suelo, el gas bajará al nivel más bajo posible y se hará inócuo por dispersión en el ambiente.

Si la bandeja se ensuciara de orina y excrementos, se sacará y limpiará antes de proceder a la realización de otras operaciones. Sin embargo, ésto generalmente no ocurre cuando se utiliza CO₂ pudiéndose realizar varias operaciones seguidas sin tener que liberar el gas que tiene la cabina, y en consecuencia la cantidad que se requiere añadir de la bala es menor. Al terminar la jornada, la bandeja debe retirarse y limpiarse, y debe pasarse un paño humedecido con un detergente suave por el interior del armario.

Agentes químicos no inhalatorios

Pentobarbital sódico

El pentobarbital sódico es un barbitúrico de actividad media y de utilización general tanto en anestesia como en la eutanasia. La dosis letal puede considerarse como tres veces la dosis para anestesia.

En cuanto a la administración, puede realizarse por las vías intravenosa, intracardiaca o intraperitoneal. Debido a la absorción cutánea y los resultados irregulares encontrados, no se recomienda la administración subcutánea; sin embargo, para facilitar la administración y sobre todo en el caso de animales nerviosos y poco dóciles, es mejor la vía intraperitoneal. El polvo en cápsula puede administrarse oralmente, pero el efecto es a menudo inseguro; la narcosis puede tardar dos horas o más, y aún así resultar incompleta.

El tiempo de efectividad del fármaco varía, pero el efecto completo debe ser visible en un tiempo de 10 a 15 min. El fármaco induce una narcosis muy profunda, lo cual, a personas de poca experiencia puede parecer la muerte, por tanto debe realizarse un examen muy cuidadoso del cadáver y si existiera cualquier duda, debe administrarse una dosis adicional.

ANFIBIOS, PECES Y REPTILES

Métodos Físicos

Impactación cervical (aturdimiento)

La mayoría de los anfibios, peces y reptiles pueden sacrificarse sencillamente con un golpe fuerte en la parte posterior de la cabeza. Esto suele complementarse con la posterior decapitación u otro procedimiento físico.

Dislocación cervical

Peces pequeños y medianos pueden sacrificarse colocando un lápiz, o el dedo pulgar, en la boca del animal, sujetando el pez con la otra mano, y desplazando la cabeza en sentido dorsal.

Decapitación (tijeras, cuchillo, guillotina)

Este método resulta eficaz en el caso de la eutanasia en anguilas, si bien algunos investigadores prefieren primero efectuar un golpe en la cabeza.

Sección medular

La sección medular por detrás de la cabeza es un método eficaz en peces, ranas y otros poiquiloterms.

Tabla III. Métodos químicos de eutanasia en vertebrados de sangre fría.

	Agente Químico	Vía	Dosis	Tiempo de exposición (min)
PECES	MS222	en agua	100-200 mg/l	10-20
	Clorobutanol	en agua	20-25 mg/l	10-30
	Estrilpiridina	en agua	50-60 mg/l	10-30
	Uretano	en agua	80-95 mg/l	15-30
	Hidrato de cloral	en agua	1.5-3 g/l	20-40
	Tribrometanol	en agua	12-25 mg/l	20-40
	Amobarbitol	en agua	15-20 mg/l	100-120
	Secobarbital	en agua	70-100 mg/l	100-200
	Dietil éter	en agua	20-30 ml/l	15-30
	Dióxido de carbono (adición de Bicarb. sódico y HCl diluido)	en agua (saturación 8.43% p/p a 15 °C)	> 400 ppm	15-20
ANFIBIOS Y REPTILES	Pentobarbital	i.p.	60 mg/Kg	
	Uretano (10-20 % sol.) y Cloralosa (sol.sat.)	i.p. i.p.	1-10 ml 1-10 ml	
	Metoxiflorano, Halotano, Eter, Cloroformo, CO ₂	inhalat.	a saturación	
	Nitrógeno, Argón	inhalat.	a saturación	Sólo reempla. el O ₂

Métodos Parenterales

Vías intraperitoneal/intratorácica: Pentobarbital sódico y otros barbitúricos

El pentobarbital (60 mg/kg) y otros barbitúricos pueden administrarse por vía intraperitoneal en la mayoría de las especies de sangre fría.

Vía intrapleuroperitoneal: Clorhidrato de Procaína y clorbutanol

Las serpientes pueden sacrificarse mediante una inyección de procaína (0.47 mg/kg) en la cavidad pleuroperitoneal. La administración intraperitoneal de soluciones saturadas de unos pocos ml de clorbutanol en ranas logra la eutanasia en pocos minutos.

Vía percutánea: Uretano (Etil carbamato) y Metano-sulfato de tricaina (MS-222)

Las especies acuáticas pueden sacrificarse colocando al animal en una disolución de uretano al 1-2%. Se requiere la adopción de precauciones, como el llevar guantes, dado que el uretano es un carcinógeno.

El MS-222 en forma de 1-3 g/l de agua en especies acuáticas reduce la movilidad antes de proceder a otros métodos de eutanasia física. La exposición más prolongada conduce a la muerte. Este método resulta muy caro, pero es de una gran eficacia, y no plantea problemas de salud para el personal de laboratorio.

Para inducir la eutanasia se pueden añadir al agua muchos otros compuestos, como el alcohol y el formol.

Métodos de Inhalación

Campana letal de Dióxido de carbono

Si este método no va seguido de otro tipo de procedimiento físico, la muerte del animal debe ser perfectamente verificada.

Campanas de inhalación: Eter, Halotano, Metoxiflurano

Este tipo de eutanasia es relativamente rápido, pero conlleva el riesgo de dejar expuesto al personal de laboratorio. En algunas especies de sangre fría, como es el caso de las tortugas, se requiere una exposición más prolongada que en los mamíferos para lograr la eutanasia.

En todo caso, debe evitarse el contacto directo entre el líquido inhalatorio y el animal.

Tabla IV. Agentes farmacológicos no inhalatorios para la eutanasia en mamíferos.

	Babitúricos	Vía	T-61	Vía	H. de Cloral	Vía	Ketamina	Vía	Fentanil	Vía
Gato	A	iv, ip	A	iv	A	iv	A	im	A	im
Ganado	A	iv	A	iv	A	iv	A	im	A	im
Perro	A	iv, ip	A	iv	A	iv	A	im	A	im
Gerbil	A	ip	NR		NR		A	im	A	im
Cabra	A	iv	A	iv	A	iv	A	im	A	im
Cobaya	A	ip	NR		NR		A	im	A	im
Hamster	A	ip	NR		NR		A	im	A	im
Ratón	A	ip	NR		NR		A	im	A	im
Mono	A	iv, ip	A	i.	A	iv	A	im	A	im
Conejo	A	iv, ip	A	iv	A	iv	A	im	A	im
Rata	A	ip	NR		NR		A	im	A	im
Cerdo	A	iv	A	iv	A	iv	A	im	A	im
Paloma	A	ip	NR		A	ip	A	im	A	im
Aves domést.	A	ip	NR		A	ip	A	im	A	im
Codorniz	A	ip	NR		A	ip	A	im	A	im
Aves acuát.	A	ip	NR		A	ip	A	im	A	im
Mamíf acuát.	A	iv, ip	A	iv	A	iv	A	im	A	im

NR: No recomendado; A: Aceptable

AVES

Métodos Físicos

Dislocación cervical (manual)

En el caso de aves de gran tamaño, se sujeta al animal con una mano, y se sobreextiende el cuello con la otra; este procedimiento sirve para la toma de muestras de sangre de forma inmediata, y resulta rápido y eficaz.

Las aves de menor tamaño pueden ser sacrificadas torciendo el cuello, o bien apretándolo contra el borde de una mesa. Alternativamente, la cabeza puede doblarse con la mano en sentido caudal. Si ejercemos presión sobre la tráquea y el esófago hasta que cesen los movimientos sirve evitaremos la aspiración de alimento del buche hacia las vías respiratorias.

Dislocación cervical (emasculador de Burdizzo)

Este procedimiento es similar al método manual, si bien se emplea con aves de mayor tamaño, como son los pavos o gansos.

La fractura se produce al cerrar los forceps a nivel del cuello del animal.

Decapitación (tijeras, cuchillo, guillotina)

Este procedimiento resulta rápido y eficaz en aves jóvenes o de pequeño tamaño, y es de utilidad en caso de obtener muestras cerebrales.

Impactación cervical

En las aves, se emplea un palo de madera con un reborde metálico, para efectuar un golpe seco sobre la parte posterior de la cabeza.

Un instrumento efectivo para este propósito (figura 2) puede hacerse del siguiente modo: se requiere un trozo de madera de 40 cm de largo x 5 cm de ancho x 1 cm de grosor; se forma un asa de 13 cm de largo; se clava una barra de metal de 28 cm de largo x 0.5 cm de ancho x 1 cm de grosor a los dos bordes de los restantes 28 cm de madera. Se levanta el ave con las manos sujetándole por las patas, cola y las plumas largas de las alas; a continuación se le da un golpe seco en la parte posterior de la cabeza (detrás de la cresta en su caso) con el borde del aturdidor; acto seguido, se procede a la decapitación, exanguinación, etc., según el caso.

Figura 2. Aturdidor de aves.



Sección medular con o sin exanguinación

Los principales vasos cervicales pueden ser seccionados a través de la cavidad bucal, sin necesidad de proceder a la decapitación, y una vez realizada la sección medular.

Métodos Parenterales

Vías intravenosa, intraperitoneal, intratorácica, intracardiaca o intramuscular: Barbitúricos

El pentobarbital sódico a concentraciones de 100 mg/kg puede inyectarse con facilidad en la cavidad abdominal. La administración del pentobarbital por otras vías es más difícil, y menos eficaz. A su vez, el pentobarbital se mezcla con hidrato de cloral y sulfato de magnesio para inducir anestesia y eutanasia en aves.

Métodos de Inhalación

Dióxido de carbono. Éter, Halotano, Metoxiflurano, etc.

El método que se suele emplear para sacrificar las aves es la dislocación cervical, bien manualmente o bien con el emasculador de Burdizzo; pero el inconveniente de este método es la gran pérdida de plumas y el polvo que se desprende por el batido de las alas. El polvo desprendido puede llevar organismos infecciosos sobre todo cuando se destruyen los pájaros al final de un experimento en el que se haya utilizado un patógeno; por tanto, cualquier método de sacrificio que disminuya la cantidad de polvo merece una consideración.

La cabina recomendada por la UFAW para sacrificar aves por inhalación de CO₂ se puede observar en la figura 3. Para asegurar una distribución igualada del gas, se acopló a la cámara una tubería de cobre de 1.25 cm con un orificio de salida del gas de 3.6 mm cada 10 cm. La tubería recorre dos alturas dentro de la cámara, a 5 cm y 65 cm del suelo de la misma. Las aves se colocaron en una jaula de polipropileno con suelo de rejilla, ya que de no ser así se obstaculizaría la difusión del CO₂ por la cámara.

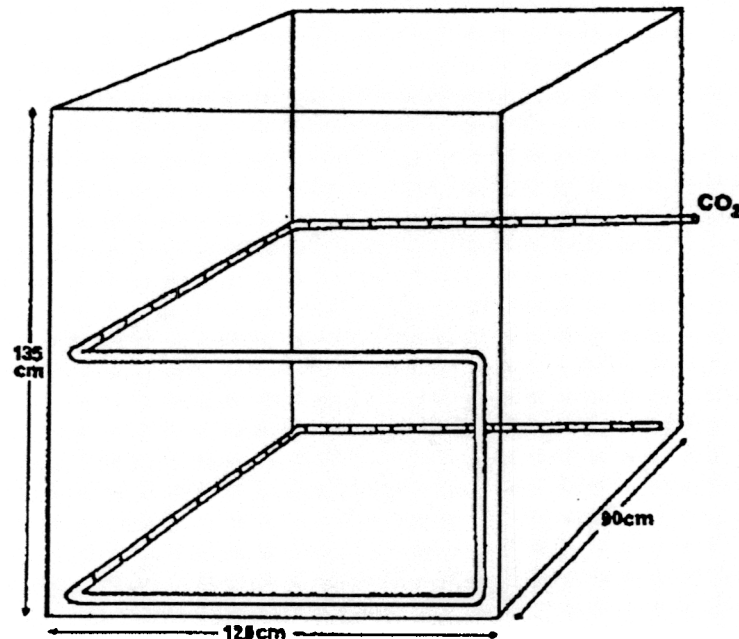
El procedimiento para sacrificar aves en la cámara de CO₂ es el siguiente: se llena la cámara hasta 30 cm del borde superior. La jaula con los animales se alza con una polea, y se va introduciendo en la cámara de gas; la jaula se baja y se sube varias veces con el fin de desplazar cualquier bolsa de aire que pueda haber entre las aves y/o sus plumas. La inconsciencia se alcanza en un tiempo medio de 30 a 45 s.

Para asegurar que todas las aves estén muertas deberán permanecer los animales en la cámara, al menos 5 min más, no obstante a los dos min de haber introducido los animales en la cámara es conveniente añadir más CO₂ (durante unos 30 a 45 s) para reemplazar el gas que se haya utilizado en el sacrificio.

Para sacrificar aves adultas de forma individual o una pequeña cantidad de polluelos, bastará con utilizar una bolsa de polietileno transparente (preferentemente de calibre 500) que se llenará de CO₂ y se cerrará con un elástico. El tiempo de exposición al gas no debe ser menor a 5 min.

En cuanto a la utilización del éter, halotano y metoxiflurano, entre otros, resulta bastante eficaz y ético. No obstante, existen reticencias crecientes frente al empleo de cualquier agente que no sea el CO₂, debido al riesgo de exposición que conllevan.

Figura 3. Cámara de eutanasia por CO₂ para aves diseñada por la UFAW.



GATOS Y PERROS

Métodos Parenterales

Vías intravenosa, intraperitoneal, intratorácica e intracardíaca: Barbitúricos

Tres veces la dosis anestésica de pentobarbital sódico (90-100 mg/kg, iv) producirá parada respiratoria, y seguidamente cardíaca, en perros y gatos. La vía intravenosa es la más recomendada a este efecto.

La premedicación con sedantes intramusculares o subcutáneos facilita la posterior inyección intravenosa de pentobarbital. La inyección intraperitoneal se reserva para animales difíciles de manejar. La inyección intracardíaca puede emplearse en perros ya anestesiados, y en animales no anestesiados siempre que sea realizado por personal formado.

Vías intravenosa, intraperitoneal, e intratorácica: T-61

Este fármaco (0.3 ml/kg) actúa como narcótico, además de ser un depresor respiratorio en gatos y perros.

Se asocia a dolor cuando se administra vía intraperitoneal. Las vías intracardíaca, intratorácica y otras pueden aplicarse en el caso de animales neonatos o anestesiados.

Vías intramuscular y subcutánea: Clorhidrato de ketamina, narcóticos, y/o tranquilizantes

Estos agentes se emplean para la inmovilización de perros y gatos. Pueden a su vez combinarse con la administración subsiguiente de pentobarbital o la aplicación de medidas físicas tales como la exanguinación en animales

que resultan difíciles de manejar. No se recomiendan como agentes únicos en la inducción de la eutanasia.

Métodos de Inhalación

Dióxido de carbono (balas de gas, hielo seco)

Se requieren altas concentraciones (al menos 40%, y preferiblemente el 70%). El llenado de la cámara antes de introducir el animal aumenta la eficacia. Puesto que la densidad del CO₂ es mayor que la del aire, la apertura de la cámara deberá estar en la parte superior.

Este método es muy eficaz en los gatos, puesto que se produce la pérdida del sentido a los 90 s, y la muerte a los 5 min (con concentraciones por encima del 60%). En el caso de cachorros y gatos pequeños, puede emplearse una bolsa de plástico, llena de gas, y dejando al animal dentro de la misma hasta 20 min después de inducida la parada respiratoria.

Este es el método preferido en aquellos casos en los que debe evitarse el empleo de fármacos o agentes químicos.

Puede emplearse hielo seco en lugar de balas de gas, pero en tal caso debe evitarse el contacto directo entre el animal y el hielo.

Cámara letal y mascarilla: Halotano y Metoxiflurano

Estos agentes son de utilidad en gatos que pueden ser difíciles de inmovilizar, y en cachorros.

El riesgo para el personal de laboratorio puede minimizarse mediante el empleo de sistemas especiales de ventilación.

HURONES Y ZORROS

Métodos Parenterales

Vía intraperitoneal: Barbitúricos

La administración intraperitoneal de pentobarbital sódico (100 mg/Kg) es de utilidad para la inducción de la eutanasia en estas especies. Las vías intravenosa e intratorácica han sido recomendadas en el zorro, pero son de acceso más difícil y doloroso. El pentobarbital sódico también puede administrarse por vía oral en los zorros, para inducir un estado anestésico previo a la eutanasia por otros métodos.

Métodos de Inhalación

Dióxido de carbono y Nitrógeno

El empleo del CO₂ es como en el gato y el perro; el nitrógeno en el hurón es muy eficaz; el animal se queda inconsciente al minuto, y fallece a los 5 min.

PRIMATES

Métodos Parenterales

Vías intravenosa, intraperitoneal, intratorácica, e intracardíaca: Pentobarbital sódico

El pentobarbital sódico (100 mg/Kg) puede administrarse sobre todo vía intravenosa e intraperitoneal, tras premedicación con clorhidrato de ketamina para facilitar el procedimiento. A su vez, el pentobarbital puede combinarse con otros agentes o procedimientos físicos tales como la exanguinación.

Vías intramuscular y subcutánea: Clorhidrato de ketamina

Este anestésico se emplea frecuentemente en primates de gran tamaño, como paso previo a la eutanasia con pentobarbital sódico o algún anestésico de inhalación.

Métodos de Inhalación

Dióxido de carbono, Halotano, Metoxiflurano

Estas sustancias se emplean para inducir la eutanasia a solas, o tras premedicación con ketamina u otros agentes anestésicos.

CONEJOS

Métodos Físicos

Impactación cervical

Este método se utiliza cuando esté contraindicado el uso de fármacos, y consiste en golpear al conejo en la nuca con un objeto de metal o madera, o con un golpe fuerte y seco con la mano. Algunas personas rechazan este método por motivos estéticos, además este tipo de eutanasia requiere habilidad y no asegura la muerte, por ello, a menudo va seguido de la decapitación, toracotomía o exanguinación.

Su ventaja es la de que se evita el uso de un fármaco, pero por otro lado es incompatible con la realización *a posteriori* de estudios histológicos a nivel cerebral.

Dislocación cervical

Se recomienda para conejos que pesen menos de 1 Kg. El animal se sujeta por las patas a la altura de la cintura con una mano, la cabeza se sujeta con la otra mano y se sobreextiende el cuello. Esta técnica también se puede realizar tumbando lateralmente al animal encima de una mesa o superficie plana.

Decapitación

La utilización de este método se reserva para los estudios especiales en los que los fármacos están contraindicados, ya que la guillotina por un lado es peligrosa para el personal, además de ser un método desagradable desde un punto de vista estético.

Exanguinación

Tras anestesiarse los animales, la exanguinación se realizará por aislamiento de la arteria carótida o venipuntura vía intracardíaca.

Métodos Parenterales

Vía intravenosa: Aire

El aire, 5-50 ml/Kg, produce una muerte rápida que puede ir acompañada de convulsiones, opistotonos y dilatación pupilar. No se recomienda en animales no anestesiados.

Vías intravenosa, intraperitoneal, intratorácica o intracardíaca: Barbitúricos

Los barbitúricos en general son sustancias controladas pero su coste no es elevado y normalmente están disponibles.

La vía intravenosa es la primera elección si pueden utilizarse las venas auriculares; la vía intracardíaca puede ser dolorosa o lenta si se hace la inyección en el espacio pericardial; y por último, la vía intratorácica es útil si el animal ya está anestesiado.

Métodos por Inhalación

Cámara de eutanasia de Dióxido de carbono

Las concentraciones del 40 al 100% son seguras y efectivas para los conejos. Este es el mejor agente utilizado para la eutanasia por inhalación de gas.

Cámara o máscara de eutanasia para Eter, Halotano o Metoxiflurano

Los vapores pueden irritar las mucosas y provocar un forcejeo por parte del animal. El gas líquido no debe entrar en contacto con el animal.

ROEDORES

(Chinchilla, Jerbo, Cobaya, Hámster, Ratón, Puerco Espín y Rata)

Métodos Físicos

Impactación cervical

El aturdimiento es un método generalmente desaconsejado debido a que es difícil de aplicar bien.

Las cobayas pueden ser aturridas con un golpe seco en la nuca; a continuación se suele realizar una exan-

guinación, toracotomía, u otro procedimiento. Este método también se utiliza en ratones y otros animales pequeños. Las ratas pueden envolverse en una toalla antes de darles un golpe en la nuca o contra una pila o mesa. Esta técnica se utiliza principalmente en ratas jóvenes.

Dislocación cervical manual

Este método es muy satisfactorio para los ratones. También puede utilizarse para otros animales que pesen menos de 250 g. Se colocan los dedos pulgar e índice, o un lápiz, un trozo de madera, o un objeto de metal contra la nuca, apretando firmemente contra una superficie dura como una mesa para realizar la maniobra. La efectividad del método puede verificarse separando los tejidos cervicales. Puede que también se disloquen las vértebras torácicas. Este procedimiento es más difícil de efectuar en los hámsters y las cobayas debido a que el cuello es más corto, los músculos del cuello son más fuertes, y la piel del cuello y hombros es más flácida. Un método alternativo para efectuar la eutanasia de los cobayas consiste en cogerlos por la cabeza desde la dirección craneal y dando un chasquido rápido, como un latigazo.

Dislocación cervical con un emasculador de Burdizzo

Es un método poco estético, y además debe realizarlo siempre personal entrenado.

Decapitación por guillotina

Se reserva únicamente en aquellos casos en los que se contraindican los fármacos. Debe tenerse la precaución de realizarse en una sala distinta a la que están el resto de animales a sacrificar, y sobre todo debe limpiarse el material y el banco utilizado cada vez que se sacrifique un animal.

La decapitación es desagradable y peligrosa para el operador pero su uso es corriente para los estudios farmacológicos.

Este método es más difícil de usar en los cobayas, hámsters y ratones que en las ratas.

Métodos Parenterales

Vías intravenosa, intraperitoneal, intratorácica e intracardíaca: Barbitúricos

El pentobarbital sódico es el agente que se utiliza más corrientemente. La ruta intraperitoneal es más fácil si se tiene que efectuar la eutanasia a varios animales a la vez o si el animal es difícil de manejar. La inyección intravenosa es más difícil y larga pero es eficaz en manos de una persona con práctica en el manejo de ratones, ratas y jerbos. Las vías intratorácicas e intracardíacas pueden resultar dolorosas y se recomiendan sólo para animales a los que se haya administrado un sedante.

El paro respiratorio se induce con 150-200 mg/Kg por administración intraperitoneal. Hay que examinar los animales cuidadosamente para asegurar el paro cardíaco, sobre todo con la administración de pentobarbital por vía intraperitoneal.

Métodos por Inhalación

Cámara de dióxido de carbono

Este es un método seguro, humanitario, económico y

rápido, que se considera ideal para los roedores, puesto que puede realizarse la eutanasia simultánea de varios ratones, ratas u otros animales pequeños. Pueden colocarse las jaulas en una cámara grande o en una bolsa de plástico que luego se llena de CO₂. Este último método puede utilizar más CO₂, o necesitar más tiempo que una cámara, la cual puede cargarse anteriormente y abrirse desde arriba. Los roedores neonatos tienen más resistencia al CO₂ que los animales mayores. Algunos laboratorios guardan los roedores sobrantes para los parques zoológicos locales; en este caso es mejor que se realice la eutanasia con CO₂ que con barbitúricos u otros fármacos para evitar el envenenamiento secundario de los animales y pájaros de los zoos.

Cámara de Éter, Halotano o Metoxiflurano

Estos agentes se consideran satisfactorios pero pueden irritar las mucosas (ver otras especies). La cámara debe situarse en un área bien ventilada. El éter es explosivo y está contraindicado si se están realizando estudios de lípidos. Los recipientes que se utilizan para efectuar la eutanasia de los roedores con éter deben ser preferentemente de cristal en vez de plástico.

El halotano es el más rápido; en 30 s se produce un paro cardíaco, y el animal no presenta síntomas de lucha.

Ninguno de estos agentes debe entrar en contacto con el animal en su forma líquida. Esto se logra separando el animal del agente por medio de una pantalla de red metálica.

El coste y la exposición del personal son las desventajas de estos agentes.

RUMIANTES

(Temeros, Ganado, Cabras y Ovejas)

Métodos Físicos

La Electrocuación o Aturdimiento Eléctrico

Estos métodos parecen ser más aceptables con las especies bovinas y equinas. Los electrodos deben colocarse para que pase la corriente por el cerebro. Las técnicas en las que la corriente pasa por el corazón en vez de por el cerebro no se consideran humanitarias. Estos métodos se utilizan más bien en mataderos en los que se sacrifican un gran número de animales.

Disparo con "martillo neumático" (captive bolt)

Los "captive bolt", bien penetrantes o no-penetrantes, se disparan por medio de pólvora o aire comprimido. Este método es aceptable en un matadero, pero puede que el personal de laboratorio lo considere desagradable. El animal debe estar correctamente sujeto y el cañón de la pistola debe situarse en ángulo recto al cráneo y enfocado hacia el centro del cerebro. No debe dispararse la pistola si el animal mueve la cabeza.

Exanguinación

La exanguinación se utiliza de manera secundaria al disparo con "martillo neumático", la contusión craneal o el aturdimiento eléctrico. No se recomienda como medio primario para realizar la eutanasia.

Métodos Parenterales

Vía intravenosa: Barbitúricos

El pentobarbital sódico (100 mg/Kg) inyectado vía yugular es rápido y bien tolerado por los terneros, ovejas y cabras que se utilicen en la investigación quirúrgica. El paro cardiorespiratorio también puede inducirse con efectividad con la administración endovenosa de una solución de hidrato de cloral (30 g), sulfato de magnesio (15 g), y pentobarbital sódico (6.6 g) en 1000 ml de agua. Esto puede combinarse con la exanguinación, toracotomía y otros medios.

Métodos por Inhalación

Máscara o Cono de Eutanasia: Halotano y Metoxiflurano

Se puede practicar la eutanasia en las ovejas (corderos) o cabras (cabritos) pequeños, situándoles la cabeza en un cono o máscara. Este método no se recomienda para los animales más grandes

CERDO

Métodos Físicos

Aturdimiento Eléctrico

Este método se ha mostrado efectivo cuando se tiene disponible un equipamiento especial.

Disparo con "martillo neumático"

Este método se utiliza únicamente cuando esté con-

traindicado el uso de fármacos.

El cañón debe dirigirse hacia el cerebro desde un punto central ligeramente por arriba de la línea entre los ojos.

Métodos Parenterales

Vías intravenosa, intraperitoneal, intratorácica e intracardiaca: Barbitúricos

El pentobarbital sódico (100 mg/Kg) es un agente anestésico muy útil para el cerdo. Es difícil administrar este agente vía intravenosa en cerdos pequeños. Puede utilizarse la ruta intraperitoneal o puede administrarse la ketamina antes de la inyección intravenosa para facilitar la administración de pentobarbital.

Vías intramuscular y subcutánea: Hidrocloruro de ketamina

Este es un tranquilizante excelente para el cerdo y facilita la inyección intravenosa del pentobarbital o la eutanasia por medios físicos u otros medios químicos.

Método por Inhalación

Cámara de Eutanasia: Dióxido de carbono

Se ha utilizado el CO₂ en concentraciones del 65-90% para inmovilizar y narcotizar los cerdos durante varios años en los mataderos con un éxito variable, de cualquier forma suele ser un método de utilidad para los cerdos pequeños en el laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

Clifford, D.H. (1978). *Preanesthesia, Anesthesia, Analgesia and Euthanasia*. In: Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M. (eds.). *Laboratory Animal Medicine*. New York, Academic Press, INC. pp. 554-561.

Green, C.J. (ed.) (1982). *Euthanasia*. In: *Animal Anesthesia*. London, Laboratory Animals, LTD. pp 237-241.

Sainz, L., García de Osmá, J.L. y Compaire, C. (eds.) (1983). *Métodos eutanásicos especialmente recomendados en los animales de laboratorio*. En: *Animales de Laboratorio*, Madrid, Instituto de Investigaciones Agrarias. pp. 253-258.

Scott, W.N. and Ray, P.M. (1972). In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. UFAW (eds.) 4th ed., Churchill, Livingstone. pp. 158-166.

B. Bolant Hernández
M.A. Calvo Bermúdez
D. Cejalvo Lapeña
L.O. Gimeno Forner
L. Gimeno Forner
J.M. Lloris Carsí