

MÉTODOS DE EUTANASIA SUGERIDOS PARA ANIMALES EN EXPERIMENTACIÓN

CICUAE INTA - PATNOR

La eutanasia es el procedimiento para finalizar la vida de un animal de una forma humanitaria, no dolorosa ni estresante. La misma deberá ser siempre realizada por un veterinario con experiencia o por personal entrenado apropiadamente y capacitado por un miembro del CICUAE INTA PATNOR.

La eutanasia en animales de experimentación se justifica al final de un experimento o cuando pudieran observarse signos adversos (niveles de dolor, angustia o sufrimiento).

Consideraciones para la selección del método de eutanasia:

- **Seguridad del operador:** el personal debe estar entrenado con la metodología a aplicar, y el equipamiento debe estar en buen estado y mantenimiento.
- **Bienestar animal:** el método debe producir la inconciencia y muerte rápida sin signos de estrés o dolor en el animal. Algunos métodos pueden parecer más idóneos para el público en general (uso de anestésicos), pero no necesariamente son más apropiados que otros métodos físicos que pueden provocar movimientos involuntarios en los animales que pueden interpretarse como dolor. Por lo mismo, el método empleado debe ser seleccionado también pensando en evitar un efecto negativo en el observador no entrenado.
- **Inmovilización del animal:** diferentes métodos de eutanasia requieren diferentes alternativas de inmovilización del animal.
- **Practicidad / costo:** el método debe ser fácilmente aplicable, rápido, y su costo apropiado al fin de su utilización. Debe ser

confiable, irreversible y compatible con la disposición final de la canal: ej.: si se emplean anestésicos, la canal no puede ser comercializada y su eliminación, tener un impacto ambiental negativo. Además, algunas drogas recomendadas son de venta bajo receta archivada, y potencialmente de uso abusivo por humanos.

- **Diagnóstico:** el método empleado no debe comprometer la recolección de especímenes para diagnóstico o técnicas de laboratorio a emplear sobre los mismos. La aplicación de algunas drogas o métodos físicos puede llegar a interferir con la viabilidad celular (ej.: cultivos primarios) o integridad de los tejidos, respectivamente.

1. Métodos de eutanasia

Hay diferentes metodologías aceptadas en la bibliografía internacional para provocar la muerte del animal. Para algunas es necesario previamente aplicar otros procedimientos para lograr la inmovilización e inconsciencia del animal (ver más abajo). Todas ellas logran la muerte por diferentes mecanismos:

- Depresión directa del sistema nervioso central (SNC) u otro órgano vital: sobredosis de barbitúricos o soluciones sobresaturadas.
- Hipoxia por agentes / procedimientos que bloquean la captación sanguínea de oxígeno (desangrado)
- Disrupción física de la actividad cerebral (noqueador).

A continuación se mencionan los métodos de eutanasia (primarios y secundarios o accesorios) recomendados por el CICUAE INTA CeRBAS para cada especie animal, así como otros métodos aceptados por la

bibliografía internacional pero de difícil obtención/manutención, así como los métodos no aceptados.

1.1. Métodos de eutanasia para rumiantes domésticos

1.1.1. Métodos recomendados: El CICUAE INTA CeRBAS recomienda los siguientes métodos de eutanasia para ser aplicados en rumiantes domésticos (bovinos, ovinos, caprinos):

- **Noqueador portátil (bala cautiva penetrante):** está aprobado para ser utilizado en animales adultos y terneros/corderos. En el caso de toros, la fuerza del sistema puede no ser suficiente para lograr la inconsciencia. En el bovino, el noqueador debe ser ubicado firmemente y de manera perpendicular al cráneo, en la intersección de 2 líneas imaginarias, desde el ángulo externo de los ojos a la base del cuerno opuesto (o proceso cornual si es un animal mocho) como se demuestra en la Figura 1. En el caso de ovinos astados y mochos, se recomienda seguir las indicaciones de la Figura 2. Como se requiere proximidad al animal, es necesaria la inmovilización apropiada del mismo, y podría ser necesaria la aplicación de sedantes o tranquilizantes. Este método provoca destrucción tisular, por lo que el encéfalo puede no quedar en condiciones apropiadas para su futura examinación. Inmediatamente luego de aplicado, el animal debe colapsar, mostrando rigidez y la respiración debería cesar (ver más adelante "Confirmación de la inconsciencia"). El empleo adecuado del noqueador logra la inconsciencia del animal, y luego es imprescindible la aplicación de una metodología secundaria

que provoque la muerte. El CICUAE recomienda las siguientes **metodologías secundarias o accesorias**:

- **Desangrado o exanguinación:** solo recomendado como método accesorio luego de lograda la inconsciencia del animal y no como método primario de eutanasia. En el bovino se recomienda lacerar las venas yugulares y arterias carótidas utilizando un cuchillo largo y filoso, insertándolo detrás de la mandíbula sobre dorsal de los grandes vasos e incidiendo piel, músculos, tráquea y esófago, como se muestra en la Figura 3.
- **Administración endovenosa (EV) de soluciones sobresaturadas:** al igual que con el desangrado, se recomienda solo como método accesorio. Se recomienda la aplicación de soluciones de cloruro de potasio (KCl) o sulfato de magnesio ($MgSO_4$), dependiendo la dosis de acuerdo al tamaño corporal hasta lograr la muerte. En comparación, la muerte suele lograrse de manera más lenta en el caso de emplearse $MgSO_4$. Normalmente, una inyección de 120-250 ml de solución sobresaturada de KCl es suficiente para provocar la muerte del animal.
- **Otras metodologías accesorias aceptables:** "*pithing*" o destrucción física del cerebro mediante aplicación de elemento metálico penetrante (varilla) por la incisión lograda con el noqueador.

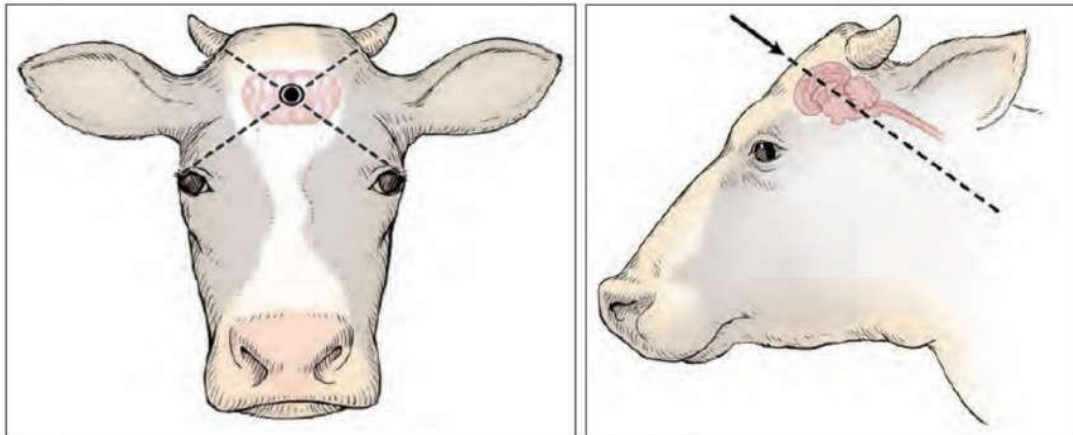


Figura 1: punto de entrada recomendado para la eutanasia de bovinos con noqueador, en la intersección de 2 líneas imaginarias entre el ángulo externo de cada ojo a la base del cuerno opuesto (reproducido de AABP 2013).

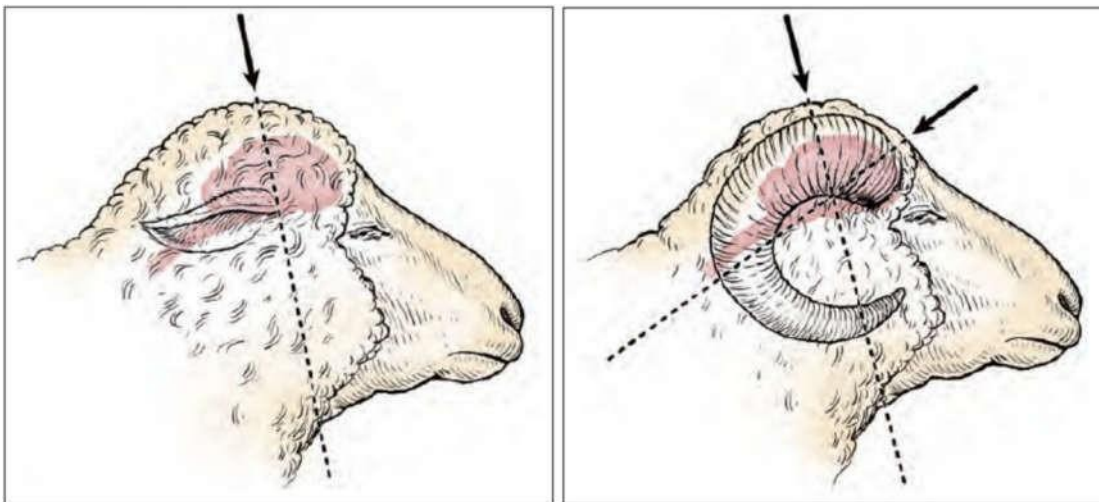


Figura 2: punto de entrada recomendado para la eutanasia de ovinos con noqueador. En el caso ovinos mochos se recomienda aplicar el noqueador por detrás del proceso cornual en dirección al ángulo de la mandíbula (base de la lengua). En el caso de ovinos astados, puede usarse la misma metodología o de manera similar a los bovinos: en la frente del animal en dirección al foramen magno (reproducido de AABP 2013).

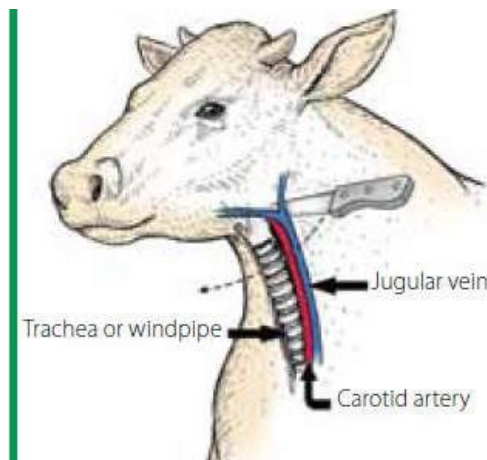


Figura 3: Técnica de desangrado o exanguinación del animal (reproducido de AABP 2013).

- **Sobredosis con barbitúricos:** la administración EV de una dosis letal de barbitúricos provoca una transición de conciencia a inconsciencia y luego provoca la muerte rápidamente, por lo que no es necesaria la aplicación de un método secundario o accesorio. Sin embargo, en algunas circunstancias es deseable lograr la exanguinación del animal para fines diagnósticos.
 - **Bovinos:** Se puede aplicar como pre-eutanásico: xilazina (20mg/kg de peso vivo (kgPV)) En terneros se recomienda una dosis de 1ml/2kgPV de una solución concentrada de 325-400 mg/ml de pentobarbital sódico (u otros barbitúricos o ácidos barbitúricos aconsejables para tal fin). En adultos, una dosis de 100ml de pentobarbital (solución concentrada de 400mg/ml).
 - **Ovinos y caprinos:** 10 ml de una solución de 300-400mg/ml de pentobarbital (para animales de 40 kgPV aproximadamente).

1.1.2. Otros métodos aceptados: otros métodos aceptados por la bibliografía internacional para ser aplicados en rumiantes domésticos (bovinos, ovinos y caprinos):

- **Disparo con arma de fuego.**

Tabla 1: Resumen de los diferentes métodos de eutanasia recomendados por el CICUAE INTA CerBAS para aplicar en bovinos (adaptado de AABP 2013).

Método	Riesgo del personal	Entrenamiento	Efecto en el público	Método secundario necesario
Noqueador penetrante	Moderado	Moderado	Moderado (sangre y movimientos)	Si
Sobredosis con barbitúricos	Bajo	Moderado	Bajo	No

1.1.3. Métodos inaceptados: para lograr eutanasia en rumiantes domésticos de acuerdo a la bibliografía internacional (aplicados de manera primaria):

- **Físicos:** trauma mecánico en el cráneo, aplicación de mecanismos físicos en animales conscientes: émbolo aéreo, electrocución, ahogamiento, exanguinación.
- **Químicos:** inyección de compuestos químicos en animales conscientes: desinfectantes, soluciones sobresaturadas, fármacos no anestésicos, xilazina.

1.2. Métodos de eutanasia para porcinos

1.2.1. Métodos recomendados: El CICUAE INTA CeRBAS recomienda los siguientes métodos de eutanasia para ser aplicados en porcinos (domésticos, jabalíes):

- **Noqueador:** está aprobado para ser utilizado en porcinos, como se demuestra en la Figura 4. El CICUAE recomienda las siguientes metodologías secundarias o accesorias para lograr la muerte del animal:
 - **Desangrado o exanguinación.**
 - **Otras metodologías accesorias aceptadas:** "pithing".
- **Sobredosis con barbitúricos:** administración EV de una dosis de 5ml/2kgPV de una solución de 60mg/ml (para animales pequeños) o 1ml/2kg de una solución de 300-400mg/ml (animales grandes).

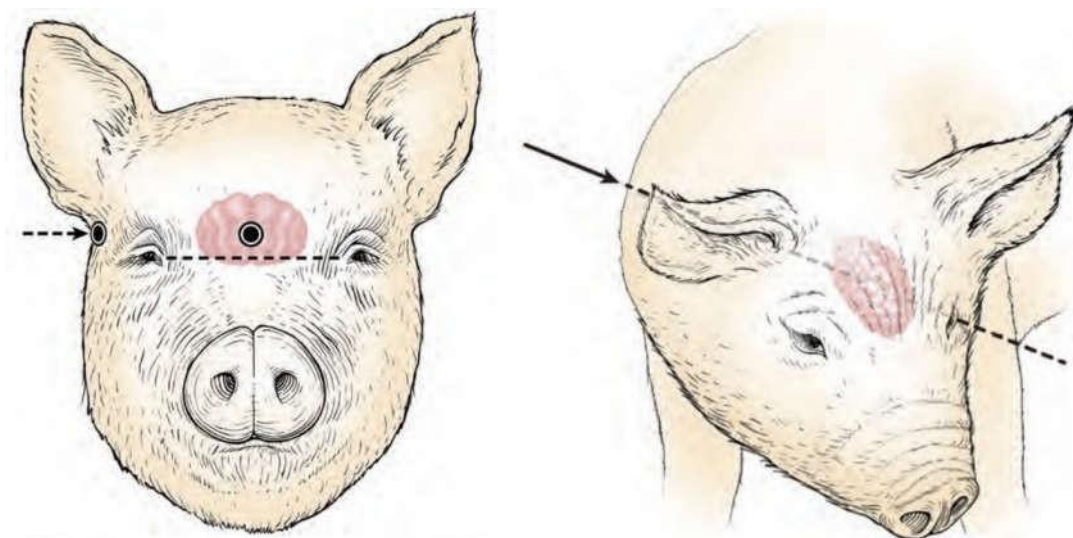


Figura 4: puntos de entrada recomendados para la eutanasia de porcinos con noqueador. Frontal: centro de la frente por arriba de la línea imaginaria entre los ojos, en dirección hacia el canal espinal. Temporal: levemente anterior y por debajo de la oreja. La tercera opción es por detrás de la oreja hacia el ojo opuesto (reproducido de AABP 2013).

1.2.2. Otros métodos aceptados: otros métodos aceptados por la bibliografía internacional para ser aplicados en porcinos:

- **Agentes inhalatorios:** dióxido de carbono (CO₂), nitrógeno (N), argón (Ar)
- **Disparo con arma de fuego.**
- **Electrocución.**

1.2.3. Métodos inaceptados: para aplicar en porcinos de acuerdo a la bibliografía internacional:

- **Anestesia y decapitación.**
- **Anestesia y dislocación cervical.**
- **Decapitación de animal consciente.**

1.3. Métodos de eutanasia para equinos

1.3.1. Métodos recomendados: El CICUAE INTA CeRBAS recomienda los siguientes métodos de eutanasia para ser aplicados en equinos:

- **Sobredosis con barbitúricos:** administración EV de una dosis barbitúricos. Pre-eutanasia: 9mg/50kgPV de succinilcolina + 50 ml de una solución de 400 mg/ml de pentobarbital. Una vez en decúbito, otros 50ml de la misma solución.
- **Noqueador:** está aprobado para ser utilizado en equinos, como se demuestra en la Figura 5. Como método auxiliar, se recomienda la aplicación de solución sobresaturada de KCl.

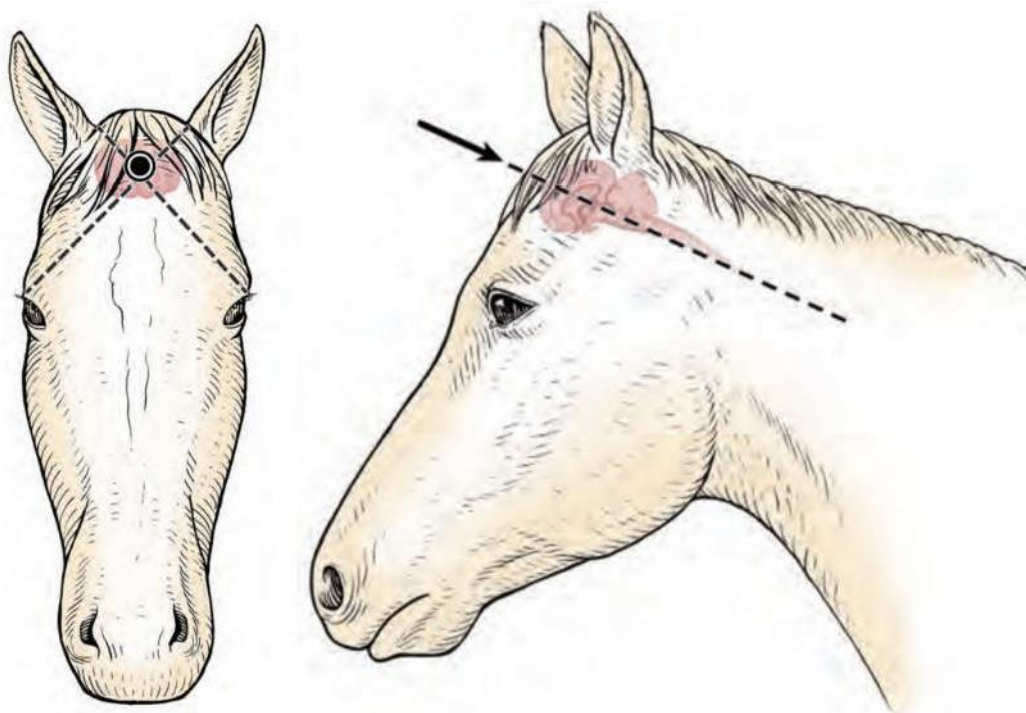


Figura 5: punto de entrada recomendado para la eutanasia de equinos con

noqueador: intersección de 2 líneas imaginarias desde el ángulo externo de los ojos a la base de la oreja opuesta (reproducido de AABP 2013).

1.3.2. Métodos inaceptados: para aplicar en equinos de acuerdo a la bibliografía internacional:

- **Hidrato de cloral.**

1.4. Métodos de eutanasia para aves

1.4.1. Métodos recomendados: El CICUAE INTA CeRBAS recomienda los siguientes métodos de eutanasia para ser aplicados en aves domésticas:

- **Sobredosis con barbitúricos:** administración intraperitoneal (IP) de una dosis barbitúricos: 80mg/kg de una solución de 60mg/ml.
- **Noqueador:** específico de especie, seguido de método accesorio o secundario. Como método auxiliar se recomienda exanguinación o inyección de solución sobresaturada de KCl o MgSO₄.
- **Dislocación cervical:** cercana a la cabeza, seguida de destrucción del cerebro o laceración de grandes vasos sanguíneos del cuello.

1.4.2. Otros métodos aceptados: otros métodos aceptados por la bibliografía internacional para ser aplicados en aves domésticas:

- **Anestesia inhalatoria:** óxido nitroso (N₂O).
- **Agentes inhalatorios:** CO₂, monóxido de carbono (CO), N, Ar.
- **Decapitación.**
- **Trauma mecánico en cráneo.**
- **Electrocución.**
- **Disparo con armas de fuego.**
- **Perno cautivo.**



1.4.3. Métodos inaceptados: compresión torácica
(cardiopulmonar, cardíaca).

1.5. Métodos de eutanasia para animales de laboratorio

1.5.1. Métodos recomendados: El CICUAE INTA CeRBAS recomienda los siguientes métodos de eutanasia para ser aplicados en roedores de laboratorio (ratas, ratones, conejos, cobayos, entre otros):

- **Sobredosis con barbitúricos:** administración IP o EV de una dosis letal de pentobarbital sódico: 10-15 mg/100gPV (ratas/ratones), 60 mg/kgPV (conejos), 90mg/kgPV (cobayos).
- **Dislocación cervical:** recomendado en ratones o ratas de menos de 200g, conejos neonatos, cobayos jóvenes.
- **Decapitación:** usando guillotinas con este fin en ratones o ratas y conejos pequeños.
- **Noqueador:** solo en conejos, con el noqueador apropiado.

1.5.2. Otros métodos aceptados: anestésicos inhalatorios (halotano, N₂O, etc.), CO₂, CO, etanol.

1.5.3. Métodos inaceptados: N, Ar.

Confirmación de la inconsciencia:

Se entiende por conciencia a la capacidad del animal de deliberadamente o intencionalmente responder a un estímulo externo. Por lo tanto, se considera inconsciencia a la pérdida de percepción y ocurre cuando el cerebro pierde la habilidad de integrar información. Este estado debe ser establecido luego de aplicado el método de eutanasia. Se logra confirmando la ausencia de respuesta a reflejo corneal o faríngeo, ausencia de vocalizaciones, movimientos respiratorios o intentos de incorporarse. Sin embargo, el animal puede llegar a manifestar algún grado de movimientos involuntarios.

Confirmación de la muerte:

Una vez instaurado cualquiera de los métodos de eutanasia previamente mencionados, es esencial confirmar la muerte, teniendo siempre en cuenta la seguridad del operador, ya que los animales pueden llegar a manifestar movimientos involuntarios. Además, las metodologías pueden cambiar dependiendo de la especie con la que se trabaje. Se debe corroborar la ausencia de pulso sanguíneo o movimientos cardíacos (fonendoscopia), respiración, reflejo corneal, entre otros.

Signos de dolor y angustia:

Para reconocer signos de dolor, temor y angustia en los animales en experimentación, el personal debe entrenarse y dependerán de la especie animal con la que se trabaje. Se debe prestar atención a cambios de conducta: vocalizaciones de angustia, lucha, intentos de huida, agresividad, parálisis/inmovilización, jadeo, salivación,

micción, defecación, midriasis, taquicardia, sudoración, temblores y/o espasmos musculares.

OTROS CONCEPTOS:

- **Tranquilización:** El animal se considera tranquilizado cuando demuestra calma y relajación, o incluso permanece dormido. Sin embargo, el animal puede todavía sentir dolor, sufrir espasmos, convulsiones.
- **Sedación:** La sedación se logra cuando el animal demuestra un estado similar al sueño, incoordinación o ataxia, sin respuesta muscular a los estímulos. Está consciente, con depresión del SNC. Puede tener una disminución de la percepción del dolor, pero aún es posible que tengan sensorio del dolor.
- **Inmovilización:** el animal se encuentra paralizado, incapaz de moverse. Sin embargo, aún tiene el sensorio activo, puede sentir dolor, manifestar temor y pánico.
- **Analgesia:** estado que se logra por la aplicación de drogas que disminuyen la capacidad del animal de percibir dolor, aunque no lo anulan completamente. Por lo tanto no se pueden usar para provocar inconsciencia y por consiguiente apropiadas para la eutanasia. Si pueden utilizarse como pre-eutanásicos.

REFERENCIAS

1. American Association of Bovine Practitioners (AABP). 2013. Practical Euthanasia of Cattle. http://www.aabp.org/resources/AABP_Guidelines/Practical_Euthanasia_of_Cattle-September_2013.pdf
2. American Veterinary Medical Association (AVMA). 2013. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>
3. Directorate-General of the Environment, Nuclear Safety, and Protection (European Union) (DG XI). 1997. Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 1. <http://secal.es/wp-content/uploads/2014/11/Eutanasia1.pdf.pdf>
4. Directorate-General of the Environment, Nuclear Safety, and Protection (European Union) (DG XI). 1996. Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 2. <http://secal.es/wp-content/uploads/2014/11/Eutanasia2.pdf.pdf>
5. The Humane Society of the United States. 2013. Euthanasia Reference Manual. <http://www.animalsheltering.org/resources/all-topics/euthanasia/euthanasia-reference-manual.pdf>
6. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Research Council (NRC). 2010. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=12910
7. Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching (ANZCCART). 2001. Euthanasia of Animals Used for Scientific Purposes. <https://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/publications/Euthanasia.pdf>
8. Canadian Council on Animal Care (CCAC). 2010. CCAC guidelines on euthanasia of animals used in science. <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Euthanasia.pdf>
9. Organización Internacional de Epizootias (OIE) 2014. Código sanitario para los animales terrestres - Versión 15 - 09/07/2014.