

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

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

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

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

Este informe esta publicado en dos partes.

Esta primera parte comprende las Secciones 1 y 2 del informe, junto con una revisión bibliográfica. La Sección 3 del informe fue publicada en el ejemplar de Enero de 1997 de Laboratory Animals, junto con la lista de todas las referencias citadas en ambas partes y los detalles de los materiales para entrenamiento. Se podrá disponer de reimpressiones del informe, combinando ambas partes, cursando la solicitud a Mrs S. E.

Wolfensohn, Supervisor of Veterinary Services, University of Oxford, Veterinary Services, c/o University Laboratory of Physiology, Parks Road, Oxford OX1 3PT, UK. (Tel: +44(0)1865-272545, Fax: +44(0)1865-272118, Email: sarah.wolfensohn@vet.ox.ac.uk).

Contenido de la Parte 1

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

Agradecimientos

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

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

Prefacio

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

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

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

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

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

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

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

1 Introducción

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

- al final de un experimento o cuando pudieran proseguir con efectos adversos;
- para obtener sangre y otros tejidos con un fin científico;
- cuando los niveles de dolor, angustia y sufrimiento es probable que sobrepasen el nivel previsto;
- cuando el campo de estudio sea la salud o el bienestar de los animales;
- cuando ya no sean aptos para la cría;
- animales no utilizados, o aquellos con sus características no adecuadas, por ejemplo el tipo de animal o el sexo y que por ello no son necesarios.

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

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

1.1 Objetivos de la eutanasia

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

1.2 Definición de términos

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

La *Consciencia* es el estado de conocimiento de un animal normal, en el cuál puede recibir estímulos de su ambiente externo y puede responder con la conducta normal de un individuo despierto. La *Inconsciencia* se utilizará para indicar insensibilidad a los estímulos externos, como se esperaría en el coma y durante la anestesia general. Las dos maneras principales de medir la insensibilidad son fijarse en las respuestas físicas y en las del sistema nervioso central (SNC) a nivel cortical.

El *Dolor* se puede definir como “una experiencia sensorial aversiva que produce acciones motoras protectoras, dando como resultado el aprendizaje para evitarlo y que puede modificar rasgos de conducta específicos de especie, incluyendo la conducta social” (Zimmermann 1986). La utilización de la palabra dolor implica un conocimiento consciente de los estímulos y no una respuesta refleja inconsciente.

Un *Embrión* se puede definir como un animal que se está desarrollando a partir de un óvulo fertilizado sexualmente, o partenogenéticamente activado y que está contenido dentro de las membranas de un huevo o dentro del cuerpo materno. El estado embrionario culmina con la eclosión o el nacimiento de la cría del animal (Allaby 1991).

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

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

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

1.3 Signos de dolor y angustia

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

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

Algunas de estas respuestas pueden suceder tanto en animales conscientes como inconscientes. El temor puede causar inmovilidad o paralización en ciertas especies, particularmente en conejos y pollos. Esta respuesta de inmovilidad no se debe considerar como inconsciencia, cuando el animal en realidad está consciente. Los embriones en su último tercio de desarrollo y los animales muy jóvenes tienen bien desarrollados los componentes del sistema del dolor, tanto a nivel periférico como a niveles cortical y subcortical; los sistemas neuroquímicos están intactos y las respuestas funcionales al dolor y al estrés, están bien documentadas (Anand & Hickey 1987). El dolor se puede asociar también con la carencia y/o el sufrimiento psicológico, asociados con un trato pobre o un entorno inadecuado.

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

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

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

1.4 Reconocimiento y confirmación de la muerte

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

1.5 Personal y entrenamiento

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

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

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

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

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

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

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

1.6 Manejo e inmovilización

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

1.7 Equipamiento

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

1.8 Eliminación de cadáveres y residuos

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

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

2 Comentarios generales sobre los métodos de eutanasia

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

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

2.1 Métodos aceptables de eutanasia

Métodos físicos

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

2.1.1 Disparo

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

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

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

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

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

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

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

2.1.2 Concusión (aturdimiento por golpe o stunning)

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

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

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

2.1.3 Aturdimiento eléctrico

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

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

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

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

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

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

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

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

2.1.4 Dislocación cervical

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

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

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

2.1.5 Decapitación

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

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

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

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

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

2.1.6 Maceración

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

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

2.1.7 Irradiación con microondas

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

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

Métodos químicos

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

Agentes inhalatorios

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

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

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

2.1.8 Dióxido de carbono

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

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

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

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

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

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

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

2.1.9 Monóxido de carbono

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

2.1.10 Anestésicos inhalatorios volátiles

Cuando se utilice cualquier anestésico líquido, se debe de tener mucho cuidado en no permitir al animal entrar en contacto con él. Se debe asegurar suficiente aporte de aire u oxígeno; durante el periodo de inducción para prevenir la hipoxia (Andrews *et al.* 1993). La exposición a gases anestésicos en concentraciones traza, está reconocida como un riesgo para la salud de los humanos y requiere el empleo de aparatos de recogida de gases, para ser utilizados en el ambiente de trabajo. Los anestésicos inhalatorios volátiles no son inflamables ni explosivos.

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

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

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

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

2.1.11 Benzocaina (etil aminobenzoato)

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

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

2.1.12 Tricaina metano sulfonato (MS-222 tamponado)

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

2.1.13 Etomidato y metomidato

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

2.1.14 Quinaldina (2-metilquinolina)

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

utilizar el sulfato de quinaldina para la eutanasia de peces.

Agentes inyectables

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

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

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

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

2.1.15 Barbitúricos

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

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

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

2.1.16 T-61

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

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

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

2.2 Métodos aceptables con animales inconscientes

2.2.1 Inserción de aguja

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

2.2.2 Congelación rápida

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

2.2.3 Exanguinación

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

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

2.2.4 Nitrógeno/argón

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

2.2.5 Etanol

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

2.2.6 Hidrato de cloral

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

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

2.2.7 Cloruro potásico

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

2.2.8 Embolia gaseosa

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

2.3 Métodos que no son aceptables para eutanasia

2.3.1 Descompresión/vacío

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

2.3.2 Hipotermia

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

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

2.3.3 Hipertermia

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

2.3.4 Ahogamiento/extracción del agua

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

2.3.5 Rotura de cuello

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

2.3.6 Estrangulamiento

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

2.3.7 Protóxido de nitrógeno

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

2.3.8 Ciclopropano

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

2.3.9 Éter (éter dietílico)

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

2.3.10 Cloroformo

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

2.3.11 Metoxiflurano

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

2.3.12 Tricloroetileno

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

2.3.13 Gas Cianhídrico

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

2.3.14 2-fenoxietanol

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

2.3.15 Uretano

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

2.3.16 Agentes bloqueantes neuromusculares

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

2.3.17 Ketamina

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

2.3.18 Sedantes

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

2.3.19 Sulfato magnésico

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

2.3.20 Otros anestésicos inyectables

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

2.3.21 Otros agentes

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

2.4.22 Agentes administrados por vía oral

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

2.3.23 Analgésicos narcóticos

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

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

Lecturas adicionales

Generales

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

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

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

Peces

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

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

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

Anfibios

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

Reptiles

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

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

Aves

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

Roedores

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

Conejos

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

Carnívoros

British Standards Institution (1957) *Cabinets for the Electrical Euthanasia of Dogs*. British Standard 2909: 1957

Carding AH (1968) Mass euthanasia of dogs with carbon monoxide and/or carbon dioxide: preliminary trials. *Journal of Small Animal Practice* **9**, 245-54

Carding AH (1977) Euthanasia of dogs and cats: an analysis of experience and current knowledge with recommendations for research. *Animal Regulation Studies* **1**, 5-21

Croft PG (1972) The EEG as an aid to assessment of state of consciousness in the dog: *Journal of Physiology* **151**, 6p-8p

Dallaire A, Chalifoux A (1985) Premedication of dogs with acepromazine or pentazocine before euthanasia with carbon monoxide. *Canadian Journal of Comparative Medicine (Revue Canadienne de Médecine Comparée)* **49** (2), 171-8

De Vries HW, Zimmermann ANE, van Leeuwen SW, et al. (1977) An experimental study of acute carbon monoxide intoxication in dogs. *Acta Pharmacology Toxicology* **41** (Suppl), 374-92

Eisele JH, Eger EI, Muallem M (1967) Narcotic properties of carbon dioxide in the dog. *Anesthesiology* **28**, 856-65

Fox MN, Carding A (1978) *Euthanasia of dogs and cats*. Washington DC: The Institute for the Study of Animal Problems, pp 23-39

Griesemer RA, et al. (1978) Laboratory Animal Management--Cats. *ILAR News* **21** (3), C1-C20

Hicks T, Bailey EM Jr (1978) Succinylcholine chloride as a euthanatizing agent in dogs. *American Journal of Veterinary Research* **39**, 1195-7

Körner E (1984) Tötung von farngehaltenen Peltztieren. *Tierärztliche Praxis* **12**, 57-30

Lambooy E, Roelofs JA, van Voorst N (1985) Euthanasia of mink with carbon monoxide. *The Veterinary Record*, **April 13**, 416

Loftsgard G, Braathen S, Helgebostad A (1972) Electrical stunning of mink. *The Veterinary Record* **91**, 132-4

Moreland AF (1974) Carbon monoxide euthanasia of dogs: chamber concentrations and comparative effects of automobile engine exhaust and carbon monoxide from a cylinder. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **165** (9), 853-5

Prynn RB, Redding RW (1968) Electroencephalographic continuum in dogs anesthetized with metoxyflurane and halothane. *American Journal of Veterinary Research* **29**, 1913-28

Sawyer DC (1975) Comparative effects of halothane. *Gaines Dog Research Program* 2-3

Sevcikova E, Reichel F (1982) Klinické overování přípravku Pentobarbital Spofa inj. ad usum veterinarium. (Clinical testing of the preparation pentobarbital spofa inj, ad usum veterinarium). *Biologizace a Chemizace Živočišné Vyroby-Veterinaria* **18** (4), 375-82

Simonsen HB, Thordal-Christensen A, Ockens N (1981) Carbon monoxide and carbon dioxide euthanasia of cats: duration and animal behaviour. *The British Veterinary Journal* **137** (3), 274-8

Vinter FJ (1957) The human killing of mink. *British Fur Farmers Gazette* **August 1957**

Grandes mamíferos

Anon (1982) Guidelines for recommending euthanasia (of the horse, approved by the American Association of Equine Practitioners). *Veterinary Professional Topics: Horse, Equine Professional Topics* **8** (1), 1

Barford K (1990) Carbon dioxide anesthetization of pigs (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 9-10

Barton-Gade PA, Nielson NJ, Klovborg H (1990) Practical experience with CO₂ stunning (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 14-15

Birchall A (1990) Kinder ways to kill. *New Scientist* **126** (1717), 44-9

Birchall A (1990) The rough road to slaughter. *New Scientist* **24 November**, 33-8

Blackmore DK, Newhook JC (1981) Insensibility during slaughter of pigs in comparison to other domestic stock. *New Zealand Veterinary Journal* **29**, 219-22

Blackmore DK, Newhook JC (1983) The assessment of insensibility in sheep, calves and pigs during slaughter. In: *Stunning of Animals for Slaughter* (Eikelenboom G, ed). Boston: Martinus Nijhoff, pp 13-25

Blackmore DK, Newhook JC, Peterson GV (1979) Electrical stunning and humane slaughter. *New Zealand Veterinary Journal* **27**, 224

Brambell FWR (1965) *Report of the Technical Committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems*. Cand 2836. London: HMSO

Dougherty RW (1981) Anesthesia and euthanasia. In: *Experimental Surgery in Farm Animals*, Ch 3. Ames: Iowa State University Press, pp 8-13

Forslid A (1990) Preslaughter CO₂-anaesthesia in swine. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, p 12

Gregory NG, Wotton SB (1984) Time to loss of brain responsiveness following exsanguination in calves. *Research in Veterinary Science* **37**, 141-3

Gregory NG, Mohan -Raj AB, Audsey ARS, Daly CC (1990) Effects of CO₂ on man (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 7-9

von Hertampff B, von Mickwitz G, Betäubung von Schlachttieren; Teil 1: CO₂-Betäubung. Übersichtsreferat. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **86**, 333-76

Hoenderken R (1979) Zur Betäubung von Schlachtschweinen. *Schlachten und Vermarkten* **79** (8), 235-7

Hoenderken R, van Logtestijn JG, Sybesma W, Spanjaard WJM (1979) Kohlendioxid-Betäubung von Schlachtschweinen. *Die Fleischwirtschaft* **11**, 1572-8

Honkavaara M (1990) Effect of stunning method on early postmortem biochemical changes in pork. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, p 14

Jones RS (1993) Euthanasia in horses. *Royal College of Veterinary Surgeons Newsletter* February 1993

Jones RS, Knottenbelt DK, Mason K, O'Donnell E (1992) Euthanasia of horses. *The Veterinary Record* **130** (24), 544

Lagerwey E (1990) CO₂ inhalation in the pig. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord', Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 10-11

Lambooy E (1982) Electrical stunning of sheep. *Meat Science* **6**, 123-35

Lambooy E, Spanjaard W (1980) Euthanasia of young pigs with carbon monoxide. *The Veterinary Record* **107**, 59-61

Lambooy E Spanjaard W (1982) Electrical stunning of veal calves. *Meat Science* **6**, 15-25

Lieske R (1980) Die euthanasie von Pferden mit Eutha 77 (Euthanasia of horses with Eutha 77). *Tierärztliche Umschau* **35** (3), 170, 175-7

Lomholt N (1983) CO₂-Betäubung von Schlachtieren, Behauptungen und Realitäten. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **2**, 66-8

Von Mickwitz G (1990) The behaviour of pigs during application of different stunning methods. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, pp 16-17

Ring C, Erhardt W (1990) CO₂ anaesthesia for slaughter pigs: Animal protection and meat quality. (The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord'; Zeist); *IVO rapport B-354*, p 13

Rose MA, Daly DM, Shaw FD (1991) Humane slaughter of farm animals. *ACCART News* **4** (1), 2-3

Schatzmann U, Zeller W (1990) The use of CO₂ for stunning of slaughter pigs; report of a meeting of experts (Observation of CO₂ stunning under practical conditions). (Lambooy E. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek 'Schoonoord', Zeist); *IVO rapport B-354*, p 15

Schultz NE (1969) Succinylcholine for euthanasia of swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **154**, 38-9

Thurmon JC (1986) Euthanasia of food animals. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **2** (3), 743-56

Trapp AL, Taylor RF (1956) Methods of euthanasia in poultry and food-producing animals. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **2** (1), 31-41

Troeger W, Woltersdorf W (1989) Die Elektrobetäubung von Schlachtschweinen. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 100-3

Primates

International Primatological Society (1988) *IPS international guidelines for the acquisition, care and breeding of nonhuman primates*

Mattsson JL, Stinson JM, Clark CS (1972) Electroencephalographic power-spectral changes coincident with onset of carbon dioxide narcosis in rhesus monkey. *American Journal of Veterinary Research* **33** (10), 2043-9

Animales exóticos

Anon (1979) Avlivning med kolsyra (CO₂)-en introduktion. (An introduction to the use of carbon dioxide (CO₂) for killing mink for euthanasia). *Vara Palsdjur* **50** (10), 240-1

Cooper JE (1984) Anaesthesia of exotic animals. *Animal Technology* **35**, 13-20

Haugen AO, Svendsen MJ, Shult M, Petersburg SJ (1976) Immobilization of adult bison with etorphine. *Proceedings of the Iowa Academy of Sciences* **83** (2), 67-70

Korner E (1984) Tötung von farmgehaltenen Peltztieren (Euthanasia of fur-animals in farms). *Tierärztliche Praxis* **12** (4), 527-30

Lambooy E (1984) Electrocutie van vossen: een ethisch acceptabele methode? (Electrocution of foxes; an ethically acceptable method? *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* **109** (11), 460-4

Rowell SF (1985) Stranded whales. *The Veterinary Record* **116** (6), 167