

XII. EUTANASIA

A. INTRODUCCIÓN

El término “eutanasia,” origina de los términos griegos “eu” (bueno) y “thanatos” (muerte) o una muerte sin dolor (Bennett, Brown, Schofield *et al.* 1990). El método usado para realizar la eutanasia (o eutanasiar) debe ser “humanitario”: es decir que debe realizarse sin dolor, minimizar el miedo y la ansiedad, además de ser confiable, reproducible, irreversible, sencillo, seguro y rápido. Cuando posible, debería también ser estéticamente aceptable para la persona que ejecuta el procedimiento, así como también para cualquier observador.

En el decenio de 1950, se escuchaba raras veces el término “eutanasia”. Se usaban eufemismos tales como: “sacrificar,” “destruir,” “acabar,” o “adormecer” (Zweighaft, 1990). Sin embargo, casi nunca se usaba de la palabra “humanitario”, ni era considerada necesaria. Las leyes sobre la matanza humanitaria no fueron promulgadas ni aplicadas antes del fin de los años 1950 y el principio de los años 1960 en Canadá y en los EE.UU. Aun con el advenimiento de estas legislaciones, muchas de las especies de consumo, como las aves, no eran incluidas en las regulaciones.

Con el uso de animales en la investigación, enseñanza y pruebas, la comunidad científica se tiene que responsabilizar para la aplicación de un criterio científico y de los nuevos conocimientos para asegurar que, cuando hay que realizar la eutanasia a un animal, este se beneficie de una “muerte buena”. Aun en estudios que no son peligrosos o invasivos para los animales, en algunas circunstancias es necesario someterlos a la eutanasia (p. ej., el regreso de un animal silvestre a un medio ambiente peligroso) (vease también en este *Manual, Categorías de técnicas invasivas en la experimentación animal*).

En la primera edición de este *Manual* (Volumen 1), se encuentra el criterio siguiente sobre la eutanasia: “El criterio más importante para aceptar un método de eutanasia como humanitario es que tenga una acción inicial de depresión sobre el sistema nervioso central (SNC), para asegurar la insensibilidad inmediata al dolor”. Aunque el principio de este criterio sea siempre cierto, debería agregarse “para producir la inconsciencia rápida y así asegurar la insensibilidad al dolor; esto debe ser seguido por paros cardíacos y respiratorios.”

Es importante que el principio de las “Tres R” de Russell y Burch (1992), descrito en otra parte en este *Manual*, se aplique también para los métodos de eutanasia. El refinamiento de los procedimientos es un tema que está frecuentemente descuidado, y que se debería considerar a fin de asegurar que se apliquen los criterios para una muerte humanitaria.

La aplicación de estas líneas directrices para la eutanasia requiere un juicio profesional con competencia técnica, comprensión del animal, de su comportamiento y de su fisiología, así como también una comprensión del impacto ambiental y ecológico, de la sensibilidad de otros miembros del personal y de los intereses del público en general.

B. CRITERIOS PARA UNA MUERTE HUMANITARIA

La persona que aplica el método de eutanasia es el factor más importante para asegurar que la muerte de un animal sea humanitaria. Sin considerar si el procedimiento se aplica a un animal individual o a un grupo, siempre se debe intentar encontrar los siguientes criterios:

- a) una muerte sin señales de pánico, dolor o desamparo;
- b) un tiempo mínimo para llegar a la inconsciencia, es decir, casi inmediato;
- c) confiable y reproducible;

- d) seguridad para el personal involucrado;
- e) mínimo de efectos fisiológicos y psicológicos indeseables sobre el animal;
- f) compatibilidad con los requerimientos y propósitos del estudio científico;
- g) efectos emocionales mínimos o nulos sobre el observador y el operador;
- h) impacto mínimo sobre el medio ambiente o la ecología;
- i) equipo mecánico sencillo, barato y de mantenimiento fácil;
- j) el local estará lejos y separado de las salas donde se alojan a los animales.

A menudo es difícil reconocer la evidencia de estrés cuando los animales son sometidos a la eutanasia en presencia de otros animales. Informes recientes sobre feromonas provee evidencia de que los animales pueden comunicarse entre ellos mediante varios tipos de señales. En ciertas experimentaciones con ratas, la tensión inducida por el tratamiento experimental puede dar origen a la producción de señales que afectan a los animales que no están tratados y que están alojados en proximidad (Duncan y Petherick, 1991; Beynen, 1992; Short y Van Poznak, 1992).

C. DOLOR Y ESTRÉS

El control de dolor animal se discute en otra parte en este *Manual* (véase Control del dolor animal en la investigación, la enseñanza y pruebas), y el personal que aplica procedimientos de eutanasia debería revisar este capítulo. La literatura crece con respecto al dolor animal (Dawkins, 1980, 1990; Bateson, 1991; Flecknell, 1984; Wall, 1992; Fosse, 1991; Rowsell, 1992). Es suficiente notar que en los últimos 25 años, hubo una revolución en la comprensión de los mecanismos del dolor, gracias a los trabajos experimentales sobre animales. No podemos conseguir penetrar dentro del cerebro del animal. Entonces, una parte importante de la evaluación del dolor animal está basada sobre la empatía asociada con los intereses éticos.

En breve, se cree que, para que el animal sienta dolor, el cortex cerebral y las estructuras sub-corticales deben ser funcionales. Si el cortex cerebral o las estructuras sub-corticales están neutralizadas por cualquier método, tal como la hipoxia, la depresión farmacológica, un choque eléctrico o una conmoción cerebral, entonces la sensación del dolor desaparece. Desafortunadamente, no tenemos ningún medio para determinar la calidad de la anestesia y par evaluar su profundidad en los animales, aunque se utilizaron varias medidas diferentes para determinar la calidad de la anestesia en los humanos (Whelan y Flecknell, 1992). Los criterios básicos disponibles para juzgar de la inconsciencia en un animal incluyen, por ejemplo, la ausencia de reflejos de parpadeo, el reflejo del pellizco del dedo de pie, y el reflejo del rabo. Un electroencefalograma (EEG) está raramente disponible para indicar la muerte cerebral por un trazo totalmente plano del EEG. Este es el criterio adoptado por la American Academy of Neurology como aceptable para establecer la muerte cerebral en niños, después de otros criterios clínicos, tales como el coma profundo, la ausencia de respiración espontánea, y la ausencia de reflejos (Anon., 1987).

En la evaluación de la muerte, es importante observar el paro cardíaco, provocando así el paro de la circulación al cerebro, además del paro respiratorio. Ningún animal debería ser considerado muerto hasta que sus reflejos motores, cardíacos y respiratorios, hayan desaparecido.

Si un animal ha recibido una preparación del tipo curare, la ausencia de reflejos no debería usarse para indicar la inconsciencia y, por consecuencia, insensibilidad al dolor.

D. MECANISMOS DE MATANZA

La muerte puede resultar cuando hay hipoxia cerebral, directa o indirecta, cuando hay una

depresión de neuronas esenciales para el mantenimiento de las funciones fisiológicas, o cuando hay una interrupción física de la actividad cerebral que produce la inconsciencia.

a) En estado de **hipoxia**, la muerte debe considerarse sin dolor y sin estrés, solamente cuando la inconsciencia precede la pérdida de actividad muscular (parálisis). **Los agentes paralizantes (p. ej., agentes como el curare, la succinilcolina, la gallamina, el sulfato de nicotina, los sales de magnesio o de potasio, y otros agentes bloqueadores neuromusculares) nunca deben ser utilizados solos para realizar la eutanasia de animales** (Rowell, 1990). Siguiendo la inconsciencia provocada por la hipoxia cerebral, algunos animales demuestran un cierto grado de actividad del reflejo motor.

b) **Depresión directa de neuronas:** la depresión de neuronas del cerebro que produce la inconsciencia seguida por la muerte, se asocia a veces con vocalizaciones y con la actividad muscular. La muerte se produce por hipoxemia, por la depresión directa de los centros respiratorios en el SNC, o por el paro cardíaco.

c) **La perturbación física de la actividad cerebral** produce la inconsciencia inmediata, pero puede haber una actividad muscular marcada, debido a la despolarización de las células nerviosas. Mientras que los movimientos son estéticamente desagradables, no es una manifestación de dolor o de angustia: el animal no siente nada.

E. MÉTODOS DE EUTANASIA

1. Físico

Los métodos físicos de eutanasia incluyen el aturdimiento por golpe, la dislocación cervical, la electrocución, la laceración de la medula espinal, la decapitación, la matanza por tiro, la maceración, la irradiación por microondas, y la exsanguinación.

En el laboratorio, los métodos físicos se restringen normalmente a esos animales que se manejan fácilmente, tales como los roedores pequeños, las aves, los animales domésticos grandes, y algunos anfibios y reptiles. Si el protocolo de investigación requiere un método físico de eutanasia porque otros métodos podrían invalidar los resultados del estudio científico, el uso de tales métodos debe ser justificado por el científico y aprobado por que el Comité de protección de los animales. Sin embargo, se debe administrar previamente un sedativo o un tranquilizante siempre cuando sea posible.

Las decisiones de usar métodos físicos de eutanasia deben apoyarse sobre un juicio profesional y deben ser ejecutadas por personas experimentadas. La adquisición (o la re-adquisición) de las competencias para aplicar los métodos físicos de eutanasia pueden ser realizadas practicando las técnicas sobre animales muertos, preferentemente sobre animales recientemente matados, y estar sujeto a una vigilancia estrecha por parte de personal experimentado con la metodología.

a) El **aturdimiento** se usa a veces con roedores pequeños de laboratorio. El golpe debe ser dado en el medio del cráneo, con fuerza suficiente para producir una hemorragia cerebral masiva y una depresión inmediata del SNC, produciendo una inconsciencia rápida. Esta técnica no debería emprenderse en presencia de observadores ocasionales o no informados, porque es un espectáculo desagradable. Sin embargo, cuando se aplica correctamente, el animal es inmediatamente inconsciente e insensible al dolor. Siguiendo el aturdimiento, se debe cortar los vasos sanguíneos más importantes, y abrir el tórax y el corazón.

b) La **dislocación cervical** es apropiada para aves, ratones, conejos o ratas inmaduras, o especies pequeñas similares. La técnica consiste en separar el cráneo y el cerebro de la medula espinal aplicando una presión a la base posterior del cráneo (Clifford, 1984). Cuando la separación de la medula ocurre, el SNC deja de estimular la respiración y el corazón, conduciendo a la muerte. El abastecimiento de sangre al cerebro continúa a alimentarlo, porque las arterias carótida y las venas yugulares son intactas. Sin embargo, la sangre estará rápidamente sin oxígeno y habrá un aumento en el gas carbónico después de haber parado la respiración, conduciendo a la una disfunción cerebral.

Estudios han demostrado que el EEG se aplana y que el reflejo de parpadeo desaparece inmediatamente después de la separación de la medula espinal, indicando que el animal ya no es sensible al dolor (Allred y Berntson, 1986; Rowsell, 1990; Derr, 1991). Además, la medula espinal separada no trasmite más estímulos dolorosos partir de las áreas posteriores a la separación. Así, con la separación de la medula espinal, los estímulos dolorosos no pueden percibirse más. Sin embargo, pueden haber contracciones musculares importantes.

El *Report of the AVMA Panel on Euthanasia* (AVMA, 1993) difiere del informe previo de 1986, en que los datos sugieren que la actividad eléctrica en el cerebro persiste por 13 segundos siguiendo la dislocación cervical (Vanderwolf, Buzsaki, Cain *et al.* 1988). Además de ratones, el informe repertoria como sujetos aceptables a ratas inmaduras de menos de 200 g de peso, a conejos de menos de un kg, a aves de corral y a otros pájaros pequeños. También nota que: “En conejos y ratas más pesadas, la masa muscular más importante en la región cervical hace que la dislocación cervical manual sea físicamente más difícil; por consecuencia, la dislocación cervical debe ser ejecutada únicamente con dislocadores mecánicos o por individuos quienes hayan demostrado competencia en la eutanasia de animales más grandes.” El informe enfatiza la importancia de un entrenamiento adecuado.

c) La **decapitación con guillotina** se usa primariamente para la eutanasia de roedores y de conejos pequeños. Usado solo, este método permite obtener fluidos y tejidos químicamente no contaminados, y provee cerebros y tejidos cerebrales anatómicamente intactos, para estudios adicionales.

Después de consultar la literatura (Vanderwolf, Buzsaki, Cain *et al.* 1988; Derr, 1991; Mikeska y Klemm, 1975), el Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCPA) concuerda con el *Report of the AVMA Panel on Euthanasia* (AVMA, 1993) que dice que una pre-sedación antes de la decapitación o dislocación cervical no es necesaria. Sin embargo, **el uso de la dislocación cervical y de la decapitación con la guillotina como métodos de eutanasia deben ser científicamente defendidos por el investigador y ser aprobados por el Comité de protección de los animales.** Se encuentran en el comercio guillotinas bien diseñada y de uso fácil. Las guillotinas deben ser usadas por personal entrenado adecuadamente en esta metodología y en el manejo de animales. La decapitación se recomienda como medio de eutanasia para los anfibios y reptiles (AVMA, 1986; Cooper, Ewbank, Platt *et al.* 1989).

d) Se requiere mucha habilidad para aplicar la **descerebración**, que se usa para realizar la eutanasia a ranas y tortugas, por la destrucción del cerebro después de que los animales hayan sido anestesiados. Una sonda puntiaguda brusca se insiere en la piel entre el cráneo y el atlas. Se empuja entonces por adelante a través del foramen magna en la cavidad craneal, usando un movimiento de torsión. Esta técnica debe intentarse solamente después de haber adquirido un buen conocimiento de la anatomía y después de un período de entrenamiento, incluyendo practicando sobre animales muertos. Este método puede ocasionar dolor y sufrimiento si las regiones indicadas del cerebro no están completamente destruidas.

e) La matanza con **pistola cautiva de percusión** se ha sido usada principalmente para aturdir a los animales de consumo antes de matarlos. A un grado menor, se usa en situaciones de emergencia tales como en accidentes o en otras circunstancias similares cuando no haya ningún otro método al alcance, o que nadie con la competencia necesaria esté disponible.

Las pistolas de caídas de percusión se usan también en situaciones de emergencia en la matanza de caballos. Sin embargo, a causa de la respuesta comportamental/física del caballo, de encabritarse y de caer hacia atrás, y a menos de aplicar las trabas apropiadas, existe un peligro para el operador. Es esencial que la pistola sea inmediatamente retirada de la cabeza del animal. Una manija de extensión se adjunta a la pistola para permitir que el operador pueda poner una o ambas manos frente de los ojos del caballo, reduciendo así los movimientos de la cabeza. Esta pistola especialmente diseñada para matar a caballos requiere que el operador conozca bien el lugar donde colocar el arma, para que el proyectil penetre las estructuras profundas del cerebro (Watts, 1976).

La Britains' Royal SPCA, siguiendo el uso de esta pistola en mataderos, desarrolló un modelo de mano de menor tamaño para las eutanasias de emergencia de los gatos y perros heridos, que fueron utilizados por algunas SPCAs y sociedades humanitarias (UFAW, 1968). En Canadá, sin embargo, el público general consideró este método como repugnante; por lo tanto, su uso se limita a ocasiones cuando el animal herido puede quitarse de la vista del público (UFAW, 1988).

Más recientemente, se desarrolló una pistola cautiva de percusión para matar conejos y cabras (Accles y Shelvoke Ltd., Aston, Birmingham, Eng. B64QD). Con este dispositivo, la evidencia clínica, incluyendo la pérdida de reflejo corneal y de toda actividad en el EEG, indican que la pérdida de conciencia y la muerte cerebral ocurren casi inmediatamente (Dennis, Dong, Weisbrod *et al.* 1988).

Solo se deben usar pistolas a percusión caídas o penetrantes producidas comercialmente, y se debe saber como utilizarlas adecuadamente. Hay que tener una competencia técnica considerable y un conocimiento preciso de la anatomía del animal. Por lo tanto, este método debe usarse solamente por operadores experimentados. Se debe exsangrar el animal siguiendo la inconsciencia.

f) **El aturdimiento por percusión** se hace por medio de un tipo de objeto cautivo de percusión no penetrante, cuya extremidad tiene una forma de hongo. Los efectos sobre la función cerebral dependen de la velocidad de la extremidad del aparato al momento del impacto, de su posición apropiada, y del espesor del hueso craneal. Desafortunadamente, todavía no se ha determinado las velocidades mínimas necesarias para percusiones eficientes. El valor de este método es que puede reemplazar algunos rituales de matanza. El aturdimiento por percusión ha sido usado como un método alternativo de la pistola a extremidad penetrante en algunos mataderos Canadienses. Desafortunadamente, esos instrumentos son más susceptibles de quebrar y de funcionar mal que las pistola a extremidad penetrante estándar. Más recientemente, un instrumento de tipo percusión ha sido desarrollado para uso en los animales control, particularmente para perros. Su factibilidad y su carácter humanitario como técnica debe ser establecida en operaciones de campo.

En Canadá, se requiere un permiso para poseer aparatos de aturdimiento, incluyendo pistolas de percusión caídas y penetrantes.

g) **El uso de armas de fuego** es un medio efectivo para matar de manera humanitaria a animales en el campo. **Solo expertos pueden efectuar este procedimiento.** Se debe disparar a poca distancia, y la bala debe alcanzar el cerebro para que el animal llegue a ser inmediatamente insensible al dolor. Se pueden utilizar escopetas de calibre 12 o 20, carabinas

de calibre 22, o revólveres, dependiendo de las especies y del tamaño de los animales para matar. El hecho de dar o no un sedativo antes de la matanza es discutible (Ebedes, 1988). El uso de armas de fuego está prohibido en laboratorios, porque en estos lugares, hay siempre otros métodos disponibles de eutanasia e individuos con la pericia apropiada.

Hay ventajas al uso de armas de fuego como método de eutanasia en el campo, pues la inconsciencia es instantánea si la bala destruye una porción importante del cerebro, particularmente si involucra los centros vitales. En el campo, esto puede ser el único método posible para provocar una inconsciencia inmediata y para producir la muerte. Hay que insistir en la necesidad de que el tirador sea un experto. En situaciones de emergencia, el Comité de Bienestar Animal de la Asociación de Médicos Veterinarios de Canadá ha preparado las *Directrices para la eutanasia de animales domésticos usando armas de fuego* (Longair, Finley, Laniel et al. 1991).

h) La electrocución se utiliza principalmente para matar animales domésticos (Eikelenboom, 1983); se usa raras veces en el laboratorio. Si se usa el choque eléctrico, se debe ejecutar en dos fases: el primer choque eléctrico debe pasar por el cerebro, aturdiendo el animal; el segundo, dado una fracción de segundo luego, produce una fibrilación cardíaca, matando al animal. La extensión violenta de las extremidades, provocada por la electrocución, es desagradable de ver.

i) La irradiación por microondas es una técnica relativamente nueva, empleada principalmente por neurobiólogos que desean mantener intacta la composición química, fisiológica, enzimática y anatómica del cerebro del animal (Stavinoha, 1983; Ikarashi, Maruyama y Stavinoha, 1984). La irradiación de microondas debe ser específicamente dirigida al cerebro; por lo tanto, *los hornos de microondas estándares no deben usarse* (Stavinoha, Frazer y Modak, 1977). **Se pueden utilizar solamente los instrumentos que se han diseñado específicamente para este fin y que tienen la potencia y la distribución de microondas adecuadas.**

j) La descompresión de alta altitud se considera como inaceptable por el CCPA. A un momento dado, este método estaba usado por algunas agencias de control de animales y sociedades humanitarias para matar a los gatos y perros indeseables, pero ahora, estos mismos organismos no lo recomiendan (White, 1984). Cuando los animales tienen problemas respiratorios o gastrointestinales, los gases en estas áreas y en los senos se expanden y no pueden ventilarse, causando una angustia y dolor importantes (White, 1984).

k) La exsangüinación (desangramiento del animal) es un procedimiento de eutanasia aceptable solo si el animal está primero vuelto inconsciente, por medios físicos tal como el aturdimiento, o por medios farmacológicos como la inyección de un anestésico (Gregory y Wotton, 1984). El uso de este método debe justificarse científicamente y ser aprobado por una Comité de protección de los animales, que debe haber establecido la competencia técnica de la persona quien aplicará la técnica.

l) La maceración es una técnica que requiere serias restricciones en cuanto al tamaño y a la edad de los animales que puedan someterse a este proceso (Ewbank, 1987). Por ejemplo, se usa para matar ratones recién nacidos, y en algunos gallineros, para matar al exceso de pollitos machos de un día, un procedimiento considerado aceptable por el Ministerio de Agricultura y Agro-Alimentos de Canadá. El equipo se ha diseñado específicamente para este fin y, aunque este procedimiento sea desagradable para observadores, produce la inconsciencia y la muerte instantáneamente cuando usado adecuadamente.

m) El chorro de agua de alta presión ha sido recientemente propuesto para aturdir a los cerdos en mataderos (Schatzmann, Leuenberger, Fuchs *et al.* 1991). Sin embargo, su uso no ha sido revisado por otros expertos capacitados para evaluar las técnicas de matanza.

2. Agentes farmacéuticos non inhalantes

La mayoría de las drogas inyectables usadas como anestésicos son aceptables para la eutanasia, si sobre dosis está exacta. La vía preferida es intravenosa (IV). Se debe al mismo tiempo inmovilizar al animal adecuadamente, para que estuviese tan cómodo como sea posible, para que sufra un mínimo de estrés o de angustia. Para los animales silvestres o para los animales miedosos que no están acostumbrados a la inmovilización se puede administrar previamente un sedativo o un tranquilizante.

Si el animal es demasiado pequeño para recibir inyecciones intravenosas, o si las venas anatómicamente apropiadas no son visibles o evidentes, p. ej., en roedores pequeños y en cobayos, se puede utilizar la vía intraperitoneal (IP) para inyectar una sobre dosis de un agente farmacológico non irritante.

La cantidad a inyectar, con la mayoría de los agentes anestésicos inyectables disponibles es demasiado grande para utilizar las vías intramuscular, subcutánea, intratorácica, intrapulmonar e intratraqueal. La administración por cualquier vía otra que intravenosa resulta, en la mayoría de los casos, en una demorada aparición del efecto anestésico de la droga. En estas circunstancias, es esencial de colocar el animal en una jaula o en un corral, para prevenir heridas provocadas por caídas y tropiezos. Eso asegura que el animal se sienta más cómodo y facilita el efecto de la sobre dosis del anestésico.

a) Los derivados de ácido barbitúrico (barbitúricos) usados como anestésicos son efectivos para producir la eutanasia cuando dados en sobredosis. La acción farmacológica de estas drogas es de provocar una depresión del SNC, comenzando con el cortex cerebral, y progresando a través de las diferentes etapas de la anestesia que producen la inconsciencia. Con una sobre dosis, se produce una anestesia profunda, seguida por apnea cuando el centro respiratorio está deprimido, y por la muerte por paro cardíaco. Algunas combinaciones de los derivados de barbitúricos tienen un efecto tóxico sobre el corazón, pero eso no tiene ninguna consecuencia porque el animal muere antes de que se manifiesten estos efectos sobre las células.

Los barbitúricos son sustancias controladas bajo la reglamentación de la Agencia de las drogas peligrosas, del Ministerio de Salud de Canadá. Como son sustancias controladas, deben almacenarse bajo llave y se debe mantener un registro con las fechas, cantidades usadas y el propósito del uso. A menudo, los derivados del ácido barbitúrico utilizados para eutanasia son coloreados para hacerlos claramente identificables. Las cantidades usadas para eutanasia deberían seguir las recomendaciones del fabricante. El abuso o mal uso, accidental o deliberado, de tales sustancias crea un riesgo importante y una responsabilidad legal inherente. Las personas que poseen tales combinaciones para eutanasia deben proveer las medidas de seguridad adecuadas.

b) El T-61 está fabricado por Hoechst-Roussel Canadá Ltd. (4045 Côte Vertu, Montréal, Quebec, H4R 2E8). Contiene un anestésico local (tetracaína Hcl), un agente hipnótico potente que deprime el SNC, que ocasiona la inconsciencia (muerte cerebral), así como también una droga curariforma que tiene un efecto paralizante sobre el centro de la respiración y un efecto tranquilizador sobre los músculos esqueléticos (Rowell, 1979). Un estudio reciente demostró que la inducción de la parálisis muscular y de la inconsciencia ocurren simultáneamente (Hellebrekers, Baumans, Bertens *et al.* 1990). Estos autores concluyeron que la actividad muscular y la

respuesta vocal que se observa en algunos perros no era una respuesta consciente.

El T-61 debería administrarse por vía intravenosa, respetando la dosis y la velocidad de administración recomendadas por el fabricante. Si no se siguen las instrucciones, es posible que el T-61 produzca una fase de excitación y de vocalización. El T-61 no está registrado o restringido por la Agencia de las drogas peligrosas y puede ser usado por el personal técnico. Sin embargo, debe ser encargado por un veterinario y ser enviado directamente a la clínica veterinaria (Clarke, 1990). Su disponibilidad en otros países ha sido afectada por críticas que originaban principalmente por no haber respetado las dosis y las velocidades de administración recomendadas por el fabricante. Aunque esta droga no esté restringida, las mismas directivas de seguridad se aplican igualmente como para todos los otros derivados del ácido barbitúrico y anestésicos, porque se ha abusado de su uso (Smith y Lewis, 1989).

c) El hidrato de cloral es un anestésico disociante y no produce ningún reflejo corneal o de parpadeo. Entre las dificultades encontradas, mencionamos la acción lenta, dificultades de inmovilización, y la cantidad que debe administrarse. La muerte se debe a una hipoxemia ocasionada por una depresión progresiva del centro de la respiración. Puede ser precedido por jadeos, por espasmos musculares y por vocalización, ocasionando dificultades en inmovilizar confortablemente al animal que se debe eutanasiar. Por lo tanto, **aunque no debe usarse para perros y gatos**, el hidrato de cloral es aceptable para uso intravenoso en animales grandes y es un agente eficiente para la eutanasia de las aves.

Una combinación de hidrato de cloral, de sulfato de magnesio y de pentobarbital de sodio, es un método aceptable de eutanasia cuando administrado en sobre dosis por vía intravenosa a animales domésticos grandes.

d) El hidrocloreto de ketamina también es un anestésico disociante. No se recomienda para eutanasia porque es difícil evaluar lo que constituye una sobredosis.

e) El sulfato de magnesio usado solo es un agente bloqueador neuromuscular (Hevner y de Johng, 1973); sin embargo, no deprime el SNC. El sulfato de magnesio debe usarse únicamente en combinación con derivados de ácido barbitúrico y administrado solo por vía IV. La vía IP no es aceptable a causa de la naturaleza irritante de una solución saturada.

3. Anestésicos por inhalación

Una sobre dosis de anestésicos por inhalación, tales como el éter, el halotan, el metoxifluran, el isofluran y el enfluran, es conforme con los principios de una muerte humanitaria. Su uso, sin embargo, presenta un riesgo para los humanos quienes pueden ser expuestos a sus vapores. Se consideran entonces como un peligro ocupacional (vease también La anestesia, así como Salud y seguridad en el trabajo). Existen cámaras disponibles comercialmente para anestesiarse a los animales con tales gases o, si están expuestos a un exceso de dichos gases, para producir la eutanasia. Se pueden adaptar fácilmente en estas cámaras sistemas de recuperación para quitar el exceso de gases. Además, se pueden preparar máscaras para anestesia que también se adaptan para roedores pequeños. Los vapores se inhalan hasta la que pare la respiración. Luego se averigua si el animal está muerto.

Si no hay otros métodos para administrar los gases anestésicos, se puede usar un algodón empapado con un anestésico por inhalación y colocarlo en un recipiente con el (o los) animal(es) para ser sometidos a la eutanasia. Debido al hecho que los anestésicos por inhalación son líquidos, es esencial que los animales estén expuestos solamente a los vapores, pues esta forma es un irritante local. El sistema debe proveer oxígeno en cantidad suficiente con el vapor del

anestésico para asegurar que un estado de inconsciencia precede la hipoxia.

a) En el pasado, el **cloroformo** y el **éter** estaban generalmente utilizados como anestésicos o, cuando la exposición a sus vapores eran con la concentración y la duración suficientes, para producir la eutanasia. **Sin embargo, el cloroformo no se recomienda más por causa de su potencial carcinógeno, hepatotóxico y nefrotóxico.** El éter es un agente inflamable y explosivo, y nunca se debe utilizar en presencia de llamas o cuando el equipo eléctrico no está protegido y resistente a los choques.

b) **El protóxido de nitrógeno** es un agente de valor para la eutanasia, solamente cuando se combina con otros anestésicos volátiles por inhalación. Es combustible, pero es non inflamable y non explosivo. Con la excepción del éter, la mayoría de los anestésicos por inhalación son caros y exigen mecanismos especiales de emisión de los agentes anestésicos. Por esta razón, su uso como agente eutanásico se limita a las especies animales para cuales es demasiado difícil o imposible de hacer una inyección intravenosa. Además, el uso de anestésicos por inhalación para la eutanasia de animales grandes es muy caro a causa de las cantidades que deben necesarias.

4. Los gases no anestésicos

Los gases no anestésicos incluyen **el monóxido de carbón, el gas carbónico, el nitrógeno, el argón y el cianuro.**

a) **El monóxido de carbón**, aun en concentraciones bajas, puede ser dañino para otros animales y para los humanos expuestos a sus vapores. Como es un gas sin color y sin olor, es difícil de detectar. El monóxido de carbón proveniente del escape de gas de combustión de motores contiene impurezas y, en consecuencia, puede producir irritación y malestar. Entonces, si se elige este gas, tiene que ser non irritante. Ahora, las agencias de control animal y las sociedades humanitarias utilizan raramente el monóxido de carbón para destruir a los gatos y perros indeseables; sin embargo, todavía continúa a ser usado para alguna especie de animales de piel. **En el laboratorio, no se recomienda el uso del monóxido de carbón como agente eutanásico porque presenta algunos problemas de seguridad asociados a su administración** (Chalifoux y Dallaire, 1983).

b) **El nitrógeno y el argón** son gases inertes, ambos incoloros e inodoros, no combustibles y non explosivos. Se considera que tienen un impacto mínimo sobre el medio ambiente o la atmósfera. Ambos se usan en una cámara cerrada siguiendo un proceso llamado “flushing”, durante el cual el pasaje de estos gases reduce los niveles de oxígeno al máximo de 1.5%. A tales niveles de oxígeno, el animal se derrumba, y la muerte se produce por hipoxemia. Sin embargo, los perros, los gatos y los conejos pueden vocalizar a este nivel de 1.5% de oxígeno, además de demostrar un aumento de actividad muscular y de resistencia. El nitrógeno y el argón no producen narcosis antes de aparición de la hipoxia, que llevará a la inconsciencia seguida por la muerte que resulta de la parálisis del centro de la respiración cerebro anóxico. El gas carbónico, por otra lado, puede inducir una narcosis por sus efectos fisiológicos sobre el SNC (Herin, Hall y Fitch, 1978).

Quine, Buckingham y Strunin (1988) demostraron que el uso de la acepromazina como tranquilizante antes de poner a los perros en una cámara de flushing con nitrógeno producía tiempos de supervivencia más largos. Sin embargo, no se dice si esos perros tratados demostraron la misma hiperventilación antes o siguiendo la pérdida de conciencia. Ladridos, sofocación, convulsiones y temblores musculares acompañan habitualmente este proceso. Sin embargo, Chalifoux y Dallaire (1983) concluyeron que la premedicación con tranquilizantes

mejoraba el aspecto humanitario de la eutanasia con monóxido de carbón.

c) El argón es más denso que el aire y así tiende a permanecer en las capas de aire más bajas; sin embargo, el nitrógeno como el argón no tienen propiedades analgésicas o anestésicas.

d) El gas carbónico (CO₂) se usa frecuentemente para matar los roedores y los pájaros en el laboratorio. Aunque sea un componente del aire ambiente, el CO₂ puro es más pesado que el aire y prácticamente inodoro. Se concentra en la parte inferior de la cámara de eutanasia, y la ratas y otros animales cavadores tienden a guardar su nariz en la zona más baja que contiene concentraciones adecuadas del gas.

Su uso como eutanásico (desde un punto de vista humanitario) depende si está en la concentración suficiente para producir la narcosis. Algunas manipulaciones son necesarias para llegar fisiológicamente a mantener esta concentración al nivel correcto, pero producirá una narcosis y, si los niveles de oxígeno no se incrementan, conducirá a la muerte. El gas carbónico también estimula el centro respiratorio en el cerebro y en bajas concentraciones de hasta 10% de gas inhalado, se considera como un estimulante respiratorio potente que ocasiona un aumento en el valor de ventilación y una profunda desamparo respiratorio. La estimulación del centro de la respiración produce una hiperventilación, afectando críticamente la aparición de la narcosis al CO₂. Con una concentración de aproximadamente 40%, el CO₂ induce la anestesia que se manifiesta lentamente y que está acompañada por excitación involuntaria. Eventualmente, se produce una apnea, una caída en la presión sanguínea, y la muerte (Ontario Ministry of Agriculture and Food Memo to Pound Operators and Veterinarians in Ontario, August 12, 1987). Britt (1986) descubrió que la inducción lenta de la narcosis es preferible, porque el uso de una cámara ya llena con CO₂, o la inyección demasiado rápida de CO₂ en la cámara, puede provocar señales evidentes de angustia en los animales. Sin embargo, concluyó que ninguno de estos métodos (lento o rápido) está exentado de estrés, así que ninguna recomendación puede ser un consejo de excelencia.”

McArthur (1976) describió método de eutanasia con gas carbónico de animales pequeños, incluyendo gatos, cachorros, ratones, ratas, gerbos, cobayos y hámsteres. En este estudio, con niveles de oxígeno de 31 a 33% y de CO₂ de 56 a 63%, la inconsciencia se produjo en menos de un minuto, sin que los animales hayan manifestado señales de angustia. La anestesia quirúrgica profunda se produjo dejando a los animales en este ambiente durante un período de exposición de tres minutos. Una vez alcanzado el nivel de anestesia quirúrgica profunda, el abastecimiento de oxígeno se interrumpió y el CO₂ llenó la cámara de anestesia.

El gas carbónico puede comprarse en cilindros o en estado sólido, como hielo seco. Es relativamente barato, no inflamable, no explosivo y esencialmente sin riesgos. No representa ningún peligro para el operador o los asistentes cuando se utiliza con el equipo adecuadamente diseñado y en un lugar bien ventilado.

Los criterios esenciales para producir una narcosis con CO₂ son de mantener el nivel de oxígeno cerca de, o ligeramente más abajo de los niveles normales de aire, y de aumentar el porcentaje de gas carbónico en el aire. Es importante saber que los animales recién nacidos, que hayan vivido en un ambiente con bajos niveles de oxígeno antes del parto, requieren niveles más altos de gas carbónico a fin de provocar una muerte humanitaria. Por lo tanto, se debería dejar a los animales recién nacidos en las cámaras de gas carbónico por al menos media hora después de que hayan cesado todo movimiento.

El gas carbónico no se acumula en los tejidos; entonces, no hay residuos en animales de consumo. Tampoco ocasionan daños en las células, que aparecen normales bajo el examen microscópico.

Los perros, gatos y los otros animales más grandes con un comportamiento inquieto se estiran frecuentemente la cabeza arriba la zona efectiva de CO₂, exponiéndose así a

concentraciones que excitan más bien que deprimen el SNC. Eso conduce a algunos animales a hiperventilar, a luchar, tambalear y a caerse. El elemento importante es de mantener una distribución uniforme de CO₂ en la cámara de eutanasia, lo que requiere un equipo adicional.

El gas carbónico no es efectivo para matar a los mamíferos nadadores, que se han adaptado a un ambiente relativamente anaeróbico. Se requiere usar de CO₂ puro para matar a un visón. El gas carbónico se usa también en cerdos para aturdirlos antes de la matanza (Gregory, Moss y Leeson, 1987).

e) El cianuro de potasio es un agente paralizante muy potente del centro de la respiración. Es uno de los venenos que actúa más rápidamente. La muerte parece casi instantánea e irreversible, por causa de la producción de una anoxia rápida y de una depresión del SNC. **Sin embargo, la muerte por la exposición al gas de cianuro no está considerada como humanitaria, porque ocurren convulsiones o temblores antes de la muerte. También, a causa del peligro extremo asociado con su uso, el cianuro no está recomendado como un método de eutanasia en el laboratorio.**

F. ESPECIFICIDADES DE ESPECIES

Además de los métodos de eutanasia para las especies comunes de experimentación descritos anteriormente, lo que sigue se aplica a las especies animales mencionadas:

1. Anfibios, peces y reptiles

El método más usado para realizar la eutanasia a los anfibios, a los peces y a los reptiles consista en aturdirlos, usando el método descrito anteriormente para los vertebrados y los mamíferos terrestres. Esto puede ser seguido por decapitación o aplastamiento de la cabeza.

El pentobarbital de sodio y los derivados del ácido barbitúrico pueden ser utilizados por vía intravenosa o inyectados directamente en las cavidades abdominal o pleuroperitoneal con una gran parte de los animales de sangre fría, mientras lo permite su anatomía. El metanosulfonato de triciano (MS-222) puede ser administrado por una variedad de vías para inducir la eutanasia. Para los mamíferos acuáticos, así también como para los anfibios y peces, este material puede ponerse en el agua. Como alternativa, con grandes peces, una cubre-agallas se pone sobre las agallas y una concentración de MS-222 se derrama sobre las agallas. El hidrócloro de benzocaína es un producto parecido al MS-222 y puede usarse en forma de baño o dentro de un sistema de recirculación para realizar la eutanasia a los peces.

Es importante tomar en cuenta que muchos expertos en estudios sobre anfibios y reptiles aprueban el uso del frío para la anestesia de estos animales. La congelación subsiguiente o la decapitación no se considera dolorosa; desafortunadamente, no hay evidencia que el enfriamiento a 4°C disminuye el umbral del dolor (Cooper, Ewbank, Platt *et al.* 1989). Cooper (1986) afirma que la hipotermia debería ser instantánea aunque sea indolora.

Los anestésicos por inhalación, tales como el halotán, el metoxifluran, etc., pueden usarse para matar a los reptiles y anfibios, en una cámara o con una máscara bien ajustada. Hay que averiguar que los animales murieron después de la aplicación de este método.

El gas carbónico no es apropiado para todas las especies y las concentraciones deben ser mantenidas a niveles altos. Muchos mamíferos semi-acuáticos y terrestres, así también como los reptiles y los anfibios, están acostumbrados a vivir sin oxígeno y son tolerantes a la hipoxia. Por eso, tienen una capacidad anaeróbica enorme (Hochachka, 1980) (vease también Vertebrados silvestres en el campo y en laboratorio, en el capítulo 22 del Volumen 2 de este *Manual* [CCAC, 1984]).

La decapitación como medio de matar anfibios y reptiles es inaceptable por causa de las diferencias fisiológicas (Cooper, Ewbank, Platt *et al.* 1989; AVMA, 1986).

2. Animales domésticos matados para consumo

Aunque este capítulo trate primero de los animales de experimentación, existe ocasiones donde los animales domésticos utilizados en los estudios de producción o, en algunos casos, en los estudios biomédicos, serán eventualmente matados para su valor comestible. Aunque no apliquemos el término “eutanasia” cuando matamos tales animales, los principios enunciados acá o, en otros documentos, se aplican: es esencial darles un tratamiento humanitario. En Norte América, el término “matanza humanitaria” se usa habitualmente, mientras que en el Reino Unido, el término usado es “matanza después del aturdimiento” (Cockram y Corley, 1991; Ewbank, Parker y Mason, 1992; Knowles y Warriss, 1992). Las manipulaciones antes de la matanza, la demora para llevar el animal al matadero, la demora para aturdirlo y el diseño adecuado del equipo de inmovilización, influyen en el nivel de tensión durante la manipulación, el aturdimiento y la matanza (Grandin, 1992a; 1992b). Gregory y Wotton (1990) compararon la dislocación cervical con la percusión en pollos.

Toda la matanza de animales de consumo debe ser bajo la legislación federal (Agriculture Canada, Ley sobre Inspección de Carne S.C. 1985, C17 [Mayo 1985, Parte 2, Artículo 39, para 851078S14]; la Ley (federal) sobre la salud animal [C-66, junio 1990, 3839 Elizabeth II, capítulo 21]). Además, la matanza hace parte de los códigos de práctica del Ministerio de Agricultura y Agro-Alimentos de Canadá sobre las diversas especies de ganado (Agriculture Canada, 1757/E, 1989b; 1853/E, 1990; 1870/E, 1991; 1898/E, 1993; CARC, 1996; 1998a; 1998b), los visones y los zorros (Agriculture Canada, 1819/E, 1988 y 1831/E, 1989a) y de las leyes provinciales (vease Legislación). Se debe cumplir con las leyes provinciales sobre la matanza humanitaria, a donde existen, así como con los reglamentos municipales y locales.

3. Animales de piel

Los visones, los zorros, las chinchillas, las nutrias y el oposum sirven a menudo de animales de experimentación. Los métodos enumerados anteriormente pueden aplicarse a la matanza de estas especies. Los visones son generalmente matados con monóxido de carbono, gas carbónico y nitrógeno (Hansen, Creutzberg y Simmonson, 1991) o reciben una descarga eléctrica seguida por una dislocación cervical.

G. EFECTOS DE LOS MÉTODOS DE EUTANASIA SOBRE LOS TEJIDOS

Estos efectos pueden ser o directos o indirectos. Pueden afectar solamente algunos elementos del compartimiento intravascular o de los tejidos fijos, influyendo así los hallazgos histológicos o electro-microscópicos. En la mayoría de los casos, la muerte sucede tan rápidamente que los cambios electro-microscópicos son inexistentes o minúsculos. Generalmente, la preocupación de los investigadores que suceden cambios histocitotóxicos resulta sin fundamento.

1. Efectos directos

En general, los efectos directos de la eutanasia son sutiles o inexistentes, particularmente con los agentes farmacológicos que no son administrados por inhalación. Los cambios producidos por métodos que causan la anoxia dependen de la rapidez de la inducción del estado anóxico, y

resultan de cambios en los gases de la sangre. Por ejemplo, el edema y la congestión pulmonar pueden observarse de inmediato cuando el animal está en estado anóxico. Sin embargo, el grado de congestión y de edema depende de la rapidez de la muerte.

Cuerpos lamelares en las células de Purkinje del cerebelo ha sido observados en algunos perros bajo el efecto de una anestesia hipóxica y sometidos a una descompresión rápida (Bowman, Cooke y Carry, 1969). No se ha estudiado adecuadamente la secuencia de los eventos morfológicos y bioquímicos que conducen al trauma hipóxico de las neuronas y las células gliales (Kim, 1975). Además, nada indica que los cambios hipóxicos producidos por el gas carbónico hace que no se pueda proceder a los exámenes de rutina de los tejidos de las vías respiratorias (Fawell, Thompson y Cooke, 1972).

Los barbitúricos se ionizan en seguida cuando inyectados en la red intravascular. El grado de ionización dependerá de la constante de disociación de la droga y del Ph de la sangre. La penetración celular puede ocurrir únicamente con un agente no disociado. Después de la penetración en la célula, la disociación ocurre nuevamente y la droga se fija a los organitas intracelulares. **Nunca se describieron los cambios en los tejidos debidos a la penetración celular y al la fijación intracelular de los barbitúricos.** Mientras que los barbitúricos se unen con las proteínas plasmáticas para establecer un equilibrio entre las partículas ligadas y no ligadas de la droga en la circulación, se produce una dilatación esplénica acompañada de una secuestación de los glóbulos rojos en el vaso, cuyo volumen incrementa y tomará un color azul-negro (Lumb, 1974).

2. Efectos indirectos

Los efectos indirectos más importantes se deben a la hipoxia de los tejidos siguiendo la muerte del animal. Entonces, es indispensable que los tejidos para examen histológico y electro-microscópico sean preparados en seguida después de la muerte del animal.

Los requerimientos en oxígeno de los tejidos varían mucho. Son los daños a las neuronas del SNC que aparecen lo más rápidamente, pero dependen del grado de hipoxia de los tejidos y del tiempo que transcurrió entre la muerte y la preparación de los tejidos. Los cambios que causa la hipoxia a las neuronas son identificados por microscopia electrónica.

En esos tejidos cuyos requerimientos en oxígeno no son tan grandes como los de las neuronas (p. ej., osteocitos, condrocitos de hueso y de cartílago, u otro tejidos menos sensibles al oxígeno), los cambios pueden ser difíciles de detectar, aun por microscopia electrónica.

La manipulación apropiada del animal antes de la muerte, con el procesamiento inmediato de tejidos después de la muerte, son factores importantes para obtener las mejores imágenes electrónicas con cambios mínimos.

H. EFECTOS SOBRE OBSERVADORES

Tenemos que admitir que muchas personas manifiestan una inquietud emocional, un malestar o una angustia, física y psicológica, cuando se matan a los animales, aún cuando se aplica un método humanitario. Por ejemplo, en 1987, el Informe de la Comisión Malouf sobre focas y caza de focas estableció que, aunque el método utilizado para matar focas (golpeando la cabeza del animal con un "hakupik") había sido reconocido como siendo humanitario por numerosos patólogos veterinarios, el público consideró el acto repugnante. Durante más de una década, la foca blanca del Golfo del San Lorenzo o de la Front of St. Anthony, Terranova, era el único animal que el público había visto matar por televisión.

Los observadores sin experiencia pueden mal interpretar cualquier movimiento, vocalización, o reflejos como indicadores de dolor y de angustia. Por lo tanto, es preferible que

los métodos eutanasia, además de permitir una muerte humanitaria, minimice o elimine tales movimientos involuntarios .

En los últimos años, se ha reconocido el efecto que tiene la eutanasia sobre las personas que tienen que llevarla a cabo (p. ej., trabajadores de sociedad es humanitarias, veterinarios animales de laboratorio, técnicos y otros) (Rollin, 1986; Rollin y Kesel, 1990; Grier y Colvin, 1990). Arluke (1992) mencionó que, naturalmente, la inquietud era particularmente perceptible entre los recién llegados; con trabajadores experimentados, era muy común entre los cuidadores de animales; ocurría entre los técnicos, pero era relativamente raro entre los veterinarios y los científicos. Owens, Davis y Smith (1981) notaron que las personas que debía realizar la eutanasia a los animales habían desarrollado maneras y medios de controlar sus emociones evitando los contactos innecesarios con los animales o creyendo que matando al animal le evita sufrimientos adicionales.

Los trabajadores pueden aceptar (y aceptarán) que, cuando un animal demuestra señales de dolor y de angustia que no puede aliviarse, debe matarse. En esto, sus actitudes difieren poco de las de un propietario de un animal de compañía y que tiene que enfrentar decisiones similares. Como este, el empleado puede sentir lástima. Por lo tanto, es importante de establecer una buena comunicación con todos los miembros de personal, siendo atento para escuchar y apoyar a las personas que sienten ansiedad o inquietud. Es importante que tales “sentimientos” no se supriman en una organización de investigación. Los empleados deberían ser conscientes que, sin considerar el propósito del estudio experimental, en un tiempo dado, el animal debe destruirse de manera humanitaria. La organización de seminarios o de talleres para ayudar el personal a enfrentar la muerte de los animales puede ser muy útil.

I. DECLARACIONES SOBRE LA EUTANASIA–OTROS ORGANISMOS

Tal como relatado anteriormente, el *Report of the AVMA Panel on Euthanasia* ha sido publicado recientemente (AVMA, 1993). Además, el *U.S. National Research Council* (NRC, 1991) ha discutido de esta cuestión. También se menciona la eutanasia en el U.K.'s Universities Federation for Animal Welfare *Report on Euthanasia of Unwanted, Injured or Diseased Animals for Education or Scientific Purposes* (UFAW, 1986), en su *Humane Slaughter of Animals for Food* (UFAW, 1987) y en el Britain's Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 (Balls, 1986; McKie, 1986; Fisher, 1990). El *Australian Council for the Care of Animals in Research and Teaching* ha preparado una bibliografía que incluye algunos trabajos sobre la eutanasia (ACCART, 1991). También se llama la atención sobre el *Field Research Guidelines* (Orlans, 1988) que da una lista de algunas directrices (ASM, 1987; AOU, 1988; ASIH, HL, SSAR, 1987; ASIH, AFS, AIFR, 1987; Zwart, deVries y Cooper, 1989).

J. REFERENCIAS

AGRICULTURE CANADA. Publication 1819/E. Recommended code of practice for the care and handling of mink. Communications Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Ont., K1A 0C7. 1988: 16-18.

IBID. Publication 1831/E. Recommended code of practice for the care and handling of ranched fox. 1989a: 17-18.

IBID. Publication 1757/E. Recommended code of practice for the care and handling of poultry from hatchery to processing plant. 1989b: 15.

IBID. Publication 1853/E. Recommended code of practice for the care and handling of dairy cattle. 1990: 36-37.

IBID. Publication 1870/E. Recommended code of practice for the care and handling of farm animals–beef cattle. 1991: 35.

IBID. Publication 1898/E. Recommended code of practice for the care and handling of farm animals–pigs. 1993: 43-44.

ALLRED, J.B. and BERNTSON, G.G. Is euthanasia of rats by decapitation inhumane? *J. Nutr.* 1986; 116: 1859-1861.

AMERICAN ORNITHOLOGISTS' UNION. Report of Committee on use of wild birds in research. *AUK* 1988; 105 (1 suppl.): 1A-41A.

AMERICAN SOCIETY OF ICHTHYOLOGISTS AND HERPETOLOGISTS, THE HERPETOLOGISTS' LEAGUE, and THE SOCIETY FOR THE STUDY OF AMPHIBIANS AND REPTILES. Guidelines for the use of live amphibians and reptiles in field research. *J. Herpetol.* 1987; 4 (suppl.): 1-14.

AMERICAN SOCIETY OF ICHTHYOLOGISTS AND HERPETOLOGISTS, AMERICAN FISHERIES SOCIETY, AMERICAN INSTITUTE OF FISHERIES RESEARCH BIOLOGISTS. Guidelines for the use of fishes in field research. *Copeia* (suppl.) 1987: 1-12.

AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS. Acceptable field methods in mammalogy; preliminary guidelines approved by the American Society of Mammalogy. *J. Mammal.* 1987; 68(4) (suppl.): 1-18.

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. 1986 Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986; 188(3): 252-268.

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. 1993 Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993; 202(2): 229-249.

ANON. EEG used to establish brain death in children. *Medical Post* 1987 September 15: 38 (as cited in *Neurology*, June, 1987).

ARLUKE, A. Trapped in a guilt cage. How do scientist and technicians avoid getting close to the animals they work with? Research in the U.S. reveals strategies that help them keep their distance. *New Scientist* 1992 April 4: 33-35.

AUSTRALIAN COUNCIL FOR THE CARE OF ANIMALS IN RESEARCH AND TEACHING. The care and use of animals for scientific purposes. A selected bibliography. Canberra, Aust.: ACCART, 1991: 34-36. (c/o Australian Vice-Chancellor's Committee, GPO Box 1142, Canberra, Australia ACT 2601.)

BALLS, M. Animals (Scientific Procedures) Act 1986: The Animal Procedures Committee. *ATLA (Alternatives To Live Animals)* 1986; 14: 6-13.

BATESON, P. Assessment of pain in animals. *Anim. Behav.* 1991; 42: 827-839.

BENNETT, B.T., BROWN, M.J. and SCHOFIELD, J.C. Euthanasia. In: Bennett, B.T., Brown, M.J. and Schofield, J.C., eds. *Essentials for animal research: A primer for research personnel.* Beltsville, MD: National Agriculture Library, 1990: 89-99.

BEYNEN, A.C. Communication between rats of experiment-induced stress and its impact on experimental results. *Animal Welfare* 1992; 1: 153-159.

BOWMAN, R.W., COOKE, J.P. and CARRY, H.W. Electronmicroscopy of canine cerebellar Purkinje cells after rapid decompression to a near-vacuum. *Aerospace Med.* 1969; 40: 869.

BRITT, D.P. The humaneness of carbon dioxide as an agent of euthanasia of laboratory rodents. In: *Euthanasia of unwanted, injured, or diseased animals or for educational or scientific purposes.* Herts, U.K.: Universities Federation for Animal Welfare, 1986: 19-31. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

CANADIAN AGRI-FOOD RESEARCH COUNCIL. Recommended code of practice for the care and handling of farmed deer (Cervidae). Canadian Venison Council, Ottawa, Ont., K1P 5H7. 1996: 18.

IBID. Recommended code of practice for the care and handling of farm animals—veal calves. Ontario Veal Association, Guelph, Ont., N1K 1B1. 1998a: 19.

IBID. Recommended code of practice for the care and handling of farm animals—horses. CARC, Ottawa, Ont., K1A 0C6. 1998b: 20.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. Wild vertebrates in the field and in the laboratory. In: *Guide to the care and use of experimental animals.* Vol. 2. Ottawa, Ont.: CCAC, 1984: 191-208.

CANADIAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. Position statement on euthanasia. *Directory of Canadian veterinarians.* Ottawa, Ont.: CVMA, 1988: B7.

CHALIFOUX, A. and DALLAIRE, A. Physiologic and behavioural evaluation of CO₂ euthanasia of adult dogs. *Amer. J. Vet. Res.* 1983; 44: 2412-2417.

CLARKE, R. (letters) Purchase of T-61 euthanasia fluid by humane societies. *College of Veterinarians of Ontario Update* 1990; August/September: 6.

CLIFFORD, D.H. Preanesthesia, anesthesia, analgesia and euthanasia. In: Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M., eds. *Laboratory animal medicine.* New York, NY: Academic Press, 1984: 528-563.

COCKRAM, M.S. and CORLEY, K.T.T. Effect of pre-slaughter handling on behaviour and blood composition of beef cattle. *Brit. Vet. J.* 1991; 147: 444-454.

COOPER, J.E. Euthanasia of captive reptiles and amphibians: report of the UFAW/WSPA Working Party. In: *Euthanasia of unwanted, injured, or diseased animals or for educational or scientific purposes.* Herts, U.K.: Universities Federation for Animal Welfare, 1986: 34-38. (8

Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

COOPER, J.E., EWBANK, R., PLATT, C. and WARWICK, C. Euthanasia of amphibians and reptiles. Herts, U.K.: Universities Federation for Animal Welfare; London, U.K.: World Society for the Protection of Animals, 1989.

DAWKINS, M.S. Animal suffering. The science of animal welfare. London: Chapman and Hall, 1980.

DAWKINS, M.S. From an animal's point of view: motivation, fitness and animal welfare. *Behav. Brain Sci.* 1990; 13: 1.

DENNIS, M.B., DONG, W.K., WEISBROD, K.A. and ELCHLEPP, C.A. Use of captive bolt as a method of euthanasia in larger laboratory animal species. *Lab. Anim. Sci.* 1988; 38(4): 459-462.

DERR, R.F. Pain perception in decapitated rat brain. *Life Sci.* 1991; 49(19): 1399-1402.

DUNCAN, I.J.H. and PETHERICK, J. The implications of cognitive processes for animal welfare. *J. Anim. Sci.* 1991; 69: 5017-5022.

EBEDES, H. The sedation of wild animals for translocation. In: *Proc. 14th International Conference, Animal Air Transportation Association.* Amsterdam, The Netherlands: AATA, 1988: 141-151.

EIKELENBOOM, G., ed. *Stunning of animals for slaughter.* Boston, MA, The Hague: Nijhoff Publishers, 1983.

EWBANK, R. Euthanasia of day old chicks; Carbon dioxide and carbon dioxide/air mixtures. In: *Universities Federation for Animal Welfare. Euthanasia of unwanted, injured and diseased animals for educational or scientific purposes.* Herts, U.K.: Universities Federation for Animal Welfare 1987: 11-14. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

EWBANK, R., PARKER, M.J. and MASON, C.W. Reactions of cattle to head restraint at stunning. *Animal Welfare* 1992; 1(1): 55-63.

FAWELL, J.K., THOMSON, C. and COOKE, L. Respiratory artifact produced by carbon dioxide and pentobarbitone sodium euthanasia in rats. *Lab. Anim.* 1972; 6: 321.

FISHER, C. Stepping up the pace. *Liberator* 1990 Autumn: 20-21.

FLECKNELL, P.A. The relief of pain in laboratory animals. *Lab. Anim.* 1984; 18: 147-160.

FOSSE, R.T. Pain, pain recognition and treatment in laboratory animals. *Lab. Zhivotnye* 1991; 1(3): 81-83.

GRANDIN, T. Observations of cattle restraining devices for stunning and slaughtering. *Animal Welfare* 1992a; 1(2): 85-90.

GRANDIN, T. (letters) Some thoughts about cattle restraint. *Animal Welfare* 1992b; 1(3): 230-

231.

GREGORY, N.G. and WOTTON, S.B. Timed loss of brain responsiveness following exsanguination in calves. *Res. Vet. Sci.* 1984; 37: 141-143.

GREGORY, N.G. and WOTTON, S.B. Comparison of neck dislocation and percussion of the head on visual evoked responses in the chicken's brain. *Vet. Rec.* 1990; 126(23): 570-571.

GREGORY, N.G., MOSS, B.W. and LEESON, R.H. An assessment of carbon dioxide stunning in pigs. *Vet. Rec.* 1987; 121(22): 517-518.

GRIER, R.L. and COLVIN, T.L., eds. *Euthanasia guide for animal shelters*. 3rd Ed. Ames, IA: Moss Creek Pubs., 1990: 41-42. (R.R. No. 1, Arrowsmith Trail Publication, Ames, IA.)

HANSEN, N.E, CREUTZBERG, A. and SIMMONSON, H.B. Euthanasia of mink (*Mustela vison*) by means of Carbon dioxide (CO₂), Carbon monoxide (CO), and Nitrogen (N₂). *Brit. Vet. J.* 1991; 147: 140-146.

HELLEBREKERS, L.J., BAUMANS, V., BERTENS, A.P.M.G. and HARTMAN, W. On the use of T-61 for euthanasia of domestic and laboratory animals: An ethical evaluation. *Lab. Anim.* 1990; 24: 200-220.

HERIN, R.A., HALL, P. and FITCH, J.W. Nitrogen inhalation as a method of euthanasia in dogs. *Amer. J. Vet. Res.* 1978; 39: 989-991.

HEVNER, J.E. and DEJOHNG, R.H. Magnesium electroencephalographic and behavioural effects in cats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1973; 31: 308.

HOCHACHKA, P.W. *Living without oxygen. Closed and open systems in hypoxia tolerance*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1980.

IKARASHI, Y., MARUYAMA, Y. and STAVINOHA, W.B. Study of the use of the microwave magnetic field for the rapid inactivation of brain enzymes. *Japan J. Pharmacol.* 1984: 371-387.

KIM, S.U. Brain hypoxia studied in mouse central nervous system cultures I. Sequential cellular changes. *Lab. Invest.* 1975; 33: 658.

KNOWLES, T.G. and WARRISS, P.D. (letters) The use of blood cortisol levels as a measure of short-term stress. *Animal Welfare* 1992; 1(1): 229.

LONGAIR, J.A., FINLEY, G.G., LANIEL, M.A., MACKAY, C., MOULD, K., OLFERT, E.D., ROWSELL, H. *et al.* Guidelines for euthanasia of domestic animals by firearms. *Can. Vet. J.* 1991; 32: 724-726.

LUMB, W.V. Euthanasia by noninhalant pharmacologic agents. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 1974; 165: 851-855.

McARTHUR, J.A. Carbon dioxide euthanasia of small animals (including cats). In: *Humane destruction of unwanted animals*. Herts, U.K.: Universities Federation for Animal Welfare, 1976:

9-17. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

McKIE, D. The Animals (Scientific Procedures) Act 1986. *The Lancet* 1986 March 1: 513.

MIKESKA, J.A. and KLEMM, R.R. EEG evaluation of humaneness of asphyxia and decapitation euthanasia of the laboratory rat. *Lab. Anim. Sci.* 1975; 25: 175-179.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Euthanasia. In: *Education and training in the care and use of laboratory animals. A guide for developing institutional programs.* Washington, DC: National Academy Press, 1991: 67-74.

ORLANS, F.B., ed. *Impact on animal care and use committees. Field research guidelines.* Bethesda, MD: SCAW (Scientists Center for Animal Welfare), 1988: 1-2. (4805 St. Elmo Ave., Bethesda, MD 20814.)

OWENS, C.E., DAVIS, R. and SMITH, B.H. The psychology of euthanizing animals: The emotional components. *J. Inst. Stud. Anim. Prob.* 1981(2); 1: 19.

QUINE, J.P., BUCKINGHAM, W. and STRUNIN, L. Euthanasia of small animals with nitrogen; comparison with intravenous pentobarbital. *Can. Vet. J.* 1988; 29(9): 724-726.

ROLLIN, B.E. Euthanasia and moral stress. In: *Suffering. Psychological and social aspects in loss, grief and cure.* DeBellis, R. *et al.*, eds. New York, NY: Howorth Press, 1986.

ROLLIN, B.E. and KESEL, M.L., eds. *The experimental animal in biomedical research. Volume 1.* Boca Raton, Ann Arbor, Boston, MA: CRC Press, 1990.

ROWSELL, H.C. Euthanasia: The final chapter. In: *Proc. second symposium on the pet and society, Vancouver, B.C.* Toronto: Standard Brands Food Company, 1979: 125-139. (Dr. Ballard's Pet Food Division, Standard Brands Food Company, 1 Dundas St. W., Toronto, Ont. M5G 2A9.)

ROWSELL, H.C. Euthanasia: acceptable and unacceptable methods of killing. In: Rollin, B.E. and Kesel, M.L., eds. *The experimental animal in biomedical research, Vol. 1.*, Boca Raton, Ann Arbor, Boston, MA: CRC Press, 1990: 381-391.

ROWSELL, H.C. The future of control of pain in animals used in teaching and research. In: Short, C.E. and Van Poznak, A., eds. *New York, Edinburgh, London, Melbourne, Tokyo:* Churchill Livingstone, 1992: 525-537.

RUSSELL, W.M.S. and BURCH, R.L. *The principles of humane experimental technique.* London: Methuen. Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), Potters Bar, Herts, UK: England. Special edition, 1992: 238.

SCHATZMANN, U., LEUENBERGER, T., FUCHS, P. *et al.* Jet injection: The possibility of using a high pressure water jet for stunning of slaughter pigs. *Fleischwirtschaft* 1991; 71: 899-901.

SHORT, C.E. and VAN POZNAK, A., eds. *Animal pain.* New York, Edinburgh, London, Melbourne, Tokyo: Churchill Livingstone, 1992.

SMITH, R.A. and LEWIS, D. Suicide by ingestion of T-61. *Vet. Hum. Toxicol.* 1989; 31(4): 319-320.

STAVINOHA, W.B., FRAZER, J. and MODAK, A.T. Microwave fixation for the study of acetylcholine metabolism. In: Jenden, D.J., ed. *Cholinergic mechanisms and psychopharmacology*. New York, NY: Plenum Publishing Corporation, 1977: 169-179.

STAVINOHA, W.B. Study of brain neurochemistry utilizing rapid inactivation of brain enzyme activity by heating and microwave radiation. In: Black, C.L., Stavinoha, W.B. and Maruyama, Y., eds. *Microwave radiation as a tool to study labile metabolites in tissue*. Elmsford, NY: Pergamon Press, 1983: 1-12.

UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE. Physical methods. In: *Humane killing of animals*. 2nd Ed. Herts, U.K.: UFAW, 1968: 4-14. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE. Report on euthanasia of unwanted, injured or diseased animals for education or scientific purposes. Herts, U.K.: UFAW, 1986. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE. Humane slaughter of animals for food. Herts, U.K.: UFAW, 1987. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE. Humane killing of animals. 4th Ed. Herts, U.K.: UFAW, 1988. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

VANDERWOLF, C.H., BUZSAKI, G., CAIN, D.P., COOLEY, R.K. and ROBERTSON, B. Neocortical and hippocampal electrical activity following decapitation in the rat. *Brain Res.* 1988; 451: 340-344.

WALL, P. Neglected benefits of animal research. *New Scientist*, April 18, 1992.

WATTS, R.Z. The development of a captive bolt instrument for killing horses. In: *Universities Federation for Animal Welfare. Humane destruction of unwanted animals*. Herts, U.K.: UFAW, 1976: 25-27. (8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts, England EN6 3QD.)

WHELAN, G. and FLECKNELL, P.A. The assessment of depth of anesthesia in animals and man. *Lab. Anim.* 1992; 26: 153-162.

WHITE, D.J. High altitude euthanasia is not recommended. *American Humane Shop Talk* 1984; 2(2): 1.

ZWART, P., DEVRIES, H.R. and COOPER, J.E. The humane killing of fishes, amphibia, reptiles and birds. *Tijdschr Diergeneskd* 1989; 114: 557-565.

ZWEIGHAFT, H.M. (letters) Euphemisms for "euthanasia". *Can. Vet. J.* 1990; 31: 611.

