



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria



AGRADECIMIENTOS

Al grupo GITMI, por darme la oportunidad de llevar a cabo este estudio con los animales usados en su “Máster en Técnicas Intervencionistas Mínimamente Invasivas Guiadas por Imagen”.

A mis tutores, Alicia Laborda, que a pesar de su ocupada agenda, me ha ayudado y enseñado todo lo necesario para este estudio, que salió de una visita al apartamento en el momento menos oportuno. Y a Sara Fuente, por ayudarme en todo lo posible y enseñarme en todos los aspectos habidos y por haber, además de calmarme en los momentos de desesperación.

A Nacho de Blas, por el asesoramiento estadístico sin el que no habríamos podido hacer este trabajo.

A mis compañeros, o más bien mi familia de caballos, por estar siempre ahí, animando las visitas al hospital y haciendo mucho más entretenido el trabajo. Y en especial a Vanessa, la que más ha tenido que aguantarme y relajarme en los momentos en los que nada estaba claro, pero siempre haciendo de las nuestras incluso sin ser necesario decir nada.

A Sandra, María y Esther, por estar siempre ahí e intentar comprender que aunque apenas me vean por casa sigo siendo parte de nuestra pequeña familia.

A Alina, gracias a la cual he llegado hasta este punto de la carrera sin perder la cabeza, y a Joaquín, por buscar siempre el lado positivo de las cosas y convertir cualquier excusa en motivo de celebración

ÍNDICE

1. RESUMEN/ ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. LA EUTANASIA	4
2.2. GENERALIDADES SOBRE MÉTODOS EUTANÁSICOS	5
2.3. MÉTODOS Y PRODUCTOS EUTANÁSICOS	7
2.3.1. Pentobarbital sódico	7
2.3.2. T-61	8
2.3.3. Cloruro potásico	9
2.3.4. Anestésicos inhalatorios	9
2.3.5. Métodos físicos	10
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	11
4. METODOLOGÍA	11
4.1. DESVIACIONES DEL PROTOCOLO	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
6. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS	27
7. VALORACIÓN PERSONAL	29
8. BIBLIOGRAFÍA	30

1. RESUMEN/ ABSTRACT

La eutanasia es un procedimiento habitual en medicina veterinaria que debe realizarse bajo unas condiciones éticas que minimicen el sufrimiento animal. En este trabajo se compararon dos productos: T-61® (cuyos principios activos son embutramida, ioduro de mebezonio e hidrocloruro de tetracaína) y Dolethal® (pentobarbital sódico) con el objeto de valorar qué método de eutanasia es superior, alcanzando más rápido la muerte cerebral irreversible con menos signos clínicos externos y menor sufrimiento para el animal.

Se realizó un estudio experimental ciego aleatorizado en cerdos (*Sus scrofa domesticus*) provenientes del “Máster en Técnicas Intervencionistas Mínimamente Invasivas Guiadas por Imagen” de la Universidad de Zaragoza (Grupo A - T61, n=5; Grupo B - Dolethal, n=6) que se eutanasiaron mientras se encontraban bajo anestesia general con monitorización completa (electrocardiograma, pulsioximetría, presión arterial cruenta, capnografía e índice biespectral).

Se estudiaron el tipo de parada cardíaca, los tiempos de desaparición de las constantes vitales y la actividad cerebral, signos clínicos externos (cambios de coloración, temblores, estertores, movimientos espasmódicos...), las cantidades requeridas, la repetición de dosis y el precio final de ambos productos. Se analizaron los datos obtenidos y se realizó un estudio estadístico mediante SPSS.

Ambos productos consiguieron la muerte del animal, si bien con el producto A fue necesario utilizar mayor dosis que la recomendada por el fabricante en varias ocasiones. Todas las paradas se produjeron por fibrilación en el Grupo A y este producto fue más rápido en la instauración de la apnea. Sin embargo todos los parámetros cardiovasculares y cerebrales se mantuvieron durante más tiempo, siendo muy significativa la diferencia en el tiempo de muerte cerebral ($16,15 \pm 11,53$ min en A vs $2,11 \pm 1,26$ min en B; $p < 0,01$). El producto A fue significativamente más caro ($17,56 \pm 7,12$ € en A vs $3,01 \pm 0,68$ € en B; $p < 0,05$).

Comparative study of two different euthanasics in swine under general anaesthesia.

Euthanasia is a usual procedure in veterinary medicine which must be performed in ethical conditions that minimize animal suffering. In this work, two euthanasic products were compared: T-61® (which active ingredients are embutramide, mebenzonium iodide and tetracaine hydrochloride) and Dolethal® (pentobarbital) with the purpose of evaluating which product is better, reaching a faster irreversible cerebral death with less external clinical signs and less animal suffering.

A randomized blind study was conducted in swine (*Sus scrofa domesticus*) from the "Master degree in Image Guided Minimally Invasive Techniques" of the University of Zaragoza (Group A - T61, n=5; Group B - Dolethal, n=6), which were euthanized while they were under general anaesthesia with complete monitorization (electrocardiogram, pulseoximetry, invasive blood pressure, capnography and bispectral index).

The studied parameters were the type of cardiac arrest, time to disappearance of vital signs and cerebral activity, external clinical signs (colouring changes, tremor, death throes, spasmoid movements...), required quantity, dose reinjection and final costs of both products. Obtained data were analysed and a statistical study was performed by SPSS.

Both products achieved the animal's death, but with product A we needed a higher dose than the one recommended by the manufacturer in several occasions. All animals in group A went into cardiac arrest by ventricular fibrillation, and this product was faster in causing apnoea. Nevertheless, all cardiovascular and cerebral parameters were maintained longer, being the differences in time until brain death very significant (16.15 ± 11.53 min in A vs 2.11 ± 1.26 min in B; $p < .01$). Product A was significantly more expensive (17.56 ± 7.12 € in A vs 3.01 ± 0.68 € in B; $p < 0.05$).

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LA EUTANASIA

La eutanasia es un acto clínico veterinario, que en muchos casos es considerado como un fracaso de la medicina veterinaria, lo que supone una idea totalmente errónea de lo que ésta supone (1). La palabra eutanasia proviene del griego *eu*, que significa bueno y *thanatos*, que significa muerte, así que podríamos decir que cuando nos vemos en la necesidad de eutanasiar a un animal, lo hacemos para darle una buena muerte, para reducir su dolor o estrés y darle una muerte lo más digna y respetuosa posible (2).

Las circunstancias en las que un veterinario debe plantear a un propietario la eutanasia de su animal son varias y numerosas, debido a que cada situación es totalmente distinta a las demás y muchas veces, no depende sólo del estado del animal que debemos tratar, sino que debemos tener en cuenta la situación personal y económica de los propietarios así como sus consideraciones éticas y morales. Es por este último factor, por el que una buena comunicación y explicación hacia el propietario son fundamentales, ya que en la mayoría de los casos pueden interpretar la eutanasia como un fracaso por parte del veterinario que no ha

sido capaz de poner remedio a su problema y opta por la vía más fácil. Por ello, debemos explicar y aclarar que la eutanasia se plantea siempre en aquellos casos en los que mantener al animal con vida tan sólo alargaría su sufrimiento y que irremediablemente acabaría con la muerte natural del mismo, siendo ésta más agónica y suponiendo un mayor sufrimiento para el animal (1).

Algunos de los momentos en los que podemos plantear la eutanasia como opción más viable o al menos como una opción más, son aquellos casos en los que el animal se encuentra en un estado en el que sufre dolores que no se ven atenuados con un tratamiento paliativo y cuyo pronóstico no es favorable. Sería el caso de enfermedades terminales en las que se han agotado todas las soluciones posibles y aun así no conseguimos proporcionar a nuestro paciente una calidad de vida digna sin dolores ni sufrimiento. Es decir, debemos plantear la eutanasia en aquellos casos de animales enfermos, heridos o bien cuando existe un deterioro claro de su calidad de vida y bienestar como puede darse en la vejez o en otras situaciones más complejas, en las que no profundizaremos.

No debemos olvidar que la eutanasia implica y afecta a tres sujetos, que son el propio animal que es al que afecta directamente, y a su propietario y al veterinario, que son quienes tomarán la decisión y quienes la llevarán a cabo respectivamente. Por ello la comunicación entre el propietario y veterinario son fundamentales, así como la actitud del veterinario ante este procedimiento debido a que en muchos casos los animales son considerados un miembro más de la familia y decisiones de este tipo son duras y dolorosas de afrontar (1).

2.2. GENERALIDADES SOBRE MÉTODOS EUTANÁSICOS

Los métodos de realizar la eutanasia son variados y dependen en gran parte de la especie en la que se practique y especialmente de su tamaño. Pero el factor en común que deben de tener todos ellos son que buscan la mejor manera de darle fin a la vida del animal, minimizando su sufrimiento y estrés, todo ello de la manera más respetuosa posible y teniendo en cuenta la estética del proceso, ya que en muchas ocasiones los propietarios querrán estar delante para “acompañar” a su animal. Por todo esto la eutanasia deberá: ser indolora, lograr una rápida pérdida de conciencia y acto seguido la muerte, minimizar el miedo y el sufrimiento animal y ser fiable e irreversible (3).

Teniendo en cuenta estas características, la AVMA (American Veterinary Medical Association), evalúa los métodos para practicar la eutanasia animal según catorce criterios (4):

1. La capacidad de provocar la pérdida de conciencia y la muerte con el mínimo dolor y estrés.
2. El tiempo que se necesita en inducir la pérdida de conciencia, es decir, el tiempo en el que la capacidad del cerebro para integrar información queda interrumpida o bloqueada.
3. La fiabilidad.
4. La seguridad del personal.
5. Que se trate de un proceso irreversible.
6. Que sea compatible con el uso y propósito que se pretende en el animal.
7. El efecto que tenga en observadores y operadores.
8. Compatibilidad con la posterior evaluación, examen o uso de los tejidos.
9. La disponibilidad del producto y su potencial uso abusivo en personas.
10. Compatibilidad con especies, edad o estados de salud.
11. Capacidad de mantener el equipo en perfecto funcionamiento.
12. Seguridad de depredadores o carroñeros en el caso de que consuman los restos del animal.
13. Requerimientos legales.
14. Los impactos medioambientales o el correcto tratamiento de los restos.

Según estos criterios, AVMA concluye con que el mejor método de eutanasia se trata de la inyección intravenosa de los derivados del ácido barbitúrico (en especial el pentobarbital sódico), pero aun así ni este método es capaz de cumplir con los catorce criterios, por lo que no existe el “eutanásico ideal” (4).

Debido a que no existe el “eutanásico ideal”, existen numerosos productos veterinarios que pueden usarse como eutanásicos, algunos de ellos están especialmente recomendados como el caso del pentobarbital sódico a alta concentración y otros tan sólo deberían usarse bajo unas condiciones concretas, como por ejemplo el T-61 y el cloruro potásico (ambos intravenosos) que deben ser usados con el animal bajo anestesia general para evitar el dolor durante la muerte. La elección del producto a usar dependerá del tipo de animal con el que tratemos, la disponibilidad del mismo, el aspecto económico en algunos de los casos y si estará presente o no el propietario del animal (2).

2.3. MÉTODOS Y PRODUCTOS EUTANÁSICOS

Existe un amplio abanico de posibilidades de realizar la eutanasia animal, dependiendo de la especie con la que tratemos y el lazo afectivo que la une a los seres humanos. Por ejemplo, en especies de abasto en las que la unión afectiva es escasa o inexistente solemos hablar de sacrificio en lugar de eutanasia y los métodos usados son totalmente distintos a los que podemos encontrar en la clínica de pequeños animales. Entre estos dos extremos podríamos encontrar a los equinos, en los que aparecen ejemplos de ambos casos en los que son tratados como ganado o como mascotas o animales de deporte y/o recreo.

Además podemos agrupar los métodos eutanásicos en tres grandes grupos según su manera de inducir la muerte del individuo: los que provocan hipoxia, los que producen una depresión directa de las células nerviosas de los centros neuronales encargados de mantener las funciones vitales y los que causan una interrupción de la actividad cerebral mediante la destrucción física de las áreas del cerebro que controlan las funciones cardíacas y respiratorias o bien impidiendo una correcta despolarización de las células nerviosas (3).

A continuación, se procederá a explicar brevemente el funcionamiento de tres de los productos más comúnmente usados: pentobarbital sódico, T-61 y cloruro potásico; además de los gases anestésicos, cuyo uso se reduce a animales con pesos menores a siete kilogramos. También mencionaremos la existencia de métodos físicos para la eutanasia y en qué situaciones podrían usarse.

2.3.1. Pentobarbital sódico

Su efectividad se basa en sus efectos sobre la función cerebral, es considerado el eutanásico de referencia y es el más recomendado.

Una vez se introduce en el torrente sanguíneo, se dirige hacia el corazón y desde aquí hacia el cerebro y rápidamente y de una manera indolora suprime todas las funciones vitales.

Para comprender su funcionamiento deberemos tener en cuenta los planos anestésicos y sus características:

Estadio I: excitación voluntaria. El pentobarbital llega en primer lugar a la corteza cerebral y según vaya perdiendo la conciencia y la coordinación, el animal se volverá más sensible ante cualquier estímulo como los ruidos o al tacto; por lo que un ambiente tranquilo y sin estímulos son esenciales para disminuir la excitación de esta etapa. A medida que el producto atraviesa

la corteza cerebral, se pierden rápidamente la capacidad de sentir dolor y las capacidades motoras voluntarias.

Es importante mantener al animal correctamente sujeto hasta la pérdida total de conciencia debido a que en esta que normalmente dura unos escasos segundos, los animales pueden ponerse agresivos al perder el normal funcionamiento de su centro inhibitorio.

Estadio II: excitación involuntaria. El producto atraviesa la corteza y llega al telencéfalo, encargado de las funciones de orden superior como son las emociones, sentidos, memoria o incluso personalidad. La presencia de pentobarbital en esta región suele provocar actividad motora incontrolada como pedaleo o vocalizaciones, a pesar de no ser muy agradable de presenciar el animal se encuentra totalmente inconsciente y sin ningún tipo de sufrimiento.

Estadio III: plano anestésico quirúrgico. Aquí el producto llega al cerebelo, encargado del equilibrio y de la mayoría de actividades motoras. En este punto el animal no siente el dolor, no responde a estímulos visuales o sonoros y sus reflejos comienzan a desaparecer.

Estadio IV: parálisis medular. El objetivo de la eutanasia es deprimir las funciones vitales de las que se encarga el tronco encefálico como son la respiración, el latido cardíaco y el mantenimiento de la presión sanguínea; tan rápido como sea posible. Una vez que estas funciones cesan, se produce la muerte del animal.

Debemos tener en cuenta que una vez se ha producido la muerte del animal, pueden aparecer signos que nos parezcan signos vitales como la fibrilación cardíaca o estertores respiratorios, se tratan de respuestas involuntarias tras la muerte (4).

2.3.2. T-61

Se trata de una solución usada comúnmente en la veterinaria debido a sus acciones narcóticas y curariforme, que se encuentra disponible tanto en Europa como en Canadá mientras que en Estados Unidos su uso está totalmente prohibido, desde el año 1991, que fue retirado del mercado (5).

Contiene: anestesia general (embutramida), anestesia local (hidrocloruro de tetracaína) y un agente curariforme que produce parálisis muscular (ioduro de mebezonio). Sólo es aceptado si los animales han sido sedados previamente y el ritmo de inyección es lento.

El agente curariforme produce el colapso respiratorio mediante la parálisis de los músculos intercostales y el diafragma, mientras que el anestésico general previamente ha producido la

pérdida del conocimiento. La función del anestésico local es reducir el dolor provocado por la inflamación del tejido adyacente al punto de inyección (6).

Estos tres componentes poseen distintas velocidades de absorción (3), lo que hace que si se inyecta de manera rápida el animal permanezca consciente durante el colapso respiratorio (7) provocando así dolor y sufrimiento premórtем. Por todo esto, es un producto de uso aceptable bajo condiciones de sedación o anestesia general previa.

2.3.3. Cloruro potásico

Se trata de un ión cardiotóxico que administrado en una solución de sal saturada de manera intravenosa o intracardiaca, causa la muerte por fallo cardiaco. Al no poseer propiedades analgésicas o anestésicas se debe usar tan sólo en animales bajo anestesia general para evitar un dolor intenso previo a la muerte, es decir, es un método aceptable bajo condiciones concretas (2).

La manera más adecuada de administrar estos productos es la vía intravenosa, a pesar de existir otras posibilidades como son la vía intraperitoneal, oral o intracardiaca en el caso del pentobarbital que son aceptables bajo condiciones de sedación previa. Además, en el caso del T-61 tenemos vías de administración como son la vía intrapulmonar o intracardiaca que están desaconsejadas. Dado que en muchos casos la eutanasia debe realizarse en animales con problemas, puede que no se encuentren en un estado fisiológico óptimo, podemos encontrar problemas para crear una vía de acceso a la vena, lo que nos obliga a plantearnos las vías secundarias de administración (5). Un ejemplo sería el caso de los nuevos animales de compañía (NAC), en los que dado su tamaño se plantea el uso de pentobarbital vía intraperitoneal a una dosis mayor que la se usaría de manera intravenosa (8).

2.3.4. Anestésicos inhalatorios

En muchos casos como animales neonatos o NAC (cobayas, hámsters, conejos, hurones...), su pequeño tamaño no nos permite un abordaje al sistema circulatorio. En estos casos y sólo cuando no existe otra posibilidad, existe la opción del uso de anestésicos inhalatorios administrados a concentraciones que desplazan al oxígeno respirado por los animales, haciendo que disminuya la concentración de éste que llega a pulmones y tejidos (9). Para este procedimiento deben tenerse en cuenta varios aspectos, ya que la pérdida de consciencia no se produce instantáneamente y si el olor del producto resulta desagradable para el animal se puede producir bajo condiciones de sufrimiento y situaciones de ansiedad, por lo que la pérdida de consciencia debe de ser lo más rápida posible (10, 11). Los gases anestésicos típicamente usados son halotano, enflurano, isoflurano y sevoflurano, siendo el halotano el de

preferencia al producir una pérdida de conciencia más rápida y menor angustia para los animales que el resto. Pero actualmente en muchos países ya no se encuentra disponible al haber sido desplazado por otros gases anestésicos. El isofluorano, normalmente usado en la vida cotidiana de la clínica podría ser usado también como eutanásico a una dosis mayor que el halotano, pero se debe tener en cuenta que su fuerte olor incrementa el nerviosismo del animal y puede hacer que los animales aguanten la respiración, lo que hará que se retrase la pérdida de conciencia y la muerte (5). Otro aspecto que debemos considerar es que los animales neonatos son más resistentes a la hipoxia debido a que su hemoglobina posee mayor afinidad al oxígeno para adaptarse a las condiciones uterinas, este hecho hará que el tiempo necesario en presencia de gases inhalatorios será mayor (12).

Además, estos anestésicos en su fase líquida son altamente irritantes, por lo que se debe procurar que el animal tan sólo entre en contacto con la fase gaseosa de los mismos. La aplicación puede realizarse o bien mediante máscaras o en cámaras si son animales muy pequeños en los que el uso de la máscara pueda suponer un riesgo para el personal dada la volatilidad de los gases (2).

2.3.5. Métodos físicos

Consideramos como métodos físicos el disparo de bala, penetración de un proyectil fijo (bala cautiva), electrocución, descomprensión, ahorcamiento y ahogamiento. Estos métodos no están recomendados para la eutanasia de animales de compañía, ya que son considerados métodos poco humanitarios debido al sufrimiento que causarían previo a la muerte (2).

De todos estos métodos físicos el único aceptado y sólo bajo condiciones de emergencia en las que no se disponga de ningún otro medio o posibilidad, se trata del disparo de bala. Este disparo debe de ser realizado por personal capacitado y debe ser dado en la cabeza del animal, para que así penetre en el cerebro y se produzca la pérdida de conciencia seguida de la muerte (13). Además, debemos de tener en cuenta de que se trata de un método estéticamente desagradable, lo que puede incrementar la angustia de aquellos que la realizan (5).

Un claro ejemplo de la diferencia entre animales de abasto y pequeños animales se trata de la eutanasia o sacrificio mediante proyectil fijo, ampliamente usado en los primeros y totalmente desaconsejado en los segundos. Esto se debe a las altas probabilidades de error en el posicionamiento y en el disparo que se pueden producir en perros y gatos, así como la estética desagradable que supone el desangrado posterior que se aconseja para asegurar la muerte del animal (2).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Debido a que la eutanasia es un procedimiento habitual en veterinaria y cuyos objetivos son minimizar el sufrimiento animal de la manera más humanitaria posible, se procederá a la comparación de dos de los productos más usados para este fin, como son el Dolethal (pentobarbital sódico) y el T-61 (embutramida, ioduro de mebezonio e hidrocloruro de tetracaína).

Esta comparación se realizará sobre los signos externos y los cambios en los parámetros monitorizados durante una anestesia general, con el fin de esclarecer cuál de los dos productos produce una muerte cerebral irreversible de manera más rápida y con menor sufrimiento, cumpliendo siempre con las condiciones éticas exigidas para el bienestar animal.

De igual modo, con este estudio se pretende aprender a interpretar los parámetros de la monitorización anestésica avanzada y cuándo establecer un diagnóstico de muerte. Todo ello como toma de contacto con la experimentación animal y para comenzar a trabajar con la metodología científica y estadística.

4. METODOLOGÍA

En este estudio experimental ciego aleatorizado 1:1 se pretendía realizar una comparación entre dos de los productos eutanásicos usados con mayor frecuencia en veterinaria. Para esto, se utilizaron doce cerdos (*Sus scrofa domesticus*), provenientes del “Máster en Técnicas Intervencionistas Mínimamente Invasivas Guiadas por Imagen” de la Universidad de Zaragoza durante el curso 2016/17, usados en cursos de formación aprobados por la Comisión Ética Asesora de Experimentación Animal de dicha universidad, que debían ser eutanasados al concluir los procedimientos a los que son sometidos. En la Tabla 1, se pueden observar los procedimientos para los que se utilizaron estos animales.

Tabla 1. Intervenciones realizadas sobre los animales del estudio.

Nº cerdo	Peso (kg)	Intervención previa	Fecha
1	35	Punciones vasculares ecoguiadas	18-ene-17
2	35	Accesos vasculares abiertos	18-ene-17
3	34	Navegación intravascular	19-ene-17
4	45,3	Navegación intravascular	19-ene-17
5	37,5	Accesos venosos, reservorios, nefrostomía	20-ene-17
6	24,4	Accesos venosos, reservorios, nefrostomía	20-ene-17
7	49,6	<i>Stents</i> digestivos + Gastrostomía	23-ene-17
8	46,9	<i>Stents</i> digestivos + Gastrostomía	23-ene-17
9	41,7	Biopsia hepática y renal transyugular	24-ene-17
10	39,3	Biopsia hepática y renal transyugular	24-ene-17
11	35,9	Punciones, biopsia percutánea, drenaje pleural	25-ene-17
12	40,3	Punciones, biopsia percutánea, drenaje pleural	25-ene-17

Todos los cerdos usados en este estudio fueron hembras, por razones de manejo, y todas ellas fueron sometidas al mismo protocolo anestésico. Este protocolo estuvo basado en una medicación preanestésica intramuscular a base de tiletamina y zolazepam junto con xilacina, una inducción de la anestesia mediante propofol intravenoso y a un mantenimiento de la misma con anestesia inhalatoria con isofluorano. Además todas ellas se mantuvieron bajo anestesia general durante el mismo tiempo aproximado de nueve horas (Figura 1).



Figura 1. Animales en quirófano previo a la realización del estudio.

Los animales se dividieron en dos grupos con seis individuos en cada uno de ellos. Dado que se trata de un estudio ciego aleatorizado, utilizando un programa informático gratuito disponible

online [randomization.com] (14) se realizaron dos grupos aleatorios denominados “Producto A” y “Producto B”, correspondientes a los dos eutanásicos usados en este estudio. De esta manera conseguimos que la persona que analizó los datos desconociera con cuál de los dos fueron eutanaseados los animales de cada grupo. En la Tabla 2, se muestra el esquema de aleatorización de los animales.

Tabla 2. Tabla de aleatorización generada por la página web *randomization.com*

Nº cerdo	Producto
1	B
2	A
3	A
4	B
5	B
6	B
7	B
8	A
9	B
10	A
11	A
12	A

Los dos productos usados fueron pentobarbital sódico (Dolethal. Vetoquinol Especialidades Veterinarias S.A. Madrid, España) y una mezcla comercial de embutramida, hidrocloruro de tetracaína y ioduro de mebezonio (T-61. Merck Sharp and Dohme Animal Health S.L. Salamanca, España), ambos indicados para la eutanasia y recomendados por el comité ético para la especie porcina para este fin. El principio activo del Dolethal es el pentobarbital sódico que actúa a nivel del sistema nervioso central, deprimiendo las funciones vitales a medida que penetra en la estructura cerebral. La concentración de pentobarbital en este producto es de 200 mg/ml y la dosis a la que fue utilizado en este estudio fue de 100 mg/Kg administrado por vía intravenosa, es decir, 0,5 ml/Kg de peso vivo del animal (15).

El T-61 está compuesto por tres principios activos: embutramida que aporta anestesia general, hidrocloruro de tetracaína que produce anestesia local en el punto de inyección y ioduro de mebezonio que produce parálisis muscular de los músculos intercostales y diafragmáticos debido a su carácter curarizante. La dosis usada para este producto fue de 0,2 ml/Kg de peso vivo del animal, correspondiente a 40 mg/ Kg de peso de embutramida, 10 mg/Kg de peso de ioduro de mebezonio y 1 mg/Kg de peso de hidrocloruro de tetracaína (16). (Figura 2)



Figura 2. Productos utilizados en el estudio.

Las dosis a usar en ganado porcino no aparecían en los prospectos de ambos productos, ya que no pueden utilizarse en animales destinados a consumo humano, como suele ser común en esta especie. Por ello la dosis seleccionada de T-61 fue una dosis intermedia entre la usada en caballos (0,12 ml/Kg de peso) y la usada en perros y gatos (0,3 ml/Kg de peso). Para el Dolethal, la dosis recomendada en el rango de perros de entre 15 y 35 Kg es de 3 g de pentobarbital (15 ml de producto) por animal, por lo que se escogió como dosis base la equivalente a perros de 30 Kg (dosis final 100 mg/Kg de peso) (15, 16).

Para la realización de la parte experimental del estudio partimos de animales en anestesia general, mantenidos con isofluorano y totalmente monitorizados. Se monitorizaron los principales sistemas del organismo:

Sistema cardiovascular:

- Electrocardiograma: aporta la información correspondiente a la actividad eléctrica del corazón, así como la frecuencia cardiaca.
- Medida de la presión arterial: se realiza a través de un acceso cruento a la arteria femoral. Se obtiene la medida de la presión sistólica, diastólica y media. También mide la frecuencia cardiaca.
- Pulsioximetría: nos aporta información del pulso y de la saturación de oxígeno de la sangre. También nos indica la frecuencia de pulso.

Sistema respiratorio:

- Pulsioximetría: nos indica si existe una correcta saturación de oxígeno en sangre.
- Capnografía: ofrece toda la información relacionada con la respiración del animal: frecuencia respiratoria, CO₂ inspirado y espirado.

Sistema nervioso:

- Electroencefalograma (EEG): de aquí se obtiene la actividad eléctrica que hay a nivel cerebral. Lo podemos observar en el monitor del BIS.
- Índice biespectral (valor BIS): valor del 1 al 100 que nos dice el nivel de conciencia del individuo a partir de los patrones de las ondas cerebrales, siendo el valor 100 el equivalente al animal despierto y el 0 el que se espera con la muerte del animal.
- Tasa de supresión (TS): valor del 0 al 100 que representa la relación entre los períodos con actividad en el EEG y aquellos en los que el trazado es isoeléctrico por cada minuto. La aparición de TS es indicadora de isquemia cortical. Lo deseable son valores próximos al 0, obteniendo el 100 con la muerte del animal.

Otros sistemas:

- Temperatura corporal medida a través de la sonda de temperatura.
- Electromiograma (EMG): actividad eléctrica del músculo (aparece en el monitor del BIS).

En la Tabla 3, se resumen las variables que se estudiaron y cómo se monitorizaron (17).

Tabla 3. Variables de monitorización estudiadas

Parámetros estudiados	Método de monitorización
Electrocardiograma	Electrocardiógrafo
Frecuencia cardíaca	
Tensión arterial sistólica, diastólica y media	Monitor de presiones invasivas
Saturación de oxígeno (SaO ₂)	Pulsioxímetro
Frecuencia de pulso	
Frecuencia respiratoria	Capnógrafo
CO ₂ al final de la espiración (ETCO ₂)	
Fracción inspirada de CO ₂ (FiCO ₂)	
Temperatura	Sonda termométrica esofágica
Índice de conciencia (índice biespectral, BIS)	Monitor BIS
Electromiograma (EMG)	
Tasa de supresión (TS)	

Una vez finalizados los diferentes procedimientos a los que fueron sometidos los animales de este estudio y previamente a la inyección de los productos, se normalizaron en la medida de lo posible las condiciones basales de los cerdos para así obtener grupos homogéneos. Para ello se suspendió la ventilación mecánica en todos los animales, forzándolos a mantener respiración espontánea durante el momento de la eutanasia, con objeto de valorar el cese de la misma. De

igual manera se procuró que todos los animales mantuvieran normotensión (administrando dobutamina a efecto en casos de hipotensión). Además, como todos debían encontrarse en un plano anestésico similar, se reguló el porcentaje de isofluorano administrado para profundizar o superficializar el plano anestésico hasta conseguir un BIS de valores entre 50 y 70 (valores equivalentes a un plano correcto de anestesia general). En la Tabla 4, se pueden observar los valores de los parámetros de monitorización de los animales previos al momento de la eutanasia.

Tabla 4. Valores de los valores de los parámetros de previos a la eutanasia.

	A		B		p
	Media	DS	Media	DS	
PESO	38,22	5,24	38,91	8,83	0,881*
FC	105,60	24,82	121,83	46,80	0,505*
PAS	107,20	30,21	94,66	32,49	0,528*
PAD	61,40	13,33	64,00	32,92	0,873*
PAM	81,80	19,44	76,5	32,06	0,755*
SPO₂	99,20	1,09	98,00	1,78	0,247 ⁺
FR	19,00	3,74	25,50	10,48	0,223*
ETCO₂	38,00	4,30	43,33	9,30	0,271*
TEMP	33,44	2,05	33,90	2,91	0,774*
BIS	65,80	17,93	60,50	17,15	0,629*

*Prueba *t* de Student para variables independientes; ⁺ Prueba U de Mann-Whitney

DS, desviación estándar; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; PAM, presión arterial media; SPO₂, saturación de oxígeno; FR, frecuencia respiratoria; ETCO₂, End Tidal CO₂ (CO₂ al final de la espiración); TEMP, temperatura; BIS, índice biespectral

En todas las variables se obtuvo una $p>0,05$, por lo que ambos grupos fueron comparables debido a que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros de monitorización previos a la eutanasia.

A continuación, tras haber normalizado los parámetros de la monitorización, se dispuso lo necesario para la inyección del eutanásico de manera intravenosa a través de la vena auricular marginal. La inyección del “Producto A” o “Producto B” según corresponda siguiendo la aleatorización realizada, fue realizada por otra persona de forma oculta, de manera que quien valoraba clínicamente al animal y posteriormente debía analizar los datos no supiera de qué producto se trataba, ya que por el volumen o por el color se podría haber deducido. La hora de inyección del eutanásico, se consideró como tiempo cero.

Durante todo el tiempo de la inyección y los minutos posteriores, se grabaron mediante un dispositivo móvil los monitores en los que se registraban todos los datos de la monitorización,

para su posterior estudio (Figura 3). Se comenzó a grabar en el momento previo a la inyección, y se continuó hasta un minuto después de que se hubiera considerado la muerte cerebral, controlando los tiempos mediante un reloj presente en el mismo monitor. Esto permitió un análisis más detallado de los datos y la posibilidad de realizar una exploración clínica del paciente de forma simultánea (visualizar cambios de coloración y realizar una auscultación cardiorrespiratoria). La razón por la que se decidió registrar en vídeo lo que ocurría en los monitores se debió en un principio a la rapidez con la que se producen los cambios (muchos de ellos de manera simultánea), de forma que resultaría casi imposible registrarlos todos de manera precisa en el mismo momento que se realizaba la eutanasia.

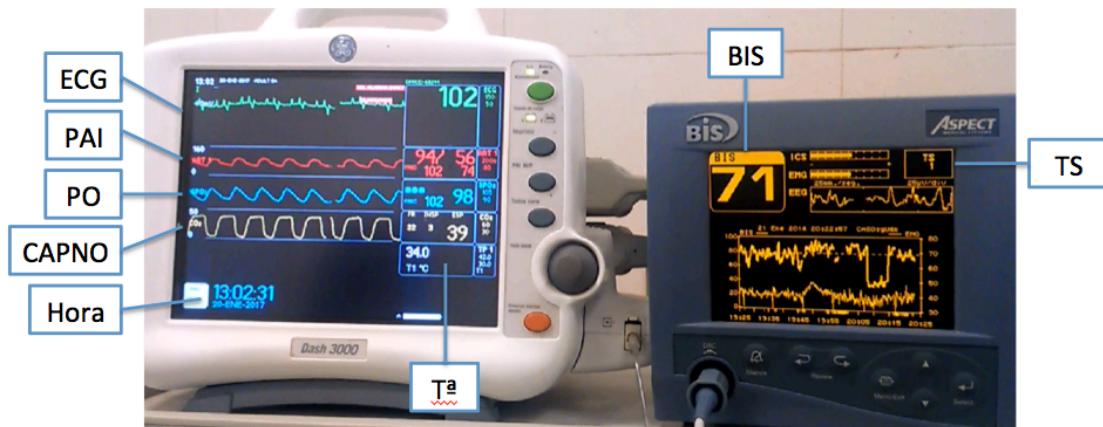


Figura 3. Monitorización. Imagen de las grabaciones. ECG, electrocardiograma; PAI, presión arterial invasiva; PO, pulsioximetría; CAPNO, capnografía; Tª, temperatura; BIS, índice biespectral; TS, tasa de supresión.

Las variables analizadas fueron las siguientes:

- Tipo de parada: se diferenciarán dos tipos de parada: parada por asistolia (la distancia entre complejos QRS cada vez mayor hasta que finalmente el ECG muestra una línea isoléctrica) y parada por fibrilación ventricular.
 - Tiempo de inicio de fibrilación (en aquellos casos en los que el tipo de parada sea fibrilación): tiempo que tarda en aparecer en el electrocardiograma.
- Frecuencia cardiaca igual a cero: tiempo que transcurre desde la inyección hasta que la frecuencia cardiaca sea de cero.
- Desaparición tensión arterial: tiempo que transcurre hasta que la presión arterial medida de manera cruenta deja de ser apreciable y se pierde señal en la monitorización.

- Ausencia de pulso: tiempo que tarda en desaparecer la onda de pulso medida por el pulsioxímetro.
- Apnea: tiempo en el que se obtiene una frecuencia respiratoria igual a cero.
- Porcentaje de BIS igual a cero y tasa de supresión igual a 100 %(con eje isoeléctrico): tiempo que se tarda en obtener estos hallazgos en el monitor de BIS.
- Ausencia de latido: tiempo que pasa hasta que se deja de escuchar el latido cardíaco a través de un fonendoscopio. Esta variable será medida por una persona, que una vez deje de escuchar el latido lo comunicará en voz alta para que de igual manera que el resto de variables quede registrado en las grabaciones.
- Otros signos clínicos externos: como cambios de coloración, estertores, temblores, vocalizaciones, signos de dolor...

Se consideró como momento de la muerte cuando se produjo la total depresión de las funciones vitales, cuando éste se encontraba en apnea (frecuencia respiratoria=0 y ETCO₂ =0), sin pulso, sin latido y sin presión arterial, en asistolia en el ECG y con BIS isoeléctrico (BIS 0 isoeléctrico y TS del 100). Una vez dado como muerto el animal se esperaban unos minutos, por si se producían cambios en la monitorización; si estos cambios no se producían se consideró como tiempo final aquel en el que se había alcanzado la última condición.

En el caso de no producirse la muerte del animal tras los primeros cinco minutos después de la inyección, como era lo esperable, se planteó en el protocolo inicial la reinyección del mismo producto A o B. De igual manera si con una segunda reinyección tampoco se alcanzó este criterio, se procedió a repetir la dosis cada cinco minutos hasta que fuera necesario.

Además de las variables registradas en los monitores, también se analizaron:

- Número de repeticiones de dosis: veces que fue necesario reinyectar el producto, según los criterios que se han explicado anteriormente.
- Dosis total: cantidad de producto que finalmente fue necesaria inyectar para conseguir el estado de muerte.
- Precio: según el precio de ambos productos y la dosis total que fue necesaria, se calculó el coste de la eutanasia (sin tener en cuenta el coste de la anestesia general previa).

El análisis de los datos obtenidos se realizó a través de una tabla Excel, que continuó siendo ciega debido a que hasta que no se concluyó el análisis no se reveló a qué producto correspondía cada grupo. El estudio estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS (IBM

Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.). Las variables cuantitativas se expresaron como medias y medianas \pm desviación estándar y se utilizó el test de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de la distribución. Las variables cualitativas se expresaron como valores absolutos y porcentajes. Se compararon medias mediante t de Student para muestras independientes como prueba parámetrica y U de Mann-Whitney como no paramétrica y se utilizó el test exacto de Fisher para comparar variables categóricas. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p<0,05$.

4.1. DESVIACIONES DEL PROTOCOLO

En muchas ocasiones, al realizar la parte experimental de un estudio se producen cambios de última hora respecto a lo que se había diseñado sobre el papel y hay que adaptar el protocolo a la situación real en la que se realiza la experimentación. Es por esto, que en la realización de este estudio encontramos cambios respecto a lo que se había planteado en un inicio en el diseño experimental.

En cuanto al número de cerdos a usar en el estudio, la población inicial planteada en el diseño era de doce cerdos. Pero finalmente tan sólo pudieron ser utilizados once de ellos debido a que uno murió a lo largo del día mientras era sometido a las operaciones del máster. Tras su muerte se le realizó una fluoroscopia con el fin de establecer la causa de la muerte y se apreció que el animal tenía hemotórax, por lo que se dedujo que la causa de la muerte había sido una hemorragia causada por el desgarro de la vena cava.

También se produjeron cambios con la cantidad de dosis usada para el “Producto A” debido al elevado número de reinyecciones que fueron necesarias en el primero de los cerdos eutanasiadados con este producto. Con el fin de reducir el número de dosis se decidió usar la dosis más alta recomendada en el prospecto, que era la destinada a perros y gatos (0,3 ml/Kg) (19). La decisión de cambio de dosis fue tomada por los coordinadores del proyecto y el estudio permaneció ciego para la persona que recogía y analizaba los datos.

Respecto al tiempo de reinyección, lo que se planteó en el diseño inicial fue la repetición de la dosis si a los cinco minutos no se ha producido la muerte del animal o no existen indicios que nos hagan pensar que ésta se va a producir en un breve periodo de tiempo. Dada la cierta subjetividad en los criterios de la reinyección, en la mayoría de los casos esta espera fue mayor teniendo en cuenta los parámetros observados en la monitorización que hacían sospechar una inminente muerte del animal. A pesar de estas sospechas, en los cerdos en los que fue necesaria la repetición de dosis, algunos de los parámetros como presión arterial, pulso o

índice BIS volvieron a aparecer haciendo que no se cumplieran las condiciones marcadas para dar al animal por muerto.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el análisis de los datos, se desveló la identidad de los productos, correspondiendo el “Producto A” a T-61 y el “Producto B” a Dolethal. En el resto de tablas de este trabajo, se identificarán por estos nombres.

El número final de animales empleados en el estudio fueron once (n=11), 5 de ellos pertenecieron al grupo T-61 y 6 al grupo Dolethal. Sólo en uno de ellos fue necesario subir la tensión arterial (Cerdo nº 6) mediante el uso de dobutamina intravenosa a efecto, para conseguir normotensión como criterio inicial.

Durante las horas de anestesia general los cerdos se encontraban con ventilación mecánica, por lo que no respiraban por ellos mismos. Por eso, fue necesario estimular a todos los animales (100%) para que pasaran a tener respiración espontánea en los momentos previos a la inyección del producto eutanásico y así poder valorar cuándo se produjo la apnea.

También fue necesario crear un acceso cruento a la arteria en dos de los once animales (18,18%) para monitorizar la presión arterial de forma continua, ya que este parámetro no había sido monitorizado durante los procedimientos del máster.

Con ambos productos se consiguió la muerte del animal pero en ninguno de los animales del grupo Dolethal fue necesario repetir la dosis inicial. Es decir, en el 100% de los casos fue suficiente la dosis única inicial administrada que recomienda el fabricante. Sin embargo, en tres de los animales del grupo T-61 (60%) fue necesario reinyectar el producto, siendo en el uno de ellos suficiente con una sola reinyección mientras que en los otros dos fueron necesarias hasta tres repeticiones. Este dato, aunque clínicamente muy significativo, no fue estadísticamente significativo ($p=0,06$; Test exacto de Fisher), posiblemente debido al pequeño número de animales utilizado en el estudio. El tiempo medio que se esperó entre la inyección de un producto y la reinyección de una nueva dosis fue de $8,77 \pm 5,68$ minutos.

En la Tabla 5, se pueden observar las diferencias entre las dosis totales y los precios de ambos productos. El precio por mililitro fue de 0,93 € para el T-61 y de 0,15 € para el Dolethal. Las diferencias en precio fueron muy significativas, siendo más caro el T-61. La dispersión de datos (desviación estándar de 7,12 en T-61 vs 0,68 en Dolethal) nos indican además que el precio del

primer producto es muy variable según el individuo, lo que puede dificultar al veterinario para establecer un precio fijo de este servicio.

Tabla 5. Comparativa de dosis y precios de ambos productos.

	T-61 (n=5)		Dolethal (n=6)		p*
	Media	DS	Media	DS	
Dosis total (ml)	18,82	7,62	19,46	4,41	0,867
Precio (€)	17,56	7,12	3,01	0,68	0,010

*Prueba t de Student para muestras independientes

En el tipo de parada cardíaca con cada uno de los productos se observaron claras diferencias, ya que con el producto A en el 100% de los casos la parada fue con fibrilación, mientras que con el producto B tan sólo el 33,3% presentó este tipo de parada, siendo mayoritaria la asistolia. Ningún animal con muerte por asistolia recuperó latido o electrocardiograma (Tabla 6). Las diferencias en estos parámetros no fueron estadísticamente significativas, posiblemente debido al bajo número de sujetos experimentales.

En cuanto a los signos externos, sólo un animal presentó cambios de coloración de la piel al administrar el T-61. En ningún caso se observaron temblores, estertores u otros signos externos, si bien era lo esperable, dado que en este caso los animales se encontraban bajo anestesia general. Se ha constatado en la literatura la aparición de síntomas de dolor, estrés y vocalizaciones tras la administración de T-61 con el animal consciente, puesto que existe la posibilidad de que se produzca antes el cese de la respiración que la pérdida de conciencia (18). Según AVMA, hubiera sido probable la aparición de estertores tras la muerte producida por T-61, pero en nuestro estudio no hubo ningún animal que los presentara, quizá debido a que se partía de un plano anestésico quirúrgico y no de una simple sedación. En algunos estudios se habla de la posibilidad de reducir la probabilidad de la aparición de estertores mediante la administración previa de relajantes musculares, que nosotros no utilizamos (19).

Tabla 6. Comparación de las variables dicotómicas del estudio.

		T61 (%)	Dolethal (%)	P*
Tipo de parada	Fibrilación	5 (100)	2 (33,3)	0,061
	Asistolia	0 (0)	4 (66,7)	
Signos externos	Sí	1 (20)	0 (0)	0,454
	No	4 (80)	6 (100)	

*Test exacto de Fisher

En la Tabla 7 se pueden observar los tiempos a los que desaparecieron las distintas constantes fisiológicas con ambos productos. La apnea se presentó de manera muy rápida en ambos grupos, sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos, siendo más rápida en el

grupo del T-61. Esta mayor rapidez en la pérdida de la respiración probablemente se deba a su forma de actuación y al carácter curariforme del ioduro de mebezonio, que produce la parálisis de los músculos intercostales y del diafragma y, por tanto, impide la respiración.

Sin embargo, el cese de todos los parámetros cardiovasculares y del sistema nervioso se alcanzó mucho antes con el Dolethal con una menor dispersión de datos en estos parámetros respecto al T-61 (menor desviación estándar). Además, debemos tener en cuenta que en tres de los animales en los que se usó el T-61, algunos de los parámetros como BIS, pulso y actividad en el ECG se recuperaron después de haber desaparecido durante varios segundos e incluso minutos. Tras la reinyección de T-61 de manera contraria a lo que cabría esperar, el índice BIS aumentaba, llegando incluso a valores del 30%, posiblemente por recirculación.

Tabla 7. Tiempos de desaparición de constantes fisiológicas.

Tiempos de:	T-61 (n=5)					Dolethal (n=6)					p*
	Min	Max	Mediana	Media	DS	Min	Max	Mediana	Media	DS	
Inicio fibrilación	0,08	7,83	0,33	1,78	3,38	1,38	1,81	1,60	1,60	0,30	0,381
FC=0	0,43	22,55	1,05	5,28	9,65	0,53	3,65	1,31	1,56	1,08	0,662
Ausencia de latido	0,18	20,25	0,38	4,30	8,90	0,33	1,00	0,60	0,65	0,28	0,329
Desaparición PA	0,36	24,66	2,30	7,15	10,23	0,43	5,08	0,68	1,36	1,81	0,537
Ausencia de pulso	0,23	20,18	0,30	4,26	8,88	0,28	0,85	0,58	0,58	0,20	0,247
Apnea	0,30	0,56	0,33	0,40	0,11	0,43	1,33	0,55	0,65	0,33	0,329
Muerte cerebral	2,53	27,66	19,73	16,15	11,53	1,28	4,61	1,65	2,11	1,26	0,009

*Prueba U de Mann-Whitney

FC, frecuencia cardiaca; PA, presión arterial; Min, mínimo; Max, máximo; DS, desviación estándar.

Al realizar el análisis estadístico de las diferencias de los tiempos en los que se alcanzó la desaparición de las diferentes constantes fisiológicas, se observó que las diferencias mostradas no eran estadísticamente significativas. Esto probablemente fue debido a la amplia variabilidad que presentaron los animales eutanaseados con T-61 que estadísticamente presentaron una desviación estándar muy elevada y al bajo número de sujetos experimentales.

A pesar de que estadísticamente no sean significativos estos resultados, clínicamente vemos claras diferencias entre ambos productos que nos harían decantarnos por el uso de uno u otro en un futuro. A pesar de que con ambos se alcanza la muerte del animal, con el T-61 el tiempo durante el cual permanece la actividad cardiaca y cerebral es muy largo, por lo que deberíamos plantearnos si éticamente es aceptable teniendo a nuestra disposición otros productos con los que este tiempo se ve claramente reducido, como es el caso de Dolethal.

Si comparamos estos resultados obtenidos durante este estudio con los resultados obtenidos en estudios anteriores, realizados en los años 1978 y 1990 (19, 20), observamos claras diferencias.

En uno de ellos (19), se pretendía comprobar si tras el uso de T-61 la pérdida de conciencia se producía antes o después del cese de la respiración. Los resultados fueron que la pérdida de la actividad eléctrica mostrada en el EEG (cuyos electrodos estaban en contacto directo con la duramadre) y la pérdida de actividad en el EMG (que se encontraba conectado al diafragma), se producía de manera simultánea. Por ello concluyen con que los animales eutanasiados con T-61 pierden la conciencia antes de perder la capacidad respiratoria. Tras estos resultados, la pregunta a realizar sería si la sensación de ahogo o de imposibilidad de respirar se produce únicamente cuando desaparece por completo la actividad eléctrica del EMG medida en el diafragma o si esta sensación aparece en el primer momento en el que empieza a disminuir esta actividad y por consiguiente, aumenta la dificultad de respirar. De suceder según esta última alternativa, los resultados no nos indicarían que no se produce sensación de ahogo, sino todo lo contrario, ya que no se produciría la pérdida de conciencia hasta que el animal deje de respirar completamente tras un tiempo de agonía. Según los resultados obtenidos en nuestro estudio, con el uso de T-61, el tiempo en el que desaparece la actividad cerebral es mucho mayor que el tiempo en el que desaparece la respiración, por lo que los animales pierden antes la capacidad respiratoria que la actividad cerebral (tal y como se muestra en la figura 4). Es por esta razón por la cual el uso del T-61 se recomienda únicamente en aquellos animales que se encuentran bajo sedación o bajo una anestesia general. De igual manera la monitorización del estudio de Hellebrekers (19) es distinta a la usada en este estudio, por lo que debería valorarse hasta qué punto estos datos son comparables.



Figura 4. La monitorización muestra un índice BIS del 18 y un tasa de supresión de 56, manteniendo pulso arterial débil y tensión arterial y actividad cardíaca en un animal eutanasiado con T-61. El capnograma, sin embargo, muestra apnea y un CO₂ espirado de 0, y el pulsioxímetro no es capaz de detectar la saturación de oxígeno de la sangre.

De igual manera, en otro estudio en el que comparaban el uso de nuestros dos eutanásicos en perros conscientes (20), los resultados obtenidos difieren de los nuestros. Respecto al tiempo de colapso del animal, indican que no existen diferencias significativas entre los dos productos, a pesar de que con el T-61 (inyectado a una velocidad menor que el pentobarbital) el colapso se produjo durante la inyección del mismo, mientras que con el pentobarbital el colapso fue posterior a la aplicación. En nuestro caso, los animales se encontraban bajo anestesia general y no se podía valorar este parámetro.

Otras diferencias en cuanto a los resultados obtenidos en este estudio se encuentran a los tiempos de pérdida de actividad en el EEG, que en ambos parecen ser similares y aparecen recuperaciones en animales en los que se usó pentobarbital. Según el análisis de nuestros datos fue con el T-61 con el producto con el que mayores tiempos de pérdida de actividad cerebral se observaron (llegando incluso a 27,66 minutos), de igual modo que fue necesario repetir dosis con este producto y se observaron recuperaciones de parámetros como son el pulso, la presión arterial e índice BIS.

Dada la controversia generada por el T-61, en 1985 se realizó un estudio basado en las opiniones de veterinarios que fueron encuestados sobre sus experiencias con este eutanásico. Muchas de las opiniones fueron contradictorias, ya que algunos de los veterinarios defendían el uso de ese producto y su eficacia, mientras que otros lo consideraban como un producto

que sí que conseguía acabar con la vida de los animales pero que no podía considerarse un método de eutanasia. Como conclusiones podemos observar que muchos de los encuestados coinciden en que la actividad cardiaca tarda varios minutos en desaparecer después de que el animal aparentemente haya muerto (21), tal y como puede observarse en los resultados obtenidos en nuestro estudio. Además se comenta la amplia variabilidad individual que aparece al usar T-61, siendo necesario en algunas ocasiones usar el doble o incluso el triple de la dosis recomendada por el fabricante (21), tal y como sucedió durante la realización del estudio, en el cual fue necesario modificar la dosis inicial así como repetir dosis (llegando en casos hasta el triple de dosis inicial) en algunos de los individuos que fueron eutanasiados con este producto.

Además, en un estudio realizado sobre ganado y el uso de T-61 y pentobarbital se compararon los tiempos de pérdida de reflejos y de funciones vitales. Y se comprobó que en aquellos animales que estaban bajo anestesia general antes de ser eutanasiados con T-61, la pérdida de la actividad cardiaca y respiratoria se producía con mayor rapidez que en aquellos animales que estaban despiertos en el momento de la eutanasia (22). Hecho que reafirma el uso de T-61 únicamente en aquellos animales que se encuentran bajo anestesia general o sedación en el momento de la eutanasia, para reducir los tiempos de pérdida de funciones vitales así como el posible sufrimiento que plantearía la pérdida de la respiración si el animal no ha perdido previamente la conciencia.

Si la eutanasia se va a realizar delante del propietario, deberemos evitar el uso de productos en los que la aparición de espasmos musculares, vocalizaciones o incluso excitación es bastante probable, como es el caso del T-61. Producto con el que además deberemos tener en cuenta que si durante la eutanasia el animal no se encuentra monitorizado como ocurre normalmente en la rutina de un centro veterinario, existe la posibilidad de que no se haya producido la muerte cardiaca ni cerebral, ya que como se ha podido observar en nuestros resultados puede llevar un largo tiempo hasta que cesen estas actividades. De igual manera, existe la posibilidad de recuperación de parámetros como el pulso, presión arterial o actividad cerebral, que no indicaría que el animal pueda volver a vivir o reanimarse, ya que la apnea sufrida es irrecuperable y terminaría muriendo de todas maneras, pero de una forma menos aceptable éticamente. La realidad es que normalmente, no se usa monitorización para eutanasiar a un animal, por lo que estas recuperaciones o prolongaciones en el tiempo del cese de funciones vitales pueden pasar inadvertidos tanto para el veterinario como para el propietario, lo que haría que se diera por muerto a un animal cuando esto no es realmente cierto.

Además debemos tener en cuenta que la administración de T-61 en animales despiertos está desaconsejada y que incluso puede llegar a ser emocionalmente desagradable para aquellos que la presencian, por la aparición de complicaciones como signos de dolor, vocalizaciones, espasmos musculares o estertores. Teniendo en cuenta la posibilidad citada en la bibliografía, que es apoyada por los resultados de nuestro estudio, en la que se habla de la pérdida de la capacidad respiratoria que supone una sensación de ahogo para el animal antes de perder la conciencia.

Este hecho, nos hace plantearnos si el uso de T-61 es éticamente aceptable por la posible sensación de ahogo que convertiría la eutanasia en un momento angustioso y de sufrimiento para el animal, situación que se pretende evitar al querer darle a nuestros animales una muerte lo más humanitaria posible. Sin olvidar que existen otras alternativas como los productos cuyo principio activo es el pentobarbital, que presentan una menor probabilidad de complicaciones y ofrecen una muerte en la que el animal poco a poco va profundizando en los planos anestésicos hasta que finalmente muere por fallo en sus funciones vitales debido a una depresión de los centros neuronales sin ningún tipo de sufrimiento.

La mayor limitación que se presentó al realizar nuestro estudio, fue el bajo número de sujetos experimentales con los que se contaba, ya que eran los que fueron facilitados tras la realización del máster del que provenían. Si el número total de individuos, nos hubiera permitido realizar dos grupos de diez animales cada uno, la estadística nos habría facilitado datos más significativos. Además, partimos de animales que se encuentran bajo anestesia general, lo que hace que algunos datos no sean valorables y perdamos información en cuanto a lo que pasaría si los animales estuvieran despiertos. Finalmente, el modelo animal usado, hubiera sido más representativo si hubiéramos tenido a nuestra disposición animales en los que típicamente se usan estos productos eutanásicos, como podrían ser perros, gatos o caballos en lugar de cerdos, en los que normalmente se aplican otras técnicas de sacrificio (salvo que se traten de animales de compañía que no van destinados al consumo humano).

6. CONCLUSIONES

- Con ambos productos conseguimos el objetivo de acabar con la vida del animal. En el caso del Dolethal lo conseguimos con la dosis recomendada por el fabricante, mientras que con el T-61 la dosis requerida es mayor a la recomendada.
- Los costes del procedimiento son más elevados con T-61, presentando además una amplia variabilidad que dificulta la labor establecer un precio fijo de eutanasia.
- Las diferencias observadas en el tiempo que tarda en producirse el cese de la actividad respiratoria no son significativas, si bien es menor con T-61.
- El tiempo en el que cesa la actividad cardiovascular es menor con el Dolethal. El T-61 produjo una parada cardiaca por fibrilación ventricular en todos los animales del estudio.
- El tiempo en la que se alcanza la muerte cerebral irreversible es mucho menor con el Dolethal, con diferencias muy significativas respecto al T-61.
- Éticamente, el uso de T-61 es cuestionable, debido a que la actividad cerebral permanece tras la instauración de la apnea y el cese de la actividad cardiaca, lo que puede hacer pensar que esto ocurriría de igual manera si es usado en un animal despierto. Además, las recuperaciones de parámetros como el pulso, el latido o el índice BIS tras haber estado minutos desaparecido, plantean otro problema ético, ya que podríamos dar como muerto un animal que realmente no lo está.

CONCLUSIONS

- With both products, we achieved the purpose of ending the animal's life. In the case of Dolethal, we used the manufacturer's recommended dose, while with T-61 the required dose was higher.
- Procedure costs are much higher with T-61, showing in addition a wide variability, which would make difficult to set a fixed price for euthanasia.
- The differences in the time to cessation of breathing are not significant, even though this time is shorter with the use of T-61.
- The time to cessation of cardiovascular activity is shorter with Dolethal. T-61 produced cardiac arrest by ventricular fibrillation in all swine in this study.
- Time to irreversible brain death is much shorter with Dolethal, with very significant differences compared to T-61.
- Ethically, the use of T-61 is questionable, since the cerebral activity remains after cessation of breathing and cardiac activity, which may make us think that it would happen as well when used in a conscious animal. Furthermore, the capacity of restoring some parameters as pulse, heartbeat or BIS index after its disappearance for minutes sets out another ethical issue, because we could declare dead an animal that in fact is not deceased.

7. VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este trabajo surge de la curiosidad de valorar dos de los productos eutanásicos más usados en veterinaria con el objetivo de descubrir cuál de ellos es mejor para poder usarlo en un futuro como profesional, otorgando al animal una muerte lo más humanitaria posible. Debido a que, en muchas ocasiones la eutanasia es un tema tabú del que muy pocas veces se nos habla durante la carrera y ante el cual no se nos enseña cómo actuar ni los distintos protocolos que existen a nuestra disposición.

El planteamiento de este estudio suponía un primer contacto con la investigación y la experimentación animal, así como el descubrimiento de nuevos campos y maneras de trabajar en la estructuración de un trabajo científico, ámbitos en los que no había tenido la oportunidad de profundizar durante los años de grado.

También he sido capaz de comprobar en primera persona que en la realización de un diseño experimental se necesita estar preparado para cambios de última hora para que el protocolo se adapte a la situación real. Por ello, para la realización de estudios de experimentación en los que se necesite una alta inversión inicial, se use un alto número de animales o bien se planeen durante un largo periodo de tiempo, la realización de estudios piloto es una parte fundamental. De esta manera conseguiremos que cuando empecemos a realizar un estudio se minimicen al máximo los cambios de última hora, ya que eliminarlos totalmente resultaría imposible.

Este trabajo además del nivel experimental, me ha ayudado para aprender a buscar distintas fuentes de información bien para obtener nuevos datos o bien para contrastar los que se iban obteniendo con el análisis de los datos obtenidos en nuestro estudio. Sin olvidar la necesidad de mejorar la comprensión lectora en otros idiomas, al presentarse la mayor parte de la bibliografía en inglés y la necesidad de retomar el contacto con la estadística para poder realizar el análisis de los datos de la manera más precisa posible.

Y con vistas a un futuro ejerciendo la profesión veterinaria, gracias a este estudio, tendré más claro qué producto eutanásico usar o qué métodos pueden ser los más adecuados basándome en un criterio propio creado a partir de una experiencia personal, en el momento en el que exista la necesidad de realizar la eutanasia de algún animal. También he tenido la oportunidad de aprender los criterios necesarios para realizar un diagnóstico de muerte tras el uso de un producto eutanásico y he afianzado mis conocimientos respecto a la monitorización anestésica.

8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Malmierca E. Del sacrificio a la eutanasia. ARGOS 2016; 46: 1-7.
- (2) Tasker L. Métodos de eutanasia para perros y gatos: comparación y recomendaciones. London: World Society for the Protection of Animals; 2008. [Acceso el 18 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://asanda.org/documentos/animales-domesticos/MethodsEuthanasiaDogsCatsSpanish.pdf>
- (3) Beaver BV, Reed W, Leary S, McKiernan B, Bain F, Schultz R et al. Report of the AVMA panel on euthanasia. Journal of the American Veterinary Medical Association 2001; 218:669-696.
- (4) The Humane Society of the United States. Chapter 1: Understanding Euthanasia. Euthanasia reference manual, 2^a ed. The Humane Society of the United States;2013. p. 1-3.
- (5) American Veterinary Medical Association 2013. AVMA guidelines for the euthanasia of animals, 8th ed. Schaumburg (IL): American Veterinary Medical Association;2013.
- (6) Webb AI. Euthanizing agents. En: Riviere JE, Papich MG. Veterinary pharmacology and therapeutics. 9^a ed. Iowa(IA): Iowa State University Press; 2009. p. 401–408.
- (7) Giorgi M, Bertini S. TANAX (T61): An overview, Pharmacological Research. Investigación Farmacológica 2000; 41(4):379–383.
- (8) Sinclair L. Eutanasia en el Refugio para Animales. Medicina para Refugios para Veterinarios y Personal. 2004:389–409.
- (9) Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. Laboratory Animals 1996;30(4):293-316.
- (10) Autoridad de Seguridad de los Alimentos Europea – Panel de Bienestar y Salud Animal. Informe científico: Aspects of the biology and welfare of animals used for experimental and other scientific purposes. Anexo a la Revista del EFSA 2005; 292:1–136.
- (11) Leach MC, Bowell VA, Allan TF, Morton DB. Measurement of aversion to determine humane methods of anaesthesia and euthanasia. Bienestar Animal 2004; 13:S77-S86.

- (12) Pritchett KCD, Stockwell J, Smith A. Euthanasia of neonatal mice with carbon dioxide. Comparative Medicine 2005; 55(3):275-281.
- (13) Carding AH. Euthanasia of cats and dogs: an analysis of experience and current knowledge with recommendations for research. Animal Regulation Studies 1977;1:5-21(14) randomization.com [Internet]. Dallal GE [actualizada el 16 de julio de 2008; acceso 18 de enero de 2017]. Disponible en: <http://www.randomizacion.com>
- (15) cimavet.aemps.es [Internet]. Información Dolethal. Agencia Española de Medicamentos y productos sanitarios. [Actualizada el 15 de diciembre de 2016; acceso el 14 de enero de 2017]. Disponible en: <https://cimavet.aemps.es/cimavet/formatos.do?datos.nregistro=737%20ESP>
- (16) cimavet.aemps.es [Internet]. Información T-61. Agencia Española de Medicamentos y productos sanitarios. [Actualizada el 15 de diciembre de 2016; acceso el 14 de enero de 2017]. Disponible en: <https://cimavet.aemps.es/cimavet/formatos.do?datos.nregistro=873%20ESP>
- (17) Rioja E, Salazar V. Capítulo 11: Monitorización. En: Rioja E, Salazar V, Martínez M, Martínez F. Manual de anestesia y analgesia de pequeños animales. Zaragoza: Servet; 2013. p. 131-156.
- (18) Barocio LD. Review of the literature on the use of T61 as an euthanizing agent. International Journal for the Study of Animal Problems 1983; 4:336-342.
- (19) Hellebrekers LJ, Baumans V, Bertens G, Hartman W. On the use of T61 for euthanasia of domestic and laboratory animals; an ethical evaluation. Laboratory Animals 1990; 24:200-204.
- (20) Lumb W, Doshi K, Scott R. A comparative study of T-61 and pentobarbital for euthanasia of dogs. Journal of the American Veterinary medical Association 1978;2(178):149-152.
- (21) Rowan A. T-61 Use in the Euthanasia of Domestic Animals: A Survey. The Humane Society Institute for Science and Policy Animal Studies Repository 1985:78-86.
- (22) Blank C, Metzner M, Lorch A, Klee W. Euthanasia of cattle: a clinical comparison of T 61 and pentobarbital (Eutha 77). Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2010; 123(3-4):96-102.