

Directrices de aspectos éticos y de bienestar animal en la utilización de fauna salvaje en procedimientos científicos

J. Guerrero & X. Manteca

Guerrero, J. & Manteca, X., 2000. Directrices de aspectos éticos y de bienestar animal en la utilización de fauna salvaje en procedimientos científicos. *Misc. Zool.*, 23.2: 129–142.

Ethical aspects and animal well-being in the use of wild fauna in scientific procedures. — Animal investigation raises ethical issues to which no scientist can remain indifferent. These issues arise from two basic concepts: on one hand, the recognition that animals can experience pain and suffering, and on the other, the conviction that to cause an animal to suffer is morally unacceptable. The scientist should also keep in mind the growing sensitivity of public opinion to animal well-being and the legal aspects regulating the use of animals for scientific purposes. In this article the principles of the three R's (replacement, reduction and refinement) and the ethical balance are discussed, all essential points of debate on ethics in animal experimentation. On continuation, the main aspects of animal well-being are described in commonly used procedures in wild animal research. Finally, some legal aspects are discussed, with special emphasis on the ethical committees.

Key words: Animal experimentation, Animal welfare, Animal well-being, Ethics, Wildlife.

(*Rebut: 16 V 01; Acceptació definitiva: 26 VI 01*)

Javier Guerrero & Xavier Manteca, Unitat de Fisiologia Animal, Fac. de Veterinària, Univ. Autònoma de Barcelona, 08183 Bellaterra, Barcelona, Espanya (Spain).

Introducción

La investigación con animales plantea problemas éticos frente a los que ningún científico debería permanecer indiferente. Estos problemas son el resultado de dos elementos: por una parte, el reconocimiento de que los animales pueden experimentar dolor y sufrimiento, y, por otra parte, la convicción de que causar sufrimiento a un animal no es moralmente aceptable, al menos en principio y si no existe una razón que lo justifique.

La capacidad de los animales para experimentar dolor y sufrimiento es aceptada por buena parte de los científicos y del público en general, aunque existe todavía desacuerdo acerca de qué animales son capaces de sufrir y en qué medida (ver por ejemplo ZAYAN, 1986). Es interesante destacar, no obstante, que la mayoría de leyes de protección de los animales utilizados con fines científicos hacen referencia únicamente a los animales vertebrados.

Además de la opinión personal de cada investigador, es importante tener en cuenta que la actividad científica se desarrolla en el seno de una sociedad que es cada vez más sensible hacia el bienestar de los animales. En consecuencia, la percepción por parte de la opinión pública de que la actividad científica implica crueldad hacia los animales podría perjudicar la imagen social de dicha actividad. Esto es especialmente importante si tenemos en cuenta que buena parte de la investigación se financia con fondos públicos. Únicamente a título de ejemplo, el 60% de la actividad científica que se desarrolla en la Universidad Autónoma de Barcelona está financiada con dinero público y es muy probable que en el caso particular de la investigación con animales salvajes este porcentaje sea aún mayor.

Finalmente, la investigación con animales está regulada en varios países por leyes cuya finalidad es precisamente la protección de los animales. En resumen, pues, pensamos que los científicos que investigan con animales deben tener en cuenta las implicaciones morales de su actividad tanto por razones de ética individual como por motivos legales y de imagen.

La información acerca de los aspectos éticos y de bienestar animal en la investigación

con animales hace referencia en su mayor parte a especies y procedimientos de laboratorio. Por el contrario, la información acerca de animales salvajes es más escasa y está más dispersa. El objetivo de este artículo es presentar una revisión de los principales problemas éticos y de bienestar animal que pueden derivarse de la investigación con animales salvajes; queremos señalar, no obstante, que no pretendemos ofrecer una revisión exhaustiva de todos los procedimientos susceptibles de ser realizados en animales salvajes, sino únicamente presentar una serie de principios generales que puedan servir de guía y de elemento de reflexión para los científicos, y que puedan ser aplicados después a cada procedimiento concreto.

El contenido de este trabajo hace referencia únicamente a mamíferos y aves; los lectores interesados en otras clases de vertebrados pueden encontrar información útil en las siguientes referencias: peces, *Guidelines for the Use of Fishes in Field Research* (American Society of Ichthyologists and Herpetologists, American Fisheries Society and American Institute of Fisheries Research Biologists), y STOSKOPF (1993); anfibios y reptiles, *Guidelines for the Use of Live Amphibians and Reptiles in Field Research* (American Society of Ichthyologists and Herpetologists, The Herpetologists League and the Society for the Study of Amphibians and Reptiles).

Principios generales en la utilización de animales en investigación

Uno de los principios generalmente aceptados en la investigación con animales es el denominado principio de las tres R's (RUSSELL & BURCH, 1959). De acuerdo con este principio, cualquier investigador que se disponga a trabajar con animales debería: a. Estudiar la posibilidad de utilizar técnicas alternativas que le permitieran conseguir sus objetivos sin necesidad de utilizar animales; b. Si lo anterior no fuera posible, reducir el número de animales utilizados al mínimo imprescindible y c. Utilizar todas las técnicas a su alcance para reducir el sufrimiento de los animales utilizados. Precisamente, el término "principio de las tres R's" proviene de las iniciales de las palabras inglesas *replacement*, *reduction* y *refinement*,

que hacen referencia a los tres requisitos comentados. El principio de las tres R's se considera un elemento fundamental en cualquier debate sobre la utilización de animales en investigación y a nuestro entender debería inspirar la actitud de cualquier científico que trabaje con animales.

Si bien es cierto que buena parte de los procedimientos que se realizan con animales salvajes no son susceptibles de ser sustituidos por técnicas alternativas, la reducción del número de animales y la utilización de técnicas que disminuyan su sufrimiento son perfectamente aplicables. La reducción del número de animales puede conseguirse con un buen diseño experimental; en este sentido, pensamos que muchas veces es aconsejable que el investigador consulte con un experto en estadística antes de iniciar el trabajo experimental. Las técnicas para disminuir el sufrimiento de los animales utilizados son a menudo específicas para cada procedimiento. No obstante, algunas son relativamente generales; por ejemplo, la utilización de analgesia y anestesia y los criterios de punto final pueden aplicarse a muchos procedimientos y serán discutidos más adelante.

A la hora de valorar un procedimiento desde el punto de vista ético, es importante tener en cuenta no sólo el número de animales utilizados y el sufrimiento que se les causa, sino también los posibles beneficios derivados del procedimiento. Así, el procedimiento será aceptable sólo si los beneficios son mayores que el daño, es decir, que el sufrimiento causado a los animales (BATESON, 1986). Aunque a menudo es muy difícil cuantificar los posibles beneficios derivados de un procedimiento (STAFLEU et al., 1999), pensamos que este segundo principio —denominado a veces "principio del balance ético"— es importante porque indica, entre otras cosas, que la calidad de un experimento es un elemento fundamental en el debate ético. En efecto, un experimento mal diseñado y por lo tanto poco susceptible de arrojar resultados útiles no sería aceptable ni siquiera en el supuesto de que causara poco sufrimiento, puesto que aún así el daño sería mayor que el beneficio.

Tanto el principio del balance ético como el principio de las tres R's requieren que el investigador sea capaz de valorar "a priori"—es decir, antes de iniciar el trabajo experi-

mental— el sufrimiento que su investigación causará en los animales utilizados. Esta valoración no es fácil, pero el investigador puede utilizar como punto inicial de la misma las escalas de severidad y el principio de analogía. Las escalas de severidad permiten clasificar los procedimientos en tres grupos: procedimientos de severidad alta, media y baja, entendiéndose por severidad la intensidad y duración del sufrimiento causado a los animales. De entre las varias escalas de severidad publicadas, una de las que nos parece más útil es la elaborada por la *Laboratory Animal Science Association* (WALLACE et al., 1990). Esta escala valora el sufrimiento durante y después del procedimiento de acuerdo con varios criterios a los que se asigna una puntuación, que depende de cada procedimiento (tabla 1). La severidad del procedimiento es la suma total de las puntuaciones; la escala indica la severidad de más de 70 posibles procedimientos, incluyendo diferentes técnicas para la obtención de muestras y administración de sustancias, intervenciones quirúrgicas y técnicas de inmovilización. Independientemente de que las puntuaciones otorgadas a cada procedimiento sean discutibles y de que la escala esté pensada principalmente para animales de laboratorio, pensamos que constituye una fuente de información útil para cualquier científico que trabaje con animales. Además, el método utilizado por los autores es susceptible de ser aplicado a cualquier otro procedimiento.

Una segunda forma de valorar la severidad de un procedimiento es aplicar el principio de analogía (STAFLEU et al., 1992). De acuerdo con este principio, aquellos procedimientos que causarían dolor o sufrimiento en un ser humano serían también susceptibles de causarlo en un animal. El principio de analogía debe aplicarse con prudencia y sentido común, puesto que es necesario tener en cuenta las diferencias entre especies. Por ejemplo, un período de ayuno de unas pocas horas no tendría por qué causar sufrimiento en un ser humano normal, y sin embargo tiene consecuencias mucho mayores en roedores o insectívoros, cuya tasa metabólica es muy elevada (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998; VERMEULEN et al., 1997). A la inversa, el sufrimiento que experimentamos los seres humanos frente a muchas

situaciones es en buena medida fruto de nuestra anticipación de lo que nos ocurrirá en el futuro, y es poco probable que los animales tengan una capacidad de anticipación del futuro similar a la nuestra. A pesar de estas limitaciones, pensamos que el principio de analogía constituye un punto de partida útil para los investigadores, especialmente considerando la similitud entre animales y personas en las estructuras nerviosas responsables, por ejemplo, de la percepción del dolor (BATESON, 1991).

Procedimientos comúnmente utilizados en animales salvajes

Observación y estudios de conducta. Riesgo de interferencia por parte del investigador

La mera observación de los animales para obtener datos acerca de su abundancia o conducta, por ejemplo, puede tener efectos negativos sobre su bienestar y supervivencia. Estos efectos debidos a la interferencia del investigador son similares a los causados por otras actividades no científicas, tales como el turismo, aunque generalmente menos marcados. No obstante, en ocasiones pueden tener consecuencias graves para el animal (ANDERSON & KEITH, 1980). Además, la mera presencia del investigador puede afectar los resultados de la investigación; esto es especialmente frecuente en estudios de comportamiento, puesto que la frecuencia de algunas conductas —por ejemplo el juego o la actividad sexual— puede verse alterada por la presencia humana (MARTIN & BATESON, 1986).

Las consecuencias de la interferencia dependen, entre otros factores, de la estructura del hábitat, la especie animal y la población objeto del estudio, el período del año en que se realiza el estudio y la forma de aproximación del observador (GAUNT & ORING, 1999).

Existen diferencias importantes entre especies en cuanto a su respuesta a la proximidad humana y el investigador debería familiarizarse con las peculiaridades de la especie objeto de estudio (GAUNT & ORING, 1999). Igualmente, dentro de una misma especie pueden existir diferencias entre poblaciones debido a su mayor o menor habituación a la presencia humana o a la medida en que la población está sujeta a la caza;

algunos autores han sugerido la conveniencia de realizar estudios de campo en poblaciones relativamente habituadas o tolerantes, siempre que ello sea posible (BURGER & GOCHFELD, 1981).

En la medida de lo posible, convendría minimizar el riesgo de interferencia durante los períodos del año en que los animales son especialmente sensibles a sus efectos, tales como por ejemplo la época de nidificación en las aves (ANDERSON & KEITH, 1980). Así mismo, la interferencia en la conducta de alimentación y el gasto energético adicional causado por la huida provocada por el observador pueden tener consecuencias graves para animales que se encuentren en una situación límite en cuanto a su balance energético; esto puede ocurrir, por ejemplo, en algunas poblaciones de herbívoros durante el invierno (MACARTHUR et al., 1982).

La forma de aproximación del observador es importante. Por ejemplo, algunos animales reaccionan más si el observador se aproxima directamente en lugar de tangencialmente (BURGER & GOCHFELD, 1981). Igualmente, el hecho de abandonar los caminos o las zonas habitualmente frecuentadas por los humanos puede desencadenar respuestas de alarma o huida más marcadas que las que tendrían lugar si los observadores permanecieran en dichas zonas (CEDERNA & LOVARI, 1985). Cuando no pueden utilizarse escondites ("hides"), el hecho de permanecer dentro del vehículo mientras se realizan las observaciones disminuye frecuentemente el riesgo de interferencia. Así mismo, dado que los animales pueden habituarse hasta cierto punto a la presencia del investigador, la consistencia en el horario y forma de aproximación puede resultar útil (GAUNT & ORING, 1999).

Un aspecto adicional a tener en cuenta es que el investigador debería hacer todo lo posible para dejar el área de estudio en las mismas condiciones en que la encontró. Igualmente, es importante evitar atraer la atención de otras personas que podrían aumentar los problemas derivados de la interferencia humana (GAUNT & ORING, 1999).

Los lectores interesados de forma más específica en los estudios de conducta deberían consultar el documento titulado *Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching* (ASSOCIATION FOR THE STUDY OF ANIMAL BEHAVIOUR, 1997). Igual-

Tabla 1. Parámetros utilizados para valorar la severidad de un procedimiento experimental (WALLACE et al., 1990). La severidad total es la suma de todas las puntuaciones. Si la puntuación es inferior a 8, el procedimiento se considera de severidad baja; entre 8 y 20, el procedimiento es de severidad intermedia; y si es superior a 20, el procedimiento es de severidad alta.

Parameters used to value the severity of an experimental procedure (WALLACE et al., 1990). The total severity is the sum of all scores. If the score is below 8, the procedure is considered of low severity; if it between 8 and 20, the procedure is of intermediate severity; and if it is above 20, the procedure is of high severity.

| Parámetro | Rango de puntuación |
|---------------------------------------|---------------------|
| Antes del procedimiento | |
| Animal consciente / inconsciente | 1 / 0 |
| Anestesia | 0 - 4 |
| Preparación (ej: ayuno prequirúrgico) | 0 - 2 |
| Inmovilización | 0 - 4 |
| Duración | 0 - 2 |
| Sensibilidad del tejido | 0 - 2 |
| Riesgo para el órgano | 0 - 2 |
| Riesgo de mortalidad | 0 - 4 |
| Dolor | 0 - 5 |
| Estrés | 0 - 5 |
| Restricción de conducta | 0 - 5 |
| Después del procedimiento | |
| Dolor | 0 - 5 |
| Estrés | 0 - 5 |
| Restricción de conducta | 0 - 5 |

mente, MARTIN & BATESON (1986, 1993) y LEHNER (1996) ofrecen gran cantidad de información útil acerca de cuestiones metodológicas en general y de aspectos éticos en particular. STILL (1982) y McCONWAY (1992) discuten métodos para reducir el número de animales utilizados en estudios de comportamiento.

Los estudios sobre depredación y agresividad plantean problemas éticos especiales (ORLANS et al., 1998). Indudablemente, las lesiones causadas en la presa o en el animal objeto de la agresión, así como el estrés provocado por el ataque o por la mera presencia del depredador o agresor, son causas importantes de sufrimiento. A nuestro entender, el

investigador no puede permanecer indiferente a estos problemas escudándose en el hecho de que la agresión y la depredación son fenómenos naturales; en realidad, si siguiéramos un razonamiento similar podríamos justificar un experimento en el que se dejara morir a un animal de inanición simplemente porque en ocasiones los animales en libertad mueren de hambre. Los lectores interesados en los aspectos éticos de este tipo de trabajos deberían consultar a ELWOOD (1991) y HUNTINGFORD (1984), que discuten diferentes maneras de reducir el sufrimiento causado por estos estudios. Es importante tener en cuenta, no obstante, que los métodos propuestos no siem-

pre son aplicables. Pensamos que antes de iniciar una investigación de este tipo, el científico debe reflexionar muy cuidadosamente y aplicar el *principio del balance ético* explicado anteriormente. De acuerdo con este principio, algunos autores han concluido que determinados trabajos sobre agresión y deprecación no son éticamente aceptables (BEKOFF, 1993). El lector encontrará elementos útiles para esta reflexión en ORLANS et al. (1998).

Captura de animales

Muchos trabajos de campo requieren la captura de animales vivos para marcarlos, obtener muestras, mantenerlos un tiempo en cautividad o sacrificarlos. La captura de un animal salvaje es un procedimiento delicado, que puede causar lesiones y estrés. Existen numerosos métodos de captura y la discusión de los problemas derivados de cada uno de ellos está fuera de los objetivos de este trabajo; el lector interesado en este aspecto encontrará información útil en AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS (1998), FOWLER (1986), GAUNT & ORING (1999) y SCHEMNITZ (1994). No obstante, existen una serie de consideraciones generales que son aplicables a varios métodos de captura y que pueden resumirse del siguiente modo:

1. Cuando el investigador no pretende liberar a los animales capturados de forma inmediata, es importante que las capturas se realicen de forma que no tengan un impacto negativo sobre la población. Esto puede conseguirse capturando un número limitado de animales en cada zona, escogiendo zonas que estén separadas entre sí y haciendo todo lo posible para obtener la máxima información de cada animal capturado, con objeto de reducir al mínimo indispensable el tamaño de la muestra (GAUNT & ORING, 1999; AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998).

2. Deberían evitarse las capturas en épocas del año en las que las crías dependen del cuidado de los adultos. Igualmente, en especies sociales deberían tenerse en cuenta las posibles consecuencias negativas derivadas de la captura de determinados individuos (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998).

3. Los investigadores que pretendan utilizar métodos de captura químicos, es decir, que requieren el uso de anestésicos y productos similares, deberían consultar con un veterinario especialista en fauna salvaje. En

efecto, el producto de elección y la dosis a utilizar dependen de un gran número de factores y es imposible dar consejos simples al respecto. El mejor consejo, por lo tanto, es seguir las indicaciones de una persona con experiencia (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998). Además, antes de utilizar métodos de captura químicos, el investigador debería informarse acerca de la legislación que regula el empleo de fármacos en animales (Real Decreto 109/1995, de 27 de enero, sobre medicamentos veterinarios).

4. Cuando se utilizan métodos físicos tales como redes, cajas trampa, etc, la supervisión frecuente de los puntos de captura es un requisito esencial (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998; GAUNT & ORING, 1999). Por lo tanto, el número de puntos de captura y la distancia entre ellos debe decidirse según la disponibilidad de personal y las características de la zona de captura. La frecuencia exacta de supervisión depende de la especie animal, el tipo de trampa y las condiciones climáticas (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998). Cuando se capturan mamíferos nocturnos, se aconseja instalar las trampas antes del anochecer y revisarlas tan pronto como sea posible después de amanecer. En el caso de los insectívoros, la frecuencia de supervisión debe ser especialmente alta, aconsejándose revisar las trampas cada 1.5–4 horas (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998). Cuando se capturan aves con redes japonesas o cajas-trampa se aconseja supervisar cada 20–30' y como mínimo una vez cada hora (GAUNT & ORING, 1999). Es importante tener en cuenta que bajo determinadas condiciones climáticas, algunos animales—especialmente los de pequeño tamaño, tales como los passeriformes, por ejemplo— pueden morir en espacio de unas pocas horas tras ser capturados. Por esta misma razón conviene situar las redes y trampas al abrigo del viento y sobre todo de la radiación solar directa, especialmente en climas cálidos. Finalmente, es importante cerrar o recoger las trampas y redes al finalizar la captura.

5. Inmediatamente tras la captura deben tomarse las medidas necesarias para que el animal no se autolesione. En algunos casos es aconsejable inmovilizar las patas o alas del animal. En algunas especies se aconseja colocar además una venda sobre los ojos del animal (FOWLER, 1986).

6. Es interesante que el investigador utilice fichas de captura en las que registre toda la información relativa a la misma, incluyendo las posibles lesiones sufridas por el animal (OLSEN et al., 1986; JONATHAN & PHILLIPS, 1994). De esta forma, el investigador dispone de la información necesaria para mejorar, si es posible, el método de captura.

7. La denominada *miopatía de captura* es un proceso patológico grave que puede producirse tras la captura de ungulados y, más raramente, aves y primates (WILLIAMS & THORNE, 1996). La miopatía de captura consiste en una necrosis del músculo esquelético y/o cardíaco, y una necrosis tubular renal aguda. Sus síntomas pueden manifestarse desde unas pocas horas hasta varios días después de la captura y a menudo causan la muerte del animal (SPRAKER, 1993). Algunos de los consejos para disminuir el riesgo de este problema son evitar las capturas en el período de más calor del día y procurar que los animales no realicen esfuerzos muy intensos durante el proceso de captura.

Identificación de los animales

Al igual que ocurre con la captura, existen muchas técnicas para identificar a los animales que serán objeto de estudio y una discusión exhaustiva de los problemas derivados de cada una de ellas está más allá de los objetivos de este trabajo. El lector interesado encontrará información en NIETFELD et al. (1994), GAUNT & ORING (1999) y LEHNER (1996).

Algunos métodos de identificación son muy criticables desde el punto de vista del bienestar animal y deberían evitarse siempre que fuera posible. Entre estos métodos se encuentran el marcado al fuego y la amputación parcial de dedos. El marcado al fuego produce dolor intenso y además puede dar lugar a infecciones; afortunadamente es un método muy poco utilizado (NIETFELD, 1994). La amputación de la porción más distal de uno o varios dedos se realiza más frecuentemente, especialmente en micromamíferos. Algunos estudios indican que este procedimiento disminuye la supervivencia (PAVONE & BOONSTRA, 1985); además, resulta muy difícil argumentar que no causa dolor en los animales. Por lo tanto, pensamos que en la medida de lo posible debería evitarse.

Un aspecto adicional que debería tenerse en cuenta es el posible efecto del método de identificación sobre la conducta posterior del animal y sobre las interacciones de otros individuos con el animal marcado (LEHNER, 1996).

Intervenciones quirúrgicas y toma de muestras de sangre

Cualquier intervención quirúrgica debería realizarse bajo anestesia y debería ir seguida de un protocolo de analgesia postquirúrgica que se prolongara entre 24 y 72 horas, en función de la severidad de la intervención. En condiciones de campo, no obstante, estos requisitos pueden ser poco realistas o incluso peligrosos para el animal. Esto hace que algunas prácticas que en el laboratorio requerirían el uso de anestesia y analgesia, se acepten sin ellas en condiciones de campo; este es el caso, por ejemplo, de la laparotomía para sexar paseriformes (GAUNT & ORING, 1999). Pensamos que en cada caso el investigador debe analizar los beneficios y los inconvenientes de la anestesia o analgesia en función de las condiciones de trabajo (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998), pero debe considerar que, en principio, una intervención quirúrgica causa dolor. Así mismo, el investigador no debería basar su decisión ni en la comodidad ni en su falta de conocimientos, sino en el bienestar del animal. Si se decide utilizar anestesia y/o analgesia, es imprescindible recurrir al asesoramiento de un veterinario especialista en fauna salvaje.

La toma de muestras de sangre es un procedimiento relativamente común en muchas investigaciones. Desde el punto de vista del bienestar del animal, las dos consideraciones importantes son la técnica de extracción y el volumen total de sangre extraído. El lector interesado encontrará información útil en MORTON et al. (1993). Creemos que vale la pena insistir en que la extracción de sangre del seno orbital —que es una técnica utilizada en roedores— no es aconsejable en animales conscientes.

Transporte

El transporte de animales es un procedimiento delicado, puesto que el animal transportado es sometido a varios factores estresantes al mismo tiempo. Las condiciones óptimas de

transporte varían en función de la especie y de las condiciones ambientales, pero existen una serie de consideraciones de interés general que pueden resumirse del siguiente modo (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998; EBEDES, 1992; FRIEND et al., 1994; GAUNT & ORING, 1998; MCKENZIE, 1993; UICN, 1980):

1. El estrés térmico es uno de los principales problemas del transporte. Debe asegurarse una ventilación adecuada y evitar temperaturas extremas. En climas cálidos o incluso templados, debe evitarse que los animales permanezcan en el medio de transporte expuestos al sol.

2. Si los animales no se transportan de forma individual, existe el riesgo de agresiones y lesiones. Esto es especialmente cierto en el caso de especies territoriales o solitarias, y cuando se mezclan individuos de grupos diferentes.

3. Una iluminación tenue y la utilización de barreras visuales que aislen al animal de su entorno pueden contribuir a disminuir el estrés del transporte.

4. Algunos animales, especialmente los de pequeño tamaño y tasa metabólica alta, pueden deshidratarse y morir de inanición en un período relativamente corto. Es aconsejable hidratar a los animales antes del transporte y/o proporcionarles durante el mismo un aporte de agua y nutrientes.

5. El habitáculo destinado al transporte debe ser lo suficientemente amplio para que el animal se encuentre cómodo. No obstante, una excesiva libertad de movimiento puede no ser recomendable, puesto que el animal podría lesionarse o extenuarse intentando escapar. En algunas ocasiones, es incluso más seguro inmovilizar al animal para que no se lesione. También puede ser aconsejable acolchar las paredes del habitáculo.

6. La utilización de neurolépticos puede ser una herramienta útil para disminuir el estrés del transporte y facilitar la posterior adaptación a las condiciones de cautividad. Si el investigador considera esta posibilidad, debería consultar a un veterinario especialista en fauna.

Mantenimiento en cautividad

Las condiciones de mantenimiento en cautividad de una determinada especie deben tener en cuenta sus necesidades fisiológicas y comportamentales. Por lo tanto, es imprescindible que el investigador se familiarice

al máximo con la biología de la especie en cuestión. Puede encontrarse información de interés general en AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS (1998), GAUNT & ORING (1999), MCKENZIE (1993), POOLE (1999), REINHARDT (1997). Es importante tener en cuenta, no obstante, que las condiciones óptimas de mantenimiento de un animal salvaje pueden ser muy distintas a las recomendadas para especies de laboratorio. Además de las peculiaridades ecológicas, fisiológicas y comportamentales de cada especie, en muchas ocasiones es recomendable que un animal salvaje sea manipulado o molestado lo menos posible (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998). Es importante tener en cuenta que los animales pueden tardar un período de tiempo relativamente largo —a veces hasta de varias semanas (WINGFIELD et al., 1982)— en adaptarse a las condiciones de cautividad; en general, no deberían iniciarse los trabajos experimentales y la recogida de datos hasta que los animales estuvieran adaptados.

Pensamos que además de las condiciones de mantenimiento, hay dos aspectos adicionales de gran importancia: la supervisión de los animales y el establecimiento de criterios de punto final. Los animales en cautividad deberían supervisarse al menos una vez al día y en determinadas circunstancias —por ejemplo, inmediatamente después de una intervención quirúrgica o durante un procedimiento experimental susceptible de causar dolor o sufrimiento— con más frecuencia. Idealmente, el investigador debería elaborar una ficha de supervisión para cada animal y decidir la frecuencia de supervisión y las personas encargadas de la misma. En la ficha de supervisión deberían incluirse los parámetros que se utilizarán para valorar el estado del animal. MORTON & GRIFFITHS (1985) y MORTON (1997) aportan ideas útiles para decidir los parámetros de una ficha de supervisión. En general, deben considerarse aspectos tales como: 1. La postura del animal, el aspecto del pelo o plumas y la presencia de secreciones anormales; 2. El consumo de alimento y agua, así como la presencia de heces y su aspecto; 3. El comportamiento del animal, incluyendo conductas anormales tales como estereotipias, vocalizaciones indicativas de dolor y automutilación; y 4. El peso del animal y su reacción al ser manipulado. Es muy importante tener en cuenta, no obstante, que los parámetros de la ficha de supervisión

deben adaptarse a cada especie y procedimiento experimental. Por ejemplo, la valoración del peso y de la respuesta a la manipulación puede no ser aconsejable en un animal salvaje. Igualmente, después de un procedimiento quirúrgico es importante incluir en la ficha de supervisión el aspecto de la zona de abordaje. Los investigadores que deseen elaborar una ficha de supervisión encontrarán información útil acerca de los signos de dolor y sufrimiento en diferentes especies en NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1992) y WALLACE et al. (1990). En general, deben evitarse parámetros demasiado amplios o ambiguos, tales como "aspecto del animal" o "conducta del animal" y deben sustituirse por otros más concretos tales como "presencia de diarrea o secreciones oculares" o "evidencias de automutilación". Igualmente, es aconsejable establecer un sistema de puntuación para cada parámetro que permita cuantificar el bienestar del animal (MORTON & GRIFFITHS, 1985; MORTON, 1997). Es importante tener en cuenta que algunos animales dan muy pocas muestras de dolor, sin que ello implique necesariamente que no lo están experimentando. Una vez más, el investigador debe estar familiarizado con la conducta normal y signos de dolor de la especie con la que trabaja.

Los criterios de punto final permiten al investigador decidir si un animal debe ser sacrificado antes de finalizar la investigación. Los criterios de punto final son un requisito indispensable en aquellos procedimientos susceptibles de causar dolor o sufrimiento intensos y en los que no puede utilizarse analgesia u otras medidas correctoras. El lector interesado encontrará información útil acerca de los criterios de punto final en CANADIAN COUNCIL OF ANIMAL CARE (1998), MORTON & GRIFFITHS (1985) y HENDRIKSEN & MORTON (1998). Los criterios de punto final deben adaptarse a cada especie y procedimiento experimental.

Liberación de los animales

En general, se aconseja liberar a los animales capturados tan cerca como sea posible del lugar de captura (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998). Igualmente, según algunos autores es conveniente que la liberación sea lo más rápida posible (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998); no obstante,

nuestros trabajos parecen indicar que el estrés causado por la captura y por los procedimientos experimentales disminuye con el tiempo mientras el animal está en cautividad, siempre y cuando las condiciones de mantenimiento sean las adecuadas. De acuerdo con estos resultados, cuando el animal ha sufrido un estrés intenso durante la captura o manipulaciones posteriores, podría ser conveniente retrasar la liberación unos pocos días para permitir su recuperación.

Eutanasia

Un requisito fundamental en la investigación con animales es utilizar métodos de sacrificio que causen la muerte del animal sin dolor ni estrés innecesarios. En general, un método de eutanasia es aceptable cuando: a. Causa la inconsciencia muy rápidamente y ésta se prolonga hasta la muerte del animal; b. Es eficaz en un porcentaje muy elevado de los casos; y c. Es de fácil ejecución.

Las dos fuentes de información más útiles acerca de los diferentes métodos de eutanasia que pueden utilizarse en los vertebrados son CLOSE et al. (1996, 1997) y AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION (2001). CLOSE et al. (1997) aportan unas tablas con diferentes métodos y su puntuación en términos de bienestar animal (la puntuación va de 0 a 5 y cuanto más alta es, mejor es el método; en el artículo se encuentran tablas para peces, anfibios, reptiles, aves, roedores, conejos, carnívoros y ungulados). GAUNT & ORING (1999) y AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS (1998) discuten los métodos de eutanasia en condiciones de campo. A partir de esta información y teniendo en cuenta las condiciones de trabajo, la especie y los objetivos del estudio, el investigador debería ser capaz de decidir un método práctico y aceptable desde el punto de vista ético.

Es importante insistir en que algunos métodos de eutanasia son totalmente condenables desde el punto de vista ético; entre estos métodos se incluyen la utilización de bloqueantes musculares, sales de magnesio o potasio, y estricnina. Igualmente, la utilización de éter o cloroformo es poco recomendable (CLOSE et al., 1996, 1997), tanto por razones de seguridad para el investigador como por razones de bien-

estar animal; no obstante, algunos autores consideran que el cloroformo es una alternativa válida en condiciones de campo (AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998). La muerte por desangrado o por compresión torácica no son tampoco aceptables en animales conscientes. Por el contrario, la administración de una sobredosis de barbitúricos por vía endovenosa —especialmente pentobarbital sódico—, la dislocación cervical —en mamíferos o aves de pequeño tamaño—, la pistola de bala cautiva y el disparo —en condiciones de campo— son métodos en general aceptables si los lleva a cabo una persona con experiencia. Sea cual sea el método utilizado, es imprescindible asegurarse de que el animal está muerto.

Aspectos legales

La investigación con especies de la fauna salvaje está habitualmente sujeta a un gran número de disposiciones legales que regulan la captura, traslado, mantenimiento en cautividad y liberación de animales, con especial énfasis en las especies protegidas. La descripción de estas disposiciones legales está fuera de los objetivos de este artículo y el investigador responsable de un procedimiento debería familiarizarse con ellas consultando a la administración o administraciones competentes. No obstante, pensamos que es importante mencionar algunos aspectos relacionados con las disposiciones legales que tienen como objetivo específico la protección de los animales utilizados para experimentación.

En España, el principal instrumento legal en este campo es el Real Decreto 223 / 1988, de 14 de marzo, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, que permitió incorporar al ordenamiento jurídico español la Directiva del Consejo 86 / 609 / CEE. Este RD establece por primera vez en España los objetivos y principios generales de la protección de los animales utilizados en investigación, incluyendo la necesidad de reducir el número de animales utilizados. Además, el RD indica que las personas que trabajen con animales de investigación (cuidador, experimentador y responsable o especialista) deberán acreditar una formación

específica. Hasta el momento de la publicación de este artículo no se ha estructurado dicha formación de forma oficial. El lector interesado en conocer más profundamente el contenido de este RD encontrará información útil en MORALES & GUERRERO (2001).

En la actualidad, sólo la Comunidad Autónoma de Cataluña ha publicado una ley específica sobre el uso de los animales de experimentación, concretamente la Ley 5 / 1995, de 21 de junio, de protección de los animales utilizados para experimentación y para otras finalidades científicas. Pensamos que algunos elementos de esta ley pueden ser de interés general, porque es posible que en un futuro no muy lejano sean adoptados por otras Comunidades Autónomas. En particular, la ley catalana establece que los centros que utilicen animales en procedimientos científicos o docentes deben crear un comité ético de experimentación animal que debe velar por el cuidado y bienestar de los animales utilizados en dichos procedimientos. Como consecuencia de ello, cualquier investigador que desee trabajar con animales vertebrados —incluyendo las formas larvarias de vida libre— debe solicitar antes autorización al comité ético del centro y no puede iniciar el procedimiento hasta que el comité le haya concedido la autorización. Cada comité ético dispone de un formulario que el investigador debe cumplimentar con la información del procedimiento para el que solicita autorización; esta información es entonces evaluada por el comité. En la tabla 2 aparece un resumen de los elementos principales del formulario utilizado por el comité ético de la Universidad Autónoma de Barcelona. Además de los comités éticos de cada centro, la Ley 5 / 1995 establece la creación de la Comisión de Experimentación Animal, que depende directamente del Gobierno Autónomo.

Un aspecto que merece especial atención por parte de las personas que trabajan con animales salvajes es que la Ley 5 / 1995 distingue dos tipos de procedimientos científicos: los procedimientos ordinarios y los procedimientos extraordinarios. Estos últimos requieren la aprobación previa no sólo del comité de ética del centro, sino también la de la Comisión de Experimentación Animal. Todos los procedimientos realizados con animales capturados en la Naturaleza o con especies protegidas, así como aquellos que incluyen

Tabla 2. Elementos principales del formulario utilizado por el Comité Ético de la Universidad Autónoma de Barcelona para aprobar un procedimiento de investigación con animales (modificado a partir de MORALES & GUERRERO, 2001).

Main elements of the form used by the Ethical Committee of the Autonomous University of Barcelona to approve an investigation procedure with animals (modified from MORALES & GUERRERO, 2001).

Título del procedimiento y datos del investigador / a

Objetivos del procedimiento

Diseño y metodología

Fases

Duración

Número de animales

Manipulaciones a los que se somete a los animales

Análisis previsto de los resultados

VARIABLES A CONTROLAR Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO QUE SE APLICARÁ

Persona experta en estadística consultada Sí / No + justificación si no se consulta a ninguna persona experta

Métodos alternativos

No existen / sí existen pero no están validados / se desconocen / otros

Fuentes de información sobre técnicas alternativas consultadas

Idoneidad de la especie seleccionada. Reutilización de animales

Indicar especie, cepa o raza en su caso y los motivos de la elección

Indicar si los animales habían sido utilizados antes en otro procedimiento científico y en caso afirmativo indicar en cuál.

Evitación de sufrimientos innecesarios. Analgesia y anestesia

Fases en que puede existir dolor, sufrimiento o angustia

Protocolo de supervisión de los animales, incluyendo parámetros a valorar, frecuencia de supervisión y personas encargadas de la supervisión

Medidas correctoras, incluyendo criterios de punto final

Aplicación de analgésicos o anestésicos: producto, vía, dosis, frecuencia y persona responsable (se aconseja indicar, si es el caso, que no se usan anestésicos ni analgésicos por ser su utilización más traumática o arriesgada que el procedimiento en sí mismo)

Finalización del procedimiento

Se mantendrá el animal con vida / eutanasia

Motivos de la eutanasia, método utilizado y persona responsable

Personal implicado en el procedimiento (titulación y formación)

Instalaciones

Autorización expresa si se trata de un procedimiento extraordinario

la liberación posterior de los animales, se consideran procedimientos extraordinarios.

La Ley 5/1995 fue posteriormente desarrollada por el Decreto 214/1997, de 30 de julio, por el que se regula la utilización de animales para experimentación y para otras finalidades científicas. Este decreto establece, entre otras cosas, la formación necesaria para las personas que realizan investigación con animales. A título de ejemplo, las personas responsables de un procedimiento deben realizar un curso de formación de 80 horas lectivas; el curso cubre aspectos tales como la legislación sobre el uso de animales, aspectos de bienestar, diseño experimental, instalaciones para el mantenimiento de animales, técnicas alternativas, anestesia y analgesia, etc. El lector interesado en conocer más detalles sobre la ley catalana encontrará información útil en MORALES & GUERRERO (2001).

Tal como hemos indicado, pensamos que en un futuro no muy lejano todos los procedimientos de investigación que se realicen con animales vertebrados deberán contar con la aprobación previa de un comité de ética. Esperamos que este artículo sirva para aportar elementos de reflexión a los miembros de los comités de ética y a los propios investigadores, que contribuyan en último término a mejorar el bienestar de los animales y la calidad de la investigación.

Agradecimientos

Jordi Cantó, Jesús Fernández y Gemma Tedó leyeron una primera versión de este artículo; sus comentarios contribuyeron a mejorar su contenido y redacción. Este trabajo está dedicado a la memoria de Javier Guerrero, cuya amistad y trabajo fueron una fuente constante de inspiración.

Referencias

- AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS, 1998. Guidelines for the capture, handling and care of mammals as approved by the American Society of Mammalogists. *J. Mammal.*, 79: 1.416–431. (<http://www.mammalsociety.org/committees/index.asp>)
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 2001. 2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 218: 671–696. (<http://www.avma.org/resources/euthanasia.pdf>)
- ANDERSON, D. W. & KEITH, J. O., 1980. The human influence on seabird nesting success: conservation implications. *Biol. Conserv.*, 18: 65–80.
- ASSOCIATION FOR THE STUDY OF ANIMAL BEHAVIOUR, 1997. Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching. *Anim. Behav.*, 53: 229–234. (<http://www.academicpress.com/www/journal/ar/guide.pdf>)
- BATESON, P., 1986. When to experiment on animals. *New Scientist*, 1496: 30–32.
- 1991. Assessment of pain in animals. *Anim. Behav.*, 42: 827–839.
- BEKOFF, M., 1993. Experimentally Induced Infanticide: The Removal of Birds and Its Ramifications. *Auk*, 110: 404–406.
- BURGER, J. & GOCHFELD, M., 1981. Discrimination of the threat of direct versus tangential approach to nest by incubating herring and great black-backed gulls. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 95: 676–684.
- CANADIAN COUNCIL OF ANIMAL CARE, 1998. *Guidelines on choosing an appropriate endpoint in experiments using animals for research, teaching and testing*. Canadian Council of Animal Care, Ottawa. (<http://www.ccac.ca/english/gdlines/endpts/appopen.htm>)
- CEDERNA, A. & LOVARI, S., 1985. The Impact of Tourism on Chamois Feeding Activities in an Area of the Abruzzo National Park, Italy. In: *The Biology and Management of Mountain Ungulates*: 216–225 (S. Lovari, Ed.). Croom Helm, London.
- CLOSE, B., BANISTER, K., BAUMANS, V., BERNOTH, E., BROMAGE, N., BUNYAN, J., ERHARDT, W., FLECKNELL, P., GREGORY, N., HACKBARTH, H., MORTON, D. & WARWICK, C., 1996. Recommendations for euthanasia of experimental animals, Part 1. *Lab. Anim.*, 30: 293–316. (<http://www.lal.org.uk>)
- 1997. Recommendations for euthanasia of experimental animals, Part 2. *Lab. Anim.*, 31: 1–32. (<http://www.lal.org.uk>)
- EBEDES, H., 1992. *The use of tranquilizers in wildlife*. Department of Agricultural Development, Pretoria.
- ELWOOD, R. W., 1991. Ethical implications of studies

- on infanticide and maternal aggression in rodents. *Anim. Behav.*, 42: 841–849.
- FOWLER, M. E., 1986. Restraint. In: *Zoo and Wildlife Medicine*, 2nd ed.: 38–50 (M. E. Fowler, Ed.). W. B. Saunders Company, Filadelfia.
- FRIEND, M., TOWELL, D. E., BROWNELL, R. L., NETTLES, V. F., DAVIS, D. S. & FOREYT, W. J., 1994. Guidelines for proper care and use of wildlife in field research. In: *Research and Management Techniques for Wildlife and Habitats*: 96–105 (T. A. Bookhout, Ed.). The Wildlife Society, Bethesda.
- GAUNT, A. S. & ORING, L. W., 1999. *Guidelines to the use of wild birds in research*, 2nd ed. The Ornithological Council. (<http://www.nmnh.si.edu/BIRDNET/GuideToUse/tableofcontents.htm>)
- HUNTINGFORD, F. A., 1984. Some ethical issues raised by studies of predation and aggression. *Anim. Behav.*, 32: 210–215.
- HENDRIKSEN, C. F. & MORTON, D. B., 1998. Humane endpoints in animal experiments for biomedical research. *Proceedings of the International Conference, 22–25 November 1998*, Zeist.
- JONATHAN, N. & PHILLIPS, R. L., 1994. Developing international trap standards: a progress report. *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference*, 16: 308–310.
- LEHNER, P. N., 1996. *Handbook of Ethological Methods*, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- MACARTHUR, R. A., GEIST, V. & JOHNSTON, R. H., 1982. Cardiac and behavioral responses of mountain sheep to human disturbances. *J. Wildl. Manag.*, 46: 351–358.
- MARTIN, P. & BATESON, P., 1986. *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*. Cambridge University Press, Cambridge.
- 1993. *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*. Cambridge University Press, Cambridge.
- MC CONWAY, K., 1992. The number of subjects in animal behavior experiments: is still right? In: *Ethics in Research in Animal Behaviour*: 35–38 (M. S. Dawkins & L. M. Gosling, Eds.). Academic Press, Londres.
- McKENZIE, A., 1993. *The Capture and Care Manual 1993*. Wildlife Decision Support Services CC and The South African Veterinary Foundation, Pretoria.
- MORALES, R. & GUERRERO, J., 2001. Legislación y aspectos relacionados. El control social de la investigación. In: *Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal*: 335–358 (J. M. Zúñiga, J. A. Tur, S. N. Milocco y R. Piñeiro, Eds.). McGraw–Hill–Interamericana, Madrid.
- MORTON, D. B., 1997. Ethical end refinement aspects of animal experimentation. In: *Veterinary Vaccinology*: 763–785 (P. P. Pastoret, J. Blancou, P. Vannier & C. Verschuere, Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- MORTON, D. B. & GRIFFITHS, P. H. M., 1985. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Vet. Rec.*, 116: 431–436.
- MORTON, D. B., ABBOT, D., BARCLAY, R., CLOSE, B. S., EWANK, R., HEALTHM, M., MATTIC, S., POOLE, T., SEAMER, J., SOUTHEE, J., THOMPSON, A., TRUSSEL, B., WEST, C. & JENNINGS, M., 1993. Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Lab. Anim.*, 27: 1–22.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992. *Recognition and alleviation of pain and distress in laboratory animals*. National Academy Press, Washington.
- NIETFELD, M. T., BARRETT, M. W. & SILVY, N., 1994. Wildlife Marking Techniques. In: *Research and Management Techniques for Wildlife and Habitats*: 140–168 (T. A. Bookhout, Ed.), The Wildlife Society, Bethesda.
- OLSEN, G. H., LINHART, S. B., HOLMES, G. J. & MALE, C. B., 1986. Injuries to coyotes caught in padded and unpadded steel foothold traps. *Wildl. Soc. Bull.*, 14: 219–223.
- ORLANS, F. B., BEAUCHAMP, T. L., DRESSER, R., MORTON, D. B. & GLUCK, J. P., 1998. *The Human Use of Animals. Case Studies in Ethical Choice*. Oxford University Press, Nueva York.
- PAVONE, L. V. & BOONSTRA, R., 1985. The effects of toe clipping on the survival of the meadow vole (*Microtus pennsylvanicus*). *Can. J. Zool.*, 63: 499–501.
- POOLE, T., 1999. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. 7th ed., volume 1: Terrestrial vertebrates*. Blackwell Science, Oxford.
- REINHARDT, V., 1997. *Comfortable quarters for laboratory animals*. Animal Welfare Institute, Washington.
- RUSSELL, W. M. & BURCH, R. L., 1959. The principles of humane experimental technique. Methuen, Londres.
- SCHEMNITZ, S. D., 1994. capturing and Handling Wild Animals. In: *Research and*

- Management Techniques for Wildlife and Habitats*: 106–124 (T. A. Bookhout, Ed.). The Wildlife Society, Bethesda.
- SPRAKER, T. R., 1993. Stress and capture myopathy in artiodactyla. In: *Zoo and Wild Animal Medicine. Current Therapy*, 3: 481–488 (M. E. Fowler., Ed.). W. B. Saunders Company, Filadelfia.
- STAFLEU, F. R., RIVAS, E., RIVAS, T., VORSTENBOSCH, J., HEEGER, F. R. & EYNEN, A. C., 1992. The use of analogous reasoning for assessing discomfort in laboratory animals. *Anim. Welfare*, 1: 77–84.
- STAFLEU, F. R., TRAMPER, R., VORSTENBOSCH, J. & JOLIS, J. A., 1999. The ethical acceptability of animal experiments: a proposal for a system to support decision-making. *Lab. Anim.*, 33: 295–303.
- STILL, A. W., 1982. On the number of subjects used in animal behaviour experiments. *Anim. Behav.*, 30: 873–880.
- STOSKOPF, M. (Ed.), 1993. *Fish Medicine*. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- UICN, 1980. *Directivas para el transporte y para la preparación para el transporte de animales y plantas silvestres vivos*. Secretaría de la Convención UICN, Gland.
- VERMEULEN, J. K., DE VRIES, A., SCHLUGMANN, F. & REMIE, R., 1997. Food deprivation: common sense or nonsense? *Anim. Technol.*, 48: 45–54.
- WALLACE, J., SANFORD, J., SMITH, M. W. & SPENCER, K. V., 1990. The assessment and control of the severity of scientific procedures on laboratory animals. Report of the Laboratory Animal Science association Working Party. *Lab. Anim.*, 24: 97–130.
- WILLIAMS, E. S. & THORNE, 1996. Exertional myopathy (capture myopathy). In: *Non-infectious diseases of wildlife*, 2nd ed.: 181–194 (A. Fairbrother, L. N. Locke & G. L. Hoff, Eds.). Iowa State University Press, Iowa.
- WINGFIELD, J. C., SMITH, J. P. & FARMER, D. S., 1982. Endocrine responses of white-crowned sparrows to environmental stress. *Condor*, 84: 399–409.
- ZAYAN, R., 1986. Assessment of pain in animals: epistemological comments. In: *Pain in Farm Animals*: 1–14. Commission of the European Communities, Luxembourg.

Referencias sobre legislación

- BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO. Real Decreto 223 / 1988, de 14 de marzo, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. BOE 1–3–88.
- BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO. Real Decreto 109 / 1995, de 27 de enero de 1995, sobre medicamentos veterinarios. BOE 3–3–95.
- DIARIO OFICIAL DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. Directiva del Consejo 86 / 609 / CEE, de 24 de noviembre de 1986, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. DOCE 18–12–86.
- DIARIO OFICIAL DE LA GENERALIDAD DE CATALUÑA. Ley 5 / 1995, de 21 de junio, de protección de los animales utilizados para experimentación y para otras finalidades científicas. DOGC 10–7–95.
- DIARIO OFICIAL DE LA GENERALIDAD DE CATALUÑA. Decreto 214 / 1997, de 30 de julio, por el que se regula la utilización de animales para experimentación y para otras finalidades científicas. DOGC 7–8–97.