



ANEXO XV-B

CATEGORIAS DE TÉCNICAS INVASIVAS EN LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Los investigadores y los profesores que tienen que utilizar a vertebrados o invertebrados en su investigación, enseñanza o pruebas, en el laboratorio o en el campo, deben observar los principios humanitarios y conocer las directrices del Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCPA), descritas en el documento Principios éticos de la investigación animales, y otros documentos del CCPA cuando se quiere asignar una categoría. Los protocolos deben someterse al comité apropiado de revisión para todo los estudios y cursos que involucren el uso de vertebrados y algunos invertebrados en las categorías B a E. Los cefalópodos y algunos otros invertebrados superiores tienen un sistema nervioso tan desarrollado como el de algunos vertebrados; consecuentemente, las experiencias que usan estos animales se deben clasificar en las categorías B, C, D, o E.

La lista siguiente de categorías da **ejemplos posibles** de procedimientos experimentales que ilustran cada categoría.

A. Experimentos sobre la mayoría de los invertebrados o sobre muestras de tejidos vivos

Ejemplos posibles: el uso de tejidos cultivados y los tejidos obtenidos de necropsias o del matadero; el uso de huevos, de protozoarios u otros organismos unicelulares; las experiencias que implican el aislamiento, incisiones u otros procedimientos invasivos sobre metazoarios.

B. Experimentos que ocasionen poco o ningún malestar o estrés

Ejemplos posibles: rebaños de animales domésticos (incluyendo las aves), mantenidas para la producción comercial o para fines académicos; la inmovilización bien ejecutada y de corta duración de animales para propósitos de observación o examen físico; las tomas de sangre; la inyección de sustancias en cantidades que no ocasionen reacciones adversas, por las siguientes vías: intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, u oral, excluyendo las vías intratorácica e intracardiaca (Categoría C); los experimentos agudos sin supervivencia, en los cuales los animales están completamente anestesiados y no se despiertan; los métodos aprobados de eutanasia precedidos de inconsciencia rápida, como por ejemplo una sobredosis de un



anestésico, o la decapitación precedida de una sedación o de una anestesia leve; períodos cortos de privación de alimentos y/o de agua equivalentes a períodos de abstinencia observados en la naturaleza.

C. Experimentos que ocasionen un estrés menor o un dolor de corta duración

Ejemplos posibles: canulación o la cateterización de vasos sanguíneos o de cavidades corporales bajo anestesia; procedimientos quirúrgicos menores bajo anestesia, como las biopsias o las laparoscopías; cortos períodos de inmovilización, excluyendo los efectuados para exámenes u observaciones menores, pero necesariamente con un estrés mínimo; períodos cortos de privación de alimento y/o de agua que exceden los períodos de abstinencia en la naturaleza; experimentos de comportamiento sobre animales conscientes que involucran una inmovilización breve y estresante; la exposición de un animal a dosis no mortales de drogas o de sustancias químicas. Tales procedimientos no deberían ocasionar cambios importantes en el aspecto del animal, dentro de parámetros fisiológicos como el valor respiratorio o cardíaco, o en la producción de heces o de orina, o en comportamientos sociales.

Comentarios: Durante o después de los experimentos clasificados en la Categoría C, los animales no deben manifestar señales de automutilación, anorexia, deshidratación, hiperactividad, postración o sueño prolongado, incremento de vocalizaciones, de comportamiento agresivo - defensivo, o demostrar un comportamiento de alejamiento social y aislamiento voluntario.

D. Experimentos que causan una angustia o un malestar de moderado a intenso

Ejemplos posibles: los procedimientos quirúrgicos mayores bajo anestesia general, con recuperación; períodos prolongados (varias horas o más) de inmovilización física; la inducción de estrés comportamental, como la carencia maternal, la agresión, las interacciones predador/presa; los procedimientos que ocasionan la interrupción continua o irreversible de la organización sensomotora; el uso del adyuvante completo de Freund (véase las *Directrices sobre los procedimientos inmunológicos aceptables por el CCPA*).

Otros ejemplos incluyen la inducción de anomalías anatómicas y fisiológicas que resultan en dolor o angustia; la exposición de un animal a estímulos adversos que no puede evitar; la inducción de la enfermedad de radiación; la exposición a drogas o químicos en niveles que provocan disfunciones fisiológicas.



Comentarios: Los procedimientos experimentales clasificados en la Categoría D no deberían ocasionar una angustia clínica prolongada o severa que se manifieste por una gama amplia de señales clínicas, tales como anormalidades marcadas en las actitudes o los tipos de comportamiento, la ausencia de auto-aseo, la deshidratación, una vocalización anormal, anorexia prolongada, un colapso circulatorio, una letargia profunda o una negación en moverse, y señales clínicas de infección sistémica o local severa o avanzada, etc.

E. Procedimientos que ocasionan un dolor intenso, igual o superior al umbral de tolerancia al dolor en animales conscientes no anestesiados

Esta Categoría de técnicas invasivas no se aplica solamente a los procedimientos quirúrgicos, sino puede incluir la exposición a agentes o estímulos nocivos cuyos efectos son desconocidos; la exposición de un animal a drogas o sustancias químicas a niveles susceptibles de afectar notablemente los sistemas fisiológicos y de causar la muerte, dolores intensos o una angustia extrema; experimentos biomédicos completamente nuevos que tienen un grado alto de intervenciones invasivas; estudios sobre el comportamiento en los cuales los efectos de los diferentes grados de angustia sean desconocidos; el uso de relajantes musculares o de drogas paralizantes sin el uso en forma concomitante de anestésicos; causar quemaduras o traumas a animales no anestesiados; métodos de eutanasia no aprobados por el CCPA; cualquier procedimiento (p. ej., la inyección de agentes nocivos o la inducción de un choque o de un estrés intenso) que resultan en un dolor que se acerca al umbral de tolerancia al dolor y que no se puede aliviar con analgésicos (p. ej., durante estudios que incluyen pruebas de toxicidad e inducción experimental de enfermedades infecciosas que provocan la muerte.

Revisado febrero 1991

Tomado del Canadian Council on Animal Care, Manual Volumen 1 (segunda edición), 1998



Tabla 1. Escala para valorar el dolor en roedores y lagomorfos⁽¹⁾.

Parámetro	Severidad		
	Leve (1 punto)	Moderado (2 puntos)	Severo (3 puntos)
Peso corporal	-Sin ganancia de peso.	-Pérdida de peso corporal no mayor al 20%.	-Pérdida de peso corporal mayor al 25%.
Ingesta de agua y alimento	-El consumo de agua y alimento es del 40-75% del consumo normal por 72 horas.	-El consumo de agua y alimento es menor al 40% del consumo normal por 72 horas.	-El consumo de agua y alimento es menor al 40% de lo normal por 7 días o presenta anorexia (inapetencia total) por 72 horas.
Piel	-Piloerección parcial.	-Pelo erizado o piloerección marcada. -Nariz, orejas y patas pálidas.	-Pelo erizado y signos de deshidratación (pérdida de elasticidad cutánea, ojos hundidos y resequedad de mucosas). -Nariz, orejas y patas pálidas y frías.
Conducta	-Animal sumiso, pero responsivo. -Muestra patrones normales de conducta ante los estímulos. -Interactúa con sus pares.	-Animales sumisos. -Muestran patrones de conducta poco responsivos, incluso cuando se les estimula. -Poca interacción con sus pares.	-Indiferente, no responde a estímulos, ni a la manipulación.
Postura	-Encorvado transitoriamente, especialmente después de la dosificación.	-Encorvado intermitentemente.	-Encorvado persistentemente (paralizado o inmóvil).
Vocalizaciones	-Vocalización transitoria.	-Vocalización intermitente: vocaliza cuando se manipula.	-Distrés: vocalización no provocada.
Descargas óculo-nasales	-Ligeras y ocasionales.	-Ligeras, pero persistentes.	-Profusas y persistentes.
Respiración	-Respiración normal.	-Respiración anormal intermitentemente.	-Disnea o respiración anormal.
Temblores	-Ocasionales.	-Intermitentes.	-Persistentes.
Convulsiones	-Sin convulsiones.	-Convulsiones intermitentes.	-Convulsiones persistentes.
Postración	-Sin postración.	-Postración transitoria con duración menor a 1 hora.	-Postración prolongada, con duración mayor de 1 hora.
Automutilación	-No está presente.	-No está presente.	

Las medidas correctivas sugeridas en función de la puntuación obtenida por cada animal se muestran en la Tabla 2.



Tabla 2. Interpretación de los puntajes obtenidos y acciones sugeridas por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del INP⁽²⁾.

Puntaje obtenido	Acciones recomendadas por el CICUAL
0-9 puntos (dolor leve)	-Monitoreo cuidadoso y frecuente (al menos una vez al día).
10-18 puntos (dolor leve-moderado)	-Monitoreo cuidadoso y frecuente (al menos una vez al día). -Valorar el uso de analgésicos y/o sedantes.
19-27 puntos (dolor moderado-severo)	-Monitoreo cuidadoso y muy frecuente (más de una vez al día). -Implementar el uso de analgésicos y/o sedantes. -Solicitar evaluación del médico veterinario. -Considerar aplicar el punto final humanitario.
28-36 puntos (dolor severo)	-Monitoreo cuidadoso y muy frecuente (más de una vez al día). -Implementar el uso de analgésicos y/o sedantes de inmediato. -Solicitar evaluación del médico veterinario de inmediato. -Evaluar el costo-beneficio considerando que el animal está fisiológicamente muy afectado. -Detener el experimento. -Aplicar punto final humanitario.

Las acciones correctivas podrán ampliarse dependiendo de cada modelo experimental.



Tabla 3. Escala para valorar el dolor en cerdos⁽³⁾.

Parámetro	Severidad		
	Leve (1 punto)	Moderado (2 puntos)	Severo (3 puntos)
Condición corporal	-Con ganancia de peso menores a sus compañeros, pero sin pérdida de condición corporal aparente.	-Pérdida de condición corporal: se aprecia la musculatura y la línea dorsal.	-Pérdida de condición corporal: las costillas se hacen aparentes; así como, los huesos de la cadera. Los animales dan apariencia de cabeza desproporcionada”.
Postura y marcha	-Cojera leve, se presenta resistencia al manejo.	-Andar de puntas o falta de apoyo de algún miembro al caminar, se presenta resistencia al manejo y al trasladarse.	-Presenta postración.
Ingesta y toma de agua	-Disminución del consumo en el 25%.	-Disminución del consumo en el 50%.	-Presencia de anorexia.
Conducta social y actitud (comportamiento observado durante 5 minutos)	-Se resiste al manejo, pero mantiene la conducta exploratoria.	-Conducta agresiva (adultos), disminuye la conducta exploratoria y no muestra interés en interactuar con sus compañeros.	-Se mantienen aislados en un rincón y muestran clara depresión.
Ritmo respiratorio	-Ligeramente alterado, presenta jadeos.	-Acelerado, puede presentar respiración costoabdominal (brinco).	-Presenta disnea marcada.
Vocalizaciones	-Chillan de manera incrementada al intentar el manejo.	-Pueden llegar a quejarse aun cuando se encuentran echados.	-Gimen cuando inhalan.
Cefaleas o dolor abdominal	-Se muestran inquietos.	-Oprimen la cabeza en contra de las barreras o barras de la jaula, rechinan los dientes.	-La presión contra las paredes provoca escoriaciones en la frente.
Dolor abdominal	-No hay muestra de signos.	-Rechinan los dientes.	-Rechinado de dientes más marcado y constante.
Piel	-Presentan lesiones en la piel (escoriaciones y/o incisiones).	-Menos del 10% de la piel con inflamación o decoloración.	-Más del 10% de la piel con cambios en color o textura.



Bibliografía.

1. Escala basada en: Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Pain and Distress accepted by the FELASA Board of Management November 1992. (1994). *Laboratory animals*, 28(2), 97–112. <https://doi.org/10.1258/002367794780745308>
2. Tabla elaborada por el CICUAL del INP. Tabla basada en lo sugerido por Morton y Griffiths (1985). Morton, D. B., & Griffiths, P. H. (1985). Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and a hypothesis for assessment. *The Veterinary record*, 116(16), 431–436. <https://doi.org/10.1136/vr.116.16.431>.
3. Escala elaborada por el Dr. Oscar Gutiérrez Pérez. Centro de Enseñanza, Integración y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP), FMVZ, UNAM.
4. National Centre for Replacement Refinement & Reduction of Animal in Research, <https://nc3rs.org.uk/3rs-resources/grimace-scales>, consultado el 3 de marzo del 2025.
5. Di Giminiani, P., Brierley, V. L., Scollo, A., Gottardo, F., Malcolm, E. M., Edwards, S. A., & Leach, M. C. (2016). The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale. *Frontiers in veterinary science*, 3, 100. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00100>



National Centre
for the Replacement
Refinement & Reduction
of Animals in Research

Grimace Scale Posters: Terms of use

The NC3Rs has produced A3-sized posters of the mouse, rabbit and rat grimace scales for display in laboratory animal facility rooms and corridors to help raise awareness about the scales and familiarise staff with the specific facial action units.

For a full list of available posters and information on and how to implement grimace scales in your facility please see our resource page: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/grimace-scales/>.

Print specifications

The proper use of this poster requires each of the facial action units to be clear and easily discernible, therefore it must be printed by a professional print service at the full A3 size.

This poster in this pdf has been setup to professional print standards and has crops and bleed added. Please use the print specification outlined below and the printer will trim the poster to the finished size.

- Finished Size: 420mm x 297mm (A3 portrait)
- Print specification: Full colour
- Paper specification (ideally): 170gsm silk

If you have any issues, or need the file in another format, please contact enquiries@nc3rs.org.uk.

Circulation and reproduction

The poster in this PDF should not be circulated without this covering page attached to it.

Any requests to reproduce this poster, or to include it in any publications or training materials, should be directed to enquiries@nc3rs.org.uk. You should include how, why and where the poster will be used so that we can consider your case for approval. It is helpful to include any associated text, so we can see the context in which the poster will be put.

Copyright: The attached poster and the content within it are owned by the NC3Rs and its partners. The poster should not be adapted, and the content should not be sold or used to generate income.



The Mouse Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in mice.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Mouse Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening - Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) - A wrinkle may be visible around the eye			
Nose bulge - Bulging on the bridge of the nose - Vertical wrinkles on the side of the nose			
Cheek bulge Bulging of the cheeks			
Ear position - Ears rotate outwards and/or backwards, away from the face - Ears may fold to form a 'pointed' shape - Space between the ears increases			
Whisker change - Whiskers are either pulled back against the cheek, or pulled forward to 'stand on end' - Whiskers may clump together - Whiskers lose their natural 'downward' curve			

Read the original paper:
Langford DJ, Bailey AL, Chanda ML, Clarke SE, Drummond TE, Echols S, Glick S, Ingrao J, Klassen-Ross T, LaCroix-Fralish ML, Matsumiya L, Sorge RE, Sotocinal SG, Tabaka JM, Wong D, van den Maagdenberg AMJM, Ferrari MD, Craig KD, Mogil JS. 2010. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. Nature Methods 7(6): 447-449.
doi:10.1038/nmeth.1455

For guidance on using the Mouse Grimace Scale, research papers that underpin this technique, and for grimace scales in other species, visit: www.nc3rs.org.uk/grimacescales
To request copies of this poster, please email: enquiries@nc3rs.org.uk
The NC3Rs provides a range of 3Rs resources at: www.nc3rs.org.uk/resources
Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogil, McGill University



The Rat Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in rats.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Rat Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening - Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) - A wrinkle may be visible around the eye			
Nose/cheek flattening - Flattening and elongation of the bridge of the nose - Flattening of the cheeks (potentially sunken look)			
Ear changes - Ears curl inwards and are angled forward to form a 'pointed' shape - Space between the ears increases			
Whisker change - Whiskers stiffen and angle along the face - Whiskers may 'clump' together - Whiskers lose their natural 'downward' curve			

Read the original paper:
Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, Tuttle AH, Martin LJ, Wieskopf JS, Mapplebeck JCS, Wei P, Zhan S, Zhang S, McDougall JJ, King OD, Mogil JS. 2011. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. Molecular Pain 7: 55. doi:10.1186/1744-8069-7-55

For guidance on using the Rat Grimace Scale, research papers that underpin this technique, and for grimace scales in other species, visit: www.nc3rs.org.uk/grimacescales
To request copies of this poster, please email: enquiries@nc3rs.org.uk
The NC3Rs provides a range of 3Rs resources at: www.nc3rs.org.uk/resources
Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogil, McGill University

The Rabbit Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in rabbits.

The specific facial action units shown below comprise the Rabbit Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can form part of a clinical assessment alongside other validated indices of pain.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Action units		
	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening - Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) - A wrinkle may be visible around the eye			
Cheek flattening - Flattening of the cheeks. When 'obviously present', cheeks have a sunken look. - The face becomes more angular and less rounded			
Nostril shape - Nostrils (nares) are drawn vertically forming a 'V' rather than 'U' shape - Nose tip is moved down towards the chin			
Whisker shape and position - Whiskers are pushed away from the face to 'stand on end' - Whiskers stiffen and lose their natural, downward curve - Whiskers increasingly point in the same direction. When 'obviously present', whiskers move downwards			
Ear shape and position - Ears become more tightly folded / curled (more cylindrical) in shape - Ears rotate from facing towards the source of sound to facing towards the hindquarters - Ears may be held closer to the back or sides of the body			

Read the original paper: Keating SCJ, Thomas AA, Flecknell PA, Leach MC (2012) Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: Changes in physiological, behavioural and facial expression responses. PLOS ONE 7(9): e44437. doi:10.1371/journal.pone.0044437

For guidance on using the Rabbit Grimace Scale, additional images of each action unit, research papers that underpin this technique, and for grimace scales in other species, visit: www.nc3rs.org.uk/grimacescales

To request copies of this poster, please email: enquiries@nc3rs.org.uk

The NC3Rs provides a range of 3Rs resources at www.nc3rs.org.uk/resources

Images kindly provided by Dr Matthew Leach, Newcastle University

The Rabbit Grimace Scale would not have been developed without the continuing work of the Pain and Animal Welfare Sciences Group (PAWS) at Newcastle University

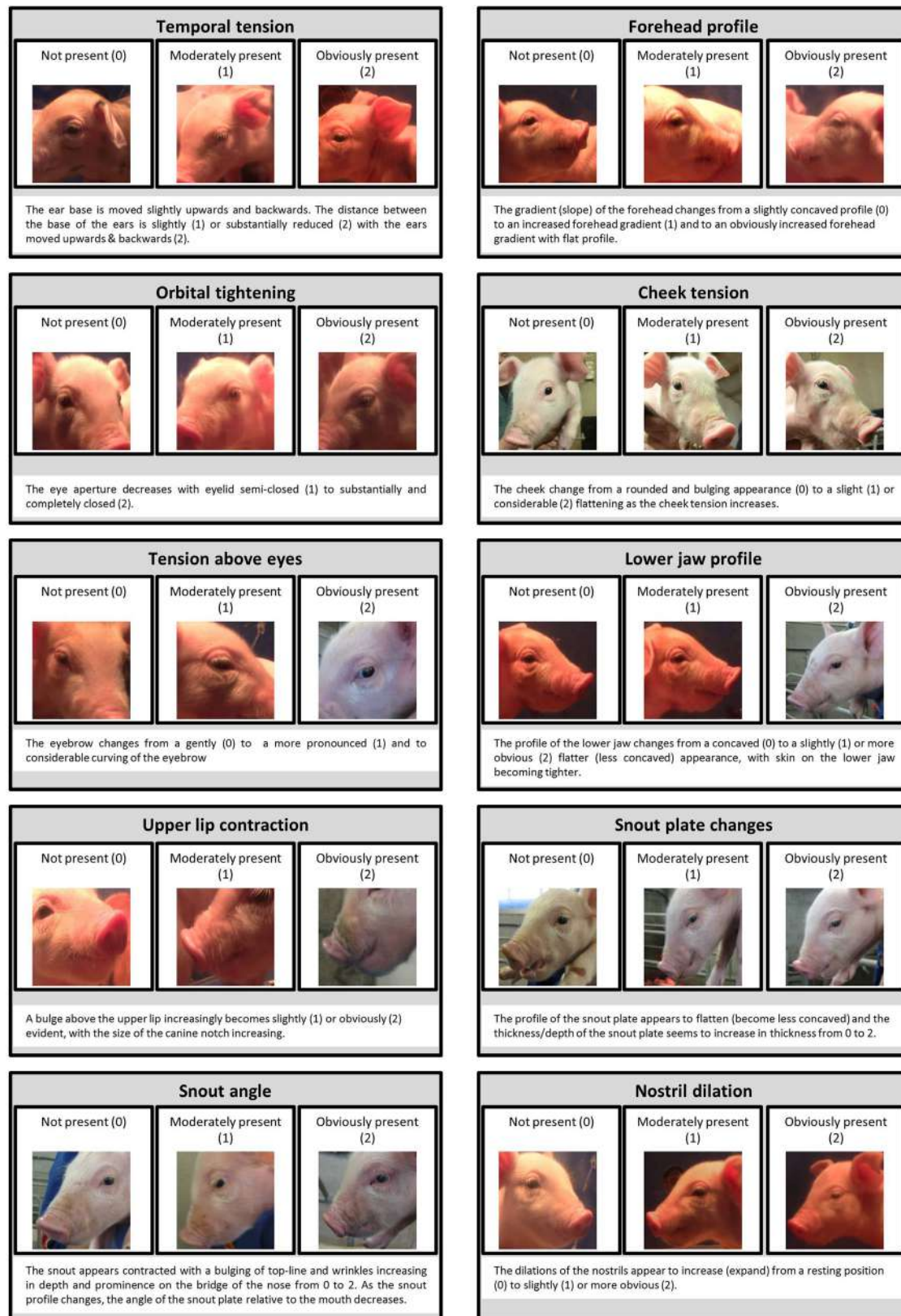


FIGURE 3 | Collection of images and explanations for each of the 10 facial action units (FAUs) included in the development of the Piglet Grimace Scale. For each FAU, an explanation of the 3-point scale is included (0 = not present, 1 = moderately present, 2 = obviously present).