



Universidad de Córdoba



Facultad de Veterinaria

FACULTAD DE VETERINARIA
TRABAJO DE FIN DE GRADO: DOCUMENTO 4

INFORME DEL/LOS DIRECTOR/ES DEL TRABAJO FIN DE GRADO

D. Rafael Guerra Caro, Veterinario Titular del Parque Zoológico Municipal de Córdoba
Dña. Evangelina Roderó Serrano. Profesora Titular del Departamento de Producción Animal
DIRECTOR/ES (NOMBRE, CATEGORÍA PROFESIONAL, DEPARTAMENTO)

INFORMA

Que el trabajo presentado por Dña. María Castillo Cárdenas

Con NIF 25351398-Q, bajo el Título “Escalas de dolor por expresiones faciales (*Escalas “Grimace”*). Aplicación en primates del Parque Zoológico Municipal de Córdoba”.

Reúne los requisitos para su lectura y defensa, estando adaptado en contenido, profundidad y duración a la asignación de créditos ECTS del Plan de Estudios del Título de Graduado/a en Veterinaria de la Universidad de Córdoba.

Córdoba, a 22 de Junio de 2020.

RODERO SERRANO
EVANGELINA - 30508678Y
2020.06.23 13:14:21 +02'00'

Fdo. Por Orden de D. Rafael Guerra Caro

RODERO SERRANO
EVANGELINA - 30508678Y
2020.06.23 13:14:36 +02'00'

Fdo. Evangelina Roderó Serrano

Fdo. El/Los directores del Trabajo Fin de Grado
(Nombre y apellidos del/los directores)



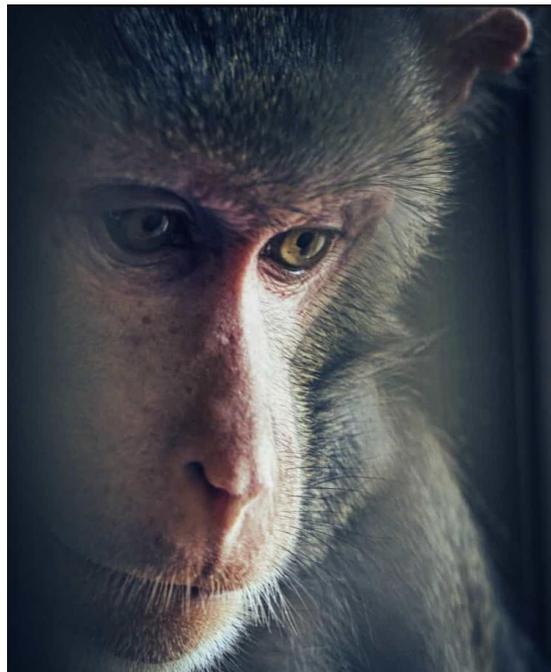
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
Facultad de Veterinaria



Grado de Veterinaria
Trabajo Fin de Grado

**Escalas de dolor por expresiones faciales
(Escalas “Grimace”). Aplicación en primates del Parque
Zoológico Municipal de Córdoba.**

Pain scales for facial expressions (*Grimace Scales*).
Application in primates of the Municipal Zoo of Cordoba.



Fuente: Pedro Gutiérrez (AAP Primadomus)

Autora: María Castillo Cárdenas

**Directores: Dra. Evangelina Roderó Serrano
Rafael Guerra Caro**

23/06/2020

Índice general

Índice de figuras	3
Índice de tablas.....	4
Resumen	5
Summary	6
Introducción	7
Objetivos.....	10
Material y Métodos	11
Resultado y Discusión	13
1. Fundamento del reconocimiento de las expresiones faciales y elaboración de FACS.	13
2. Desarrollo de escalas <i>grimace</i> en animales	15
2.1 Procedimiento doloroso aplicado a los animales para la elaboración de las escalas <i>grimace</i>	17
2.2 Condiciones para la grabación de las imágenes empleados en las escalas <i>grimace</i>	18
2.3 Selección de las imágenes a incluir en el estudio de las escalas <i>grimace</i>	19
2.4 Determinación de las Unidades de Acción	20
2.5 Validación de las Unidades de Acción incluidas en las escalas <i>grimace</i>	23
2.6 Puntuación del nivel de dolor a través de las escalas <i>grimace</i>	23
2.7 Fiabilidad de las escalas <i>grimace</i>	24
2.8 Ventajas e inconvenientes de la aplicación de las escalas <i>grimace</i>	25
3. Pasos para el desarrollo de escalas <i>grimace</i> sobre los primates del Parque Zoológico Municipal de Córdoba	26
3.1 Elección de la especie.....	26
3.2 Potenciales Unidades de Acción	27
3.3 Registro de imágenes.....	27
3.4 Procedimiento doloroso	28
3.5 Elaboración de los cuestionarios de validación.....	28
3.6 Validación de las UA a través de observadores no especialistas.....	28
3.7 Fiabilidad y Repetibilidad.....	29

3.8 Limitaciones	29
3.9 Posibilidades de explotación.....	29
Conclusiones	30
Bibliografía.....	31
Compromiso ético.....	34
Limitaciones	34
Agradecimientos	35

Índice de figuras

Figura 1. Mapa muscular de FACS en diferentes especies.....	14
Figura 2. Imagen sin recortar identificada por RFF para la puntuación de RGS.....	20
Figura 3. Caras de dolor en humano, conejo, ratón y caballo	22
Figura 4. Fotografías para la valoración de la UA “ajuste orbital” en ratón y en foca común	22
Figura 5. Puntuaciones de la HGS antes del procedimiento (imagen izquierda) y 8 horas después del procedimiento (imagen derecha).....	24
Figura 6. Puntos de referencia faciales clave en macaco Rhesus (imagen izquierda) y macaco de Gibraltar (imagen derecha)	27
Figura 7. Macaco de Gibraltar.....	28

Índice de tablas

Tabla 1. Los cuatro dominios físicos/funcionales	8
Tabla 2. Dominio mental, el quinto dominio	8
Tabla 3. Especies sobre las que se han desarrollado FACS	15
Tabla 4. Escalas <i>grimace</i> desarrolladas hasta la fecha.....	16
Tabla 5. Resumen de procedimientos dolorosos empleados para el desarrollo de escalas <i>grimace</i> en las diferentes especies	18
Tabla 6. Coincidencia en las Unidades de Acción en las escalas <i>grimace</i> de las diferentes especies.....	21

Resumen

La promoción del bienestar animal es un concepto fundamental en la actualidad en los zoológicos y acuarios, en los que es esencial mantener estándares óptimos de bienestar, al mismo tiempo que se aplican programas de conservación de las especies. Tal y como se establece en el “Modelo de los Cinco Dominios”, uno de los factores determinantes dentro del bienestar animal es el dolor, y para garantizar su ausencia, es necesario desarrollar herramientas que nos permitan identificarlo y poder aplicar medidas correctivas si son necesarias. El objetivo del presente trabajo es obtener información acerca de las llamadas “escalas *grimace*” o “escalas de expresión facial” que han sido desarrolladas para evaluar el dolor en distintas especies, con el fin de aplicar los conocimientos adquiridos en la elaboración de un proyecto de estudio de su aplicación a especies de primates pertenecientes al Parque Zoológico Municipal de Córdoba. El trabajo se ha desarrollado a través de la revisión de artículos científicos disponibles en las diferentes bases de datos para analizar, tanto en qué especies se han estudiado, como cuál ha sido la metodología para su desarrollo y validación. Estas escalas son muy útiles en la determinación del dolor, especialmente cuando éste es de carácter agudo y, a pesar de que su estudio requiere de largos periodos de tiempo, es importante desarrollar una escala específica para cada especie. Concluimos que la metodología de este tipo de estudios se podría aplicar a primates de zoológico, especialmente en aquellos en los que su expresión facial ha sido codificada con anterioridad.

Palabras clave: “Bienestar Animal”; “Dolor”; “Escala de Muecas”; “Sistema de Codificación Facial”; “Unidad de Acción”;

Abstract

The promotion of animal welfare is a key concept nowadays in zoos and aquariums, where it is essential to maintain optimal welfare standards while implementing species conservation programmes. As stated in the "Five Domains Model", one of the determining factors in animal welfare is pain, and to ensure its absence, it is necessary to develop tools that allow us to identify it and be able to apply corrective measures if necessary. The aim of the present work is to obtain information about the so-called "grimace scales" or "facial expression scales" that have been developed to assess pain in different species, in order to apply the knowledge acquired in the elaboration of a project to study their application to primate species belonging to the Municipal Zoo of Córdoba. The work has been developed through the review of scientific articles available in the different databases to analyze, both in which species have been studied, as what has been the methodology for its development and validation. These scales are very useful in the determination of pain, especially when it is of an acute nature and, despite the fact that its study requires long periods of time, it is important to develop a specific scale for each species. We concluded that the methodology of this type of study could be applied to zoo primates, especially those in which their facial expression has been previously codified.

Keywords: "Action Unit"; "Animal Welfare"; "Facial Action Coding System"; "Grimace Scale"; "Pain".

Introducción

La promoción del bienestar de los animales, en términos generales, es una cuestión fundamental en la sociedad actual y, en particular, para todos aquellos que poseen animales o están en contacto con ellos, pudiendo causar cualquier tipo de influencia sobre estos. Incluye desde el cuidado de animales domésticos o salvajes, hasta la cría del ganado, e incluso las especies de vida silvestre (Descovich *et al.*, 2017). En los últimos años, ha habido importantes avances en el conocimiento sobre los animales y sobre su bienestar, lo que ha provocado grandes cambios en los zoológicos y acuarios modernos (Mellor *et al.*, 2015). Hoy en día los zoológicos y acuarios, aunque siguen siendo importantes lugares de ocio en los que diferentes especies de animales salvajes en cautiverio se muestran al público buscando conectar a las personas con la naturaleza, tienen también un destacado papel en la conservación de la biodiversidad mundial, debiendo ser éste su principal propósito (Tribe & Booth, 2003).

En relación con el bienestar animal, tal y como lo define la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), *“un animal está en un estado óptimo de bienestar si está sano, cómodo, bien alimentado, seguro, si es capaz de expresar su comportamiento innato, y si no sufre de estados indeseados como dolor, miedo y angustia”*. Por ello, los zoológicos y acuarios deben ser centros de referencia obligada actual, donde se debe tener un especial interés en alcanzar estándares óptimos de bienestar animal, al mismo tiempo que se aplican prácticas de conservación de la fauna silvestre. Para alcanzar estos estándares es necesario el desarrollo de herramientas que nos permitan evaluarlo y monitorizarlo permitiendo detectar posibles deficiencias con el fin de aplicar las medidas correctivas necesarias, así como lograr mejorar el manejo de los animales en zoológicos y acuarios tanto a nivel físico como mental (Villén, 2020). El estudio del comportamiento de los animales es esencial para la evaluación del bienestar animal pero existen numerosas limitaciones en cuanto a la interpretación exacta de sus estados internos (Descovich *et al.*, 2017).

La Estrategia Mundial de Zoológicos y Acuarios (WZCS) desarrollada por la Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios (WAZA) recomienda la aplicación del modelo simple de bienestar, llamado también modelo de los “Cinco Dominios”, proporcionando una guía sobre cómo establecer y mantener elevados estándares de bienestar animal y buenas prácticas relacionadas. Este modelo de los “Cinco Dominios” se divide en: cuatro dominios físicos/funcionales que son la nutrición, el entorno, la salud física y la conducta (tabla 1) y un quinto dominio que es el estado mental de los animales (tabla 2). Los cuatro dominios físicos/funcionales se proyectan en el quinto dominio al tener una influencia directa sobre él.

Por ejemplo, si tenemos una nutrición adecuada (primer dominio) el animal se sentirá saciado (quinto dominio) (Mellor *et al*, 2015).

Tabla 1. Los cuatro dominios físicos/funcionales (Modificado de Mellor y Beausoleil, 2015).

NUTRICIÓN		ENTORNO	
NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
Privación de alimento y/o agua Malnutrición	Nutrición correcta Disponibilidad de alimento	Desafío ambiental	Oportunidades y elecciones ambientales
SALUD FÍSICA		CONDUCTA	
NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
Enfermedad Lesión	Adecuación biológica	Restricción conductual	Expresión conductual

Tabla 2. Dominio mental, el quinto dominio (Modificado de Mellor y Beausoleil, 2015).

DOMINIO MENTAL			
EXPERIENCIAS NEGATIVAS		EXPERIENCIAS POSITIVAS	
Dolor Miedo Distress Incomodidad Aburrimiento Frustración	Debilidad Vulnerabilidad Vértigo Falta de aire Enojo	Juego Curiosidad Vitalidad Tranquilidad Interacción motivada por meta	Seguridad Satisfacción Compañía y afecto Sociedad Recompensa

Dentro de las experiencias negativas del quinto dominio o dominio mental representa un papel muy importante el dolor, ya que, su presencia o ausencia va a condicionar muy estrechamente el grado de bienestar de los animales. La definición del concepto “dolor” es todavía un tema sometido a continuo debate, tanto en humanos como en animales. Para humanos, la definición actualmente más aceptada es la de “*experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño tisular real o potencial, o descrito en términos de tal daño*”, establecida por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés). Sin embargo, esta definición requiere que sean los propios pacientes quienes describan su dolor, lo que excluye tanto a humanos que no pueden comunicarse (como por ejemplo, recién nacidos o personas en estado comatoso) como a animales (Anand, 2017). Es por ello que ha sido necesario adaptarla para animales, siendo actualmente la más usada la de “*experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que provoca reacciones protectoras y vegetativas, produce un comportamiento aprendido y puede modificar el comportamiento específico de la especie*” (Zimmerman, 1986)

La capacidad de reconocer el dolor en animales está estrechamente relacionada con la capacidad de garantizar su bienestar. Si no disponemos de herramientas que nos permitan reconocer de forma adecuada el dolor o identificar su gravedad, no podremos tener la capacidad de aliviarlo de forma correcta ni de eliminar los factores que lo hayan podido provocar.

Para la evaluación del dolor se han usado a lo largo de los años métodos tradicionales basados en el seguimiento del comportamiento, la observación de signos clínicos (pérdida de peso, por ejemplo) o el análisis de indicadores fisiológicos (como pueden ser el incremento de la frecuencia cardíaca o de la presión arterial) pero todos éstos presentan numerosas limitaciones como requerir mucho tiempo a la hora de su aplicación o ser poco específicos (NC3Rs, 2019), como por ejemplo, la escala Glasgow desarrollada para gatos, normalmente usada para valorar el dolor tras intervenciones quirúrgicas (Reid *et al.*, 2017).

Dentro de las herramientas observacionales para determinar el bienestar en los animales, una de las que más se está estudiando en los últimos años es la valoración del dolor a través de las expresiones faciales, lo que ha llevado al desarrollo de las llamadas escalas de muecas (grimace scale en inglés) y que serán referidas en este trabajo como “escalas *grimace*” debido al uso generalizado de este anglicismo para referirse a ellas en castellano. El estudio de éstas se está centrando en relacionar gestos o expresiones que puedan ser indicativos de que el animal tiene dolor y del grado o nivel de ese dolor. Además, también nos pueden llegar a aportar mucha información acerca de su estado de confort o discomfort.

Objetivos

Primero: El presente trabajo tiene como objetivo principal la obtención de información acerca de la evaluación del dolor a través de las expresiones faciales con el fin de medir y mejorar el bienestar de los animales.

Segundo: Como objetivo específico, una vez revisada la información disponible, nos planteamos elaborar el proyecto para la aplicación de las escalas *grimace* de dolor a las especies de primates del Parque Zoológico Municipal de Córdoba.

Material y Métodos

Para el desarrollo de este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica no sistemática a través de la búsqueda de información relacionada con la evaluación de la expresión facial del dolor, empleando fundamentalmente las bases de datos científicas de libre acceso PubMed y Google Académico. PubMed es un proyecto desarrollado por el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés), que forma parte de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos y que da acceso a más de 30 millones de citas de literatura biomédica. Google Académico está enfocado y especializado en la búsqueda de contenido y literatura científico-académica. Acceder al texto completo de los artículos ha sido posible gracias al Catálogo Mezquita de la Universidad de Córdoba (UCO) que pone a disposición del alumnado multitud de revistas científicas. Debido a la necesidad actual de tener que acceder a distancia, se ha realizado la conexión con la UCO a través del servicio de acceso externo a la red basado en la tecnología VPN. Para la búsqueda de información en estas bases de datos se han empleado palabras clave tales como “Action Unit”, “pain”, “animal welfare”, “Facial Action Coding System” y “grimace scale” entre otras.

Al tratarse de un tema de reciente actualidad, no se puso un criterio o filtro temporal en la búsqueda. Cabe destacar que la mayor parte de los artículos obtenidos como resultado de la búsqueda del criterio “grimace scale” han sido publicados en la última década. Para ese criterio, los resultados de la búsqueda en la base de datos PubMed fueron 182, lo que hace pensar que es un tema todavía poco estudiado. En la mayoría de ellos participa el Doctor Matthew Leach, profesor de Ciencia Animal en la Universidad de Newcastle y cuya investigación, centrada en validar el uso de la expresión facial para la evaluación del dolor en roedores, conejos y primates no humanos, está financiada por el Centro Nacional para el Reemplazo, Refinamiento y Reducción de los Animales en Investigación (NC3Rs) (<https://www.nc3rs.org.uk/>), una organización con sede en Reino Unido que apoya a la comunidad científica en aras de fomentar el bienestar animal, incluso impulsando cambios a nivel legislativo y regulador; siendo pioneros en el desarrollo de las escalas de dolor en las especies animales. Por otro lado, se ha obtenido información especializada acerca del bienestar animal en la página web de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (<https://www.oie.int/es/>), y en la página web de la Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios (WAZA) (<https://www.waza.org/>). Esta última tiene el objetivo de guiar, fomentar y apoyar a los zoológicos, acuarios y organizaciones afines a nivel internacional, en el cuidado y bienestar de los animales, la educación medioambiental y la conservación mundial. De forma más específica se ha consultado la web de AnimalFACS (<https://www.animalfacs.com>), un proyecto del Departamento de Psicología de la Universidad de Portsmouth, en Reino Unido que reúne toda la información acerca de los estudios que se han realizado sobre la

codificación de las expresiones faciales en diferentes especies animales. Esta web incluye los manuales FACS y gestiona el acceso autorizado a dichos manuales, el cual nos fue concedido como miembros de la institución universitaria (UCO) para la elaboración de este Trabajo de Fin de Grado en colaboración con el Parque Zoológico Municipal de Córdoba.

Se ha agrupado la información más relevante buscando ordenarla desde lo más general hasta lo más específico con el propósito de indicar una idea de la aplicación de las escalas *grimace* a nivel de primates de zoológico. Para ordenar la bibliografía que se ha empleado para la redacción de este trabajo se ha recurrido al gestor de referencias bibliográficas Mendeley, el cual permite clasificar y referenciar artículos científicos y académicos.

Resultados y Discusión

Las expresiones faciales se han usado ampliamente para evaluar el dolor en humanos, especialmente para aplicarlas en aquellas fases de la vida en las que existe expresión una limitada o una capacidad verbal reducida como puede ser el caso de los niños recién nacidos (Chang *et al.*, 2015), o de adultos con déficits cognitivos como por ejemplo en ancianos con demencia senil (Warden *et al.*, 2003). En lo que respecta a los animales, ya en 1872, Darwin afirmaba en su libro “The expression of the emotions in man and animals” que los animales no humanos son capaces de expresar sus emociones, incluyendo el dolor, a través de la expresión facial y sugiriendo su conservación evolutiva, es decir, que estas expresiones faciales son muy similares entre las diferentes especies. Esta capacidad de poder comunicar la experiencia de dolor de unos a otros puede ser beneficioso tanto para el emisor (que busca ayuda) como para el receptor (que puede ofrecer ayuda o recibirlo como una señal de advertencia ante una amenaza). Sin embargo, mostrar dolor y llamar la atención de otros animales puede tener también un carácter negativo, sobre todo en aquellas especies que son “presa”, como pueden ser los roedores o los rumiantes, ya que podrían estar más expuestos a los depredadores, por lo que es común que estos animales muestren menos expresiones de dolor (Anil *et al.*, 2002; Le Neindre *et al.*, 2009).

1. Fundamento del reconocimiento de las expresiones faciales y elaboración de FACS.

Para el análisis de la dinámica facial se emplea el Sistema de Codificación de Acción Facial (FACS del inglés Facial Action Coding System) el cual, basado en la anatomía, describe todo movimiento facial visualmente discernible. Fue creado inicialmente por Ekman y Friesen en los años 70 para su aplicación en la especie humana y desde entonces ha evolucionado, especialmente en los últimos 20 años, debido en gran parte al desarrollo de la tecnología que ha permitido la creación de sistemas de análisis automáticos de la expresión facial (Vick *et al.*, 2007)

Estos sistemas de codificación facial, por tanto, emplean el estudio de la musculatura facial subyacente y el movimiento muscular para establecer una metodología sistemática que permita identificar y codificar las expresiones faciales pudiendo llegar a relacionarlas con determinados sentimientos y emociones. Dentro de los FACS existen unos códigos designados denominados “Unidades de Acción” (UA) que representan la contracción de un músculo facial particular o un conjunto de músculos y los movimientos resultantes tras la contracción de éstos, descomponiendo, por tanto, las expresiones faciales en componentes individuales de movimiento. También se establecen unos “Descriptor de Acción” (DA) que son empleados para clasificar movimientos generales de la cabeza o los ojos para los cuales

las acciones musculares subyacentes no están del todo claras. De esta manera quedan documentados todos los movimientos faciales discernibles de una especie concreta. Cada UA y DA van asociados a un código numérico de manera que, por ejemplo, en la especie humana se codifican un total de 33 UA y 25 DA (Ekman *et al.*, 2007). Existen además, softwares informáticos que permiten automatizar la detección de las Unidades de Acción, asociando su colocación a determinados sentimientos o emociones que el software identifica de forma instantánea, un ejemplo de esto es el Face Reader de Noldus © (www.noldus.com).

Para poder adaptar el FACS originalmente creado para humanos a animales, se siguió el mismo proceso en todas las especies en las que se ha estudiado, realizándose, en primer lugar, un análisis de la musculatura facial (figura 1), valorando qué músculos de los presentes en la anatomía humana estaban también presentes en esas especies, así como su tamaño y estructura (Burrows *et al.*, 2009). Tras esto, estudiaron la contracción de esos músculos analizando grabaciones de vídeo en animales que presentan un comportamiento espontáneo. En ocasiones puede existir un paso intermedio entre los anteriormente mencionados, en los que se estudian los movimientos superficiales musculares de forma individualizada empleando técnicas de estimulación intramuscular (Waller *et al.*, 2006). Esta estimulación intramuscular aporta información, pero no es esencial, por lo que algunos FACS se han adaptado a especies animales prescindiendo de este paso por razones éticas.

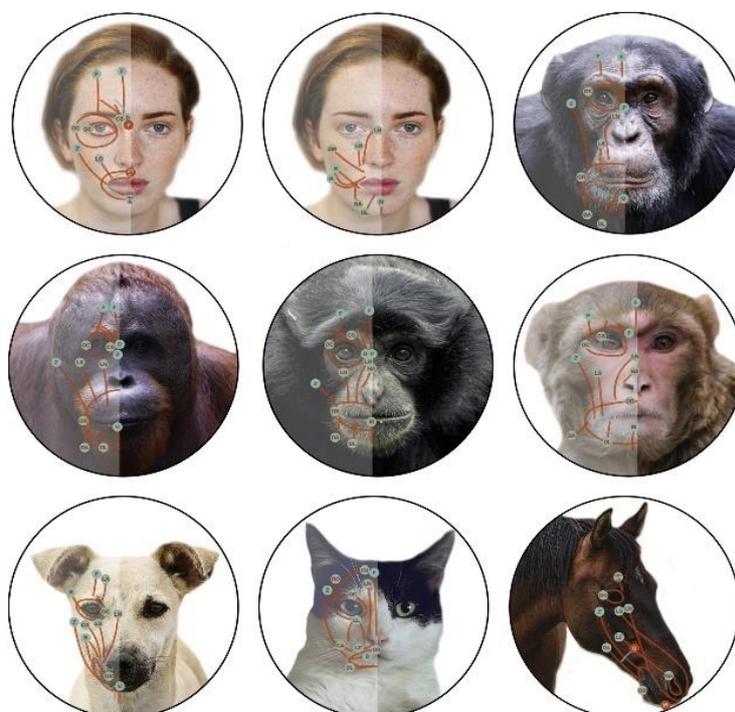


Figura 1: Mapa muscular de FACS en diferentes especies. Los círculos muestran los orígenes de los músculos, y las líneas muestran los puntos de unión. Los movimientos van desde el punto de unión hacia el origen (Waller *et al.*, 2020).

Hasta la fecha, en animales, se ha adaptado el FACS diseñado para la especie humana en las 7 especies, siendo cuatro de ellas primates y tres las especies domésticas de más vinculación con los humanos (perros, gatos y caballos) En la tabla 3 quedan indicadas estas especies junto a sus autores e instituciones que han apoyado y participado en su realización.

Tabla 3. Especies sobre las que se han desarrollado FACS. Elaboración Propia

Especies	Autores	Instituciones
Chimpancés (<i>Pan troglodytes</i> y <i>Pan paniscus</i>)	Vick <i>et al.</i> , 2007	Leverhulme Trust (Reino Unido)
Macaco Rhesus (<i>Macaca mulatta</i>)	Parr <i>et al</i> Heintz, 2009	National Institute of Mental Health (NIMH) (US)
Gibones y siamangs (Familia <i>Hylobatidae</i>)	Waller <i>et al.</i> , 2012	Consortio entre la Universidad de Berlín, Portsmouth y Duquesne
Orangután (<i>Pongo pygmaeus</i>)	Caeiro <i>et al.</i> , 2013	Consortio entre universidades alemanas, británicas y americanas con financiación de la Comisión Europea
Gato (<i>Felis catus</i>)	Correia <i>et al.</i> , 2013	Universidades de Lincoln, Pittsburg y Portsmouth
Perro (<i>Canis lupus familiaris</i>)	Waller <i>et al.</i> , 2013	Universidades de Porstmouth, Pittsburg y Lincoln
Caballo (<i>Equus caballus</i>)	Wathan <i>et al.</i> , 2015	Universidad de Sussex, Pittsburg y Portsmouth

En las especies anteriormente mencionadas se han desarrollado extensos manuales que aportan toda la información sobre las investigaciones realizadas y que, además tienen como objetivo la formación, capacitación y la obligatoria certificación de aquellas personas que deseen aplicarlo en investigación con el fin de mantener un sistema estandarizado de observación de las expresiones faciales de forma universal. Sin embargo, pocas investigaciones que aplican estos manuales se centran en las expresiones que indican dolor, centrándose en su mayoría en el estudio de comunicación y etología de dichas especies. A pesar de esto, es importante conocer el funcionamiento de los FACS para poder comprender la base de las escalas *grimace* que se vienen desarrollando para identificar los niveles de dolor en animales.

2. Desarrollo de escalas *grimace* en animales.

En animales, inicialmente se ha buscado desarrollar este tipo de escala en modelos animales de experimentación en los que tiene especial importancia la identificación precisa de su bienestar dentro del marco de las 3R's (Reemplazo, Reducción y Refinamiento), en el cual se fomenta el perfeccionamiento de los procedimientos experimentales que los emplean, con el fin de ser un instrumento útil tanto en investigación del dolor como en la investigación clínica del mismo (NC3Rs, 2019). Por tanto, los primeros estudios fueron realizados en

roedores con el fin de obtener herramientas fiables para detectar el dolor de forma precisa y en tiempo real (Langford *et al.*, 2010). En ésta y en muchas de las otras especies en las que se han desarrollado, se ha partido para su diseño de una versión reducida de los FACS, centrándose únicamente en obtener información sobre qué Unidades de Acción están relacionadas con las expresiones faciales de dolor. Esto es debido a la dificultad que entraña la elaboración de un FACS completo en multitud de especies, en el que habría que incluir todas las expresiones faciales posibles, lo que requiere de mucho tiempo y esfuerzo.

Tras la revisión de la información disponible, hasta la fecha de realización de este trabajo se han desarrollado, ordenadas por fecha de publicación del estudio, las siguientes escalas *grimace* (tabla 4):

Tabla 4. Escalas *grimace* desarrolladas hasta la fecha. Elaboración propia.

Escala	Especie	Autor	Institución
Mouse Grimace Scale (MGS)	Ratón (<i>Mus musculus</i>)	Langford <i>et al.</i> , 2010	Dpto. Psicología. Universidad de McGill. Montreal (Canadá) Dpto. Psicología. Universidad de Columbia (Canadá) Dpto. Genética Humana, y Dpto. Neurología. Universidad de Leiden (Holanda)
Rat Grimace Scale (RGS)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Sotocinal <i>et al.</i> , 2011	Dpto. de Psicología. Universidad de McGill. Montreal (Canadá)
Rabbit Grimace Scale (RbtGS)	Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Keating <i>et al.</i> , 2012	Dpto. Estudios Clínicos. Universidad de Guelph (Canadá) Instituto de Neurociencia. Universidad de Newcastle (Reino Unido)
Horse Grimace Scale (HGS)	Caballo (<i>Equus caballus</i>)	Dalla Costa <i>et al.</i> , 2014	Proyecto Indicadores Bienestar animal (U.E).
Lamb Grimace Scale (LGS)	Cordero (<i>Ovis orientalis aries</i>)	Guesgen <i>et al.</i> , 2016	Instituto Ciencias Veterinarias, y Agricultura y Medio Ambiente. Massey (Nueva Zelanda) Escuela de Agricultura. Universidad de Newcastle (Reino Unido) Centro de Investigación de Ruakura. Hamilton (Nueva Zelanda)
Piglet Grimace Scale (PGS)	Cerdo (<i>Sus scrofa domestica</i>)	Giminiani <i>et al.</i> , 2016, Viscardi <i>et al.</i> , 2017	Escuela de Agricultura. Universidad de Newcastle (Reino Unido) Dpto. de Medicina, Producción y Salud Animal. Universidad de Padua (Italia)

Ferret Grimace Scale (FeGS)	Hurón (<i>Mustela putorius furo</i>)	Reijgwart <i>et al.</i> , 2017	Centro Investigación Animal. Bilthoven (Holanda) Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Utrecht (Holanda) Laboratorio de Modelización e Informática Científica. Milán (Italia) Escuela de Agricultura. Universidad de Newcastle (Reino Unido)
Sheep Grimace Scale (SGS)	Oveja (<i>Ovis orientalis aries</i>)	Häger <i>et al.</i> , 2017	Instituto de Ciencias Animales y Dpto. de Trauma. Hannover (Alemania)
Feline Grimace Scale (FGS)	Gato (<i>Felis catus</i>)	Evangelista <i>et al.</i> , 2019	Dpto. de Ciencias Clínicas, Universidad de Montreal (Canadá) Farmacología animal. Quebec (Canadá) Ciencias Clínicas Veterinarias. Universidad de Calgary (Canadá)

Además, actualmente se están realizando estudios en nuevas especies, de las cuales se han publicado algunos avances, pero que aún no tienen validada una escala de dolor completa. Este es el caso de la foca común (*Phoca vitulina*) (MacRae *et al.*, 2018) y del macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) (Descovich *et al.*, 2019).

En términos generales, y tras analizar la bibliografía disponible a este respecto, se ha podido comprobar que los autores que han desarrollado las diferentes escalas de dolor han seguido un patrón muy similar para la realización de las mismas, pudiendo resumirse en que se toman imágenes de los animales antes y después de un determinado estímulo que se asume como doloroso para poder compararlas entre sí y analizar cuáles son las diferencias en las expresiones faciales entre un estado sin dolor y un estado con dolor.

2.1 Procedimiento doloroso aplicado a los animales para la elaboración de las escalas grimace.

La principal diferencia entre las diferentes escalas desarrolladas hasta la fecha se encuentra en el procedimiento que ha servido para estudiar el dolor en los animales. Esto fundamentalmente es debido a que, por razones éticas, se ha procurado aprovechar la realización de otro tipo de procedimientos, tanto de experimentación como clínicas, a las que son sometidos los animales de forma rutinaria con el fin de evitar provocarles un dolor únicamente para evaluar las escalas *grimace*. Algunos de estos procedimientos se pueden observar en la tabla 5.

Tabla 5. Resumen de procedimientos dolorosos empleados para el desarrollo de escalas de *grimace* en las diferentes especies. Elaboración propia.

ESCALA	PROCEDIMIENTO DOLOROSO
Mouse Grimace Scale (MGS) (Langford <i>et al.</i> , 2010)	Prueba de constricción abdominal con ácido acético al 9%
Rat Grimace Scale (RGS) (Sotocinal <i>et al.</i> , 2011)	Ensayos inflamatorios
	Laparotomía (Falsa ovariectomía)
Rabbit Grimace Scale (RbtGS) (Keating <i>et al.</i> , 2012)	Identificación mediante tatuaje auricular
Horse Grimace Scale (HGS) (Dalla Costa <i>et al.</i> , 2014)	Orquiectomía con anestesia general
Lamb Grimace Scale (LGS) (Guesgen <i>et al.</i> , 2016)	Aplicación de anillo de goma mediante elastador para mutilación de la cola
Ferret Grimace Scale (FGS) (Reijgwart <i>et al.</i> , 2017)	Implantación de sonda de telemetría intraperitoneal
Sheep Grimace Scale (SGS) (Häger <i>et al.</i> , 2017)	Osteotomía unilateral de tibia
Piglet Grimace Scale (PGS) (Giminiani <i>et al.</i> , 2016; Turner <i>et al.</i> , 2017)	Amputación de la cola y orquiectomía
Feline Grimace Scale (FGS) (Evangelista <i>et al.</i> , 2019)	Casos clínicos
<i>Phoca vitulina</i> (sin validar) (MacRae <i>et al.</i> , 2018)	Implantación de microchip y sistemas de rastreo
<i>Macaca mulatta</i> (sin validar) (Descovich <i>et al.</i> , 2019)	Procedimientos neurocientíficos

2.2. Condiciones para la de grabación de las imágenes empleados en las escalas *grimace*.

Para el desarrollo de todas las escalas se grabó mediante video a los animales, tanto antes como después del estímulo doloroso. Para ello, se alojó cada animal de forma individual, permitiéndoles un periodo de adaptación de varios días para que se acostumbrasen tanto al nuevo alojamiento, como a la presencia de los sistemas de grabación y los sonidos que estos pudieran producir. En el caso de animales de rebaño, como pueden ser las ovejas, se les permitió el contacto visual con otros miembros de su especie para minimizar el estrés por separación evitando que éste pudiera interferir con los resultados del estudio (Häger *et al.*, 2017). Posteriormente, fueron sometidos a los procedimientos dolorosos (tabla 3) volviéndose a realizar una grabación de los animales durante varios minutos. En el caso de los animales a los que se les había realizado una cirugía, la grabación posterior se realizó una vez que se recuperaron de los efectos de la anestesia y analgesia.

En algunos de los estudios, aumentaron los grupos a analizar, ya que por ejemplo en el caso de los caballos, a parte de los que fueron sometidos a cirugía, se hizo también un grupo en el que los animales eran anestesiados bajo el mismo protocolo pero sin llegar a hacerles ningún procedimiento doloroso, con el fin de ver si la diferencia en las Unidades de Acción faciales era debido al dolor o a la anestesia (Dalla Costa *et al.*, 2014). En el caso de los corderos, en los que se estudiaba la cara de dolor durante la aplicación de un anillo de goma para la amputación de la cola, hubo un grupo al que se le sujetó y manipuló la cola de igual manera pero sin llegar a colocarle dicho anillo, con el fin de diferenciar si el cambio en la expresión facial era debido al propio dolor o al estrés de la manipulación (Guesgen *et al.*, 2016).

Por otro lado, en algunos estudios se aplicó tratamiento analgésico y se volvió a realizar una grabación de los animales para valorar si tras la analgesia la expresión facial se modificaba de nuevo. El caso de la “Feline Grimace Scale” es una excepción, ya que los animales estudiados procedían de casos clínicos que llegaban al Hospital Veterinario de la Universidad de Montreal, y que en el momento de su admisión ya presentaban dolor, detectado paralelamente mediante la escala de Glasgow (Composite Measure Pain Feline) ampliamente validada en esta especie. Al no tener imágenes de los animales previas al momento de tener dolor, las grabaciones control, es decir, las de los animales sin dolor, se realizaron al grupo de gatos de prácticas que poseía dicha facultad, siempre asegurándose previamente de que estaban totalmente sanos. (Evangelista *et al.*, 2019).

Estas grabaciones se realizaron con diferentes equipos de grabación en los distintos estudios, pero siempre procurando que las imágenes tuvieran la mejor calidad posible, ya que si la calidad de imagen no era óptima podría interferir en la capacidad de detección de las Unidades de Acción facial. En el caso de la escala *grimace* del hurón (FGS) en lugar de hacer grabaciones de vídeo se tomaron fotografías en modo ráfaga (Reijgwart *et al.*, 2017).

2.3. Selección de las imágenes a incluir en el estudio de las escalas *grimace*.

Empleando programas de edición de vídeo se seleccionan manualmente fotogramas en aquellos momentos en los que se pueda observar con claridad la cara de los animales tanto en las grabaciones con dolor, como en las grabaciones sin dolor. Se descartan aquellas imágenes en las que los animales están realizando acciones como dormir, acicalarse o vocalizar. Estas imágenes se recortan de manera que no se pueda visualizar el resto del cuerpo, y en el caso de que el procedimiento doloroso hubiese sido realizado en la zona de la cabeza, como por ejemplo en el caso de cirugías de implantes craneales en los macacos Rhesus (*Macaca mulatta*), se procura que se vea lo menos posible la zona intervenida para

no influir en las puntuaciones que los observadores pudieran dar a dichas imágenes evitando que se evidencie que el animal ya ha sido intervenido (Descovich *et al.*, 2019).

En el caso de la “Rat Grimace Scale” se desarrolló un software de detección facial denominado Rodent Face Finder® (RFF), que automatiza este laborioso proceso al ser capaz de detectar tanto los ojos como las orejas de los roedores (figura 2) (Sotocinal *et al.*, 2011).

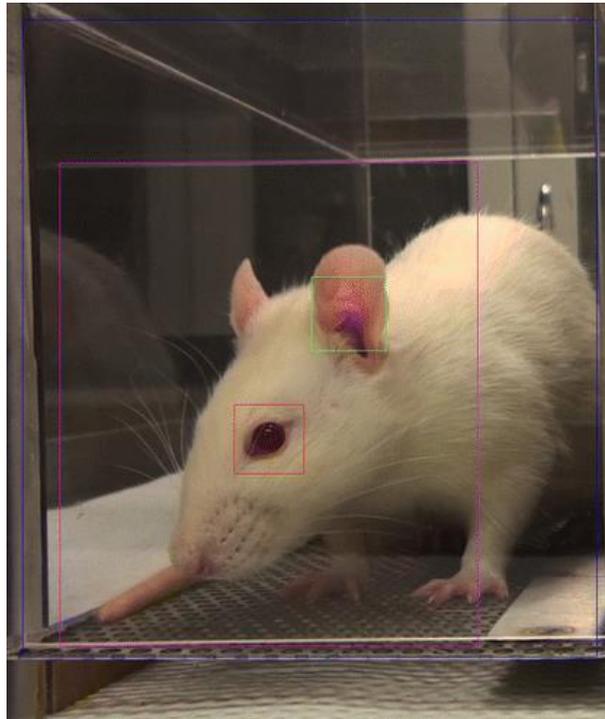


Figura 2. Imagen sin recortar identificada por RFF para la puntuación de RGS (Sotocinal *et al.*, 2011).

2.4. Determinación de las Unidades de Acción.

Una vez extraídas y seleccionadas las imágenes, se presentan a expertos en codificación facial sin indicarles cuáles corresponden a animales con dolor y cuáles a animales sin dolor. Es decir, es un procedimiento ciego que tiene el objetivo de determinar las diferencias en las expresiones faciales antes y después del procedimiento doloroso, sin que el observador se vea condicionado por la información acerca del estatus real del animal en el momento de la fotografía. De esta forma se determinan las Unidades de Acción que son aquellas expresiones que potencialmente podrían ser indicadoras fiables de dolor en las diferentes especies (tabla 6).

Tabla 6. Coincidencia en las Unidades de Acción en las escalas *grimace* de las diferentes especies: ratón (MGS), rata (RGS), conejo (RbtGS), caballo (HGS), cordero (LGS), hurón (FeGS), oveja (SGS), cerdo (PGS) y gato (FGS). Elaboración propia

Unidad de Acción	MGS	RGS	RbtGS	HGS	LGS	FeGS	SGS	PGS	FGS
Ajuste orbital	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Abultamiento nariz	✓	X	X	X	X	✓	X	X	X
Abultamiento mejilla	✓	X	X	X	X	✓	X	X	X
Posición orejas	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Posición bigotes	✓	✓	✓	X	X	✓	X	X	✓
Aplanamiento mejilla	X	✓	✓	X	✓	X	X	✓	X
Aplanamiento nariz	X	✓	✓	X	✓	X	X	X	✓
Tensión sobre ojos	X	X	X	✓	X	X	X	✓	X
Tensión músculos masticadores	X	X	X	✓	X	X	X	X	X
Tensión boca	X	X	X	✓	X	X	X	X	X
Tensión fosas nasales	X	X	X	✓	X	X	X	✓	X
Cambio posición boca	X	X	X	✓	X	X	X	✓	X
Flehmen	X	X	X	X	X	X	✓	X	X
Posición de la cabeza	X	X	X	X	X	X	✓	X	✓

Como se puede observar en la tabla 6, múltiples especies animales comparten las mismas Unidades de Acción, lo que respalda completamente la teoría de Darwin de que las expresiones faciales se conservan evolutivamente (Darwin, 1872). Entre ellas, la que más destaca es el “ajuste orbital”, que se caracteriza por el cierre de los párpados en un porcentaje superior al 50%, llegando incluso a estar los párpados totalmente cerrados y apretados. Esta Unidad de Acción es común a todas las especies, incluyendo la especie humana (figura 3). Otra Unidad de Acción común a todas las especies animales es el cambio en la “posición de las orejas”, ya que tienen capacidad para separarse y retroceder de su posición inicial. Sin embargo, otras Unidades de Acción son diferentes entre las especies y en algunos casos incluso opuestas. Por ejemplo, la expresión facial de dolor de los ratones incluye la presencia de un abultamiento en la nariz y en las mejillas (Langford *et al.*, 2010), mientras que en el caso de la rata, lo característico es el aplanamiento de éstas (Sotocinal *et al.*, 2011). Por tanto, en esta parte podemos concluir que es importante desarrollar escalas *grimace* específicas para cada especie a pesar de que tengan rasgos en común.



Figura 3. Caras de dolor en humano, conejo, ratón y caballo (Descovich *et al.*, 2017).

Una vez que los expertos han definido cuáles son las Unidades de Acción que potencialmente se pueden incluir en la escala *grimace* de la especie que están estudiando, desarrollan un pequeño manual en el que se indican las distintas Unidades de Acción, acompañadas de una breve descripción y de las diferentes imágenes con las que se corresponderían cada uno de los niveles de dolor en esa Unidad de Acción (figura 4), determinado en función de los procedimientos que describiremos más adelante.

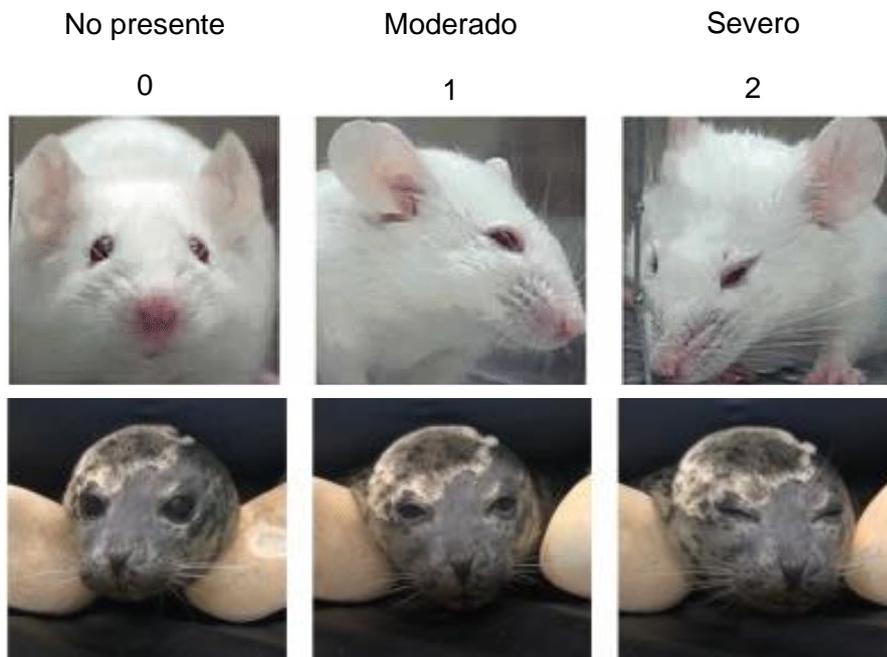


Figura 4. Fotografías para la valoración de la UA “ajuste orbital” en ratón y en foca común (Langford *et al.*, 2010; MacRae *et al.*, 2018).

2.5. Validación de las Unidades de Acción incluidas en las escalas grimace.

Para poder validar las Unidades de Acción de las escalas y estudiar su aplicación por personal no experto, contaron en cada estudio con la ayuda de observadores no especialistas en análisis facial. El rango de observadores seleccionados es muy variado siendo algunos de ellos estudiantes de veterinaria de últimos cursos, auxiliares de veterinaria, biólogos, investigadores, etc. que podían o no estar familiarizados con la especie de la que iban a ver las imágenes.

Una vez seleccionados los observadores y tras una breve formación, se les muestra un conjunto de imágenes aleatorias y sin etiquetar en monitores de ordenador de gran resolución y se les facilita un cuestionario que incluye la descripción escrita de la expresión de dolor de cada Unidad de Acción (figura 4). Para cada imagen y Unidad de Acción los encuestados deben puntuar en qué medida aprecian la expresión descrita en la imagen. La puntuación se realiza con valores de 0, 1 ó 2, siendo:

- 0: Alta seguridad del calificador de que lo descrito para la Unidad de Acción no se muestra en la imagen.
- 1: El calificador duda de que lo descrito para la Unidad de Acción se está mostrando presente en la imagen, o considera que se muestra de forma moderada.
- 2: Alta seguridad del calificador de que lo descrito para la Unidad de Acción está presente de forma severa en la imagen.

También existe la posibilidad de indicar “no es posible puntuar” en caso de que la Unidad de Acción sea difícil apreciar o imposible de identificar en la imagen. En caso de que 2 o más Unidad de Acción en una imagen tengan la indicación de “no es posible puntuar” la puntuación global no se calcula para esa foto. Esto ocurría, por ejemplo, en el caso de la observación de la posición de los bigotes en conejo en el trabajo de Keating *et al.* (2012) ya que las imágenes no tenían calidad suficiente como para que se viesen con claridad. Además, en el estudio con caballos, se observó mayor dificultad para determinar las Unidades de Acción en animales de capas oscuras (Dalla Costa *et al.*, 2014) al igual que ocurría con los gatos de color negro (Evangelista *et al.*, 2019).

2.6 Puntuación del nivel de dolor a través de las escalas grimace.

Una vez que cada una de las Unidades de Acción son puntuadas de manera independiente, se hace una suma de éstas. Un ejemplo de la suma de las puntuaciones de las Unidades de Acción en la “Horse Grimace Scale” puede ser visto en la figura 5. Si se desea dar un valor global de todas las Unidades de Acción, la suma total de las puntuaciones se

divide por el número total de Unidades de Acción para calcularlo. Éste varía entre los valores de 0 y 2.



Figura 5. Puntuaciones de la HGS antes del procedimiento (imagen izquierda) y 8 horas después del procedimiento (imagen derecha) (Dalla Costa *et al.*, 2014).

2.7. Fiabilidad de las escalas grimace

La fiabilidad es calculada de forma estadística mediante modelo lineal mixto entre factores, considerando el sexo del animal como cofactor. Se determina la *validez constructiva* de la propia escala (fiabilidad a la hora de dar valores mayores para aquellos animales que realmente se encontraban más doloridos) y la *validez de criterio*, para ver la correspondencia entre las puntuaciones realizadas por los observadores no expertos frente a la otorgada por el panel de expertos.

Mediante el cálculo de índices de correlación de efecto mixto se estima la fiabilidad entre los evaluadores y la fiabilidad interna de cada evaluador, para la cual, en el caso del estudio de la “Feline Grimace Scale” (Evangelista *et al.*, 2019), los observadores volvieron a realizar las mismas mediciones en las mismas fotos 30 días después, presentándoseles estas en diferente orden y se demostró que el porcentaje de acierto de cada observador no variaba en esta segunda medición. De forma general la fiabilidad intraclase para las escalas fue muy alta, siendo las correlaciones en la mayoría de más del 90%, tanto entre los distintos observadores (grado de acuerdo entre estos), como dentro de cada observador.

También mediante coeficiente alfa de Cronbach se mide la *consistencia interna* de la escala analizando la contribución de cada Unidad de Acción a la puntuación final. Este coeficiente se recalcula a medida que se va simulando la eliminación de cada una de las Unidades de Acción.

Finalmente, se pueden determinar las posibilidades de uso de este tipo de escalas en la intervención analgésica (Brondani *et al.* 2014). Para lo cual a observadores veterinarios clínicos se les cuestiona, según su experiencia clínica, si en función de la imagen encuentran o no necesidad de administrar analgésicos. La puntuación mínima de la escala a la que se

establece ese umbral de decisión (puntuación del rescate analgésico), se identifica mediante el análisis de la Curva ROC (Receiver Operating Characteristic), elaborada por escala de Glasgow (Reid *et al.*, 2017). En la FGS se utilizó una metodología similar para el cálculo de este umbral, siendo en este caso mayor de 0,39 sobre 1 (Evangelista *et al.*, 2019)

2.8. Ventajas e inconvenientes de la aplicación de las escalas *grimace*.

Una vez revisada la información disponible acerca de las escalas *grimace* se pueden extraer una serie de aspectos positivos y negativos que se derivan de la aplicación de estas escalas. Entre las principales ventajas podemos destacar:

- Que, una vez establecida la escala *grimace* en una especie, su aplicación en los animales suele ser rápida y sencilla.
- Permite mantener una distancia de seguridad entre los animales y el calificador, ya que solo implica la observación del animal, en contraposición a otras escalas de dolor en las que se valora la reacción del animal al presionarle el área cercana a una herida. Esto aumenta su importancia en animales grandes o peligrosos como podrían ser animales de zoológico, pudiéndose incluir su valoración en las rutinas de entrenamiento de estos.
- La formación del observador es sencilla y suele conllevar un corto periodo de tiempo, lo cual facilita su aplicación a nivel clínico.

Por otro lado, se pueden describir unos aspectos no tan positivos acerca de la aplicación de las escalas *grimace*:

- El desarrollo de una escala *grimace* de forma completa y su validación no es un proceso sencillo, especialmente fuera del ámbito experimental, ya que está en función de los eventos dolorosos que puedan sufrir los animales de forma espontánea, pudiendo requerir, por tanto, años de estudio.
- Es necesario valorar el contexto en el que se encuentran los animales ya que, por ejemplo, la Unidad de Acción de variación de orejas en caballo puede significar muchas otras cosas además de presencia de dolor.
- Determinadas especies tienen mecanismos innatos para ocultar el dolor como es el caso de las especies que son “presa” y de animales que viven en jerarquías.
- Se ha demostrado que los animales expresan con relativa facilidad estímulos dolorosos de carácter agudo, sin embargo, a medida que el dolor se prolonga en el

tiempo la expresión del dolor va disminuyendo, por lo que existe dificultad a la hora de valorar el dolor crónico.

- Pueden existir diferencias en la puntuación de la escala ante ciertas variables como el sexo, la cepa, la raza e incluso, si el sistema de observación se realiza *in situ* o de forma retrospectiva a través de fotografías.

3. Pasos para el desarrollo de escalas *grimace* sobre los primates del Parque Zoológico Municipal de Córdoba

Tras el análisis de la información contenida en los diferentes estudios referenciados a lo largo de este trabajo, se realiza una propuesta para el desarrollo de una escala *grimace* a aplicar en primates de zoológico, y más específicamente en el Parque Zoológico Municipal de Córdoba (PZMC), debido al actual desconocimiento acerca de la expresión del dolor de éstos y la necesidad de desarrollar herramientas que faciliten la evaluación y mejora de su bienestar, con el que el PZMC está altamente comprometido. Para poder realizar este estudio que se desarrolla a continuación, primero se solicitaría consentimiento al Comité de Bioética y Bioseguridad de la Universidad de Córdoba.

3.1. Elección de la especie.

Para poder estudiar las expresiones faciales relacionadas con el dolor, se elegiría una especie de primate que ya tenga desarrollado un manual FACS, ya que supondría un avance el que previamente su expresión facial haya sido desglosada en Unidades de Acción. Es por este motivo que dentro de las especies de primates alojadas en el PZMC, se ha considerado como la más adecuada para poder hacer un estudio de este tipo el macaco de Gibraltar (*Macaca sylvanus*) ya que se ha demostrado que el MaqFACS desarrollado para el macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) se puede emplear para codificar sus movimientos faciales debido a la homología en los músculos faciales básicos y los puntos de referencia faciales clave que ambas especies comparten (Julle-Danière *et al.*, 2015) como se puede observar en la figura 6.

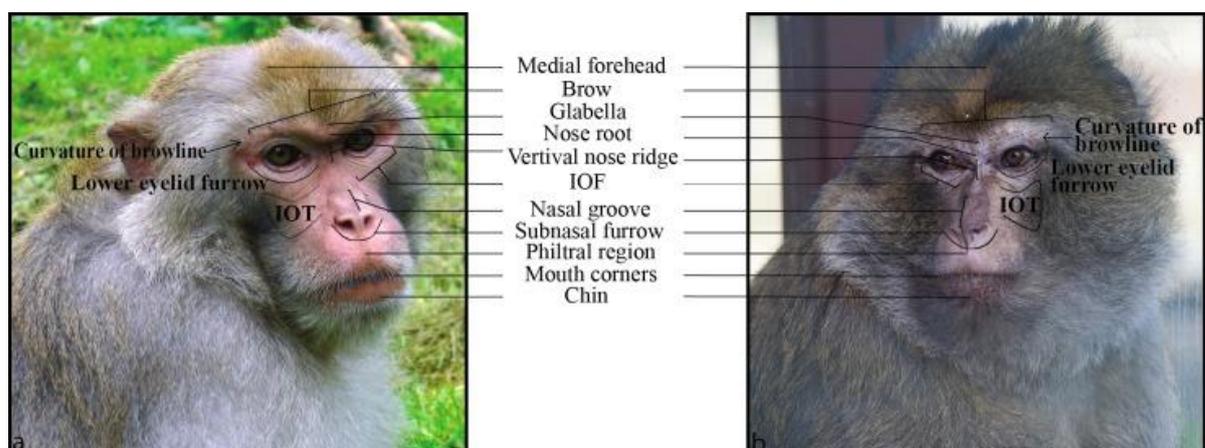


Figura 6. Puntos de referencia faciales clave en macaco Rhesus (imagen izquierda) y macaco de Gibraltar (imagen derecha), siendo estos puntos: Frente media, cejas, curvatura de la línea de las cejas, glabella, inserción de la nariz, cresta vertical de la nariz, surco infraorbitario, triángulo infraorbitario, surco del párpado inferior, surco nasal, surco subnasal, región fíltrica, hendidura labial y mejillas. (Julle-Danière *et al.*, 2015)

3.2. Potenciales Unidades de Acción.

Recientemente ha sido publicado el único estudio disponible hasta la fecha acerca de la expresión del dolor en macaco Rhesus tras ensayos clínicos neurocientíficos realizados por investigadores del Centro de Bienestar y Ética Animal de la Universidad de Queensland (Australia). En este artículo publican un avance sobre qué Unidades de Acción han detectado que aparecen con mayor probabilidad tras ser sometidos a cirugías de implantes cerebrales y estudiando paralelamente cambios comportamentales en estos animales. Estas Unidades de Acción detectadas fueron: “Ajuste orbital” (con los ojos apretados y semicerrados), “tensión en la boca”, “caída del labio inferior” y “cambio en la posición de la cabeza” (aumentando su inclinación lateral) tal y como lo menciona Descovich. Gracias a esta información podemos presuponer que estas Unidades de Acción también serán detectadas en el estudio realizado en el PZMC.

3.3 Registro de imágenes.

Habría que recopilar las expresiones faciales de todos los miembros del grupo del PZMC, realizando una colección de vídeos y fotografías de los animales en su estado natural (figura 7) que serán usados para las siguientes fases. Para la grabación de estos vídeos se aprovecharían aquellos momentos en los que los animales están reclusos en instalaciones de menores dimensiones, por ejemplo, cuando están en los dormitorios, con el fin de obtener una mejor calidad de imagen.



Figura 7. Macaco de Gibraltar. Fuente: PZMC.

3.4. Procedimiento doloroso.

No se pretende introducir experimentalmente un estímulo doloroso, sino que, en colaboración con los servicios veterinarios del PZMC, se aprovecharían los momentos en que los animales experimenten algún evento de aparición espontánea que implique dolor (por ejemplo, accidente, agresión entre individuos o que hubiera sido necesario realizarles alguna cirugía) y se les volvería a tomar fotografías y vídeos. También se registrarían teniendo en cuenta posibles tratamientos analgésicos, su dosificación y evolución de la patología.

3.5. Elaboración de los cuestionarios de validación.

A partir de la visualización de la muestra de vídeos “con dolor” y “sin dolor” se seleccionarían los fotogramas para determinar las Unidades de Acción. La descripción de éstas se hará por el equipo investigador principal que estaría formado por: el personal clínico veterinario del PZMC, investigadores especializados en Etología de la Facultad de Veterinaria de la UCO y e investigadores con certificación en MaqFACS. El análisis de las Unidades de Acción de las imágenes se llevará a cabo de forma visual por parte del equipo investigador al mismo tiempo que se investigará la forma de poder calibrarlas y detectarlas con el software Face Reader de Noldus © perteneciente a la Estación Etológica del grupo AGR-134 de la Universidad de Córdoba.

3.6. Validación de las UA a través de observadores no especialistas.

La puntuación de las imágenes según el método (0,1,2) explicado en los apartados 2.5 y 2.6 se podrá realizar dentro del marco de los diferentes programas educativos que lleva el PZMC. Proponemos elegir como observadores a los estudiantes de primer curso de veterinaria como parte de las prácticas de la asignatura de “Etología”, con lo que se podría contar con 180 observadores a puntuar cada uno 25 imágenes. El procedimiento se realizaría

a través de una encuesta online a la cual los estudiantes tendrían acceso a través de la web www.surveymonkey.com; en dicha encuesta se pondría una imagen por página y una pregunta por cada Unidad de Acción que se estableciera para poderla puntuar de la forma anteriormente descrita.

3.7. Fiabilidad y Repetibilidad.

La fiabilidad podría ser estimada de manera bastante precisa para la variación interobservadores, ya que se contaría con una muestra muy elevada de observadores y una muestra de imágenes analizadas, también suficientemente representativa que a su vez permita estimar la fiabilidad intraobservador. La repetibilidad a través del tiempo será probada volviendo a recoger las puntuaciones de cada observador una vez transcurridos 30 días desde la anterior puntuación, y sobre las mismas imágenes, aunque en distinto orden.

3.8. Limitaciones.

Al depender de sucesos de naturaleza espontánea, su aparición es impredecible y por tanto no es posible determinar un tiempo concreto de duración de los estudios para poder disponer del material suficiente. Para acortar el tiempo y con el fin de aumentar la población de animales en los que se aplica, así como la probabilidad de que tengan lugar sucesos dolorosos espontáneos en ellos, se podrían establecer colaboraciones con otros zoológicos, involucrando en el estudio a aquellos en los que estuviese presente esta misma especie.

3.9. Posibilidades de explotación.

La escala *grimace* desarrollada puede resultar interesante para su aplicación por parte de otros zoológicos. Su propiedad intelectual es susceptible de ser registrada con el fin de explotar los derechos de uso por parte de otros parques zoológicos, no obstante, dado que su finalidad es el bienestar de los animales, se publicaría en modo abierto en la web del PZMC para que quede accesible y a libre disposición de quien la requiera.

Conclusiones

-Con relación al primer objetivo:

1. Las escalas *grimace* son una herramienta útil y fiable para detectar dolor en los animales y, por tanto, para evaluar y mejorar su bienestar. Son especialmente útiles cuando este dolor es agudo, siendo necesario seguir estudiando cómo varían las expresiones faciales a medida que se cronifica.
2. Pese a que las escalas *grimace* son un tema emergente en el ámbito de la Etología Clínica de animales domésticos y de experimentación, aún no han sido desarrolladas en especies de primates, ya que, a pesar de las similitudes encontradas entre las escalas de las diferentes especies, éstas deben realizarse de forma particular para cada una, al poder existir diferencias entre las Unidades de Acción.
3. Se requiere tiempo para desarrollar una escala *grimace* en primates de zoológico, especialmente en aquellos casos en los que las situaciones de dolor dependen de la casuística de procesos patológicos en los animales de la muestra.

-Con relación al segundo objetivo

4. Para diseñar las escalas *grimace* en el ámbito clínico del los Macacos de Gibraltar del Parque Zoológico Municipal de Córdoba, se pueden establecer las Unidades de Acción a partir de los estudios de las FACS existentes para la especie homóloga Macaco Rhesus. Todo ello precisaría que se desarrollen estudios etológicos adecuados en el marco de la colaboración existente entre el Parque Zoológico Municipal de Córdoba y la Universidad de Córdoba.

Bibliografía

- Anand, K. J. S. (2017). Defining pain in newborns: need for a uniform taxonomy? In *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics* (Vol. 106, Issue 9, pp. 1438–1444). Blackwell Publishing Ltd.
- Anil, S. S., Anil, Leena, & Deen, J. (2002). Challenges of pain assessment in domestic animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(3), 313–319.
- Animal Facs <https://www.animalfac.com/> (Última visita 18/06/20).
- Burrows, Anne M., Waller, Bridget M., & Parr, Lisa A. (2009). Facial musculature in the rhesus macaque (*Macaca mulatta*): evolutionary and functional contexts with comparisons to chimpanzees and humans. *Journal of Anatomy*, 215(3), 320–334.
- Caeiro, Cátia C., Waller, Bridget M., Zimmermann, E., Burrows, Anne M., & Davila-Ross, Marina (2013). OrangFACS: A Muscle-Based Facial Movement Coding System for Orangutans (*Pongo* spp.). *International Journal of Primatology*, 34(1), 115–129.
- Chang, Julie, Versloot, Judith, Fashler, Samantha R., McCrystal, K. N., & Craig, Kalie D. (2015). Pain assessment in children: Validity of facial expression items in observational pain scales. *Clinical Journal of Pain*, 31(3), 189–197.
- Dalla Costa, Emanuela, Minero, Michela, Lebelt, D., Stucke, Diana, Canali, Elisabetta, & Leach, M. C. (2014). Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS ONE*, 9(3).
- Darwin, C. (1957). The Expression of the Emotions in Man and Animals. *Philosophical Studies*, 7(0), 237–237.
- Descovich, Kris A., Richmond, Susan E., Leach, M. C., Buchanan-Smith, Hannah M., Flecknell, P., Farningham, D. A. H., Witham, Claire, Gates, M. Carolyn, & Vick, Sarah-Jane (2019). Opportunities for refinement in neuroscience: Indicators of wellness and post-operative pain in laboratory macaques. *Altex*, 36(4), 535–554.
- Descovich, Kris A., Wathan, Jennifer, Leach, M. C., Buchanan-Smith, Hannah M., Flecknell, P., Farningham, D., & Vick, Sarah-Jane (2017). Facial expression: An under-utilized tool for the assessment of welfare in mammals. *Altex*, 34(3), 409–429.
- Ekman, P., Amabadar, Zara, & Cohn, J. F. (2007). Handbook of emotion elicitation and assessment. In *Series in Affective Science* (Issue January 2007).
- Evangelista, Marina C., Watanabe, R., Leung, Vivian S. Y., Monteiro, Beatriz P., Toole, Elisabeth O., Pang, D. S. J., & Steagall, P. V. (2019). *Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale*. 1–11.
- Giminiani, P. Di, Brierley, Victoria L. M. H., Scollo, Annalisa, Gottardo, Flaviana, Malcolm, Emma M., Edwards, Sandra 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*. 3(November), 1–10.
- Grimace scales | NC3Rs*. (2019). <https://www.nc3rs.org.uk/grimacescales> (última visita el 16/06/20).

- Guesgen, Mirjam J., Beausoleil, Ngaio J., Leach, M., Minot, E. O., Stewart, M., & Stafford, K. J. (2016). Coding and quantification of a facial expression for pain in lambs. *Behavioural Processes*, 132, 49–56.
- Häger, C., Biernot, S., Buettner, M., Glage, S., Keubler, L. M., Held, N., Bleich, E. M., Otto, K., Müller, C. W., Decker, S., Talbot, S. R., & Bleich, A. (2017). The Sheep Grimace Scale as an indicator of post-operative distress and pain in laboratory sheep. *PLoS ONE*, 12(4).
- Julle-Danière, Églantine, Micheletta, J., Whitehouse, J., Joly, Marine, Gass, Carolin, Burrows, Anne M., & Waller, Bridget M. (2015). MaqFACS (Macaque Facial Action Coding System) can be used to document facial movements in Barbary macaques (*Macaca sylvanus*). *PeerJ*, 2015(9). <https://doi.org/10.7717/peerj.1248>
- Keating, Stephanie C. J., Thomas, Aurelie A., Flecknell, P. A., & Leach, M. C. (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.
- Langford, D. J., Bailey, A. L., Chanda, Mona Lisa, Clarke, Sarah E., Drummond, Tanya E., Echols, Stephanie, Glick, Sarah, Ingrao, Joelle, Klassen-Ross, Tammy, Lacroix-Fralish, M. L., Matsumiya, Lynn, Sorge, R. E., Sotocinal, Susana G., Tabaka, J. M., Wong, D., Van Den Maagdenberg, A. M. J. M., Ferrari, M. D., Craig, K. D., & Mogil, J. S. (2010a). Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods*, 7(6), 447–449.
- Las 3Rs / NC3Rs. (n.d.). [fhttps://www.nc3rs.org.uk/the-3rs](https://www.nc3rs.org.uk/the-3rs) (última visita 21/05/2020).
- Le Neindre, P., Guatteo, R., Guémené, D., Guichet, J.-L., Latouche, Karine, Leterrier, Christine, Levionnois, O., Mormède, P., Prunier, Armelle, Serrie, A., & Servière, J. (2009). *Douleurs animales Les identifier, les comprendre, les limiter chez les animaux d'élevage Synthèse du rapport d'expertise réalisé par l'INRA à la demande du Ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche et du Ministère de l'Enseignement Supé.*
- MacRae, Amelia M., Joanna Makowska, I., & Fraser, D. (2018). Initial evaluation of facial expressions and behaviours of harbour seal pups (*Phoca vitulina*) in response to tagging and microchipping. *Applied Animal Behaviour Science*, 205(April), 167–174.
- Mellor, D. J., & Beausoleil, N. J. (2015). Extending the 'Five Domains' model for animal welfare assessment to incorporate positive welfare states. *Anim. Welf*, 24(3), 241.
- Mellor, D. J., Hunt, S. & Gusset, M. (2015). Cuidando la fauna silvestre. 87. [http://www.waza.org/files/webcontent/1.public_site/5.conservation/animal_welfare/WAZA Animal Welfare Strategy 2015](http://www.waza.org/files/webcontent/1.public_site/5.conservation/animal_welfare/WAZA_Animal_Welfare_Strategy_2015)
- Noldus Facereader: <https://www.noldus.com/facereader> (última visita 18/09/20).
- Organización Mundial de Sanidad Animal: <https://www.oie.int/es/> (ultima visita 02/06/20).
- Parr, Lisa A., & Heintz, M. (2009). Facial expression recognition in rhesus monkeys, *Macaca mulatta*. *Animal Behaviour*, 77(6), 1507–1513.
- Reid, J., Scott, E. M., Calvo, G., & Nolan, A. M. (2017). Definitive Glasgow acute pain scale for cats: Validation and intervention level. *Veterinary Record*, 180(18), 449.
- Reijgwart, Marsinah L., Schoemaker, N. J., Pascuzzo, R., Leach, M. C., Stodel, Melanie, De Nies, L., Hendriksen, C. F. M, Van Der Meer, Miriam, Vinke, Claudia M., & Van Zeeland, Yvonne R. A. (2017). The composition and initial evaluation of a grimace scale in ferrets after surgical

- implantation of a telemetry probe. *PLoS ONE*, 12(11).
- Sotocinal, Susana G., Sorge, R. E., Zaloum, A., Tuttle, A. H., Martin, Loren J., Wieskopf, J. S., Mapplebeck, Josiane C. S., Wei, P., Zhan, S., Zhang, Shu, McDougall, J. J., King, O. D., & Mogil, J. S. (2011). The Rat Grimace Scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7.
- Survey Monkey: <https://es.surveymonkey.com/> (Última visita 19/06/20).
- Tribe, A., & Booth, Rosemary (2003). Assessing the role of zoos in wildlife conservation. *Human Dimensions of Wildlife*, 8(1), 65–74.
- Viscardi, Abbie V., Hunniford, Michelle, Lawlis, Penny, Leach, M., & Turner, Patricia V. (2017). Development of a piglet grimace scale to evaluate piglet pain using facial expressions following castration and tail docking: a pilot study. *Frontiers in veterinary science*, 4, 51.
- Vick, Sarah-Jane, Waller, Bridget M., Parr, Lisa A., Pasqualini, Marcia C. S., & Bard, Kim A. (2007). A cross-species comparison of facial morphology and movement in humans and chimpanzees using the facial action coding system (FACS). *Journal of nonverbal behavior*, 31(1), 1-20.
- Villén, Julia (2020). Entrenamiento como base del Manejo “friendly” en los puercoespines crestados (H.cristata) del Parque Zoológico Municipal de Córdoba. (Trabajo de Fin de Grado). Universidad de Córdoba.
- Waller, B., Caeiro, C. C., Peirce, K., Burrows, A., & Kaminski, J. (2013). *DogFACS: the dog facial action coding system*.
- Waller, Bridget M., Julle-Daniere, E., & Micheletta, J. (2020). Measuring the evolution of facial ‘expression’ using multi-species FACS. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 113(January), 1–11.
- Waller, Bridget M., Lembeck, Manuela, Kuchenbuch, P., Burrows, Anne M., & Liebal, Katja (2012). GibbonFACS: A Muscle-Based Facial Movement Coding System for Hylobatids. *International Journal of Primatology*, 33(4), 809–821.
- Waller, Bridget M., Vick, Sarah-Jane, Parr, Lisa A., Bard, Kim A., Pasqualini, Marcia C. S., Gothard, Katalin M., & Fuglevand, A. J. (2006). Intramuscular electrical stimulation of facial muscles in humans and chimpanzees: Duchenne revisited and extended. *Emotion*, 6(3), 367–382.
- Warden, Victoria, Hurley, Ann C., & Volicer, L. (2003). Development and psychometric evaluation of the pain assessment in advanced dementia (PAINAD) scale. *Journal of the American Medical Directors Association*, 4(1), 9–15.
- Wathan, Jen, Burrows, Anne M., Waller, Bridget M., & McComb, Karen (2015). *EquiFACS: The Equine Facial Action Coding System*.
- Zimmerman, M. (1986). *Physiological mechanisms of pain and its treatment*.

Compromiso ético

Los procedimientos usados para este trabajo no han implicado uso alguno de animales, por lo que no ha requerido ser autorizado por el Comité de Bioética conforme a la normativa europea en cuanto al cuidado y uso de animales de experimentación.

El estudio presentado es original y libre de plagio y las fuentes de información empleadas han sido citadas de manera correcta, no habiendo sido el trabajo ni total ni parcialmente publicado previamente.

En la redacción del trabajo se ha procurado emplear un lenguaje inclusivo y los nombres completos de las autoras han sido incluidos en las referencias bibliográficas para mayor visibilidad de género.

Limitaciones

En este Trabajo de Fin de Grado la pretensión era llegar hasta el punto 3.2, es decir, hasta la toma de imágenes inicial de todos los macacos de Gibraltar pertenecientes al PZMC, lo que incluía el estudio de dónde era más efectiva la colocación de las cámaras, estudiando su disposición y estableciendo un horario de tomas de estos vídeos. De este modo también se pretendía que los animales se familiarizaran con los equipos de grabación para que su presencia no alterase su comportamiento y expresión facial. Debido a la situación actual con la COVID-19 no ha sido posible llegar hasta este punto, cediendo el testigo a próximos alumnos de TFG en la línea de Bienestar Animal en Animales de Zoo del departamento de Producción Animal para que continúen con la investigación iniciada.

Agradecimientos

A mis tutores del Trabajo de Fin de Grado, Evangelina Roderó y Rafael Guerra, por haberme ayudado, enseñado y guiado durante este proceso haciéndolo todo mucho más fácil. A Ana María González por haber sido una tutora más, siempre dispuesta a prestarme su ayuda. Al Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de Córdoba por haberme dado la oportunidad de participar en esta línea de TFG y haberme abierto sus puertas para realizar el “mes de libre” de las Prácticas Tuteladas.

Al Ayuntamiento de Córdoba y al Parque Zoológico Municipal de Córdoba por acogerme.

A mi compañera de TFG, Julia Villén por haber hecho que esta etapa fuera mucho más dinámica y por todo lo que he aprendido de su trabajo.

A Maica Espinosa, Eugenio Fernández, Guillermo Bustelo (Rainfer) y Pedro Gutiérrez (AAP Primadomus) , por sus consejos y por haber compartido conmigo su punto de vista desde su experiencia con primates.

A mi familia: mis abuelos y Tata, mis padres y hermanas, por haber estado siempre ahí y haberme apoyado en todo momento a pesar de las dificultades, por no haber dudado nunca de mi y por tantas velitas encendidas para que todo fuera bien. A Clara y Victoria por ser la alegría de mi vida y motivo siempre para sonreír. A Antonio por haber luchado esta batalla conmigo.

A todas las personas que han formado parte de mi vida durante mi paso por Córdoba, por todos los amigos que me llevo y que ahora son familia.

A todos ellos muchas gracias, por haberme hecho crecer como profesional y como persona y haber aportado cada uno su pequeño granito de arena para alcanzar este sueño que ahora cumplo de ser veterinaria.