

# EVALUACIÓN Y RECONOCIMIENTO DEL DOLOR EN REPTILES: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

## RECOGNITION AND ASSESSMENT OF PAIN IN REPTILES: A SYSTEMATIC REVIEW

Oliver Baca-Montero<sup>1</sup> & Daniel Alejandro Gómez Pizano<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Programa propedéutico en Medicina en Fauna Silvestre, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México 04510, CDMX., México

<sup>2</sup>Departamento de Etología Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México 04510, CDMX., México.

\*Correspondence: [daniel.gomezpizano@fmvz.unam.mx](mailto:daniel.gomezpizano@fmvz.unam.mx)

Received: 2023-08-01. Accepted: : 2024-04-16. Published: 2024-05-22.

Editor: Antonieta Labra Lillo, Chile.

**Abstract.**— Reptiles show morpho-physiological differences compared with other taxa (e.g., mammals), such as their pain manifestation that are not obvious to people. Presently, a great part of animal care practitioners lack enough knowledge to evaluate pain behaviors in reptiles, partially because there is not enough research on the subject. The aim of this review is to perform a systematic research about pain identification and assessment through postural and behavioral changes in reptiles. A bibliographic search was made using commands constituted by words related to pain and reptile species connected by boolean operators. The search resulted in 751 articles, although only 43 of them were used based on the eligibility criteria. Information obtained was grouped into three categories. The first were articles on specific nociceptive response trials, in this group two different pain methodologies were observed in all the reptiles groups: Withdrawal time to irritable stimulus (thermal or mechanic) and response to parenteral irritating chemical. The second category included studies in which postural or behavioral changes associated with pain were mentioned. The third category were review articles. Considering the information published nowadays, we consider that it would be insufficient to evaluate pain in reptiles using one single method. Since most sources mention comparison with normal behaviors, elaborate ethograms of individuals or species (in captivity) during a pain-free period could be useful to identify periods of discomfort. However, more studies are needed to ensure correlation between pain and behaviors.

**Keywords.**— Algesia, analgesia, behavior, chelonians, crocodylians, Squamata.

**Resumen.**— Los reptiles presentan grandes diferencias morfo-fisiológicas con otras taxa (e.g., mamíferos), entre ellas, las relacionadas con manifestaciones del dolor, las cuales resultan poco evidentes para las personas. Actualmente, una gran parte de los profesionales del cuidado animal carece de conocimientos para evaluar comportamientos que indiquen dolor en reptiles, esto en parte debido a que hasta ahora no existe suficiente investigación. El objetivo de esta revisión es realizar una búsqueda sistematizada sobre los métodos de identificación y evaluación del dolor mediante cambios en la postura o comportamiento en diferentes reptiles. Se realizó una búsqueda bibliográfica usando comandos formados por palabras relacionadas al dolor, unidas por conectores booleanos. Se obtuvo un total de 751 artículos en la búsqueda, de los cuales solo 43 fueron utilizados para el presente análisis, ya que cumplieron con los criterios de elegibilidad establecidos. La información obtenida se agrupó en 3 categorías, la primera fueron artículos en ensayos de respuesta nociceptiva específica, registrándose dos metodologías de estudio del dolor en todos los grupos de reptiles: Retirada ante estímulo irritante (térmico o mecánico) y respuesta emitida ante la inyección de un químico irritante. La segunda categoría fueron estudios donde se mencionan cambios posturales o del comportamiento asociados a dolor y se compara entre algunas especies. La tercera fueron artículos de revisión. Con la información descrita hoy en día, se puede considerar que identificar el dolor en reptiles utilizando un solo método de evaluación es insuficiente. Puesto que la mayoría de las fuentes mencionan la



comparación con los comportamientos normales de la especie, la utilización de etogramas individuales o por especie (en cautiverio) durante un periodo control, sin dolor, podría ser útil para identificar periodos de malestar. Sin embargo, hacen falta estudios para poder asegurar una correlación dolor-comportamiento.

**Palabras clave.**— Algesia, analgesia, cocodrilianos, comportamiento, quelonios, squamata.

## INTRODUCCIÓN

Los reptiles se han vuelto cada vez más populares como mascotas, y las personas generan hacia estos animales, al igual que como lo hacen con los mamíferos de compañía, vínculos y empatía, así como otros sentimientos no reportados comúnmente con mamíferos de compañía, como la admiración y fascinación, aunque son más diversos y matizados por la naturaleza misteriosa y los comportamientos inusuales de los reptiles (Azevedo et al., 2022). Esta creciente popularidad ha generado que los profesionales del cuidado animal tengan cada vez una mayor implicación en el manejo de estas especies y hace más evidente la necesidad de generar información que permita procurar la calidad de su bienestar (Burghardt, 2017).

Los reptiles, comparados con las otras clases de vertebrados, en particular con los mamíferos, poseen diferencias anatómo-fisiológicas significativas, por lo que es importante considerar esto para el tema a tratar, puesto que los mamíferos representan las especies más comunes bajo cuidado humano, y por ende, es en ellos sobre los que existe mayor cantidad de investigación e información descrita respecto al comportamiento y el dolor (Reida et al., 2019; Turner et al., 2019; Oliver & Pang, 2023; Miller & Leach, 2023), y con las cuales, tanto los profesionales del cuidado animal como los no-profesionales podrían generar como modelo para establecer lo que es normal en comportamiento de los animales. Considerando esto, a lo largo de este texto se utilizará como punto de comparación a los mamíferos. Sin embargo, el tratar de equiparar el comportamiento y funcionamiento de estos animales a los reptiles, es un error común por lo que nos enfocaremos en entender que sus diferencias nos ayudará a tener una visión más objetiva del bienestar de los reptiles (Stoskopf, 1994).

O'Malley (2005) y Reid (2018) describen diferencias anatómo-fisiológicas entre mamíferos y reptiles, algunas muy conocidas, como la ausencia de diafragma y presencia de cavidad celómica. Sin embargo, existen otras menos consideradas como la dermis altamente queratinizada, un metabolismo ectotérmico, pocos músculos faciales y una anatomía laríngea distinta. Estas diferencias tienen implicaciones en la manera en que entendemos y manejamos a los reptiles e incluso, pueden

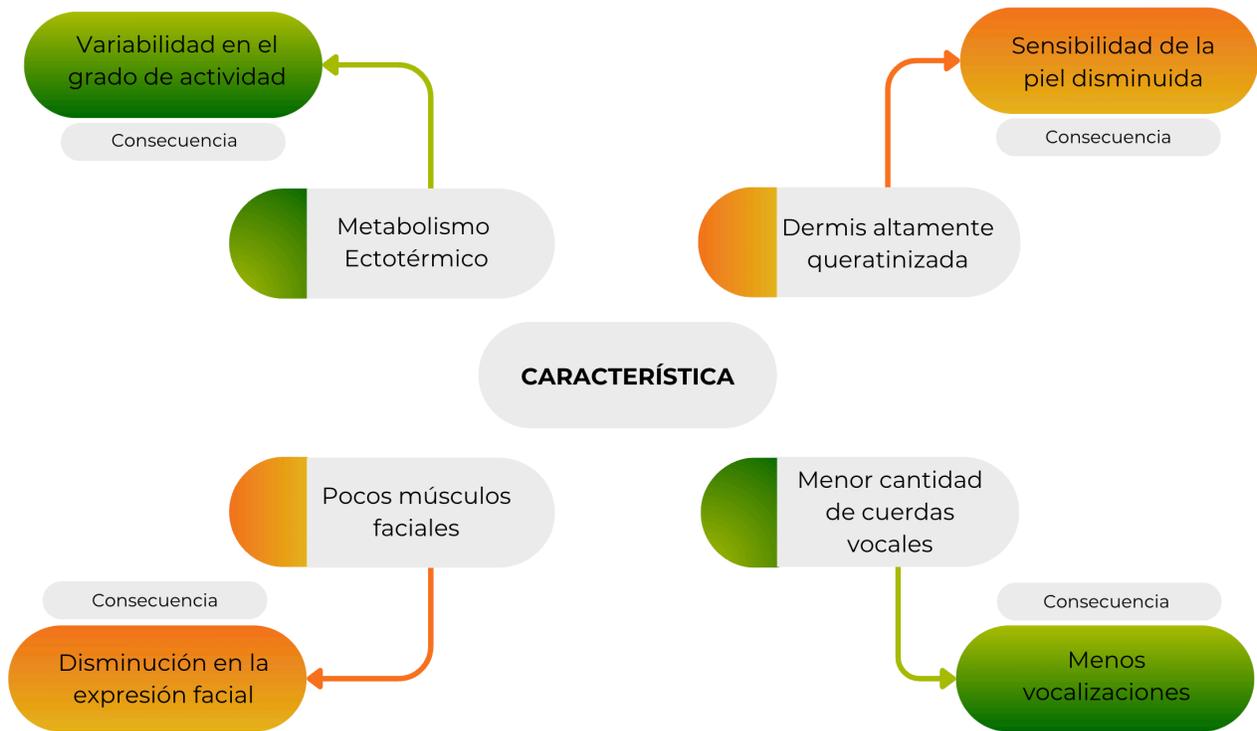
dificultar la percepción del malestar en estos animales (Fig. 1). Por ejemplo, por el metabolismo ectotérmico de un reptil que se encuentre debajo de su temperatura óptima preferida podría tener dificultad para moverse en respuesta a un estímulo nocivo.

Además, la menor cantidad de músculos faciales conlleva a que carezcan de expresiones faciales visuales asociadas al dolor, y por último, una menor cantidad o ausencia de cuerdas vocales conlleva a una menor variedad de expresiones vocales (Liem et al., 2001; Reid, 2018; Russell & Bauer, 2021), como las que acompañan a la emoción y la angustia apreciadas en otros vertebrados con dolor como mamíferos y aves (Cooper & Vierck, 1986; Cordeiro et al., 2018; Russell & Bauer, 2021; Mikoni et al., 2022). Esto no significa que carezcan de emociones o que no sufran, pues cuentan con los mecanismos para el procesamiento del dolor (Burghardt, 2017), como se describe más adelante.

El dolor implica una experiencia sensorial o emocional desagradable (IASP, 2020) y es especialmente difícil de cuantificar en seres con los cuales no compartimos el lenguaje para describir el evento emocional, por ejemplo, humanos no verbales (e.g., bebés) y todos los animales. Sin embargo, la incapacidad de detectar el dolor percibido por un animal no significa que sea incapaz de sentir dolor (Mosley, 2011), pues los reptiles poseen las estructuras anatómicas necesarias involucradas en los procesos fisiológicos que generan el dolor (i.e., transducción, transmisión, modulación, proyección y percepción) por lo que sería importante considerar, más bien, una incapacidad nuestra para entenderlos (Perry & Nevarez, 2018).

A pesar de la evidencia mencionada sobre la sintiencia de dolor en reptiles y de las múltiples revisiones sobre la temática (Lambert et al., 2019; Mosley, 2011; Perpiñán, 2018; Reid, 2018; Serinelli et al., 2022), actualmente a nivel mundial, sigue siendo un tema controversial tanto la evaluación como el tratamiento del dolor en reptiles (Ayers, 2016; Gris et al., 2022).

Para profesionales como el veterinario, es un deber ético el tratar el dolor en sus pacientes (Sladky & Mans, 2012). Sin embargo, los grandes obstáculos ya mencionados, así como la



**Figure 1.** Anatomico-physiological characteristics and their implications in the perception and expression of pain in reptiles (Adapted from O'Malley, 2005; Reid, 2018).  
**Figura 1.** Características anatómo-fisiológicas y sus implicaciones en la percepción y expresión del dolor en reptiles (Adaptada de O'Malley, 2005; Reid, 2018).

ausencia de consensos en métodos para la identificación del dolor hacen difícil la toma de decisiones clínicas respecto a éste. De ahí la importancia de documentar la información descrita hasta ahora sobre el dolor en reptiles, pues establecer un punto de partida es vital para poder definir las áreas de oportunidad en la evaluación y manejo el dolor.

La evaluación visual del dolor no ha sido estandarizada en reptiles, en parte debido a la ausencia de información al respecto, así como también a la falta de una revisión profunda que permita identificar la información con la que se cuenta. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es realizar una búsqueda sistematizada sobre los métodos reportado en la literatura para identificación y evaluación del dolor mediante cambios posturales y/o comportamentales en los diferentes taxa de reptiles, a fin de proponer estrategias para la identificación del dolor que puedan ser utilizadas de manera práctica por los responsables del cuidado de reptiles.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda sistematizada de literatura concerniente al dolor en reptiles, mediante tres motores de búsqueda: PudMed, Scopus y ScienceDirect, los cuales se seleccionaron por contar con una amplia variedad de revistas de alta calidad dentro de la rama de la medicina veterinaria y la biología. La revisión se desarrolló de octubre a diciembre del 2022. Los comandos de búsqueda utilizados se describen en la Tabla 1.

### Criterios de elegibilidad

Los artículos fueron elegidos con base a los criterios de inclusión y exclusión descritos en la Tabla 2. Se aceptaron artículos de investigación, revisión y reportes de caso. Los artículos se seleccionaron mediante 3 etapas. La primera fue la identificación, en la que mediante la lectura del título y los resúmenes se determino si estos cumplían con los criterios de inclusión. En la segunda etapa, se eliminaron los artículos que

se encontraban duplicados o no eran accesibles y en la tercera etapa se realizó una lectura del texto completo y los artículos que cumplían con los criterios de exclusión fueron eliminados.

**Selección y extracción de datos**

Se realizaron dos bitácoras de búsqueda en la hoja de cálculo Microsoft Excel, en la primera se describió las búsquedas en general y la segunda, se describió cada estudio de manera individual. Para una búsqueda más precisa, además de la lectura del texto, se utilizó el buscador de palabras mediante el cual se buscaban palabras clave como “pain”, “behaviour”, “analgesia”, para asegurar que se revisaron las partes claves del texto. Los datos fueron agrupados por tipo de información aportada en las bitácoras. Los datos de cada texto seleccionado fueron importados al gestor de referencias “Mendeley”, para su correcto manejo.

**RESULTADOS**

La Figura 2 muestra el diagrama de flujo que describe el proceso de selección de artículos relacionados con la evaluación y reconocimiento del dolor en reptiles, obteniéndose inicialmente un total de 751 artículos. Posterior a la lectura de títulos fueron descartados 600 artículos por no tener relación con el objeto

de estudio. De los restantes, 44 estaban duplicados y seis no disponible, por lo que sólo 101 artículos fueron revisados mediante la lectura del resumen y la búsqueda de palabras clave, para finalmente seleccionar 43 artículos que cumplían con los criterios de elegibilidad, los cuales se subdividieron en tres grupos para su análisis.

El primer grupo consideró los estudios con registros donde se evalúan respuestas nociceptivas específicas en modelos de antinocicepción (n = 28), el segundo incluyó investigaciones y reportes de caso donde se mencionan comportamientos asociados al dolor (n = 8) y el tercero fueron revisiones bibliográficas (n = 7). El resto de los artículos evaluados (n = 58) no fueron aceptados por los criterios de elegibilidad y de estos, en dos registros, se realizó el manejo del dolor, pero no se evaluó.

Del primer grupo de artículos elegibles “respuestas nociceptivas específicas” se identificaron tres tipos de estímulos utilizados en modelos de antinocicepción (Tabla 3), estímulos térmicos (n = 10; 35.7%), mecánicos (n = 13; 46.4%) y químicos (n = 5; 17.8%). Los estímulos térmicos utilizados en los estudios fueron plato caliente (n = 8) y calefactor atado a una extremidad (n = 2), realizándose evaluaciones en tres órdenes de reptiles:

**Table 1.** Searches and keywords used for the bibliographic review on pain recognition and assessing in reptiles. The platforms where the searches were done, as well as the dates, are indicated. In addition, the number of studies found in each platform is indicated.

**Tabla 1.** Búsquedas y palabras clave utilizadas en la revisión bibliográfica sobre evaluación y medición del dolor en reptiles. Se indican las plataformas donde se realizaron las búsquedas, las fechas de las mismas. Además, se indica el número de estudios encontrados en cada plataforma.

Búsqueda	No. de resultados	Palabras clave utilizadas
1. Scopus, 9-nov-22	14	Palabras para inclusión (utilizando “AND” “OR” entre cada palabra y cada término se colocó entre comillas )
2. Scopus 12-nov-22	351	reptile - snake - crocodile - tortoise - lizzard - terrapin - turtle - sauria - iguana - chameleon - gecko - bearded - dragon -alligator - gavial - testudinidae-pain - pain - behavior - pain - behaviour - pain expression -stress behavior-conservation -withdrawal- conditioned place preference - conditioned place avoidance- motivational behavior -self-isolation -decreased exploration - self-mutilation- ocular expression - body positioning - body posture - weight-shifting - Self isolation - anorexy - immobility - aggression- unusual posture - eyelids closed - unusual gait -gaping of mouth - hiding in shell -algesia - pain scale - pain test - measure - analgesia -measurement- ethogram- reflex model - numeric rating scale- pain index- pain indices-visual analogue scale - VAS - behavior scale- behavior rating scale - behaviour rating scale- behaviour scales- behaviour scale
3. PubMed 23-nov-22	190	Palabras para exclusión (AND NOT) (envenomations - bite - venom)
4. PubMed 1-dic-22	169	Palabras para inclusión (utilizando “AND” “OR” entre cada palabra) reptile - pain - soreness - pain associated - pain behaviour - analgesia
5. Scienedirect 1-dic-22	27	Palabras para exclusión (AND NOT) venom - envenomation

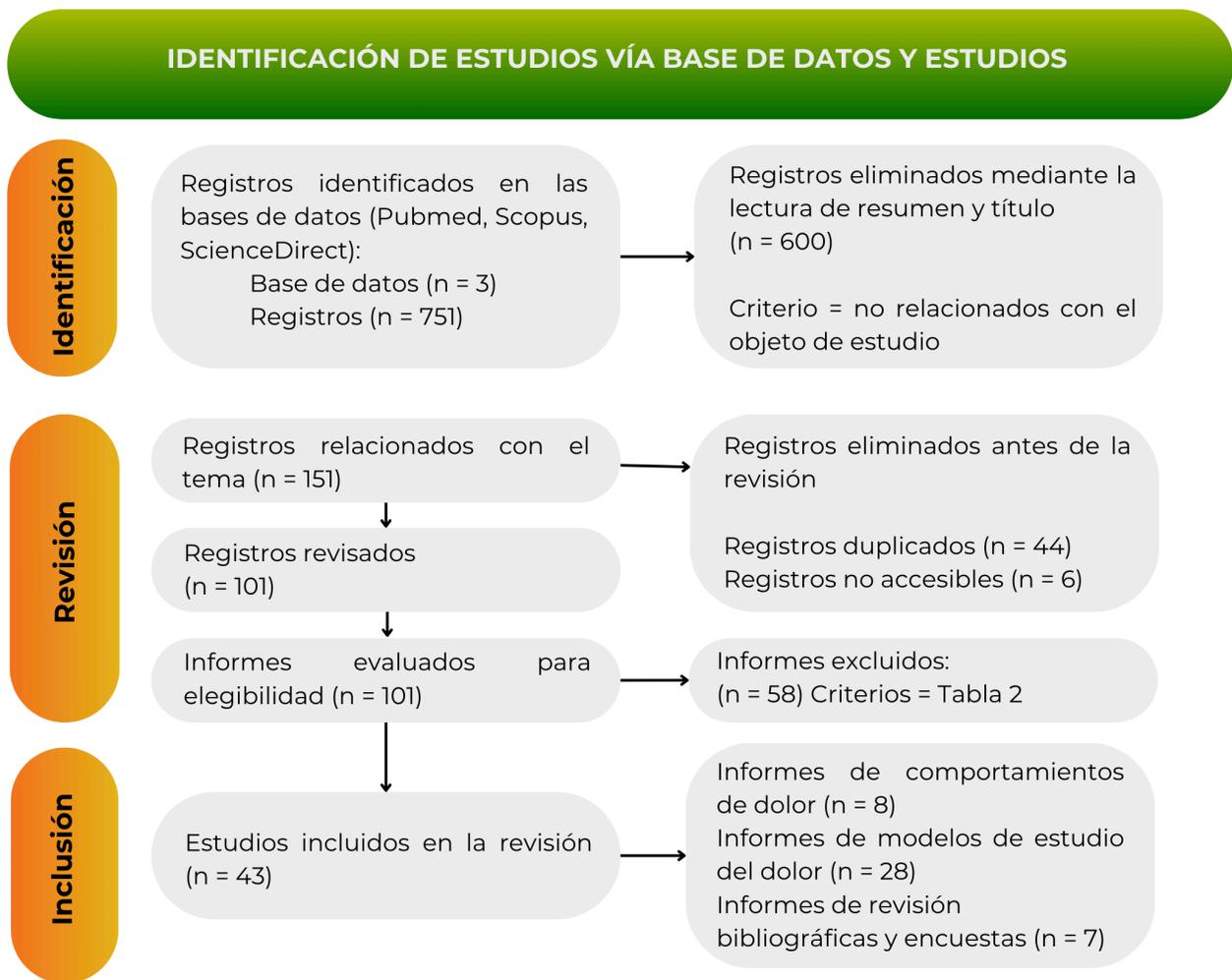


Testudines, Crocodylia y Squamata. Los comportamientos reportados como asociados al dolor fueron principalmente los movimientos de las extremidades (retraer la pata o cola y agitar/sacudir de las patas), retiro del sitio caliente, despertar y saltar. Los estímulos mecánicos utilizados fueron pellizcos ( $n = 11$ ) y pinchazos ( $n = 4$ ) donde algunos estudios ( $n = 2$ ) realizaron tanto pellizco como pinchazo por lo cual se consideraron 2 veces esta cuenta. Esta metodología fue usada en tres órdenes de reptiles (Testudines, Crocodylia y Squamata), y los comportamientos reportados en respuesta al estímulo doloroso fueron agitar o retraer la pata o cola, patear y saltar. Por último, como estímulo químico se aplicaron inyecciones subcutáneas de capsaicina

**Table 2.** Selection criteria for eligible articles for systematic review.

**Tabla 2.** Criterios de selección de artículos aplicables para la revisión sistemática.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Literatura que: Describa signos de dolor en reptiles Describa comportamientos normales y anormales en reptiles que orienten a identificar el dolor	Literatura que: Describa a especies diferentes de reptiles No haga mención sobre el dolor



**Figure 2.** Systematic flowchart of the present systematic review.

**Figura 2.** Diagrama de flujo de la presente revisión sistemática.



**Table 3.** Specific nociceptive responses in study models of pain for different reptile species.

**Tabla 3.** Respuestas nociceptivas específicas en modelos de estudio del dolor determinadas en distintas especies de reptiles.

Especies	Estímulo doloroso	Signo de dolor/Comportamiento observado	Referencias
<i>Pogona vitticeps</i> , <i>Elaphe guttata</i> , <i>Trachemys scripta</i> , <i>Crocodylus niloticus</i> , <i>Iguana iguana</i> , <i>Salvator</i> <i>merianae</i> .	Térmico (plato caliente o calefactor adherible) n = 10	Retracción de pata o cola, intentos de fuga, agitar/sacudir las extremidades o la cola en especies acuáticas?, patadas, despertar, retiro del sitio caliente, saltar.	1-10
<i>Podocnemis expansa</i> , <i>Eublepharis macularius</i> , <i>Pantherophis guttatus</i> , <i>Trachemys scripta</i> , <i>Pogona</i> <i>vitticeps</i> , <i>Alligator mississippiensis</i>	Estímulo mecánico (Pellizco o pinchazo) n = 13	Retracción de la pata o cola, patear, sacudir la cola o saltar	11-23
<i>Kinixys spekii</i> , <i>Pelomedusa subrufa</i>	Químico irritante (Inyección de formalina o capsaicina) n = 5	Retracción de la pata, intento de escape, micción, defecación, salivación	24-28

**Referencias:** 1- Baker et al. (2011), 2- Bisetto et al. (2018), 3- Couture et al. (2017), 4- Fleming & Robertson (2012), 5- Giorgi et al. (2015), 6- Kanui & Hole (1992), 7- Makau et al. (2021), 8- Mans et al. (2012), 9- Sladky et al. (2007), 10- Sladky & Mans (2012), 11- Doss et al. (2017), 12- Ferreira et al. (2012), 13- Ferreira & Mans (2019), 14- Fink et al. (2018) 15- Fink et al. (2022), 16- Hansen et al. (2013), 17- Heaton-Jones et al. (2002), 18- Kischinsky et al. (2013), 19- Knotek (2014), 20- Quaggiato (2008), 21- Rockwell (2021), 22- Scarpa et al. (2009) 23- Ziolo & bertelsen (2009), 24- Makau et al. (2014), 25- Makau et al. (2017) 26- Makau et al. (2021), 27- Ting et al. (2022), 28- Wambugu et al. (2010).

(n = 1) y de formalina (n = 4), los que sólo fueron evaluados en Testudines y los comportamientos de dolor fueron retracción de la pata, intento de escape, micción, defecación, y salivación.

El segundo grupo de estudios analizados corresponde a los que reportan cambios físicos o comportamentales reportados en estudios clínicos (Tabla 4). Los artículos elegibles (n = 8) por orden taxonómico, se describen a continuación.

### Crocodylia

Stegmann et al. (2017) colocaron quirúrgicamente en *Crocodylus niloticus* (cocodrilos del Nilo) sensores fisiológicos y de telemetría, y de manera preventiva administraron meglumina de flunixin para el dolor. Los autores mencionan que la detección de expresión de dolor fue mediante la comparación del comportamiento del periodo de adaptación con el registro postquirúrgico, así también, indican que no existieron diferencias significativas entre ambos periodos, aun cuando, no se mencionan los comportamientos específicos evaluados.

### Squamata

Folland et al. (2011) realizaron el reporte del caso de una *Iguana iguana* (iguana verde) con linfoma la cual fue sometida a quimioterapia y radioterapia, y se usó meloxicam a una dosis de 0.2 mg/kg cuando el ejemplar mostraba signos de dolor. No describen cuáles eran estos signos de dolor, pero hacen referencia

a que la iguana presentaba un comportamiento “normal” y esto era traducido como ausencia de malestar. Por otra parte, James et al. (2017) evaluaron directamente el comportamiento alimentario como indicador de dolor, al comparar el tiempo que tardaron 18 *Python regius* (piton bola) en sujetar con la boca a la presa muerta, estando los individuos sometidos a diferentes tratamientos.

El primer grupo solo fue sometido a un procedimiento anestésico, al segundo grupo recibió la aplicación de un estímulo doloroso continuo (inyección de capsaicina) y el tercero fue sometido a un procedimiento quirúrgico (incisión quirúrgica). Se evaluó si los ejemplares comían de manera normal o tenían retraso o ausencia del comportamiento de alimentación, encontrándose que los individuos que solo se anestesiaron comieron sin ningún retraso dentro de las primeras 24 h del procedimiento. En contraste, los sometidos al procedimiento quirúrgico tardaron dos semanas en comer y a los que se les administró capsaicina tardaron una semana en comer, aun cuando mostraron signos de dolor producto de la inyección, los cuales duraron de 8-12 minutos. Estos signos incluyeron convulsiones caudocraneales, incremento de la actividad y el evitar apoyar en el suelo la zona con dolor.

Otro aporte importante fue realizado por Olesen et al. (2008), quienes también buscaron identificar cambios en el



**Table 4.** Physical or behavioral changes reported in different reptile species.**Tabla 4.** Cambios físicos o comportamentales en distintas especies de reptiles.

Especies	Estímulo doloroso	Manifestación de dolor reportada	Tipo de artículo (Referencias)
<i>Caretta caretta</i>	Osteomielitis, luxación coxofemoral y fractura de acromión derecho	Letárgico, debilitado, sin apetito, movimientos reducidos de aletas y mostró "signos de dolor a la manipulación"	Reporte de caso (Pace et al., 2018)
<i>Trachemys scripta</i>	Gonadectomía	Etoograma Comportamiento anormal e hiporexia	Investigación (Bardi et al., 2021)
<i>Iguana iguana</i>	Linfoma, quimioterapia y radioterapia	"Signos de dolor" El propietario reporta comportamiento normal	Reporte de caso (Folland et al., 2011)
<i>Python regius</i>	1-Incisión quirúrgica 2-Inyección de capsaicina	1-Retraso en la ingesta del alimento (2 semanas) 2- Convulsiones caudocraneales, incremento de la actividad, elevación de la zona afectada. Retraso en la ingesta del alimento (1 semana)	Investigación (James et al., 2017)
<i>Python regius</i>	Canulación quirúrgica de la arteria vertebral	Grado de actividad y tendencia a proteger la herida (movimiento) en contra de mantener su postura normal (enrolladas)	Investigación (Olesen et al., 2008)
<i>Terrapene carolina</i>	Herida traumática	Apetito y nivel de actividad disminuidos	Investigación (Cerreta et al., 2019)
<i>Python regius</i>	Biopsia de piel y músculo	"Signos de discomfort"	Investigación (Sadler et al., 2016)
<i>Crocodylus niloticus</i>	Procedimiento quirúrgico (implantación de sensores fisiológicos y aparatos de telemetría)	El comportamiento debe ser diferente al del periodo adaptativo	Investigación (Stegmann et al., 2017)

comportamiento de serpientes *Python regius* (pitón bola), las cuales se sometían a canulación de la arteria vertebral. Ellos determinaron que las serpientes no presentaban cambios comportamentales en el grado de actividad o la posición mientras no existiera interacción con ellas por parte del cuidador, y se mantenían enrolladas bajo el plato de agua. Sin embargo, con la interacción al intentar tocar la zona de la lesión, éstas cambiaban de posición para proteger la lesión o huían.

Sadler et al. (2016) realizaron un estudio en la misma especie, *P. regius*, sobre la fisiopatología de la inflamación de la piel y músculos, y mencionan que el dolor producido debido a la realización de biopsias, puede generar signos de malestar. Sin embargo, no especifican que signos de malestar son los evaluados.

## Testudines

Pace et al. (2018) realizaron un reporte de caso en *Caretta caretta* (tortuga boba) con osteomielitis, luxación coxofemoral y fractura del acromion. Los autores describen el estado del ejemplar como letárgico y debilitado y mencionan que éste presenta movilidad reducida de las aletas y "signos de dolor a la manipulación". Sin embargo, no asocian explícitamente la falta de movilidad al dolor y no especifican que signos de dolor presenta el ejemplar sometido a la manipulación. Cerreta et al. (2019) con apoyo del "Equipo de Rescate de Tortugas" de la Universidad de Carolina del Norte, pudieron registrar cómo tortugas terrestres que habían sufrido eventos traumáticos respondían a la utilización del ketorolaco como analgésico, observando una mejora en el apetito y nivel de actividad. Sin embargo, estas observaciones fueron secundarias

**Table 5.** Behaviors associated with pain in reptiles reported in reviews and surveys by specialists.

**Tabla 5.** Comportamientos asociados al dolor reportados para reptiles en revisiones bibliográficas y encuestas a expertos.

Referencia	Comportamientos asociados al dolor	Tipo de estudio
Almeida et al., 2022	Serpientes: Cambios en la postura normal, movimiento o actividad, temperamento, comportamiento de alimentación alterado	Revisión
Serinelli et al., 2022	No se realiza una evaluación general. Sin embargo, se pueden considerar factores individuales de la especie y en condiciones de cautiverio: Comportamiento, ambiente, locomoción, respuesta exagerada de pelea, apetito, alteraciones del color, ojos, modelo respiratorio, fisiología, respuesta a la palpación.	Revisión
Perry & Nevarez, 2018	Comportamientos normales disminuidos o ausentes, postura encorvada, disminución de la ingesta de alimentos, cojera, disminución de la actividad, comportamientos interactivos disminuidos o ausentes, decoloración u oscurecimiento de la piel (camaleones y dragones barbudos), frotamiento del área afectada, porte de la cabeza (extendido o alejado del cuerpo), ojos apagados/cerrados, disminución de la tendencia a enroscarse (serpientes), aerofagia, agresividad en animales pasivos, comportamiento pasivo en animales agresivos	Revisión
Machin, 2001	Retirada de extremidades, respuesta de escape o evitación, intentos de morder	Revisión
Ting et al., 2022	Pérdida del apetito, disminución de la actividad, comportamiento distinto al habitual, flotación inmóvil	Revisión
Ayers, 2016	Agresión aumentada, caquexia, postura inusual, marcha inusual, ojos cerrados, esconderse y letargia.	Encuesta
La'Toya, 2023	Disminución de la interacción con el entorno/cambios mentales, disminución del apetito, disminución de la capacidad para moverse alrededor del recinto, incapacidad para soportar peso en las extremidades afectadas, mayor retraimiento, disminución del rango de movimiento en las extremidades lesionadas, comportamientos anormales para tomar el sol, evitación social o agresión y cambios en el color de la piel en ciertas especies de lagartos	Encuesta

y no correctamente cuantificadas, pues el objetivo del estudio era evaluar la farmacocinética del ketorolaco.

Por último, Bardi et al. (2021) buscaron identificar biomarcadores en el plasma que puedan ser asociados al dolor en procedimientos quirúrgicos (gonadectomía) en *Trachemys scripta elegans* (tortugas orejas rojas). Ellos mencionan que la realización de etogramas puede ser útil para evaluar el dolor, teniendo previamente un etograma de referencia (i.e., previo al estímulo doloroso). Además, identifican la presencia de “comportamiento normal” en el etograma de referencia y un apetito normal, lo que se asocia con dolor leve o ausencia de dolor. El último grupo de artículos analizados, revisiones y encuestas (Tabla 5) se conformó de siete registros, de los cuales cinco fueron revisiones bibliográficas y dos fueron encuestas a expertos sobre el dolor en reptiles. En estos registros se mencionan comportamientos recolectados por otras revisiones, así como consensos mediante

encuestas a expertos donde se determina que comportamientos son sugerentes de dolor en reptiles.

## DISCUSIÓN

Esta revisión permitió determinar las metodologías utilizadas en los últimos 25 años para evaluar el dolor en reptiles, así como la información que fundamenta los comportamientos que hoy en día se describen como señales de dolor, identificando además el tipo de fuente bibliográfica, para de esta manera, poder considerar el grado de evidencia científica antes de tomar decisiones en el manejo o tratamiento de reptiles. De los 751 artículos obtenidos en los motores de búsqueda solo 101 fueron seleccionados por tener relación directa con el tema, aun cuando, posteriormente el 55% de estos fueron excluidos por no cumplir con los criterios de elegibilidad por lo que finalmente solo el 5.7% ( $n = 43$ ) de los artículos recopilados por los motores búsqueda



fueron utilizados en la revisión. A continuación se discuten los resultados para los 3 grupos de artículos identificados.

### Respuesta nociceptiva específica

La respuesta ante un estímulo nocivo, ya sea térmico (placa caliente), mecánico (compresión) o químico (inyección subcutánea de químicos irritantes), son los métodos para el estudio del dolor en reptiles más reportados en la bibliografía revisada. Si bien estas metodologías ya descritas cuentan con una alta validación en mamíferos (Tappe-Theodor et al., 2019), existen factores fisiológicos de los reptiles que no han sido tomados en cuenta de manera particular en ninguno de los artículos analizados en esta revisión, los cuales pueden generar sesgos a la hora de utilizarlos. Por ejemplo, si el metabolismo ectotérmico tiene una influencia en el umbral térmico, es decir, si dependiendo de la temperatura que tenga el reptil al momento del estímulo térmico este tendrá un umbral del dolor distinto (Reid, 2018), por lo que sería importante validar el efecto de estos aspectos mediante estudios específicos.

Otro factor relevante a considerar es la epidermis, la cual por su alta queratinización y grosor provoca que exista menor sensibilidad en comparación con aves y mamíferos (Sian et al., 2019). Además, los diferentes tipos de escamas (escudos del caparazón, escamas ventrales en saurios) y las fases de la ecdisis, podrían también alterar la percepción del dolor (Perry & Nevarez, 2018; Serinelli et al., 2022). Las metodologías de estudio del dolor basadas en la respuesta de un miembro ante el estímulo nocivo, conocidos como “modelos de dolor evocado” evalúan principalmente dolor agudo, reportando cambios como la retirada o movimientos del miembro sometido al estímulo (Quagiatto et al., 2008; Kischinovsky et al., 2013; Knotek, 2014).

Aunque su aplicación en la investigación es muy útil (como en la evaluación analgésica de fármacos), estos estímulos dolorosos de tipo somático-agudo son muy particulares y poco representativos de los estímulos dolorosos que comúnmente son necesarios identificar y tratar en los herpetarios o en clínica diaria (e.g., procesos infecciosos/inflamatorios respiratorios o digestivos, abscesos, fracturas, politraumatismo), donde a diario existe un gran reto de identificar la presencia de dolor visceral, neuropático o crónico (Tappe-Theodor et al., 2019; Bhadesiya et al., 2020). La inyección de componentes irritantes como la capsaicina o formalina son más útiles para evaluar comportamientos de dolor persistente o crónico, pues el estímulo doloroso, a diferencia de los modelos anteriores, es continuo y pueden llegar a observarse alteraciones a lo largo del tiempo sin generar daño importante, como demostraron James et al. (2017). Estos autores encontraron una disminución en el

comportamiento alimentario en serpientes incluso una semana después de la administración de capsaicina.

Considerando las diferencias encontradas entre los comportamientos reportados por los estudios donde se somete a un estímulos térmico o mecánico, y donde se somete a un estímulos químico (Tabla 3), consideramos que es fundamental desarrollar modelos experimentales para el estudio del dolor en reptiles ante una mayor variedad de estímulos doloroso o adaptarlos tomando en consideración las diferencias biológicas y fisiológicas de las especies. Por ejemplo, en roedores se han desarrollado modelos con base en comportamientos naturales como “la creación de madriguera y nido”, lo cual cambia en respuesta al dolor quirúrgico, neuropático e inflamatorio (Tappe-Theodor et al., 2019). Considerando algunos comportamientos innatos de las serpientes del género *Crotalus* (de cascabel), podrían desarrollarse modelos relacionados con el movimiento de la cola como acto defensivo, donde la ausencia de estos movimientos ante un estímulo doloroso podría servir como indicativo de la presencia de dolor.

En mamíferos, las escalas de expresión facial para evaluación del dolor han tenido grandes mejoras mediante la utilización de programas computacionales para las mediciones de los cambios del rostro (Evangelista et al., 2019). Si bien los reptiles carecen de expresiones faciales (Burghardt, 2017), no se ha identificado si existen cambios en la postura corporal en relación con situaciones de dolor. Mediante el uso de video o fotografía se podrían identificar cambios posturales poco perceptibles a simple vista, por lo tanto, de la misma manera que se realizaron estas mediciones con las escalas faciales del dolor en mamíferos podrían realizarse mediciones corporales en reptiles. Un ejemplo del uso de estas herramientas para estudiar la postura de los reptiles lo hicieron Reilly & Elias (1998) quienes realizaron un análisis kinemático de la locomoción del *Alligator mississippiensis* (Caimán del Misisipi) mediante videograbaciones y fotografías de estos ejemplares. También han sido utilizados los cambios en comportamientos operantes como modelos de estudio del dolor en roedores de laboratorio (Tappe-Theodor et al., 2019). Por ejemplo, *Rattus norvegicus* (rata noruega) entrenadas para tocar un botón y recibir comida, luego de un estímulo doloroso, modificaron este comportamiento y dejaron de presionar el botón.

De igual manera, hay varanos (*Varanus*) y serpientes que se condicionan en zoológicos y herpetarios para entrar voluntariamente en jaulas o para adoptar posiciones que sean útiles para revisiones médicas (Fleming & Skurski, 2013). Estos comportamientos podrían ser utilizados para identificar el



**Figure 3.** Conclusions on reported physical changes indicating pain in different taxonomic groups of reptiles.

**Figura 3.** Conclusiones sobre cambios físicos reportados como indicativos dolor en diferentes grupos taxonómicos de reptiles.

dolor, realizando experimentos con reptiles entrenados para presentar estos comportamientos y al someterlos a algún estímulo doloroso se podría evaluar la disminución o pérdida de estos en respuesta el dolor. Para esto, aprovechar la necesidad de procedimientos electivos (como castraciones) o procedimientos médicos terapéuticos (e.g., manejo de heridas, gastrostomías, cistolitotomías), que podrían aprovecharse para disminuir el impacto en el bienestar animal y justificar ante un comité de bioética estudios del dolor.

### Cambios físicos o comportamentales reportados en la clínica

Algunos animales presentan comportamientos documentados ampliamente mediante casos clínicos o experimentos de laboratorio que indican que el animal está cursando por un proceso doloroso. Por ejemplo, en mamíferos se ha observado cambio, por ejemplo, en la posición de las vibrisas, ojos entrecerrados, aplanamiento de las mejillas (Platt et al., 2001; Keating et al., 2012; Evangelista et al., 2019), y en aves se ha descrito sobre acicalamiento, plumaje erecto, temblores, posicionamiento en la zonas bajas del recinto en lugar de las perchas, entre otras como comportamientos asociados el dolor (Mikoni et al., 2022).

En los artículos revisados respecto a las alteraciones comportamentales, se observó que solo uno de los ocho artículos seleccionados fue una investigación con el objetivo de asociar comportamientos a un proceso doloroso, seis artículos fueron investigaciones con otras orientaciones (i.e., farmacocinética, anestesia, procedimientos quirúrgicos) donde mencionan que se evaluó el dolor, pero los comportamientos descritos son inespecíficos o no mencionan el fundamento para la evaluación de estos. Por último, un artículo buscó identificar biomarcadores del dolor y relacionar estos con comportamientos anormales (Tabla 4).

Estos resultados pueden ser el reflejo de una falta investigación en el tema, sumado a la complejidad que representa evaluar organismos con importantes diferencias biológicas, fisiológicas y manifestaciones diferentes a las que tradicionalmente han sido analizadas en otras taxa. Por tal razón, la realización de ensayos clínicos de analgesia y reportes de casos es necesaria, ya que puede ser también una herramienta útil para desarrollar información respecto al dolor. Además, el generar formatos para el registro de comportamientos y posturas, así como la utilización de las herramientas audiovisuales ya mencionadas,



puede ayudar a determinar cambios asociados al dolor. En general, los artículos evaluados en esta revisión describen como cambios asociados a la dolor: debilidad, letargia, hiporexia, inmovilidad, convulsiones caudocraneales, alteración de la postura (e.g., serpientes que no se mantienen enrolladas, camaleones no mantienen cola enrollada) y protección de la zona con el estímulo doloroso, descritos ampliamente en la Tabla 4. Sin embargo, se sabe que estos cambios de comportamiento no están específicamente relacionados con el dolor y pueden darse por una amplia gama de condiciones según la especie, como pueden ser las condiciones ambientales, enfermedades concurrentes, estado fisiopatológico y terapias administradas (e.g., temperatura ambiental debajo de su zona de temperatura óptima preferida, hipocalcemia, septicemia, distocia; Eskew & Todd, 2017; Schilliger et al., 2021). Por esta razón y a diferencia de la práctica en mamíferos, los etogramas no son del todo confiables y rara vez se utilizan para evaluar el estado de los reptiles en la práctica clínica (Bardi et al., 2021).

Para dar mayor confiabilidad a los etogramas, se sugiere mantener condiciones medio ambientales estables y particulares para cada especie, considerando en particular la temperatura, humedad, radiación UV, hábitos de alimentación y disminución de factores estresantes externos como el ruido o la presencia de posibles depredadores; esto en conjunto con el apoyo de tecnologías actuales para el estudio del dolor. Una de ellas, con alto potencial, son los biomarcadores, moléculas que aparecen en patologías específicas, los cuales se han ido desarrollando desde hace décadas, como las enzimas marcadoras de daño de diferentes órganos (Cobrin et al., 2013; Myers et al., 2017). En los últimos años, se han tratado de identificar moléculas biomarcadoras de dolor en mamíferos (Marchi et al., 2009). Bardi et al. (2021), con el objetivo de tener una manera de identificar padecimientos dolorosos en reptiles aislaron microARN de un biomarcador asociado al dolor, del suero de tortugas sometidas a un procedimiento quirúrgico. El comparar estos biomarcadores con etogramas en estudios sobre la evaluación del dolor podría ayudar a identificar de manera certera que comportamientos son en realidad indicativos de dolor.

### Revisiones y encuestas

Dentro de las cinco revisiones se encontró información sobre el dolor y la nocicepción, así como comportamientos asociados y propuestas de evaluación del dolor considerando diferentes variables como son el comportamiento individual y social, la postura y la marcha, el grado de actividad, y el apetito, entre otros (Tabla 5). Las dos fuentes donde se realizaban encuestas a expertos en el área de la herpetología (Ayers, 2016; LaToya, 2023), arrojaron resultados similares, señalando comportamientos

como la disminución de respuestas ante estímulos del entorno (e.g., visuales, olfativos, táctiles), disminución del apetito, disminución de la capacidad para moverse alrededor del recinto, incapacidad para soportar peso en las extremidades afectadas, por mencionar algunos. Aunque ambas fuentes generan aportes similares, las revisiones proporcionan una mayor cantidad de información respecto a cada comportamiento seleccionado como relacionado con el dolor.

En el manejo de fauna silvestre, es común utilizar información obtenida con base en la experiencia de profesionales o personal experto en el área para la toma de decisiones clínicas (e.g., cuando se asume que un estímulo no produce dolor por qué un experto lo dice, pero no existe evidencia científica para comprobar esto). Sin embargo, podría representar un riesgo el establecer los comportamientos que representan el dolor en reptiles a partir de encuestas a profesionistas o expertos y no a partir de estudios clínicos estructurados, aun cuando, sean del área de la herpetología, considerando que pueden establecer diagnóstico de “comportamiento asociado al dolor” por una mala interpretación inconsciente, basada en lo que se observa en un mamífero por ser especies a las que se está expuesto mayormente. Es decir, al visualizar sus comportamientos y expresiones físicas se podría estar incurriendo en un sesgo de observación y de interpretación, al estar habituados a las expresiones de dolor de los mamíferos principalmente de compañía y los humano al visualizar un reptil podrían pasar desapercibidos cambios o ser mal interpretados, y generar datos erróneos en las encuestas (Monterola & Otzen, 2015; Azevedo et al., 2022), lo que podría sesgar de manera importante los resultados de una encuesta de percepción independientemente del grado de experticia del encuestado.

De manera práctica, la persona que evalúe el dolor en un reptil, independientemente de la experiencia que tenga, por sus experiencias personales con animales no reptiles y su desarrollo social puede tener un sesgo en la manera en que interpreta el comportamiento de los reptiles. Es un deber del veterinario evitar el sufrimiento de sus pacientes y si bien actualmente la mayor parte del gremio reconoce la existencia del dolor en los reptiles, la falta de conocimientos científicos al respecto genera incertidumbre a la hora de evaluar y tratar el dolor (Gris et al., 2022). Por lo que, aunque con cautela, se puede utilizar información generada a partir de encuestas con el fin de generar estrategias para la identificación y manejo del dolor, sin embargo, siempre será más recomendable la utilización de revisiones científicas para tener mayor acierto y seguridad en las decisiones.

## CONCLUSIONES

Es necesario desarrollar ensayos clínicos y metodologías de estudio del dolor específicos para reptiles, y así poder entender y evaluar la presencia de los diferentes tipos de dolor, ya que actualmente existe poca información respecto a la expresión del dolor crónico, visceral pues la mayor parte de la información describe dolor somático y agudo. Además, la información que existe sobre la identificación del dolor se basa en mayor proporción en datos de bajo grado de evidencia científica (opiniones de expertos, encuestas), investigaciones no específicas sobre el estudio del dolor, extrapolación de datos de otros animales y en menor proporción, en investigaciones clínicas específicas del estudio del dolor en reptiles.

La alta variabilidad en el comportamiento de los reptiles, junto con la dificultad para entender sus expresiones de dolor, hace que la asociación del dolor a un comportamiento o señal visual específica, sea muy difícil. Además, en la literatura revisada se encontró poca cantidad y diversidad de investigaciones respecto a la identificación del dolor. El uso de nuevas tecnologías puede ser útil para la identificación del dolor y la correcta correlación entre comportamiento – nocicepción.

El uso de video y fotografía, así como las bitácoras (etogramas) pueden ser herramientas útiles para identificar cambios en comportamiento y la postura (Fig. 3). Los biomarcadores pueden ser una herramienta útil para la confirmación del dolor de manera experimental, siguiendo una metodología de aplicar un estímulo posiblemente doloroso. Observar comportamientos en respuesta a estos estímulos, y confirmar mediante biomarcadores podría ayudar a establecer con mayor confiabilidad que comportamientos son realmente ocasionados por dolor y posteriormente generar referencias a partir de estos comportamientos confirmados.

Probablemente con la información descrita hoy en día, se puede considerar que la evaluación del dolor en reptiles con un solo método sería insuficiente. Existen pocos cambios comportamentales observables asociados al dolor reportados en artículos de investigación a partir de evidencia científica (Fig. 2). Puesto que la mayoría de las fuentes mencionan la comparación con los comportamientos normales, la utilización de etogramas individuales o por especie (en el caso de aquellas de cautiverio) durante un periodo sin dolor podría ser útil para profesionales que trabajen con herpetofauna para identificar periodos de malestar. Sin embargo, hacen falta estudios para poder asegurar una correlación dolor-comportamiento.

## LITERATURA CITADA

- Almeida, D., M. Kennedy & E. Wend-Hornickle. 2022. Snake sedation and anesthesia. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 25:97-112.
- Ayers, H. 2016. Pain recognition in reptiles and investigation of associated behavioural signs. *The Veterinary Nurse* 7:292-300.
- Azevedo, A., L. Guimarães, J. Ferraz, M. Whiting & M. Magalhães-Sant'Ana. 2022. Understanding the human–reptile bond: An exploratory mixed-methods study. *Anthrozoos* 35:755-772.
- Baker, B., K. Sladky & S. Johnson. 2011. Evaluation of the analgesic effects of oral and subcutaneous tramadol administration in red-eared slider turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 238:220-227.
- Bardi, E., S. Brizzola, G. Ravasio, S. Romussi, P. Dall'Ara, V. Zamarian, M. Arigoni, R.A. Calogero & C. Lecchi. 2021. Circulating miRNome of *Trachemys scripta* after elective gonadectomy under general anesthesia. *Scientific Reports* 11:14712.
- Bhadesiya C.M., G.R. Chaudhary, T.P. Patel, L.M. Sorathiya, V.A. Patel, P.J. Gajjar & M.J. Anikar. 2020. Prevalence of diseases and disorders of reptiles at Veterinary Hospital of Kamdhenu University, Gujarat, India. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 8:1477-1483.
- Bisetto, S.P., C.F. Melo & A.B. Carregaro. 2018. Evaluation of sedative and antinociceptive effects of dexmedetomidine, midazolam and dexmedetomidine–midazolam in tegus (*Salvator merianae*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 45:320-328.
- Burghardt, G.M. 2017. Keeping reptiles and amphibians as pets: Challenges and rewards. *Veterinary Record* 181:447-449.
- Cerreta, A.J., C.A. Masterson, G.A. Lewbart, D.R. Dise & M.G. Papich. 2019. Pharmacokinetics of ketorolac in wild Eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) after single intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 42:154-159.
- Cobrin A.R., S.L. Blois, S.A. Kruth, A.C.G. Abrams-Ogg & C. Dewey. 2013. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice* 54:647-655.
- Cooper, B.Y. & C.J. Vierck. 1986. Vocalizations as measures of pain in monkeys. *Pain* 26:393-407.



- Cordeiro, A., I. Nääs, M. Baracho, F.G. Jacob & D. de Moura. 2018. The use of vocalization signals to estimate the level of pain in piglets. *Engenharia Agrícola* 38:486-490.
- Couture, É.L., B.P. Monteiro, J. Aymen, E. Troncy & P.V. Steagall. 2017. Validation of a thermal threshold nociceptive model in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 44:676-683.
- Doss, G.A., D.M. Fink, K.K. Sladky & C. Mans. 2017. Comparison of subcutaneous dexmedetomidine–midazolam versus alfaxalone–midazolam sedation in leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 44:1175-1183.
- Evangelista, M.C., R. Watanabe, V.S.Y. Leung, B.P. Monteiro, E. O'Toole, D.S.J. Pang & P.V. Steagall. 2019. Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a feline grimace scale. *Scientific Reports* 9:19128.
- Eskew, E & B. Todd. 2017. Too cold, too wet, too bright, or just right? Environmental predictors of snake movement and activity. *Copeia* 105:584-591.
- Ferreira J.R., C. Scarpa, M. Batista, K. Werther & A.L. Quagliatto. 2012. Association of midazolam with ketamine in giant Amazon river turtles *Podocnemis expansa* breed in captivity. *Acta Cirúrgica Brasileira* 27:144-147.
- Ferreira, T.H. & C. Mans. 2019. Evaluation of neuraxial anesthesia in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 46:126-134.
- Fink, D., G. Doss, K. Sladky, & C. Mans. 2018. Effect of injection site on dexmedetomidine-ketamine induced sedation in leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 253:1146-1150.
- Fink, D.M., T.H. Ferreira & C. Mans. 2022. Neuraxial administration of morphine combined with lidocaine induces regional antinociception in inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *American Journal of Veterinary Research* 83:212-217.
- Fleming, G.J. & M.L. Skurski. 2013. Conditioning and behavioral training in reptiles. Pp. 128-132. En D. Mader & S. Divers (Eds.). *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery*. Elsevier Inc. Missouri, USA.
- Fleming, G. & S. Robertson. 2012. Assessments of thermal antinociceptive effects of butorphanol and human observer effect on quantitative evaluation of analgesia in green iguanas (*Iguana iguana*). *American Journal of Veterinary Research* 73:1507-1511.
- Folland, D., M. Johnston, D. Thamm & D. Reavill. 2011. Diagnosis and management of lymphoma in a green iguana (*Iguana iguana*). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 239:985-991.
- Giorgi, M., M. Salvadori, V. De Vito, H. Owen, M.P. Demontis & M.V. Varoni. 2015. Pharmacokinetic/pharmacodynamic assessments of 10 mg/kg tramadol intramuscular injection in yellow-bellied slider turtles (*Trachemys scripta scripta*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 38:488-496.
- Gris, V.N., M.A. Ferraro, A.F.K. T. Lima, S.R.G. Cortopassi & A.B. Carregaro. 2022. Attitudes of Brazilian veterinarians towards anesthesia and pain management in reptiles. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 32:208-218.
- Hansen, L.L. & M.F. Bertelsen. 2013. Assessment of the effects of intramuscular administration of alfaxalone with and without medetomidine in Horsfield's tortoises (*Agrionemys horsfieldii*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 40:e68-e75.
- Heaton-Jones, T.G., J. C-H Ko & D.L. Heaton-Jones. 2002. Evaluation of medetomidine-ketamine anesthesia with atipamezole reversal in American Alligators (*Alligator mississippiensis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 33:36-44.
- International Association for the Study of Pain (IASP). 2020. IASP Terminology Background. Versión 2024. <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/> [Consultado en marzo 2024].
- James, L.E., C.J.A. Williams, M.F. Bertelsen & T. Wang. 2017. Evaluation of feeding behavior as an indicator of pain in snakes. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 48:196-199.
- Kanui, T.I. & K. Hole. 1992. Morphine and pethidine antinociception in the crocodile. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 15:101-103.
- Keating, S.C. J., A.A. Thomas, P.A. Flecknell & M.C. Leach. 2012. Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: Changes in physiological, behavioural and facial expression responses. *Plos One* 7:e44437.
- Kischinovsky, M., A. Duse, T. Wang & M.F. Bertelsen. 2013. Intramuscular administration of alfaxalone in red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*) - effects of dose and body temperature. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 40:13-20.

- Knotek, Z. 2014. Alfaxalone as an induction agent for anaesthesia in terrapins and tortoises. *Veterinary Record* 175:327-239.
- Lambert, H., G. Carder & N. D'Cruze. 2019. Given the cold shoulder: A review of the scientific literature for evidence of reptile sentience. *Animals* 9:821.
- LaToya, L. 2023. Pain recognition in reptiles. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 26:27-41.
- Liem, K.F., W.E. Bemis, W.F. Walker & L. Grande. 2001. *Functional anatomy of the vertebrates*, 3rd Edition. Fort Worth. Harcourt College. California, USA.
- Machin, K.L. 2001. Fish, amphibian, and reptile analgesia. *The Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 4:19-33.
- Makau, C.M., P.K. Towett, K.S.P. Abelson & T.I. Kanui. 2014. Intrathecal administration of clonidine or yohimbine decreases the nociceptive behavior caused by formalin injection in the marsh terrapin (*Pelomedusa subrufa*). *Brain and Behavior* 4:850-857.
- Makau, C.M., P.K. Towett, K.S.P. Abelson & T.I. Kanui. 2017. Modulation of formalin-induced pain-related behaviour by clonidine and yohimbine in the Speke's hinged tortoise (*Kiniskys spekii*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 40:439-446.
- Makau, C.M., P.K. Towett, K.S.P. Abelson & T.I. Kanui. 2021. Modulation of nociception by amitriptyline hydrochloride in the Speke's hinge-back tortoise (*Kiniskys spekii*). *Veterinary Medicine and Science* 7:1034-1041.
- Mans, C., L.L. Lahner, B.B. Baker, S.M. Johnson & K.K. Sladky. 2012. Antinociceptive efficacy of buprenorphine and hydromorphone in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 43:662-665.
- Manterola, C. & T. Otzen. 2015. Los sesgos en investigación clínica. *International Journal of Morphology* 33:1156-1164.
- Marchi, A., R. Vellucci, S. Mameli, A.R. Piredda, & G. Finco. 2009. Pain biomarkers. *Clinical Drug Investigation* 29:41-46.
- Mikoni, N.A., D.S.M. Guzman, E. Fausak & J. Paul-Murphy. 2022. Recognition and assessment of pain-related behaviors in avian species: An Integrative Review. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 36:153-172.
- Miller, A. & M. Leach. 2023. Pain recognition in rabbits. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 26:187-199.
- Mosley, C. 2011. Pain and nociception in reptiles. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 14:45-60.
- Myers, M.J., E.R. Smith & P.G. Turfle. 2017. Biomarkers in veterinary medicine. *Annual Review of Animal Biosciences* 5:65-87.
- Olesen, M., M. Bertelsen, S. Perry & T. Wang. 2008. Effects of preoperative administration of butorphanol or meloxicam on physiologic responses to surgery in ball pythons. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 233:1883-1888.
- Oliver, V. & D. Pang. 2023. Pain recognition in rodents. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 26:121-149.
- O'Malley, B. 2005. *Clinical anatomy and physiology of exotic species*. Elsevier Saunders. Philadelphia, USA.
- Pace, A., L. Meomartino, A. Affuso, G. Mennonna, S. Hochscheid & L. Dipineto. 2018. Aeromonas induced polyostotic osteomyelitis in a juvenile loggerhead sea turtle *Caretta caretta*. *Diseases of Aquatic Organisms* 132:79-84.
- Perpiñán, D. 2018. Reptile anaesthesia and analgesia. *Companion Animal* 23: 236-243.
- Perry, S. M., & J. G. Nevarez. 2018. Pain and its control in reptiles. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 21:1-16.
- Platt, S.R., S.T. Radaelli & J.J. McDonnell. 2001. The prognostic value of the modified Glasgow Coma Scale in head trauma in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 15:581-584.
- Quagiatto, A., C. Scarpa, J. Ferreira, B. Machado, J. Pachally & R. Ávila. 2008. Pharmacological restraint of captivity giant Amazonian turtle *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemididae) with xylazine and propofol 1. *Acta Cirurgica Brasileira* 23:270-273.
- Reid, S. 2018. Identifying pain in reptiles. *Veterinary Practice Today* 6:58-62.
- Reida, J., A.M. Nolanb & E.M. Scott. 2018. Measuring pain in dogs and cats using structured behavioural observation. *The Veterinary Journal* 236:72-79.
- Reilly, S. & J. Elias. 1998. Locomotion in *Alligator mississippiensis*: kinematic effects of speed and posture and their relevance to



- the sprawling-to-erect paradigm. *The Journal of Experimental Biology* 201:2559-2574.
- Rockwell, K., K. Boykin, J. Padlo, C. Ford, S. Aschebrock & M. Mitchell. 2021. Evaluating the efficacy of alfaxalone in corn snakes (*Pantherophis guttatus*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 48:364-371.
- Russell, A.P., & A.M. Bauer. 2021. Vocalization by extant nonavian reptiles: A synthetic overview of phonation and the vocal apparatus. *Anatomical Record* 304:1478-1528.
- Sadler, R., J. Schumacher, K. Rathore, K. Newkirk, G. Cole, R. Seibert & M. Cekanova. 2016. Evaluation of the role of the cyclooxygenase signaling pathway during inflammation in skin and muscle tissues of ball pythons (*Python regius*). *American Journal of Veterinary Research* 77:487-494.
- Scarpa, A.C., A.L. Quagliatto, F.M. Machado, J.R. Ferreira & E. Carvalho. 2009. The use of rocuronium in giant Amazon turtle *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) (Testudines, Podocnemididae). *Acta Cirúrgica Brasileira* 24:311-315.
- Serinelli, I., S. Soloperto & O.R. Lai. 2022. Pain and pain management in sea turtle and herpetological medicine: state of the art. *Animals* 12, 697.
- Schilliger, L., C. Vergneau-Grosset & M. Desmarchelier. 2021. Clinical reptile behavior. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 24:175-195.
- Sian, R.C., P. Cigler & V. Kubale. 2019. Reptilian skin and its special histological structures. Intech Open Recuperado de <https://www.intechopen.com/chapters/65535> [Consultado en febrero 2024].
- Sladky, K., V. Miletic, J. Paul-Murphy, M.E. Kinney, R.K. Dallwig & S.M. Johnson. 2007. Analgesic efficacy and respiratory effects of butorphanol and morphine in turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230:1356-1362.
- Sladky, K., M. Kinney & S. Johnson. 2008. Analgesic efficacy of butorphanol and morphine in bearded dragons and corn snakes. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 233:267-273.
- Sladky, K & C. Mans. 2012. Clinical analgesia in reptiles. *Journal of Exotic Pet Medicine* 21:158-167.
- Stegmann, G.F., C.J.A. Williams, C. Franklin, T. Wang, & M. Axelsson. 2017. Long-term surgical anaesthesia with isoflurane in human habituated Nile Crocodiles. *Journal of the South African Veterinary Association* 88:a1451.
- Stoskopf, M.K. 1994. Pain and analgesia in birds, reptiles, amphibians and fish. *Investigative Ophthalmology and Visual science* 2:775-780.
- Tappe-Theodor, A., T. King & M.M. Morgan. 2019. Assessment of the pros and cons of clinically relevant methods to assess pain in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 100:335-343.
- Ting, A.K.Y., V.S.Y. Tay, H.T. Chng, & S. Xie. 2022. A critical review on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioid drugs used in reptiles. *Veterinary and Animal Science* 17, 100267.
- Turner, P., D. Pang & J. Lofgren. 2019. A review of pain assessment methods in laboratory rodents. *Comparative Medicine* 69:451-467.
- Uetz, P., P. Freed, R. Aguilar, F. Reyes, J. Kudera. & J. Hošek. (Eds.) 2023. *The Reptile Database*. <http://www.reptile-database.org>. [Consultado en Marzo 2024].
- Wambugu, S.N., P.K. Towett, S.G. Kiama, K.S.P. Abelson & T.I. Kanui. 2010. Effects of opioids in the formalin test in the Speke's hinged tortoise (*Kinixy spekii*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 33:347-351.
- Williams, C.J.A., L.E. James, M.F. Bertelsen & T. Wang. 2016. Tachycardia in response to remote capsaicin injection as a model for nociception in the ball python (*Python regius*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 43:429-434.
- Ziolo, M. & M. Bertelsen. 2009. Effects of propofol administered via the supravertebral sinus in red-eared sliders. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 234:390-393.
- Merritt, R.W., K.W. Cummins & M.B. Berg. 2008. *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. 4th Edition. Kendall Hunt Publishing Co., Dubuque, Iowa, USA.
- Moyle, P.B. 1973. Effects of introduced bullfrogs, "*Rana catesbeiana*", on the native frogs of the San Joaquin Valley, California. *Copeia* 1973:18-22.
- Ortiz-Serrato, L., G. Ruiz-Campos & J.H. Valdez-Villavicencio. 2014. Diet of the exotic American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, in a stream of Northwestern Baja California, Mexico. *Western North American Naturalist* 74:116-122.



- Pearl, C.A.; M.J. Adams; R.B. Bury & B. McCreary. 2004. Asymmetrical effects of introduced Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) on native ranid frogs in Oregon. *Copeia* 2004:11-20.
- Peterson, A.C., K.L.D. Richgels, P.T. Johnson & V.J. McKenzie. 2013. Investigating the dispersal routes used by an invasive amphibian, *Lithobates catesbeianus*, in human-dominated landscapes. *Biological Invasions* 15:2179-2191.
- Pielou, E.C. 1975. *Ecological Diversity*. John Wiley & Sons, New York, New York, USA.
- Pinkas, L., M.S. Oliphant & I.L.K. Iverson. 1971. Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in California waters. State of California, Department of Fish and Game, Fish Bulletin 152:11-105.
- Pisani, G.R. 1973. *A Guide to Preservation Techniques for Amphibians and Reptiles*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Miscellaneous Publications, Herpetological Circular No. 1:1-22.
- Quiroga, L.B., M.D. Moreno, A.A. Cataldo, J.H. Aragón-Traverso, M.V. Pantano, J.P. Segundo-Olivares & E.A. Sanabria. 2015. Diet composition of an invasive population of *Lithobates catesbeianus* (American Bullfrog) from Argentina. *Journal of Natural History* 49:1703-1716.
- Ruibal, M. & G. Laufer. 2012. Bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Ranidae) tadpole diet: description and analysis for three invasive populations in Uruguay. *Amphibia-Reptilia* 33:355-363.
- Schloegel, L.M., A.M. Picco, A.M. Kilpatrick, J. Davies, A.D. Hyatt & P. Daszak. 2009. Magnitude of the US trade in amphibians and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and ranavirus infection in imported North American bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Biological Conservation* 142:1420-1426.
- Schoener, T.W. 1970. Non-synchronous spatial overlap of lizards in patchy habitats. *Ecology* 51:408-418.
- Shaw, G. 1802. *General Zoology or Systematic Natural History*. Volume III, Part 1. Amphibia. Thomas Davison, London, UK.
- Smith, A.K. 1977. Attraction of bullfrogs (Amphibia, Anura, Ranidae) to distress calls of immature frogs. *Journal of Herpetology* 11:234-235.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1981. *Biometry, the Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 2nd Edition. W.H. Freeman and Company, San Francisco, California, USA.
- StatSoft. 2008. *Statistica for Windows (Data Analysis Software System)*, Version 8.0. 298 p. Computer Program Manual, Quick Reference. Statsoft. Inc., Tulsa, Oklahoma, USA.
- Toledo, L.F., R.S. Ribeiro & C.F.B. Haddad. 2007. Anurans as prey: An exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *Journal of Zoology* 271:170-177.
- Usinger, R.L. (Ed.). 1968. *Aquatic Insects of California: with Keys to North American Genera and California Species*. University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Wallace, R.K. Jr. 1981. An assessment of diet-overlap indexes. *Transactions of the American Fisheries Society* 110:72-76.
- Werner, E.E., G.A. Wellborn & M.A. McPeck. 1995. Diet composition in postmetamorphic bullfrogs and green frogs: implications for interspecific predation and competition. *Journal of Herpetology* 29:600-607.
- Wright, M.L., S.E. Richardson & J.M. Bigos. 2011. The fat body of bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) tadpoles during metamorphosis: Changes in mass, histology, and melatonin content and effect of food deprivation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 160:498-503.
- Wu, Z., Y. Li, Y. Wang & M.J. Adams. 2005. Diet in introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*): Predation on and diet overlap with native frogs on Daishan Island, China. *Journal of Herpetology* 39:668-674.
- Xuan L., Y. Luo, J. Chen., Y. Guo, C. Bai & L. Yiming. 2015. Diet and prey selection of the invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in Southwestern China. *Asian Herpetological Research* 6:34-44.
- Zaret, T.M. & A.S. Rand. 1971. Competition in tropical stream fishes: support for the competitive exclusion principle. *Ecology* 52:336-342.

