

UN NUEVO MÉTODO DE EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE CONTORSIONES INDUCIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO

Rejón-Orantes, José del Carmen^{1}; Álvarez-Perdomo, Sylvana², Crespo-Ramírez, Minerva³; Pérez de la Mora, Miguel³*

1 Centro de Investigación de Plantas Medicinales Chiapanecas, Laboratorio Experimental de Farmacobiología, Universidad Autónoma de Chiapas.

2 Vicerrectoría de Ciencias de la Salud, Universidad de Monterrey.

3 División de Neurociencias. Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México.

* Autor de correspondencia: rejonjose@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se analiza la evaluación ampliada de la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético con el empleo de ketorolaco, paracetamol, metamizol y morfina, analgésicos de actividad conocida, lo que permite una mayor sensibilidad de la prueba en la detección de actividad analgésica. A diferencia de la forma tradicional de evaluar esta prueba, basada en la única estimación del número de contorsiones, nuestra propuesta implica la valoración independiente de cada uno de sus componentes y su adecuada combinación en una escala numérica. Nuestros resultados muestran que las respuestas nociceptivas débiles se registran con una mayor sensibilidad y se muestran de una manera más distintiva cuando se analizan mediante la nueva evaluación ampliada. También es importante considerar que, al adoptar el procedimiento de evaluación sugerido, el sufrimiento de los roedores se reducirá significativamente. Además, nuestros resultados demuestran que solo es necesaria una duración de la prueba de 10 minutos y una concentración de ácido acético del 0,5% para observar los efectos nociceptivos.

Palabras clave: Prueba de contorsiones inducidas, Ácido acético, Ketorolaco, Paracetamol, Metamizol, Morfina.

A NEW METHOD OF EVALUATING THE ACETIC ACID-INDUCED WRITHING TEST

Rejón-Orantes, José del Carmen^{1}; Álvarez-Perdomo, Sylvana², Crespo-Ramírez, Minerva³; Pérez de la Mora, Miguel³*

1 Centro de Investigación de Plantas Medicinales Chiapanecas, Laboratorio Experimental de Farmacobiología, Universidad Autónoma de Chiapas.

2 Vicerrectoría de Ciencias de la Salud, Universidad de Monterrey.

3 División de Neurociencias. Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México.

* Corresponding author: rejonjose@hotmail.com

ABSTRACT

This paper analyzes the extended evaluation of the acetic acid-induced writhing test with the use of ketorolac, paracetamol, metamizole and morphine, analgesics with known activity, which allows a greater sensitivity of the test in the detection of analgesic activity. Unlike the traditional way of evaluating this test, based on the sole estimate of the number of contortions, our proposal involves the independent assessment of each of its components and their appropriate combination on a numerical scale. Our results show that weak nociceptive responses are recorded with higher sensitivity and show up in a more distinctive way when analyzed using the new extended assessment. It is also important to consider that by adopting the suggested evaluation procedure, the suffering of rodents will be significantly reduced. In addition, our results demonstrate that only a test duration of 10 minutes and a concentration of 0.5% acetic acid are necessary to observe nociceptive effects.

Keywords: Induced writhing test, Acetic acid, Ketorolac, Paracetamol, Metamizole, Morphine.

INTRODUCCIÓN

El dolor visceral actualmente representa uno de los desafíos más importantes del tratamiento del dolor en la práctica clínica, y los investigadores de todo el mundo diseñan y realizan continuamente numerosos estudios en busca de nuevos analgésicos¹. El dolor es esencial para la supervivencia y puede considerarse como un mecanismo de protección, provocado por estímulos potencialmente dañinos^{2,3}. La importancia del dolor radica en que protege al organismo, sin embargo, en algunas ocasiones el dolor se convierte en una fuente de sufrimiento inútil, por lo que se recurre al uso de analgésicos los cuales no están exentos de efectos adversos. La búsqueda de nuevos fármacos analgésicos sin efectos adversos es un esfuerzo constante de los investigadores. En la actualidad la determinación de posibles agentes analgésicos continúa dependiendo de pruebas disponibles en animales². Las pruebas utilizadas emplean estímulos nociceptivos que causan dolor y responden al uso de analgésicos de actividad conocida en humanos. El dolor provocado en la prueba a su vez produce una respuesta conductual en los animales, y esta respuesta es lo que indica la presencia y la magnitud del dolor. La prueba de contorsión inducida por ácido acético es un método químico utilizado para evaluar el dolor visceral⁴, tradicionalmente se realiza con la administración intraperitoneal de ácido acético al inicio de la prueba en concentraciones que varían en un rango de 0.6 a 1.5% en un volumen de 10 ml/kg⁵. La respuesta del animal en esta prueba se caracteriza por contracciones intermitentes del abdomen, torsión y giro del tronco y extensión de las patas traseras, comenzando de 3 a 10 minutos después de la inyección y persistiendo durante más de una hora, lo que se considera para indicador de una sensación dolorosa⁶. En general, la cuantificación del número de contorsiones durante los 10-30 minutos que dura la prueba se evalúa como respuesta al dolor, para cuantificar una contorsión el experimentador debe observar en el ratón la contracción de la pared abdominal, la rotación

pélvica, seguida de la extensión de las extremidades posteriores^{2,7-9}. En la evaluación tradicional de esta prueba todas estas respuestas motoras del ratón se les asigna un valor de uno, sin embargo, muchas veces el ratón no presenta esta respuesta en su totalidad, lo que crea confusión en el observador de la prueba y ha llevado a muchos investigadores a utilizar concentraciones de hasta 1.5% de ácido acético para garantizar la respuesta completa que constituye una contorsión. Previamente reportamos el uso de una evaluación ampliada de esta prueba que nos permite detectar actividad analgésica discreta, con el uso de bajas concentraciones de ácido acético (0.5%) y con duración de la prueba de 10 minutos¹⁰, en este trabajo comparamos cuatro analgésicos de uso clínico lo que nos permite dar mayor confiabilidad a esta nueva escala de evaluación. El paracetamol se usa ampliamente en el tratamiento farmacológico del dolor agudo y crónico en todo el mundo^{11,12}, el ketorolaco, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) con eficaz actividad analgésica, se ha utilizado clínicamente para tratar el dolor postoperatorio, inflamatorio y neuropático¹⁴, el metamizol, también conocido como dipirona, es un fármaco analgésico antiinflamatorio no esteroideo (AINE) con actividades antipiréticas, espasmolíticas ampliamente utilizado en la práctica clínica en América Latina y varios países europeos¹⁴ y la morfina un opioide considerado de los fármacos más eficaces para el tratamiento del dolor moderado a intenso¹.

MATERIAL Y MÉTODOS

ANIMALES

Para la prueba nociceptiva se utilizaron ratones machos Balb/C que pesaban entre 20 y 25 g. Los ratones se alojaron en un ambiente controlado (temperatura 23 ± 2 °C; luces encendidas de 07:00 a 19:00 h) con agua y comida (Purina, México) disponibles ad libitum. Los animales se manipularon de acuerdo con las pautas éticas descritas en la Guía para el cuidado y uso del laboratorio de los NIH¹⁵. Los animales fueron donados por el bioterio de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

FÁRMACOS

Los químicos y fármacos utilizados en este estudio fueron ácido acético (Merck, Darmstadt, Alemania), morfina (Tecnofarma, México), paracetamol (Aspen, México), ketorolaco (Siegfried Rhein, México), metamizol (Hoechst, México) y solución de cloruro de sodio al 0.9% (Pisa, México).

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO

Todos los experimentos informados en este estudio se realizaron de acuerdo con las pautas actuales para el cuidado de animales de laboratorio y las pautas éticas para la investigación del dolor experimental en animales conscientes^{15, 16}. Los experimentos de comportamiento se llevaron a cabo en una sala con sonido atenuado. La habitación estaba débilmente iluminada y equipada con instalaciones de grabación de video. La evaluación conductual se realizó de forma manual. Todas las evaluaciones se realizaron entre las 10:00 y las 18:00 h. se llevó a cabo en una caja de plexiglás (29 x 19 x 9 x 13 cm cada una). Los aparatos utilizados para todas las pruebas de comportamiento se limpiaron con detergente y se secaron antes de cada prueba. En todos los experimentos, los animales se asignaron a cada grupo al azar. Los animales se usaron una sola vez.

ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA

Prueba de retorcimiento inducido por ácido acético La prueba se realizó esencialmente como lo describen Hajhashemi et al.^{6,17}. Se administró ácido acético al comienzo de la prueba a concentración de 0.5%. Se utilizó metamizol 100 mg/kg, paracetamol 300 mg/kg, morfina 5 mg/kg y ketorolaco 10mg/kg¹⁸ como controles positivos y como grupos de control negativo una solución de cloruro de sodio al 0.9%. Se administraron los fármacos y la solución de cloruro de sodio al 0.9% por vía intraperitoneal (i.p.) a un volumen de 10 ml/kg 30 minutos antes del inicio de la prueba. La evaluación de la prueba se realizó cuantificando la suma de los valores de las diferentes respuestas motoras del ratón que constituyen una contorsión, dando a cada respuesta de al menos 1 s de duración un valor en una escala del 1 al 4, que se asignan de

la siguiente manera:

- Contracción abdominal sin rotación pélvica se le asigna el valor de 1 (*Figura 1*).

Figura 1. Contracción abdominal sin rotación pélvica.



Fuente: Elaboración propia (2023).

- Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco), sin extensión de las patas traseras se le asigna el valor de 2 (*Figura 2*).

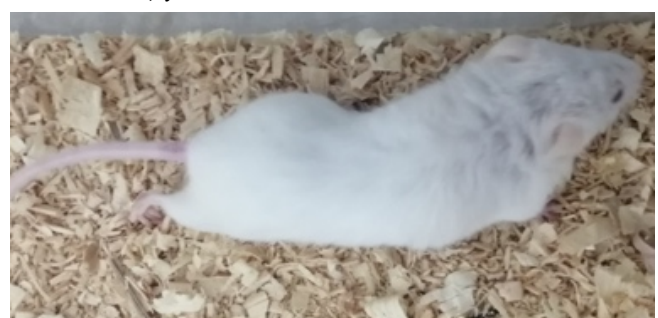
Figura 2. Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco), sin extensión de las patas traseras.



Fuente: Elaboración propia (2023).

- Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco) y extensión de una sola extremidad trasera se le asigna el valor de 3 (*Figura 3*).

Figura 3. Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco) y extensión de una sola extremidad trasera.

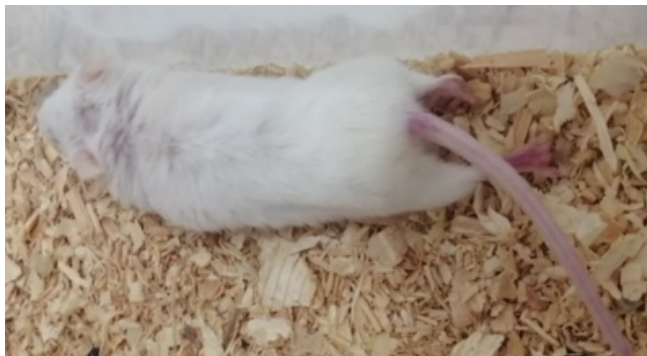


Fuente: Elaboración propia (2023).

- Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco) con extensión de ambas extremidades

posteriores se le asigna el valor de 4 (Figura 4).

Figura 4. Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco) con extensión de ambas extremidades posteriores.



Fuente: Elaboración propia (2023).

Esta escala se cuantificó minuto a minuto durante los 10 minutos que duró la prueba, calificando cada respuesta de acuerdo al valor de la escala (Figura 5). Finalmente, se suma la puntuación total lograda durante los 10 minutos, lo que da como resultado la respuesta nociceptiva total (Figura 6).

Figura 5. Papeleta para el registro de la respuesta nociceptiva total.

Minutos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Nº Animal:
Respuestas motoras del ratón											Fecha: Género:
											Peso Compuesto:
											%A.A:
Subtotal											Total:

Fuente: Elaboración propia (2023).

Figura 6. Diferentes respuestas motoras del ratón que constituyen una contorsión.*

Respuestas motoras del ratón	Valor
Contracción abdominal sin rotación pélvica	1
Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco), sin extensión de las patas traseras	2
Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco) y extensión de una sola extremidad trasera	3
Contracción abdominal, rotación pélvica (rotación del tronco) con extensión de ambas extremidades posteriores	4

* En el nuevo método de evaluación se le asigna un valor individual, se cuantifica minuto a minuto durante los 10 minutos de la prueba. La suma total corresponde a la respuesta nociceptiva total.

Fuente: Elaboración propia (2023).

MÉTODOS DE ESTADÍSTICA

Los resultados paramétricos se presentan como

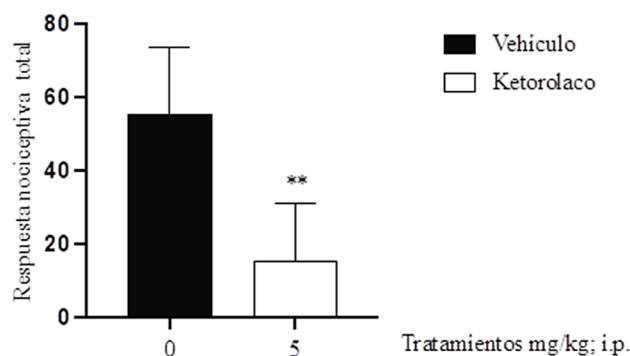
medias y la desviación estándar de la media. El análisis paramétrico se evaluó mediante la prueba de t-Student. Un valor alfa de $P < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Los parámetros estadísticos se calcularon usando el software estadístico GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc. Versión 9).

RESULTADOS

Como se muestra en las Figuras 7, 8, 9 y 10, la evaluación ampliada de la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético demuestra que el procedimiento de evaluación ampliada fue capaz de identificar respuestas nociceptivas inducidas por ácido acético al 0.5% y la inhibición de esta respuesta en todos los fármacos analgésicos utilizados en este trabajo; ketorolaco, paracetamol, metamizol y morfina.

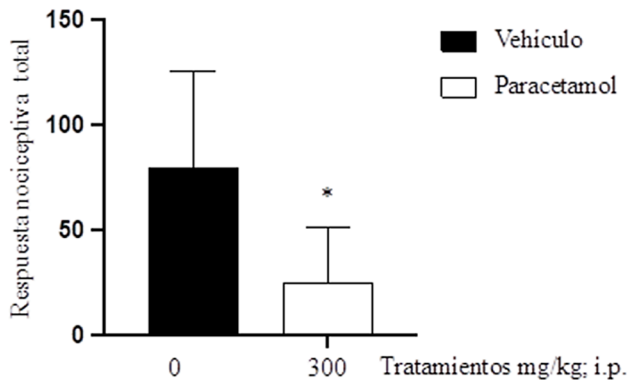
Las Figuras 7, 8, 9 y 10, muestran los resultados antinociceptivos obtenidos en la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético después de los primeros 10 min de la administración de ácido acético. Se observó una clara reducción de la respuesta nociceptiva total inducidas por el ácido acético con la administración previa de ketorolaco, paracetamol, metamizol y morfina. Los grupos de control recibieron una solución de cloruro de sodio al 0,9% como pretratamiento en comparación con los grupos que recibieron ketorolaco, paracetamol, metamizol y morfina como control positivo.

Figura 7. Comparación de los efectos del ketorolaco (5 mg/kg i. p.) y la solución de cloruro de sodio al 0.9% usada como control negativo en las respuesta nociceptiva total en la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético al 0.5% calificadas mediante la evaluación ampliada durante 10 minutos. Los valores se presentan como la media y su desviación estándar. Prueba de t-Student, $**P < 0.01$; N= 5.



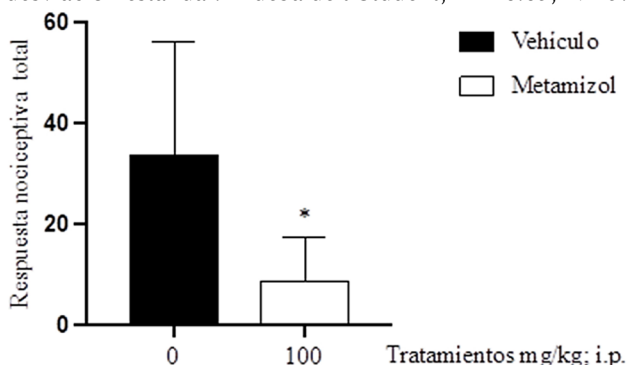
Fuente: Elaboración propia (2023).

Figura 8. Comparación de los efectos del paracetamol (300 mg/kg i. p.) y la solución de cloruro de sodio al 0.9% usada como control negativo en las respuesta nociceptiva total en la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético al 0.5% calificadas mediante la evaluación ampliada durante 10 minutos. Los valores se presentan como la media y su desviación estándar. Prueba de t-Student, *P< 0.05; N= 5.



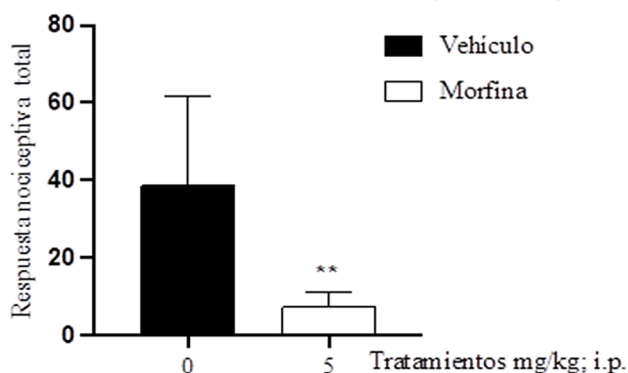
Fuente: Elaboración propia (2023).

Figura 9. Comparación de los efectos del metamizol (100 mg/kg i. p.) y la solución de cloruro de sodio al 0.9% usada como control negativo en las respuesta nociceptiva total en la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético al 0.5% calificadas mediante la evaluación ampliada durante 10 minutos. Los valores se presentan como la media y su desviación estándar. Prueba de t-Student, *P< 0.05; N= 5.



Fuente: Elaboración propia (2023).

Figura 10. Comparación de los efectos de la morfina (5 mg/kg i. p.) y la solución de cloruro de sodio al 0.9% usada como control negativo en las respuesta nociceptiva total en la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético al 0.5% calificadas mediante la evaluación ampliada durante 10 minutos. Los valores se presentan como la media y su desviación estándar. Prueba de t-Student, **P< 0.01; N= 5.



Fuente: Elaboración propia (2023).

DISCUSIÓN

Los modelos experimentales de dolor en animales como la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético continúan siendo un recurso para identificar nuevos fármacos analgésicos¹⁹⁻²², no obstante, también han sido éticamente cuestionada²³, sin que se presenten alternativas para sustituirlas.

Tradicionalmente esta prueba se califica cuantificando el número de contorsiones, definiendo a una contorción por una contracción intermitente de la pared abdominal y una rotación pélvica, seguida de la extensión de las patas traseras. Este comportamiento de contorción se considera que indica una sensación dolorosa y se asigna un valor de uno a una comportamiento de contorción cuando todas estas respuestas motoras antes descritas están presentes. Sin embargo, con frecuencia las respuestas que caracterizan a una contorción a menudo no se muestran en su totalidad, lo que requiere para su aparición dosis más altas de ácido acético, lo que aumenta el sufrimiento del animal. Para evitar esto, proponemos una evaluación ampliada de esta prueba de contorsiones basada en asignarle individualmente la puntuación de todas y cada una de las conductas que constituyen una contorción y su integración en una escala numérica, sumándolas durante únicamente 10 minutos.

Nuestra propuesta de la evaluación ampliada de la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético con analgésicos de conocida eficacia clínica como son el ketorolaco, el paracetamol, el metamizol y la morfina, demuestra que el procedimiento de evaluación ampliada fue capaz de identificar respuestas nociceptivas inducidas por concentraciones de ácido acético más bajas de las que habitualmente son empleadas en esta prueba, que oscilan en un rango de 0.6 a 1.5%^{6, 7}, nuestros resultados muestran una disminución de la respuesta nociceptiva total en todos los fármacos analgésicos utilizados en este trabajo, se logró claramente una mayor sensibilidad y/o un patrón limpio de detección para identificar estos efectos a través del uso de la evaluación ampliada de esta prueba. Además, con una disminución de la duración de la prueba a 10 minutos, reduciendo sustancialmente el sufrimiento innecesario en los animales. Nuestra

propuesta de evaluación ampliada reduce el sufrimiento de los animales sin que la prueba pierda sensibilidad para detectar efectos analgésicos en los animales de estudio. Esta prueba se describe como no específica, lo que nos permite identificar tanto analgésicos narcóticos y no narcóticos²⁴. En este trabajo se demostró con el uso de AINES y un opioide que la evaluación ampliada es sensible para detectar efectos analgésicos tanto de fármacos narcóticos como no narcóticos y con sensibilidad para determinar la actividad analgesia discreta.

CONCLUSIONES

Los criterios de evaluación de esta prueba no habían sido modificados por más de 60 años, nuestra propuesta de evaluación ampliada permite incrementar la sensibilidad de este procedimiento disminuyendo el sufrimiento innecesario de los animales de estudio al disminuir la concentración de ácido acético y el tiempo de exposición del roedor.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México y en particular a Ana María Escalante Gonzalbo y Francisco Pérez-Eugenio de la Unidad de Computación por su apoyo durante este trabajo. También agradecemos a Dolores Guadalupe Vidal López del Bioterio de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Chiapas, México, por proporcionar y cuidar de los animales utilizados en este trabajo y a Sabina Andrea Sánchez Cartela por el diseño de la papeleta. Finalmente agradecemos a Samantha Stefany Coutiño Ochoa, Benítez Cajica Celina y Víctor de Jesús Lievano Gómez por su apoyo en la calificación de las pruebas. Este trabajo fue parcialmente autofinanciado por todos los participantes.

REFERENCIAS

- Shamsi Meymandi M, Keyhanfar F. Assessment of the antinociceptive effects of pregabalin alone or in combination with morphine during acetic acid-induced writhing in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013 Sep;110:249-54. doi: [10.1016/j.pbb.2013.07.021](https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.07.021). Epub 2013 Aug 4. PMID: 23921185.
- Siegmund E, Cadmus R, Lu G. (1957). A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 95: 729-731

- Qnais E, Bseiso Y, Kayed K, Wedyan M, & Alkhateeb H. (2018) Analgesic effect of quercetin 3, 7-O-dimethyl ether isolated from *Salvia officinalis*. *PharmacologyOnLine.* 2, 64-73.
- Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S.W., 2001. Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.* 53, 597-652.
- Kamilla L, Ramanathan S, Sasidharan S, Mansor SM. (2014). Evaluation of antinociceptive effect of methanolic leaf and root extracts of *Clitoria ternatea* Linn. in rats. *Indian J Pharmacol.* 46: 515-520
- Hajhashemi V, Fahmideh F, Ghanadian M. (2018). Antinociceptive effect of methanolic extract and alkaloid fractions of *Berberis integerrima* root in animal models. *Avicenna J Phytomed.* 8: 227-236
- Hossain M, Islam MA, Rahman M., et al. (2021). Investigation of analgesic, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Phyllanthus beilleileaves* h. *PharmacologyOnLine.* 2: 410-416
- Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. (1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British journal of pharmacology and chemotherapy.* 32: 295-310
- Kotoda M, Ino H, Kumakura Y, Iijima T, Ishiyama T, Matsukawa T. (2019). Analgesic effects of amiodarone in mouse models of pain. *J Pain Res.* 12: 1825-1832
- Rejón-Orantes JC, Sánchez-Cartela SA, Gutiérrez-Sarmiento W, Robledo-Abarca KA, Crespo-Ramírez M, Pérez de la Mora M. Extended evaluation of the acetic acid-induced writhing test in the mice. *Pharmacologyonline* 2022, 139-146.
- Ohlsson, A., Shah, P.S., 2016. Paracetamol (acetaminophen) for prevention or treatment of pain in newborns. *Cochrane Database Syst. Rev.* 10, CD011219. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011219>.
- Cooper, T.E., Fisher, E., Anderson, B., Wilkinson, N., Williams, D.G., Eccleston, C., 2017. Paracetamol (acetaminophen) for chronic non-cancer pain in children and adolescents. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* CD012539. <https://doi.org/10.1002/14651858.2017>.
- Zapata-Morales JR, Aragon-Martinez OH, Adriana Soto-Castro T, Alonso-Castro AJ, Castañeda-Santana DI, Isirdia-Espinoza MA. Isobolographic Analysis of the Interaction Between Tapentadol and Ketorolac in a Mouse Model of Visceral Pain. *Drug Dev Res.* 2016 Jun;77(4):187-91. doi: [10.1002/ddr.21310](https://doi.org/10.1002/ddr.21310). Epub 2016 May 12. PMID: 27169518.
- Ventura-Martinez R, Mares-Sánchez JJ, Avilés-Herrera J, Ángeles-López GE, Déciga-Campos M, González-Trujano ME, López-Muñoz FJ. Antinociceptive Synergy Between Metamizole and Hesperidin in a Model of Visceral Pain in Mice. *Arch Med Res.* 2021 May;52(4):389-396. doi: [10.1016/j.arcmed.2020.12.011](https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.12.011). Epub 2021 Jan 19. PMID: 33483148.
- Zimmermann M. (1983). Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. *Pain.* 16:109-110
- Li Y, Zhu Y, Zhang Z, Li L, Liu Y, Qu J, Ma S, Yu S. (2020) Antinociceptive gyanane-derived diterpenoids from flowers of *Rhododendron molle*. *Acta Pharm Sin B.* 10: 1073-1082
- Hishe HZ, Ambech TA, Hibben MG, Fanta BS. (2018) Anti-nociceptive effect of methanol extract of leaves of *Senna singueana* in mice. *J Ethnopharmacol.* 217: 49-53
- Doğrul A, Yeşilyurt O, Deniz G, İşimer A. Analgesic effects of amlodipine and its interaction with morphine and ketorolac-induced analgesia. *J Pharm Pharmacol.* 1997 Nov;29(5):839-45. doi: [10.1016/s0306-3623\(97\)00003-7](https://doi.org/10.1016/s0306-3623(97)00003-7). PMID: 9347336
- Wei XY, Long JD, Chai JR, Chen J, Gao JP, Wang YJ, Liu JG. Antinociceptive activities and mechanism of action of Cepharranthine. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jul 23;614:219-224. doi: [10.1016/j.bbrc.2022.04.083](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.04.083). Epub 2022 May 6. PMID: 35636221.
- He L, Zhou Y, Wan G, Wang W, Zhang N, Yao L. Antinociceptive effects of flower extracts and the active fraction from *Styrax japonicus*. *J Ethnopharmacol.* 2022 Feb 10;284:114779. doi: [10.1016/j.jep.2021.114779](https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114779). Epub 2021 Oct 27. PMID: 34715297.
- Sofidiya MO, Ikechukwu JU, Nnah VE, Olaleye OO, Basheeru K, Sowemimo AA, Ajayi AM. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Daniellia oliveri* (Fabaceae) stem bark extract. *J Ethnopharmacol.* 2023 Mar 1;309:116337. doi: [10.1016/j.jep.2023.116337](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116337). Epub ahead of print. PMID: 36868442.
- Bezerra LFG, Silva APSD, Cunha RXD, Oliveira JRS, Barros MD, Silva VMAD, Lima VLM. Antioxidant, anti-inflammatory and analgesic activity of *Mimosa acutistipula* (Mart.) Benth. *J Ethnopharmacol.* 2023 Mar 1;303:115964. doi: [10.1016/j.jep.2022.115964](https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115964). Epub 2022 Nov 25. PMID: 36436717.
- Gawade, S. (2012). Acetic acid induced painful endogenous inflection in writhing test on mice. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics,* 3(4), 348.
- Pircio, Anthony W., Cosmo T. Fedele, and Max E. Bierwagen. "A new method for the evaluation of analgesic activity using adjuvant-induced arthritis in the rat." *European journal of pharmacology* 31.2 (1975): 207-215

Citar como: Rejón-Orantes, JC; Álvarez Perdomo, S; Crespo-Ramírez, M; Pérez de la Mora, M. Un nuevo método de evaluación de la prueba de contorsiones inducidas por ácido acético. *AMU.* 2023; 2(1):44-50. Doi: [10.31644/AMU.V02.N01.2023.A05](https://doi.org/10.31644/AMU.V02.N01.2023.A05)