

PROTOCOLO DE MANEJO ANIMAL
PROYECTO ASOCIATIVO INTERDISCIPLINARIO PUCV

Título del proyecto

Inmunidad y estrés: Evaluación de riesgo y capacidad de adaptación de los salmones de cultivo a la hipoxia.

Investigador Responsable: Dr. José Gallardo Matus.

Especie: *Salmo salar*, Salmón del Atlántico.

Guía de manejo animal

El siguiente protocolo de manejo animal se elaboró siguiendo las recomendaciones de la Canadian Council on Animal Care (CCAC).

<https://ccac.ca/en/guidelines-and-policies/the-guidelines/>

Protocolo de manipulación de los animales

1. Los peces serán provistos por la empresa Salmones Camanchaca. Los peces serán certificados como libre de patógenos antes del traslado a la Universidad.
2. Luego del transporte y previo a los ensayos, los peces serán aclimatados durante un periodo de 7 a 14 días. En caso los peces tengan señales de enfermedad estos serán manipulados por personal competente solo cuando sea necesario y a la frecuencia mínima necesaria.
3. Los peces serán marcados insertándoles un chip electrónicos (PIT). Para ello los peces serán anestesiados usando benzocaína al 20%. Una vez insertado el chip por personal capacitado, el pez será colocado en un tanque de recuperación y posteriormente recolocado en su respectivo tanque. Experiencias previas muestran que este procedimiento de marcaje causa una leve lesión cutánea que cicatriza luego de unos días. La mortalidad asociada a este procedimiento es mínima y no supera a una decena de animales por cada 1000 a los que se aplica el procedimiento.
4. Antes de iniciado los ensayos, los peces estarán en ayunas. Esto con el fin de hacerles ahorrar energía, impedir el incremento de la demanda de oxígeno y evitar reflejos de estrés como la defecación o el vómito.
5. Una vez iniciados los experimentos, los peces solo serán manipulados por personal previamente entrenado para minimizar lesiones, p. ej. daños en la barrera mucosa-cutánea.
6. Cuando sea necesario se procederá con el muestreo de tejidos. Para este paso será necesario el sacrificio de los peces haciendo uso de una dosis letal de benzocaína. El efecto de este anestésico es rápido por lo que el pez no será expuesto a dolor, angustia o estrés. Una vez que el pez muere, se realizará la disección para extracción de órganos y tejidos.

Metodología para aplicar eutanasia

En cualquier punto del ensayo, si los peces muestran signos de dolor, angustia, estrés, enfermedad o letargo dentro los estanques de cultivo, estos serán eutanasiados para mitigar el sufrimiento y evitar la propagación de e alguna enfermedad (morbilidad). Para la eutanasia se utilizará una solución de 4 ml de benzocaína en 20 L de agua, lo que es considerado letal. Este método es

preferido a la inyección, ya que esta última implica una mayor manipulación y estrés, y un mayor daño a órganos y tejidos.

Para llevar a cabo la eutanasia se aplicará el siguiente protocolo:

1. Verificación de parámetros físicos y químicos: Se asegurará que la temperatura y el oxígeno durante la eutanasia sea adecuada para el mejor bienestar de los peces.
2. Ayuno 24 horas antes de la eutanasia química: Esto permitirá una absorción más rápida del anestésico por el intestino y minimizará el riesgo de regurgitación que podría reducir el efecto de las sustancias químicas sobre las láminas de las agallas (Brown 1988).
3. Los peces serán puestos en acuarios con la solución letal de benzocaína hasta la muerte.

Eliminación animales muertos o eutanasiados, incluyendo los productos de desecho de muestreos biológicos

La eliminación de animales muertos o eutanasiados varía dependiendo del lugar donde se realice el experimento.

1.- Si el experimento se realiza en la Universidad, los animales y residuos serán extraídos y congelados hasta que sean retirados por la Unidad de Retiro de Residuos Peligrosos (RESPEL). En ambos casos, peces muertos y residuos orgánicos que se puedan generar del procesamiento de las muestras serán guardados en un contenedor hermético debidamente identificados, con el tipo de residuo, fecha e investigador a cargo y serán almacenados en un congelador a -20 °C. Posteriormente, los peces y residuos serán retirados por una empresa que se encarga de la gestión de residuos orgánicos y sustancias peligrosas.

2.- Si el experimento se realiza en una Piscicultura externa a la Universidad, se dispondrá de un depósito temporal de mortalidades de 60 L especialmente destinado para este fin, debidamente identificado, con tapa y hermético para impedir posibles derrames. Estos recipientes estarán ubicados lejos de toda fuente de posible contaminación. Posteriormente, los peces serán dispuestos en un sistema de ensilaje para su posterior retiro del centro experimental por una empresa especializada. Se entiende por ensilaje el procedimiento de transformación de mortalidad mediante molienda y adición de ácido fórmico hasta alcanzar y mantener un pH igual o menor a 4, en una mezcla homogénea.