

PROTOCOLO DE MANEJO ANIMAL PROYECTO INMUNIDAD Y ESTRÉS SALMONES

Título del Proyecto: Desarrollo de una estrategia preventiva global de control de patógenos basada en fortalecer el sistema inmune innato y la respuesta al estrés.

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

Los peces serán provistos por la empresa Salmones Camanchaca, ya sea desde sus propias pisciculturas o centros de engorda en el mar, como de las estaciones experimentales que ellos contraten para el efecto de ejecutar este proyecto. Ninguno de los peces descritos en este proyecto será trasladado o manipulado vivo en la Universidad.

Marcaje de peces

Algunos de los peces usados en el ensayo 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.

Ensayos en pisciculturas de cultivo

En la mayoría de los ensayos, se propone realizar un monitoreo inmunológico y de estrés que sufren los peces en las pisciculturas de cultivo. Cuando sea necesario se procederá entonces a realizar un muestreo aleatorio de peces con el objetivo de remover y analizar algunos 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. Las muestras son almacenadas en una solución preservante y trasladadas a la Universidad para análisis.

Ensayos en estación experimental

1. 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 autanasiados por personal competente solo cuando sea necesario.

2. 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.
3. 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.
4. 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

Para la eutanasia en *Salmo salar* se aplicará una dosis triple de anestésico en el agua. Este procedimiento es mejor que la inyección ya que evita la manipulación y estrés del animal. Los peces serán depositados con una red en una solución que contendrá una dosis letal de benzocaína diluida en agua (4ml en 20L de agua), se esperara a que el dorso del animal quede hacia arriba y sin movimiento de opérculos y boca, signo de que el animal ha muerto. El efecto del anestésico es rápido y no produce sufrimiento ni estrés al pez. Se verificará que el pez este muerto frente a la ausencia de movimiento frente a estímulos mecánicos.

Eliminación animales eutanasiados y los productos de desecho

La mortalidad y los residuos orgánicos serán colocados en un contenedor para luego ser enviados al ensilaje que maneja la empresa donde se realizará el muestreo. Los 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 desechos serán retirados por una empresa que se encarga de la gestión de residuos orgánicos y sustancias peligrosas.