

AlMa: protocolo de anestesia prolongada con soporte respiratorio para peces

AlMa: a protocol for prolonged anesthesia with assisted respiratory support in fish

Úrsula Ledesma Mora¹, Pedro J. Albertos-Alpuche², Rosario Martínez-Yáñez²

¹ PE de Medicina Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.

² Laboratorio de Acuicultura, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.

u.ledesmamora@ugto.mx, palbertos@ugto.mx, ar.martinez@ugto.mx*

Resumen

El uso de anestesia prolongada en peces es una necesidad creciente en contextos clínicos y experimentales, donde se requieren procedimientos delicados y de larga duración. Este trabajo presenta el protocolo AlMa (Anestesia Larga con Mantenimiento Asistido), una estrategia diseñada por el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad de Guanajuato para mantener la anestesia profunda en peces mediante un sistema móvil de recirculación con soporte respiratorio continuo. Se describen detalladamente los componentes técnicos, condiciones experimentales, especies involucradas (*Cyprinus carpio* y *Oreochromis niloticus*) y parámetros de funcionamiento, con énfasis en la estabilidad fisiológica del animal durante el procedimiento y en su recuperación segura. Los resultados muestran que AlMa es un protocolo eficaz, reproducible y adaptable para peces ornamentales y de cultivo, que mejora el bienestar animal y amplía las posibilidades técnicas para la investigación científica y la atención clínica especializada.

Palabras clave: anestesia prolongada, bienestar animal, peces, recirculación, soporte respiratorio, *Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus*, protocolo experimental.

Introducción

Los protocolos prolongados de anestesia de peces son esenciales para asegurar el bienestar durante diversos procedimientos experimentales y acuícolas. Este tipo de anestesia resulta especialmente útil en procedimientos que requieren una duración mayor a la que permiten los protocolos tradicionales, como cirugías menores (retiro de tumores, biopsias), toma de muestras repetidas (sangre, tejidos), colocación de dispositivos, estudios neurofisiológicos o procedimientos en peces ornamentales de alto valor económico. Sin embargo, la mayoría de los protocolos disponibles están diseñados para sedación de corta duración, lo que representa un desafío en contextos donde se requiere anestesia profunda y prolongada (Zahl *et al.*, 2012; Teles *et al.*, 2019). El uso de anestesia prolongada con soporte respiratorio no solo reduce el sufrimiento, sino que mejora la calidad del procedimiento y la tasa de recuperación postoperatoria, aportando beneficios tanto en entornos productivos como de investigación científica (Schroeder *et al.*, 2021; Köhler & Valentim, 2022). Estos protocolos tienen como objetivo minimizar el estrés y el dolor mientras se mantiene una anestesia efectiva durante períodos prolongados (Martins *et al.*, 2018; Aguilar *et al.*, 2023). Ante esta necesidad, el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad de Guanajuato desarrolló el protocolo AlMa (Anestesia Larga con Mantenimiento Asistido), una estrategia que combina la recirculación de solución anestésica con soporte respiratorio mecánico adaptado a peces. Inicialmente validado en *Cyprinus carpio* (koi), este sistema ha demostrado su efectividad y seguridad también en especies de interés productivo como la tilapia (*Oreochromis niloticus*), ampliando así su aplicabilidad. Las siguientes secciones exploran distintos aspectos del desarrollo, aplicación y evaluación del protocolo AlMa como propuesta innovadora para procedimientos prolongados en peces.

Materiales y Métodos

Declaración ética

Los animales fueron manejados con base en las buenas prácticas para el cultivo de cada especie. El protocolo del presente proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de la Universidad de Guanajuato (CICUALUG-A02-2025).

Diseño del protocolo AlMa

El protocolo AlMa (Anestesia Larga con Mantenimiento Asistido) fue diseñado para mantener la anestesia profunda en peces durante procedimientos prolongados, mediante la integración de un sistema de recirculación continua con soporte respiratorio. Este sistema permite un flujo constante de solución anestésica oxigenada a través de las branquias del pez anestesiado, optimizando la oxigenación tisular y permitiendo un control preciso de la profundidad anestésica.

Composición técnica del sistema

El sistema AlMa es una plataforma móvil, diseñada para operar sobre superficies estables, generalmente mesas de trabajo. Utiliza un recipiente de plástico o pecera de vidrio de mínimo 20 litros, transparente o translúcido, que permite observar en todo momento al pez. Todo el sistema debe emplear materiales inertes al agua y a los anestésicos, evitando PVC de baja calidad, gomas tratadas o metales expuestos.

El sistema consta de cinco componentes principales (Figura 1):

1. Camilla de soporte: Estructura de acrílico o PVC con una red de fibra de vidrio o material inerte, que mantiene al pez en posición dorsal con estabilidad y drenaje del exceso de agua. Se colocan esponjas cubiertas de gasa para estabilizar y proteger el cuerpo del animal (Figuras 2 y 3).
2. Bombas de recirculación: Equipos sumergibles, independientes para anestesia y recuperación, con caudal máximo de 50 GPH (3.15 L/min) y altura de trabajo de 65 cm (Figura 2).
3. Línea de conducción de flujo: Manguera principal (10 mm externo / 6 mm interno) conectada a un adaptador en "Y" plástica, bifurcada en dos ramales más delgados (6 mm externo / 4 mm interno) que se insertan en la boca del pez, dirigiendo el flujo hacia los opérculos branquiales (Figura 3).
4. Bombas de aireación: Compresores pequeños, independientes para anestesia (1.2 L/min) y recuperación (3.2 L/min), que aseguran niveles mínimos de oxígeno disuelto de 5 mg/L.
5. Peras de silicón: Diferenciadas para anestesia y recuperación, usadas para mantener al pez húmedo y conservar la temperatura estable.

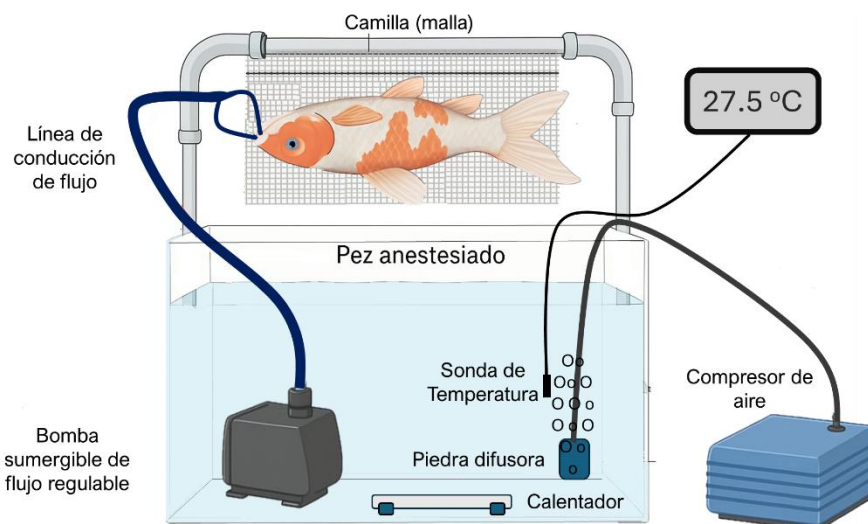


Figura 1. Componentes del Sistema AlMa.

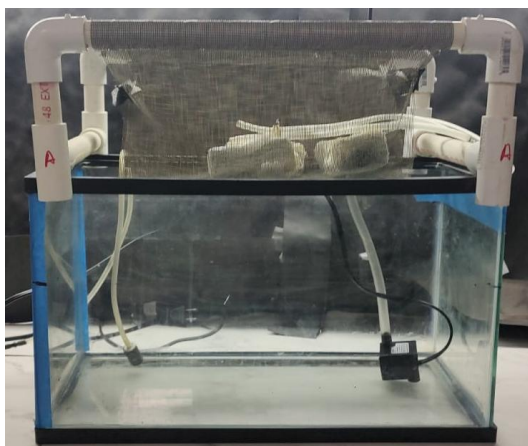


Figura 2. Elementos del sistema: acuario, bomba de agua sumergible, piedra aireadora, soporte de PVC y camilla de fibra de vidrio.



Figura 3. Conducto de flujo de agua. Se observa una vista superior a la camilla, y las mangueras que forman la línea de conducción de agua, de la bomba sumergible a la boca del pez.

Agente anestésico y condiciones experimentales

Se empleó aceite esencial de clavo (Eugenol) a una concentración de 80 $\mu\text{L/L}$, diluido previamente en alcohol etílico al 96° en proporción 1:10. El pH del agua fue de 6.8–7.4 y la temperatura se estabilizó mediante calentadores con termostatos. No se usaron buffers adicionales. La frecuencia opercular se monitoreó visualmente y la frecuencia cardíaca mediante Doppler vascular (Sonotrax Basic A, EDAN).

Especies involucradas

El protocolo fue desarrollado inicialmente para *Cyprinus carpio* (koi), con ejemplares de 100 a 300 g de peso, y adaptado posteriormente para *Oreochromis niloticus* (tilapia), con tallas similares. En ambos casos se ajustaron la longitud de las mangueras y el caudal de recirculación según el tamaño del pez.

Aplicación experimental y clínica

El protocolo ha sido empleado en dos contextos principales: (a) Procedimientos clínicos en peces ornamentales (ej. koi), como extirpación de tumores, tratamiento de heridas y toma repetida de muestras sanguíneas; (b) Evaluación de respuestas fisiológicas en peces de cultivo (ej. tilapia), en estudios de bienestar animal y validación de biomarcadores no letales. Se ha alcanzado anestesia efectiva durante más de 30 minutos, con recuperación completa.

Descripción del procedimiento completo

1. Previo a la anestesia: Se debe preparar a los animales con un período de ayuno de 12 a 24 horas para limitar tanto el riesgo de regurgitación (que puede afectar el tejido branquial) como la excreción de desechos nitrogenados (Neiffer & Stamper, 2009). Los parámetros de calidad de agua, como la temperatura y el pH, en los tanques de inducción y mantenimiento de la anestesia deben coincidir con el agua de origen y el oxígeno disuelto debe mantenerse a un nivel apropiado para la especie, con un mínimo de 5 mg/L (Harms, 1999).
2. Inducción anestésica: Los peces se transportaron desde el estanque al área de trabajo en un recipiente con tapa, con solución anestésica preparada. La inducción se consideró completa cuando el pez perdió la verticalidad y no respondió a estímulos en la cola o aleta anal. La frecuencia opercular se monitoreó visualmente (4–5 movimientos cada 20 s, para determinar que el pez ha alcanzado el estado anestésico). Posteriormente, se midió y pesó antes de colocarlo en la camilla.
3. Mantenimiento anestésico: El pez se posicionó en decúbito dorsal, se insertaron las mangueras en la boca y se dirigió el flujo hacia los opérculos. Se humedeció constantemente el cuerpo con agua anestésica. La temperatura del agua se mantuvo estable. El flujo se calcula de acuerdo con el peso del pez, generalmente en un rango de 0.1 a 0.3 L/min por cada 100 g de peso (1 a 3 L/kg/min, Lloyd y García de Leaniz, 2020) (Figura 4).
4. Se recomienda no exceder 30–45 min de mantenimiento, aunque se ha logrado hasta 60 min en condiciones controladas.
5. Recuperación: El pez fue transferido a un acuario limpio con otra bomba y aireación. Se colocó en una nueva camilla con soporte respiratorio hasta observar movimientos oculares, operculares activos y resistencia a las mangueras. Finalmente, fue trasladado a un recipiente con agua limpia, y se consideró totalmente recuperado una vez que mantuvo la vertical por 20 s con movimiento de aletas activo.



Figura 4. Posición supina de un ejemplar de *Cyprinus carpio*, donde se observa el conducto de flujo en el interior de la boca. Las esponjas permiten mantener la posición y estabilidad del animal y exponen el área cardíaca para su auscultación con el doopler.

Resultados

La implementación del protocolo AIMa permitió mantener a peces en anestesia profunda y estable durante procedimientos prolongados en condiciones controladas. Se aplicó exitosamente en ejemplares de *Cyprinus carpio* (koi) y *Oreochromis niloticus* (tilapia), con pesos entre 100 y 300 g. El tiempo de inducción varió entre 2 y 5 minutos, dependiendo del tamaño del pez y su respuesta al anestésico. La frecuencia opercular durante la fase de mantenimiento anestésico previo a la colocación en el soporte respiratorio se indicó en un rango de 4 a 5 movimientos por cada 20 segundos, para evitar colapso respiratorio. Durante la anestesia prolongada, los animales permanecieron en posición supina con adecuada estabilidad corporal, permitiendo el acceso para procedimientos experimentales o clínicos, así como, el monitoreo continuo de la frecuencia cardíaca mediante Doppler vascular y de la temperatura del agua.

El sistema de recirculación garantizó un flujo constante y seguro, con tasas ajustadas de 0.1 a 0.3 L/min por cada 100 g de peso. Se logró mantener el soporte anestésico hasta por 60 minutos sin signos de deterioro fisiológico evidente, aunque se recomienda no exceder los 30–45 minutos como estándar de seguridad. Durante la recuperación, el protocolo permitió una transición gradual hacia condiciones normales. Los peces presentaron primero movimiento ocular, seguido de respuesta opercular activa y resistencia a las mangueras. Finalmente, recuperaron su postura y movilidad en el agua limpia en un promedio de 10 a 60 minutos. Se observó que entre mayor tiempo pasan en el soporte respiratorio, mayor tiempo toman en la recuperación.

En todos los casos, se observó una recuperación completa sin mortalidad, sin lesiones físicas visibles en opérculos ni en mucosas bucales. La tasa de éxito del procedimiento fue del 100% en los individuos tratados ($n = 10$, 5 peces por cada especie), evidenciando la funcionalidad y reproducibilidad del protocolo AIMa bajo condiciones experimentales y clínicas controladas.

Discusión y conclusiones

El protocolo AIMa representa una alternativa innovadora para mantener anestesia prolongada en peces bajo condiciones controladas, con aplicaciones tanto clínicas como experimentales. A diferencia de los métodos tradicionales que dependen únicamente de la inmersión en solución anestésica, este sistema incorpora un soporte respiratorio activo mediante recirculación continua, lo que mejora la oxigenación branquial y permite mantener una anestesia profunda durante periodos superiores a los 30 minutos sin comprometer la recuperación.

El uso de aceite esencial de clavo (Eugenol) como agente anestésico ha sido ampliamente documentado por su eficacia, bajo costo y rápida acción en diversas especies acuáticas (Velisek *et al.*, 2005; Hoseini *et al.*, 2019). Sin embargo, su uso prolongado presenta riesgos potenciales de hipoxia o acumulación de metabolitos en protocolos de inmersión estática. En este sentido, el sistema AIMa resuelve dicha limitación al permitir un flujo constante y dirigido de solución anestésica oxigenada, ajustado según el peso del pez, con monitoreo de parámetros fisiológicos esenciales como frecuencia cardíaca y frecuencia opercular.

La posibilidad de aplicar anestesia profunda de forma prolongada abre nuevas oportunidades para procedimientos quirúrgicos no letales, instalación de sensores, experimentos fisiológicos y evaluación de biomarcadores, minimizando el sufrimiento animal y mejorando la reproducibilidad científica (Sneddon, 2012; Sladky *et al.*, 2001). El monitoreo continuo mediante Doppler y control de temperatura permite además un seguimiento más preciso del estado fisiológico del animal, elemento clave en estudios de bienestar (Martins *et al.*, 2018). El protocolo también enfatiza la importancia de la recuperación progresiva en condiciones controladas, mediante un sistema separado de camilla, bomba y oxigenación. Esta estrategia evita la contaminación cruzada con anestésico residual y reduce el estrés postoperatorio o de manejo. Estudios previos han resaltado que la etapa de recuperación es crítica para el éxito anestésico y la supervivencia posterior (Zahl *et al.*, 2012; Teles *et al.*, 2019), lo cual, coincide con los hallazgos obtenidos en la aplicación del sistema AIMa.

Si bien los resultados obtenidos han sido satisfactorios en *Cyprinus carpio* y *Oreochromis niloticus*, se recomienda cautela al extrapolar este protocolo a otras especies, ya que factores como metabolismo y tasa ventilatoria pueden influir en la eficacia anestésica (Sladky *et al.*, 2001). Futuras investigaciones podrían explorar adaptaciones del sistema ALMA para peces de mayor tamaño, especies marinas, o incluso aplicaciones terapéuticas específicas, como manejo del dolor crónico o intervenciones mayores. En conjunto, el protocolo ALMA contribuye a fortalecer las prácticas de bienestar animal en acuicultura y experimentación, promoviendo una ética del cuidado basada en la reducción del sufrimiento y el respeto a la vida animal, en concordancia con los principios de las 3R (Russell & Burch, 1959) y las recomendaciones recientes de organismos internacionales (FAO, 2022).

Referencias

- Aguilar, L. A. B., Field, C. L., Atkins, A., & Clauss, T. M. (2023). Retrospective review of propofol anesthesia in multiple elasmobranch species at Georgia Aquarium, 2010–2022. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. <https://doi.org/10.1638/2022-0136>
- Food and Agriculture Organization [FAO]. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. FAO.
- Harms, C. A. (1999). Anesthesia in fish. In M. E. Fowler & R. E. Miller (Eds.), *Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy* (4th ed., pp. 158–163). W.B. Saunders.
- Hoseini, S. M., Hosseini, S. R., & Sharif Roshanaei, G. (2019). Application of herbal anesthetics in aquaculture: A review. *Reviews in Aquaculture*, 11(1), 550–571. <https://doi.org/10.1111/raq.12245>
- Köhler, A. & Valentim, A. M. (2022). Analgesia, anesthesia, and euthanasia in zebrafish. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821099-4.00016-X>
- Lloyd, R., & Garcia de Leaniz, C. (2020). The use of laparoscopy for non-destructive disease screening of broodstock Atlantic lumpfish, *Cyclopterus lumpus* Linnaeus. *Journal of Fish Diseases*, 43(9), 1107–1110. <https://doi.org/10.1111/jfd.13218>
- Martins, T., Diniz, E., Félix, L. M., Félix, L. M., Antunes, L., & Antunes, L. (2018). Evaluation of anaesthetic protocols for laboratory adult zebrafish (*Danio rerio*). *PLOS ONE*. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0197846>
- Neiffer, D. L., & Stamper, M. A. (2009). Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: Considerations, methods, and types of drugs. *ILAR Journal*, 50(4), 343–360. <https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.343>
- Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). The principles of humane experimental technique. Methuen.
- Schroeder, P. G., Lloyd, R., McKimm, R., Metselaar, M., Navarro, J., O'Farrell, M., Readman, G. D., Speilberg, L., & Mocho, J.-P. (2021). Anaesthesia of laboratory, aquaculture and ornamental fish: Proceedings of the first LASA-FVS Symposium. *Laboratory Animals*. <https://doi.org/10.1177/0023677221998403>
- Sladky, K. K., Swanson, C. R., Stoskopf, M. K., Loomis, M. R., & Lewbart, G. A. (2001). Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachipomus*). *American Journal of Veterinary Research*, 62(3), 337–342. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.337>
- Sneddon, L. U. (2012). Clinical anesthesia and analgesia in fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21(1), 32–43.
- Teles, M., Oliveira, M., Jerez-Cepa, I., Franco-Martínez, L., Tvarijonaviciute, A., Tort, L., & Mancera, J. M. (2019). Transport and Recovery of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) Sedated With Clove Oil and MS222: Effects on Oxidative Stress Status. *Front. Physiol.*, 10(523). doi: 10.3389/fphys.2019.00523
- Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., & Nepejchalova, L. (2005). Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Vet Med-Czech.*, 50(6), 269–275. doi: 10.17221/5623-VETMED.
- Zahl, I. H., Samuelsen, O. B., Kiessling, A., & Kiessling, A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1007/S10695-011-9565-1>