VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Evaluación conductual y validación fisiometabólica del bienestar en tilapia (*Oreochromis niloticus*) bajo anestesia analgesia

Behavioral assessment and physiometabolic validation of welfare in tilapia (*Oreochromis niloticus*) under anesthesia and analgesia

Francisco Javier Cortés Renteria[1], Juan Diego Juan Cortez Ramírez[2], Julio Alejandro Franco Ortega[3], Pedro J. Albertos-Alpuche[4], Rosario Martínez-Yáñez[5]

[1,2] PE de Medicina Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.
[3] PE de Doctorado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.
[4,5] Laboratorio de Acuicultura, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.
fj.cortesrenteria@ugto.mx, jd.cortezramirez@ugto.mx, ja.francoortega@ugto.mx, palbertos@ugto.mx, ar.martinez@ugto.mx

Resumen

El desarrollo de protocolos de anestesia equilibrada en peces requiere valorar conjuntamente la respuesta fisiológica y el comportamiento de los animales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de tilapias (*Oreochromis niloticus*) anestesiadas con aceite esencial de clavo y expuestas a dosis reducidas de tramadol. El diseño original contemplaba dosis mayores; sin embargo, la presencia de alteraciones conductuales obligó a detenerlo y replantearlo por razones de bienestar animal. Posteriormente, se evaluaron cuatro dosis de tramadol: 0, 2.5, 5.0 y 7.5 mg/kg. Se observaron el comportamiento y la recuperación vertical, además de medir frecuencia respiratoria, glucosa y lactato. Todos los grupos tratados con tramadol presentaron permanencia en la superficie, boqueo, movimientos intensos de las aletas pectorales e hiperreactividad. La dosis de 5 mg/kg redujo la frecuencia respiratoria durante una segunda anestesia, mientras que la glucosa, el lactato y la recuperación vertical no mostraron diferencias entre tratamientos. Aunque no se registró mortalidad, las alteraciones conductuales indicaron una respuesta incompatible con un protocolo anestésico adecuado. Este ensayo muestra que el bienestar animal no solo constituye un resultado de investigación, sino también un criterio para decidir cuándo detener y modificar un experimento.

Palabras clave: bienestar animal; tilapia; tramadol; comportamiento; anestesia; frecuencia respiratoria.

Introducción

La anestesia es una herramienta indispensable para realizar procedimientos clínicos y experimentales en peces. Su utilización facilita la manipulación, reduce la actividad motora y permite efectuar mediciones, toma de muestras o intervenciones que serían difíciles de realizar en animales conscientes. No obstante, un protocolo anestésico adecuado debe producir una inducción y recuperación predecibles, conservar las funciones fisiológicas esenciales y evitar respuestas que comprometan el bienestar de los peces (Neiffer y Stamper, 2009; Zahl *et al*., 2012). La anestesia equilibrada combina diferentes sustancias o estrategias para disminuir la cantidad necesaria de cada fármaco y mejorar la estabilidad del animal (Sneddon, 2012). En este contexto, los analgésicos podrían complementar el efecto de los anestésicos, especialmente durante procedimientos prolongados o potencialmente dolorosos. Sin embargo, la respuesta a un fármaco puede variar entre especies, y una sustancia utilizada en mamíferos no necesariamente produce los mismos efectos en peces.

El tramadol es un fármaco de acción central considerado como posible adyuvante en protocolos de analgesia. Antes de incorporarlo a un procedimiento anestésico en tilapia, resulta necesario evaluar no solo sus efectos fisiológicos, sino también la forma en que modifica el comportamiento. Los peces pueden expresar alteraciones mediante cambios en la posición dentro de la columna de agua, el patrón de nado, la ventilación, la actividad de las aletas o los intentos de escape. Por ello, la ausencia de mortalidad no es suficiente para considerar que un tratamiento es seguro. El objetivo de este trabajo fue evaluar de manera integrada la respuesta conductual y algunos indicadores fisiológicos de tilapias anestesiadas con aceite esencial de clavo

y expuestas a dosis reducidas de tramadol. El estudio también permitió documentar cómo las observaciones de bienestar animal modificaron el diseño experimental originalmente planteado.

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).

Se utilizaron 16 tilapias con un peso promedio de 193.9 ± 53.9 g y una longitud de 21.2 ± 1.7 cm. Los peces fueron anestesiados con aceite esencial de clavo a una concentración de 100 µL/L, previamente diluido en alcohol etílico al 96 % en una proporción de 1:10. El diseño inicial contemplaba dosis de tramadol de 0, 10, 15 y 20 mg/kg, así como diferentes tiempos posteriores a su administración. Durante las pruebas preliminares, aproximadamente a los 15 minutos de la inyección, los peces expuestos a tramadol mostraron alteraciones conductuales importantes. Ante estas observaciones se decidió detener el diseño original, reducir las dosis y replantear el estudio.

En el ensayo ajustado se evaluaron cuatro dosis: 0, 2.5, 5.0 y 7.5 mg/kg, con cuatro peces en cada tratamiento. El grupo control recibió agua inyectable. El tramadol se administró por vía intramuscular en la región muscular localizada en la base de la aleta dorsal. Después de la inyección, los peces fueron colocados individualmente en agua de recuperación y observados durante aproximadamente seis horas. Se registraron de manera cualitativa su posición en la columna de agua, actividad de las aletas, patrón ventilatorio, intentos de salto y recuperación de la verticalidad. El oxígeno disuelto se mantuvo en un mínimo de 5 mg/L.

A los 20 minutos posteriores a la inyección, los peces fueron anestesiados nuevamente para medir la frecuencia respiratoria y obtener una muestra de sangre. La frecuencia respiratoria se registró mediante el conteo de movimientos operculares. En las muestras sanguíneas se determinaron glucosa y lactato con medidores portátiles. Debido al carácter exploratorio del ensayo y al reducido número de peces por tratamiento, los resultados fueron interpretados con cautela. La conducta se describió cualitativamente y las variables cuantitativas se compararon entre las dosis evaluadas.

Análisis estadístico: Las variables cuantitativas se analizaron mediante modelos lineales generales, considerando la dosis de tramadol como efecto fijo. La glucosa, el lactato y el tiempo de recuperación vertical se compararon entre tratamientos, mediante un ANOVA de una vía. Para la frecuencia respiratoria se utilizó un análisis de medidas repetidas que incluyó los efectos de la dosis, el tiempo y su interacción. Los tres registros obtenidos de cada pez en cada minuto se promediaron previamente, considerando al pez como unidad experimental. Cuando no se cumplió el supuesto de esfericidad, se aplicó la corrección correspondiente. Se estableció un nivel de significancia de $p < 0.05$. Debido al reducido número de peces por tratamiento, los resultados se interpretaron con carácter exploratorio.

Resultados

Respuesta conductual y recuperación

Las tilapias del grupo control presentaron una recuperación estable y permanecieron distribuidas normalmente en la columna de agua. En contraste, todos los grupos tratados con tramadol mostraron cambios conductuales evidentes. Las respuestas más frecuentes fueron permanencia en la superficie, boqueo, respiración superficial, movimientos intensos de las aletas pectorales e hiperreactividad. Algunos peces también intentaron saltar fuera del acuario. Estas alteraciones ocurrieron aun cuando el oxígeno disuelto se mantuvo en concentraciones adecuadas, por lo que no se atribuyeron a una falta de oxígeno en el agua. Los peces tratados con 2.5 mg/kg parecieron estar relativamente más tranquilos después de seis horas; sin embargo, continuaron permaneciendo en la superficie (Figura 1). Por esta razón, ninguna de las dosis de tramadol produjo una respuesta conductual que pudiera considerarse completamente adecuada.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo necesario para recuperar la verticalidad. Aunque el grupo de 5 mg/kg presentó un promedio numéricamente menor, la variabilidad entre los peces impidió considerar este resultado como un efecto concluyente. Tampoco se registró mortalidad durante el periodo de observación.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

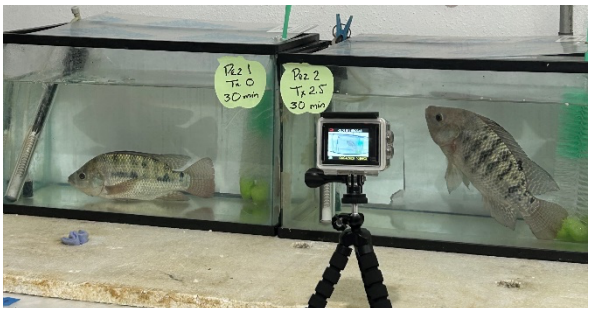


Figura 1. Diferencia conductual entre una tilapia del grupo control, a la izquierda, y una tilapia tratada con 2.5 mg/kg de tramadol, a la derecha. El pez tratado permaneció en la superficie y mostró una posición diferente dentro de la columna de agua.

Indicadores fisiológicos

La glucosa y el lactato sanguíneos no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las dosis. Los valores fueron variables y los intervalos de confianza amplios, por lo que estos indicadores no permitieron identificar una dosis de tramadol más favorable.

La frecuencia respiratoria mostró una respuesta más clara. Los promedios generales fueron 82.75 movimientos operculares por minuto en el grupo control, 76.35 con 2.5 mg/kg, 55.25 con 5 mg/kg y 72.50 con 7.5 mg/kg. La dosis de 5 mg/kg produjo la menor frecuencia respiratoria, especialmente durante los minutos 10, 15 y 20 de la segunda anestesia. La reducción de la frecuencia respiratoria con 5 mg/kg demostró que el tramadol produjo un efecto fisiológico medible. No obstante, este cambio no puede interpretarse de manera aislada como una respuesta favorable, debido a las alteraciones conductuales observadas durante la recuperación (Figura 2).

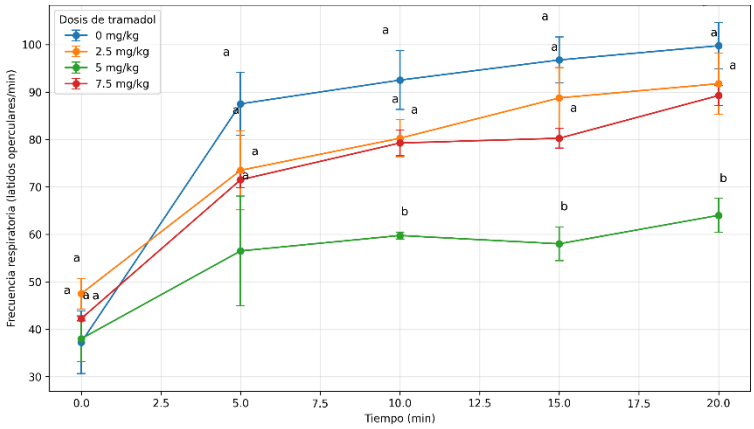


Figura 2. Frecuencia respiratoria durante la segunda anestesia de tilapias expuestas a diferentes dosis de tramadol. Los datos se presentan como media ± error estándar. Letras diferentes dentro de cada tiempo indican diferencias entre tratamientos.

Discusión

Los resultados muestran la importancia de integrar indicadores conductuales y fisiológicos al evaluar un protocolo anestésico. Si solamente se hubiera considerado la mortalidad o la recuperación vertical, podría haberse concluido que el tramadol fue bien tolerado. Sin embargo, la permanencia en superficie, el boqueo, la hiperreactividad y los intentos de salto revelaron una respuesta diferente. La frecuencia respiratoria confirmó que el fármaco modificó la respuesta fisiológica de los peces, particularmente con la dosis de 5 mg/kg. Una disminución de la ventilación opercular puede reflejar el efecto depresor de un tratamiento, pero

no demuestra por sí misma que el pez se encuentre en mejores condiciones. La interpretación de cualquier indicador interno debe realizarse junto con el comportamiento y el contexto experimental.

La glucosa y el lactato no permitieron diferenciar los tratamientos. Esto no significa necesariamente que el tramadol carezca de efectos metabólicos. El número reducido de peces, la variabilidad individual y el momento de obtención de las muestras pudieron limitar la capacidad para detectar diferencias. En este ensayo, la conducta proporcionó una señal más inmediata y consistente que los indicadores metabólicos.

Uno de los principales resultados fue la modificación del experimento por razones de bienestar animal. El diseño inicial se detuvo cuando las respuestas observadas indicaron que continuar con las dosis altas no era justificable. Posteriormente, aun con dosis reducidas, las alteraciones persistieron. Esta decisión corresponde al refinamiento experimental: los procedimientos deben revisarse y modificarse cuando generan efectos adversos innecesarios (Russell y Burch, 1959). El estudio no permite establecer de manera definitiva todos los efectos del tramadol en tilapia debido a su carácter exploratorio. Sin embargo, sí aporta una advertencia relevante: bajo las condiciones evaluadas, las dosis de 2.5 a 7.5 mg/kg no produjeron una recuperación conductual compatible con un protocolo anestésico operativo. Por ello, el tramadol no puede recomendarse como adyuvante para tilapia con base en estos resultados.

Conclusión

El tramadol produjo cambios conductuales y fisiológicos en tilapias anestesiadas con aceite esencial de clavo. La dosis de 5 mg/kg redujo la frecuencia respiratoria, mientras que la glucosa, el lactato y la recuperación vertical no mostraron diferencias entre tratamientos. A pesar de la ausencia de mortalidad, todos los grupos tratados presentaron alteraciones conductuales, entre ellas permanencia en superficie, boqueo, hiperreactividad e intentos de salto. Estas respuestas obligaron a detener y replantear el diseño experimental.

El principal aprendizaje del estudio es que el bienestar animal debe funcionar como un criterio activo de decisión. Cuando la conducta indica que un procedimiento compromete al animal, la investigación debe detenerse, revisarse y buscar alternativas más seguras.

Referencias

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.

Sneddon, L. U. (2012). Clinical anesthesia and analgesia in fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21(1), 32–43. https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.11.009

Zahl, I. H., Samuelsen, O. B., & Kiessling, A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(1), 201–218. https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1