

Edición en español de:
Laboratory Animals (2011) 1-6

Laboratory Animals

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF
LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND WELFARE

Guía sobre la clasificación de la severidad en procedimientos científicos con peces: informe del grupo de trabajo designado por la Plataforma Noruega para en Consenso de Reemplazo, Reducción y Refinamiento de los experimentos con animales (Norecopa)

P Hawkins (Coordinador)¹, N Dennison², G Goodman³, S Hetherington⁴, S Llywelyn-Jones⁵, K Ryder² and A J Smith⁶

¹Research Animals Department, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, West Sussex RH13 9RS, Reino Unido;

²Animals (Scientific Procedures) Inspectorate, Home Office, PO Box 6779, Dundee DD1 9WW, Reino Unido;

³Biological Services, The University of Edinburgh, Chancellor Building, 49, Little France Crescent, Edinburgh EH16

4SB, Reino Unido; ⁴CEFAS, Pakefield Road, Lowestoft, NR33 0HT, Reino Unido; ⁵King's College London,

Biological Services Unit, 4th floor, Hodgkin Building, Guy's Campus, London SE1 1UL, Reino Unido; ⁶Norecopa,

c/o Norwegian Veterinary Institute, PO Box 750 Sentrum, N-0106 Oslo, Noruega

Autor de contacto: P Hawkins. Email: phawkins@rspca.org.uk

Este artículo ha sido traducido por: D^a Clara Martínez Nistal

Revisado por: Dr. José Luis Martín Barrasa

Coordinador: D. Jesús Martínez Palacio

Editado por:



Publicación patrocinada por:



Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de *Laboratory Animals Ltd.* por el patrocinio y colaboración en esta traducción.

Informe de grupo de trabajo

Guía sobre la clasificación de la severidad en procedimientos científicos con peces: informe del grupo de trabajo designado por la Plataforma Noruega para el Consenso en Reemplazo, Reducción y Refinamiento de los experimentos con animales (Norecopa)

P Hawkins (Coordinador)¹, N Dennison², G Goodman³, S Hetherington⁴, S Llywelyn-Jones⁵, K Ryder² and A J Smith⁶

¹Research Animals Department, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, West Sussex RH13 9RS, Reino Unido; ²Animals (Scientific Procedures) Inspectorate, Home Office, PO Box 6779, Dundee DD1 9WW, Reino Unido; ³Biological Services, The University of Edinburgh, Chancellor Building, 49, Little France Crescent, Edinburgh Eh16 4SB, Reino Unido; ⁴CEFAS, Pakefield Road, Lowestoft, NR33 0HT, Reino Unido; ⁵King's College London, Biological Services Unit, 4th floor, Hodgkin Building, Guy's Campus, London SE1 1UL, Reino Unido; ⁶Norecopa, c/o Norwegian Veterinary Institute, PO Box 750 Sentrum, N-0106 Oslo, Noruega

Resumen

La clasificación de severidad de los procedimientos que utilizan animales es una herramienta importante para implementar el refinamiento y para ayudar a informar la aplicación de las 3Rs (Reemplazo, Reducción y Refinamiento). La Directiva, recientemente revisada, que regula la investigación y pruebas en animales dentro de la Unión Europea, requiere que los Estados Miembros se aseguren de que todos los procedimientos se clasifiquen como «sin recuperación», «leves», «moderados» o «severos», de acuerdo con criterios de evaluación establecidos por la Comisión Europea (CE). Sin embargo, estos criterios están basados en especies terrestres, por lo que a veces su relevancia es limitada con respecto al uso en peces. Un grupo de trabajo establecido por la Plataforma Noruega para el Consenso en las 3Rs (Norecopa) ha creado una guía para la clasificación de la intensidad en procedimientos científicos en peces, incluyendo ejemplos de procedimientos «por debajo del umbral», «leves», «moderados», «intensos» y «por encima del umbral». El objetivo es complementar las indicaciones de la CE y asegurar que el sufrimiento en peces se prevea y minimice de forma efectiva. Norecopa ha creado una página web (www.norecopa.no/categories) donde se tendrá acceso a más información sobre la clasificación de la intensidad de los procedimientos con peces, incluyendo estudios de campo.

Palabras clave: Peces, evaluación del daño-beneficio, punto final humanitario, refinamiento, intensidad.

Laboratory Animals 2011: 1–6. DOI: 10.1258/la.2011.010181

Contexto

Una predicción efectiva de los efectos de un protocolo de investigación en los animales que estén implicados ayuda a asegurar que cualquier dolor, sufrimiento o angustia que puedan experimentar sean anticipados, reconocidos y aliviados de forma efectiva. Esto es esencial no sólo para el bienestar animal, sino también para la validez científica, ya que las respuestas, fisiológicas y de comportamiento, al sufrimiento pueden afectar la calidad de los datos de forma significativa. La clasificación de intensidades es, por tanto, una herramienta importante para ayudar a encaminar la implementación de las técnicas de perfeccionamiento,

incluyendo la monitorización de su progreso, y asistir en la aplicación de las 3Rs (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) de Russell y Burch,¹ que ya constituyen una parte integral de la legislación en la investigación y ensayo con animales en muchos países. Las predicciones de severidad también son fundamentales para la evaluación del daño-beneficio llevada a cabo por organismos tales como autoridades reguladoras y comités éticos a la hora de decidir si un proyecto debería recibir permisos o financiación.

También podría haber un requerimiento legal para predecir y clasificar la severidad. Por ejemplo, la nueva Directiva

que regula el uso animal dentro de la Unión Europea, que debe ser adoptada por todos los Estados Miembros en enero de 2013, requiere la clasificación de la severidad de todo procedimiento en base al “grado de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero que se espera que vayan a ser experimentados por un único animal durante el curso del procedimiento”, con el objetivo de aumentar la transparencia, facilitando el proceso de autorización del proyecto y proporcionando herramientas para monitorizar su cumplimiento.² Los Estados Miembros tendrán que asegurarse de que todos los procedimientos se clasifican como «sin recuperación», «leves», «moderados» o «severos» según cada caso, utilizando los criterios establecidos en un informe sobre clasificación de la severidad elaborado por un grupo de trabajo especializado, de la Comisión Europea (CE). Éste presta especial atención a los procedimientos más relevantes en animales de laboratorio de especies terrestres.

Una de las actividades de Norecopa, la Plataforma Noruega para el Consenso en Reemplazo, Reducción y Refinamiento de los experimentos con animales, es organizar encuentros de consenso internacionales para la coordinación del cuidado y uso de los animales en la investigación. En una

reunión de Norecopa en septiembre de 2009, los participantes elaboraron un informe de consenso en el que se describían las acciones que deberían tomarse para mejorar el bienestar de los peces en investigación.⁴ Con posterioridad, Norecopa elaboró una lista de objetivos necesarios para aumentar la implementación de las 3Rs en la investigación con peces.⁵ Uno de estos objetivos era la creación del presente documento, cuyo objetivo es complementar el informe de la CE sobre clasificación de la severidad, proporcionando ejemplos de procedimientos científicos en los que se utilizan peces. Estos aparecen en las Tablas 1-5. Para ayudar en la comparación, se han incluido algunos ejemplos relevantes del informe de la CE, acompañados de los comentarios pertinentes. Norecopa ha creado una página web (www.norecopa.no/categories) donde se tendrá acceso a más información sobre la clasificación de la severidad de los procedimientos con peces, incluyendo estudios de campo.

Consideraciones especiales para las especies de peces

La clasificación de la severidad de los procedimientos, al utilizar peces, puede ser problemática por algunas razones.

Tabla 1 Procedimientos por debajo del umbral y su uso en peces

Estudios de comportamiento que no requieran otros procedimientos regulados, por ejemplo la observación de elección de refugio.
Exposición a un depredador artificial donde la huida a un refugio es inmediatamente posible.
Estudios de alimentación donde la restricción alimentaria no causa ningún daño. Hay que apuntar que esto es más complicado en el caso de los peces de lo que lo es para muchos mamíferos, donde un diferencial inferior o igual al 15% se ha aceptado previamente como inferior al umbral por algunas autoridades. ¹⁷ En peces, niveles significativos de pérdida de peso son en gran medida específicos de una especie o de una etapa vital, ya que muchas especies dejarán de alimentarse de forma natural en algunos momentos de su ciclo vital (tales como el desove) y pueden presentar pérdidas de peso extremas y pobres condiciones físicas. De la misma manera, los peces pueden mostrar periodos de niveles extremos de alimentación y subsecuente aumento de peso. La restricción alimentaria será con gran probabilidad más estresante para peces de cría que hayan sido seleccionados por índices de crecimiento rápidos. En estas condiciones, un estudio alimentario inferior al umbral se daría, cuando la pérdida de peso (en adultos) o la reducción del aumento de peso (formas larvales y juveniles), no sea lo suficientemente diferente como para tener consecuencias para la salud o el bienestar de aquellas de animales no privados de comida de la misma edad, sexo y etapa fisiológica.
Retirada del alimento durante un breve intervalo en relación con el ritmo alimentario normal en esa etapa del ciclo vital, por ejemplo retirada del alimento en salmónidos adultos durante un máximo de 48 horas.
Marcado utilizando tintes no tóxicos y no aversivos en el agua (por ejemplo tintes con base de tetraciclina para el marcado de otolitos).
Manipulación del fotoperiodo, por ejemplo acelerar o retrasar la maduración donde protocolos similares hayan demostrado con anterioridad no causar daño significativo.
Manipulación de la temperatura dentro de los límites de las temperaturas experimentadas por la especie en su hábitat natural, donde la velocidad del cambio es tal que el animal puede adaptarse sin estrés fisiológico significativo.
Manipulación de los gases en el agua y niveles de iones que estén dentro de los límites experimentados y tolerados por las especies en su hábitat natural, donde estos cambios tienen lugar de forma gradual.
Ejemplos del grupo de trabajo de la CE, con comentarios sobre su posible aplicación en peces
<i>Observación no invasiva de comportamiento normal sin molestar al animal.</i>
<i>Pruebas en campo abierto.</i>
<i>Añadido de marcadores inertes en la dieta para seguir el avance de la ingesta.</i>
<i>Administración de una dieta que cumpla las necesidades nutricionales completas del animal.</i>
Comentario: estos estudios deberían clasificarse como leves, en lugar de por debajo del umbral, si incluyen pesado y medición bajo anestesia, y si los animales no fueran a ser sometidos a este procedimiento con una frecuencia similar como parte rutinaria de su cría (tal como clasificación de los peces por peso para separarlos en grupos, optimizando los regímenes alimenticios o el crecimiento).
<i>Cría de animales alterados genéticamente de los que no se espera que haya fenotipos adversos detectables.</i>

Tabla 2 Procedimientos leves y su uso en peces

Estudios de comportamiento que incluyen exposición breve a un depredador artificial y en los que la huida es imposible.

Investigación de ciertas enfermedades, donde se aplican límites humanos a los primeros signos de enfermedad, o antes. Hay que apuntar que la intensidad de los signos clínicos variará según la enfermedad.

Estudios de alimentación donde no hay una reducción en la cantidad o calidad de la dieta comparada con alimentación normal, pero que implica pesado y medido bajo anestesia, excediendo lo requerido para la cría.

Manipulación delicada de los peces fuera del agua, incluyendo la administración de inyecciones o el uso de un método de identificación mínimamente invasivo, donde el período fuera del agua es breve.

Inducción y mantenimiento de anestesia utilizando una ruta y agente apropiados para la especie y etapa del ciclo vital, por ejemplo para medir y pesar peces con fines científicos.

Toma de muestras de sangre bajo anestesia donde los volúmenes y las técnicas están limitados a los recomendados en guías publicadas y/o legislación nacional.

Extracción de una pequeña parte de una aleta de un pez donde se espera rápida recuperación. El efecto de la amputación dependerá, no obstante, de diferentes factores, incluyendo la importancia funcional de la aleta y/o su inervación.

Lavado gástrico bajo anestesia.

Extracción forzada de un pequeño número de escamas para establecer el genotipo o determinar la edad.

Mantenimiento de parásitos externos en peces donde los signos clínicos o de comportamiento sean mínimos o transitorios.

Inserción de un dispositivo telemétrico en el estómago mediante una sonda bajo anestesia general, donde no se espere que el peso, forma o volumen del dispositivo vaya a tener un efecto significativo para las funciones fisiológicas.

Estudios toxicológicos donde los animales son sacrificados de forma humanitaria al inicio o antes de que se muestren signos clínicos. Al igual que en el caso de la aplicación de criterios de punto final en estudios sobre enfermedades, algunos agentes pueden causar efectos adversos severos sin que se identifiquen signos clínicos, por lo que esto no es aplicable en el caso de agentes altamente tóxicos.

Ejemplos del grupo de trabajo de la CE, con comentarios sobre su posible aplicación en peces

Confinamiento breve (<24 horas) en jaulas metabólicas.

Comentario: esto se traduce en restricción de movimiento durante un período de tiempo breve para los peces.

Estudios que implican la privación de compañía social durante un breve período de tiempo, breves períodos de alojamiento individual en especies sociales.

Modelos que exponen a los animales a estímulos nocivos asociados con dolor, sufrimiento o angustia leves, y que los animales pueden evitar con éxito.

Administración de dietas modificadas que no cumplen todas las necesidades nutricionales del animal y que se espera que causen anormalidad clínica leve a lo largo de la duración del estudio.

Cría de animales alterados genéticamente que se espera que resulte en efectos fenotípicos leves.

Estudios farmacocinéticos donde se administra una sola dosis y se toman un número limitado de muestras de sangre (un total de <10% del volumen circulatorio) y donde no se espera que la sustancia vaya a causar ningún efecto adverso detectable.

Comentario: se sabe poco de los volúmenes totales de sangre en peces, por lo que el grupo de trabajo sugiere un límite general de 1 mL/kg, tal y como recomienda el Consejo Canadiense de Cuidado Animal (Canadian Council on Animal Care, CCAC).¹⁸

Escáner no invasivo con sedación o anestesia apropiadas.

Comentario: los efectos acumulativos de la sedación o anestesia repetitivas, así como de sacar a los peces del agua, deben tenerse en cuenta para los estudios que impliquen muestreos seriados. Estos podrían entrar en la categoría "leve" dependiendo del número y frecuencia de los muestreos.

Administración de sustancias por vías subcutánea, intramuscular o intraperitoneal, sondas y vía intravenosa por los vasos sanguíneos superficiales, donde la sustancia no presenta más que un impacto leve en el animal, y los volúmenes están dentro de los límites apropiados para el tamaño y la especie.

Comentario: la vía subcutánea posiblemente no sea viable en peces; la administración intravenosa en peces es más difícil e invasiva que en mamíferos. Se han definido pocos volúmenes de administración para peces, véase CCAC.¹⁸

Procedimientos superficiales, tales como pequeñas biopsias superficiales e implantación no quirúrgica de pequeños transpondedores.

Aplicación de dispositivos telemétricos externos que sólo causan impedimentos menores a los animales, o leve interferencia con su actividad y comportamiento normales.

Retirar a los peces del agua puede aumentar la severidad

Muchos protocolos requieren la captura y manipulación de peces, lo que de por sí puede ser difícil, y algunos protocolos requieren la exposición de los peces al aire. Aunque se saca a los peces del agua de forma rutinaria para muchos procedimientos (como la vacunación) sin complicaciones, se debería considerar siempre la posibilidad de que sufran daño. Sacar a los peces del agua puede causar complicaciones tales como pérdida de escamas o colapso de las branquias, y puede producir estrés incluso en ausencia de daño físico. Esto puede sumarse a la intensidad general del

procedimiento, con implicaciones tanto científicas como de bienestar animal.⁶⁻⁹ Por ejemplo, los resultados de pruebas toxicológicas se han visto afectados por el grado de estrés y molestia por causa de la manipulación experimentada por los peces.¹⁰

Es una buena práctica evitar la manipulación de los peces, o manipularlos en el interior de tanques para evitar la exposición directa al aire, siempre que sea posible.¹¹ La manipulación podría refinarse utilizando sedación o anestesia, teniendo en cuenta que algunos agentes anestésicos o sedantes podrían ser aversivos, por lo que los beneficios potenciales de su uso deberían considerarse en

Tabla 3 Procedimientos moderados y su uso en peces

Sacar a los peces del agua por un tiempo prolongado con el objetivo de producir estrés. Es probable que el impacto en los peces varíe según la especie, dependiendo de un número de factores tales como su tolerancia a la manipulación y a los niveles bajos de oxígeno, y por supuesto al nivel de estrés requerido por el protocolo. El grupo de trabajo sugiere que este procedimiento será generalmente moderado, aunque bajo diferentes circunstancias podría clasificarse como leve o como intenso.

“Sacudir” a los peces en una red fuera del agua para provocar una respuesta de estrés.

Estudios de enfermedades donde se conoce que la enfermedad en cuestión causa la muerte, pero donde el estudio puede controlarse para que no haya mortalidad; no obstante, se altera la salud normal sin que sea por un tiempo prolongado ni comprometa seriamente la salud del pez.

Toma de muestras de orina mediante la inserción de un catéter en la vejiga y la aplicación de material de sutura apropiado alrededor de la cloaca bajo anestesia.

Canulación de vasos sanguíneos seguida de tomas sucesivas de muestras de sangre dentro de los límites aceptables de extracción sanguínea, lo que implica que no se causen adaptación fisiológica significativa o anemia.

Toma de muestras de sangre donde los volúmenes son mayores que los recomendados por guías publicadas y/o legislación nacional, o donde las técnicas de extracción puedan causar efectos adversos más que leves.

Inyección intraperitoneal de sustancias que se conoce que causan adherencias.

Amputación de aletas en condiciones en las que es probable que se produzca una infección, por ejemplo en agua caliente (para especies adaptadas a agua fría), o amputación de partes sustanciales de una aleta, o amputación de parte de una aleta importante funcionalmente.

Extracción de escamas para promover el desarrollo de hongos.

Implantación intramuscular o intraperitoneal de dispositivos telemétricos mediante procedimientos quirúrgicos (bajo anestesia general).

Implantación externa de dispositivos telemétricos donde hay un riesgo de interferencia con la actividad y comportamiento normales.

Ejemplos del grupo de trabajo de la CE, con comentarios sobre su posible aplicación en peces

Uso de jaulas metabólicas que causen restricción moderada del movimiento durante un tiempo prolongado (hasta 5 días)

Comentario: esto se traduce en restricción del movimiento que interfiere con actividades normales durante un período significativo pero no prolongado para peces.

Recrear huida y reacciones de evasión donde el animal es incapaz de escapar o evitar el estímulo, y que se espera que resulten en estrés moderado.

Estudios con dietas modificadas que no cubren todas las necesidades nutricionales del animal y se espera que causen anormalidad clínica moderada en los límites temporales del estudio.

Cría de animales con modificaciones genéticas que se espera que resulten en un fenotipo con efectos moderados.

Exposición frecuente a sustancias de prueba que produzcan efectos clínicos moderados, y extracción de muestras de sangre (>10% volumen sanguíneo) en un animal consciente en un período de pocos días sin reemplazo del volumen.

Comentario: véase comentario en la Tabla 2 con respecto a los volúmenes totales de sangre.¹⁸

Cirugía bajo anestesia general y analgesia apropiada, asociada a dolor post-operatorio, sufrimiento o condiciones generales afectadas.

Estudios con dosis agudas, test de toxicidad y carcinogénicos, con límites no letales.

Tabla 4 Procedimientos severos y su uso en peces

Densidades de población muy elevadas donde se produce un daño físico significativo.

Restricción intensa del movimiento que interfiere con la actividad normal durante un período de tiempo prolongado.

Cambio de agua dulce a salada con fines científicos (fuera de los procedimientos de cría apropiados según la especie), donde no se puede predecir si los peces podrán adaptarse al cambio sin efectos severos o mortalidad.

Infecciones que impliquen una enfermedad prolongada, donde un empeoramiento significativo de las condiciones normales u otros signos clínicos, que produzcan cambios sustanciales y prolongados en el estado de salud normal, sean requeridos para los fines del estudio.

Estudios de enfermedades en los que se sepa que la enfermedad en cuestión produce la muerte y el estudio no pueda controlarse para evitar la mortalidad.

Métodos de marcado de peces que causen mortalidad elevada o interferencias significativas con los comportamientos normales, tales como algunas técnicas de marcado en la boca.

Ejemplos del grupo de trabajo de la CE, con comentarios sobre su posible aplicación en peces

Completo aislamiento durante periodos prolongados para especies sociales.

Pruebas de la potencia de una vacuna caracterizadas por una disfunción persistente de la condición del animal, enfermedad degenerativa que lleve a la muerte del animal, o asociada con dolor, sufrimiento o angustia prolongados.

Cría de animales con enfermedades genéticas de los que se espera que sufran disfunción intensa o permanente de su condición general.

Intervenciones quirúrgicas u otras intervenciones bajo anestesia general que se espera que resulten en dolor, sufrimiento o angustia posoperatorios severos o moderados persistentes; o en severo y persistente disfunción de las condiciones generales del animal.

Pruebas de toxicidad donde el límite es la muerte, o se espera que haya muertes y se induzcan estados patológicos graves.

Pruebas de nado forzoso con la extenuación como límite.

Comentario: La intensidad del ejercicio forzoso parece ser menor en peces que en mamíferos, porque (i) normalmente se utiliza un estímulo sin posibilidad de escape (electroshocks) para hacer que los mamíferos corran y (ii) parece que los peces desisten a continuar nadando antes que los mamíferos. Por lo tanto es probable que este procedimiento pueda clasificarse como moderado en peces.

Tabla 5 Procedimientos por encima del umbral y su uso en peces

Estudios patofisiológicos de enfermedad en los que se requiera la tardía caracterización del patógeno, por lo que los animales sufrirán dolor, sufrimiento o angustia considerables durante largos períodos de tiempo.

Descripción de curvas de supervivencia tras la infección con un patógeno. Hay que apuntar que algunas enfermedades pueden causar que los peces empeoren y mueran con mucha rapidez, casos en los que el estudio no estaría por encima del umbral.

Descripción de curvas de supervivencia o pruebas similares (por ejemplo tras la exposición a una entidad química, donde la muerte es el límite y está precedida por dolor, sufrimiento o angustia considerables y prolongados).

relación con el estrés causado a los peces. Lo ideal sería añadir el sedante o anestésico al tanque para evitar la manipulación, aunque esto no siempre es posible.

El Grupo de Trabajo sugiere que podría ser posible reducir el impacto negativo de los factores estresantes, tales como el uso de redes, acostumbrando a los peces a que los asocien con circunstancias positivas. Por ejemplo, una técnica podría ser ofrecer una recompensa en forma de comida cuando el pez entra en la red, retrasando la hora rutinaria de alimentación hasta después de este procedimiento si es necesario.

La severidad de muchos procedimientos es específica de cada especie dentro de los peces

Existen más de 25.000 especies de peces, que viven en un amplio número de hábitats. Considerar a “los peces” como un grupo tiene probablemente aún menos sentido que el intentar establecer unas pautas para “los mamíferos”. Dado que los peces son los más diversos dentro de los vertebrados, es muy probable que el impacto de determinados procedimientos varíe entre especies. Los criterios para la categorización de la severidad en peces dentro de proyectos individuales deberían por lo tanto centrarse en variaciones individuales y específicas de cada especie en cuanto a sufrimiento asociado con los procedimientos y otras circunstancias estresantes, tales como la captura, manipulación e inmovilización, en especial cuando se llevan a cabo fuera del agua.

Además del alto grado de variación interespecífica, muchas especies de peces sufren cambios fisiológicos considerables, como parte natural de su ciclo vital. Esto podría significar que el mismo procedimiento afectaría a diferentes grupos de edad de manera diferente. Por todas estas razones, este informe sólo puede proporcionar unas pautas generales y debería interpretarse apoyándose en la opinión de especialistas en cada especie. Por desgracia, en este momento no se dispone de unas pautas específicas para cada especie para el refinamiento del cuidado y uso de peces; no obstante, esto no debería ser una excusa para aceptar regulaciones menos estrictas que aquellas que se aplicarían en vertebrados terrestres.

La detección y alivio del dolor, sufrimiento y angustia en peces pueden ser problemáticos

Un informe reciente que identificaba las lagunas de conocimiento relativas al bienestar de los peces utilizados en investigación resaltaba la necesidad de mejores indicadores del dolor, sufrimiento y angustia.¹² Los indicadores de los que se dispone actualmente incluyen signos clínicos en peces individuales (por ejemplo, ritmo respiratorio, consumo de alimentos y estado de salud) y signos de estrés en grupos de peces (tales como comportamiento social y nivel de actividad). Estos indicadores deberían observarse y registrarse a diario.¹¹

Las técnicas para controlar el dolor en peces se encuentran en el inicio de su desarrollo, y están en gran parte basadas en la extrapolación de protocolos desarrollados para su uso en mamíferos. Hay una necesidad urgente de desarrollar métodos efectivos para detectar y aliviar el sufrimiento para cada una de las especies comúnmente utilizadas. Disponer de mejores indicadores no sólo facilitaría la correcta predicción y clasificación de la intensidad, sino que también ayudaría a asegurar el alivio efectivo del dolor, lo que permitiría clasificar el procedimiento como más leve.

La percepción social de los peces puede variar

Tradicionalmente ha habido más tolerancia hacia el estrés, enfermedad y mortalidad como límites en la investigación con peces, comparado con la investigación que utiliza mamíferos, lo que probablemente refleja actitudes generales hacia los peces en la sociedad.¹³ Estas actitudes deberían cuestionarse dentro del ámbito de la investigación.

El índice de mortalidad en peces puede ser elevado de manera natural

La evaluación de la intensidad de un procedimiento en peces, se complica por el hecho de que a menudo, se observa un alto índice de mortalidad en poblaciones naturales, en particular durante las etapas de desarrollo. En ocasiones, esto puede hacer que sea difícil diferenciar las muertes causadas por el procedimiento, de las producidas por la propia mortalidad natural, aunque la mortalidad en peces adultos, es más a menudo resultado de técnicas o sistemas deficientes de cría que la mortalidad larval.

Clasificación de la intensidad de procedimientos que

utilizan peces

Los ejemplos en las Tablas 1-5 siguen la clasificación utilizada en el informe de la CE. Aquellas que son idénticas (o muy próximas) a los ejemplos proporcionados en el informe de la CE están agrupadas en la mitad inferior de las tablas.

Al considerar estos ejemplos, es importante apuntar que se da por hecho que todos los procedimientos, incluyendo la captura y manipulación, están completamente perfeccionados y llevados a cabo de forma óptima por personas competentes. Además, la evaluación de la intensidad debería incluir una evaluación general del daño o angustia total causados por un procedimiento o estudio, esto es, el sufrimiento acumulativo causado por elementos potencialmente estresantes. Por ejemplo, factores tales como los parámetros de calidad del agua, las técnicas de manipulación y las de cría pueden afectar a la intensidad acumulativa. Procedimientos repetitivos que no son especialmente invasivos o incluso por debajo del umbral pueden convertirse, después de un cierto tiempo, en sufrimiento significativo para el animal, en especial si no se les da tiempo suficiente para recuperarse entre medias. Esto es especialmente relevante para los peces cuando los procedimientos implican sacarlos del agua, por ejemplo la toma reiterada de muestras de sangre puede resultar en un mayor sufrimiento acumulativo para los peces de lo que es para los mamíferos. Todo esto debe tenerse en cuenta, en especial al considerar los procedimientos clasificados en este documento como “leves” (véase Tabla 2). Otros puntos que deben tenerse en cuenta son que la duración de un procedimiento es relevante para su clasificación de intensidad, y que los cambios en la definición y aplicación de un límite pueden trasladar un procedimiento de una categoría a otra.

Las pautas en este documento difieren del informe de la CE, en que tienen en cuenta los métodos de identificación tales como el marcado y seguimiento, porque en peces estos pueden ser lo suficientemente invasivos como para contribuir a la severidad acumulativa del procedimiento, incluso si el seguimiento se lleva a cabo con fines de cría. En estos casos, el impacto sobre el animal debería tenerse en cuenta, sin que dependa del fin del procedimiento. Por ejemplo, el marcado por el sistema CWT (Coded Wire Tag), introduciendo marcas en la nariz, la aleta dorsal u otra área cartilaginosa aumenta el dolor y malestar potenciales. Hay otros aspectos relacionados con el seguimiento de especies acuáticas pueden incrementar la intensidad; por ejemplo, las etiquetas Carlin pueden estropearse por el efecto de algas y moluscos, lo que lleva a un incremento del índice de mortalidad.¹⁴ Además, el grupo de trabajo cree que hay una necesidad de aumentar la investigación de los efectos de las

técnicas de marcado más comunes, tales como la eliminación de la aleta adiposa, lo que podría tener consecuencias más graves de lo que comúnmente se cree.¹⁵

El informe de la CE también contiene muchos ejemplos de procedimientos que normalmente no se llevan a cabo en peces. También existe un cierto número de procedimientos, tales como la electropesca para la captura que no se usan en mamíferos y cuya intensidad variará con mucha probabilidad entre especies, y también depende del equipamiento que se utilice.

Por debajo del umbral

Los ejemplos de la Tabla 1 se consideran por debajo del umbral más bajo para la regulación en la Directiva de la CE. El Informe del Grupo de Expertos de la CE lo define de la siguiente manera:

El umbral más bajo se excede en caso de que los animales experimenten un nivel de dolor, sufrimiento o angustia equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja. Además, la administración de anestesia con fines científicos (a excepción de la eutanasia) elevará el procedimiento por encima del umbral. Es necesario el establecimiento de otros tipos de umbrales inferiores para determinar las equivalencias en procedimientos específicos de investigación... Es importante indicar que la aplicación simultánea de varias de estas técnicas (“por debajo del umbral”) en un mismo animal, podría requerir, que el procedimiento pasase a una clasificación de leve o elevado.³

Leve

Los ejemplos de la Tabla 2 corresponden a la categoría “leve” en la Directiva de la CE. El Informe del Grupo de Expertos de la CE lo define de la siguiente manera:

Procedimientos en animales a consecuencia de los cuales los animales pueden experimentar dolor, sufrimiento o angustia leves durante un periodo de tiempo breve. También los procedimientos que no implican alteración significativa del bienestar o condición general de los animales.³

Moderado

La Tabla 3 presenta ejemplos dentro de la categoría “moderado” en la Directiva de la CE, definida por el Informe del Grupo de Expertos de la CE como:

Procedimientos en animales a consecuencia de los cuales los animales pueden experimentar dolor, sufrimiento o angustia moderados durante un periodo de tiempo breve, o dolor, sufrimiento o angustia leves pero durante un periodo de tiempo prolongado. También los procedimientos que probablemente causarán una alteración moderada del bienestar o condición general de los animales.³

Severo

Los ejemplos de la Tabla 4 serían “intensos” de acuerdo con la Directiva de la CE, definidos por el Informe del Grupo de

Expertos de la CE como:

Procedimientos en animales a consecuencia de los cuales los animales pueden experimentar dolor, sufrimiento o angustia intensos durante un periodo de tiempo breve, o dolor, sufrimiento o angustia moderados durante un periodo de tiempo prolongado. También los procedimientos que probablemente causarán una alteración grave del bienestar o condición general de los animales.³

Por encima del umbral

La Tabla 5 presenta ejemplos que en la opinión del grupo de trabajo estarían por encima del umbral superior. De acuerdo con el Informe del Grupo de Expertos de la CE:

El umbral superior se considera excedido si los animales experimentan dolor, sufrimientos o angustia intensos durante un periodo de tiempo prolongado y sin perspectivas de poder aliviarse.³

El Artículo 55 de la Directiva 2010/63/EU permite a los Estados Miembros que consideren necesario consentir el uso de un procedimiento que exceda el umbral superior adoptar una medida provisional que permita el procedimiento.² El Estado Miembro deberá entonces informar a la Comisión, que expondrá el caso a un Comité que decidirá consentir la medida provisional o requerir que se revoque. El Informe del Grupo de Trabajo de la CE no proporciona ningún ejemplo de procedimientos por encima del umbral superior.

Conclusión

Muchos procedimientos que a menudo se llevan a cabo en animales de laboratorio terrestres presentan implicaciones muy diferentes para el bienestar al aplicarse en peces, en parte por las dificultades inherentes a la captura y manipulación de especies acuáticas. Esto, junto con la variación biológica presentada en el amplio número de especies de peces implicadas, y nuestro conocimiento limitado de las necesidades para su bienestar, hace que sea complicado ofrecer pautas detalladas para clasificar la intensidad de los procedimientos en peces. Muchos procedimientos comunes son sin duda un reto mucho mayor en peces que en animales terrestres: estos incluyen (pero no se limitan a) el marcado, la toma de muestras de sangre, la anestesia y la analgesia.

Los ejemplos en este documento pretenden facilitar la clasificación de intensidad, ser una ayuda para la discusión y estimular más investigación en este campo. Será responsabilidad del regulador individual, investigador y encargado del bienestar animal asegurar que las 3Rs se cumplen totalmente, incluyendo criterios de punto final humanitarios, sin tener en cuenta la categoría en la que se ha clasificado un procedimiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores están muy agradecidos a los comentarios que han recibido de los participantes en los encuentros internacionales de consenso de Norecopa y de otros expertos en peces durante la elaboración de este documento. Son bienvenidos nuevos comentarios, que podrán remitirse a Penny Hawkins (phawkins@rspca.org.uk) o Adrian Smith (adrian.smith@vetinst.no).

REFERENCIAS

- 1 Russell WMS, Burch RL. *The Principles of Humane Experimental Technique*. London: Methuen & Co Ltd, 1959
- 2 Council of the European Union. Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. Directive 8869/10. Brussels: Council of the European Union, 2010. See http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/proposal_en.htm (last checked 16 December 2010)
- 3 Expert Working Group on Severity Classification Criteria. Expert Working Group on Severity Classification of Scientific Procedures Performed on Animals: Final Report. Brussels: European Commission, 2009. See http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/report_ewg.pdf (last checked 16 December 2010)
- 4 Participants at the International Consensus Meeting, Gardermoen, 22–24 September 2009. Harmonisation of the Care and Use of Fish in Research. Oslo: Norecopa, 2009. See <http://www.norecopa.no/norecopa/vedlegg/Consensus-sep09.pdf> (last checked 16 December 2010)
- 5 Norecopa. Tasks Needed to Increase Implementation of the 3Rs in Fish Research. Oslo: Norecopa, 2010. See <http://www.norecopa.no/norecopa/vedlegg/Fish-tasks-prioritert.pdf> (last checked 16 December 2010)
- 6 Pickering AD. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture* 1992;100:125–39
- 7 Wendelaar Bonga SE. The stress response in fish. *Physiol Rev* 1997;77:591–625
- 8 Brydges NM, Boulcott P, Ellis T, et al. Assessment of stress responses induced by different handling methods in three species of fish. *Appl Anim Behav Sci* 2009;118:137–43
- 9 Young PS, Cech JJ. Physiological stress responses to serial sampling and confinement in young-of-the-year striped bass, *Morone saxatilis*. *Comp Biochem Physiol A, Comp Physiol* 1993;105:239–44
- 10 Pottinger TG, Calder GM. Physiological stress in fish during toxicological procedures: a potentially confounding factor. *Environ Toxicol Water Qual* 1995;10:135–46
- 11 Reed B, Jennings M. Guidance on the Housing and Care of Zebrafish (*Danio rerio*). Southwater: RSPCA Research Animals Department, 2010. See <http://rspca.org.uk/zebrafish> (last checked 18 April 2011)
- 12 Working Group appointed by Norecopa and The Research Council of Norway. Fish in Research – Environmental Requirements and Welfare Indicators for Fish. A Review of Research Needs. Oslo: The Research Council of Norway, 2009. See <http://tinyurl.com/3dpvzox> (last checked 19 April 2011)
- 13 Lund V, Mejdell CM, Røcklinsberg H, et al. Expanding the moral circle: farmed fish as objects of moral concern. *Dis Aquat Org* 2007;75: 109–18
- 14 Strand R, Finstad B, Lamberg A, et al. The effect of Carlin tags on survival and growth of anadromous Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Environ Biol Fishes* 2002;64:275–80.