

# Técnica de biopsia muscular con aguja cortante fina en peces pequeños

Pablo Sánchez, Pedro Pablo Ambrosio, Lourdes Reig, Rosa Flos.

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya. C/Comte d'Urgell 187. 08036, Barcelona, España.

## Resumen

Se desarrolló una técnica de biopsia muscular con aguja cortante fina para su aplicación en peces pequeños, analizando la supervivencia y el crecimiento tras 3 biopsias sucesivas a lo largo del tiempo frente a un grupo control. Se usó como modelo el pez dorado (*Carassius auratus* L.). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos ni en la supervivencia (94,4% grupo control, 97,2% grupo biopsia) ni en el peso medio final ( $16,05 \pm 0,72$  g grupo control,  $14,92 \pm 0,53$  g grupo biopsia) ni en las tasas de crecimiento específicas ( $0,18 \pm 3,3 \cdot 10^{-3}$  grupo control,  $0,12 \pm 4,16 \cdot 10^{-2}$  grupo biopsia). Esta técnica se muestra como una herramienta útil para determinaciones *in vivo* de parámetros bioquímicos musculares, como la relación RNA/DNA, metabolitos musculares, parámetros de calidad, etc.

## Justificación

El análisis de determinados parámetros bioquímicos y fisiológicos en músculo de peces implica normalmente el sacrificio del animal, imposibilitando la repetición de las medidas sobre el mismo individuo a lo largo del tiempo. La técnica de biopsia con aguja cortante fina puede ayudar a solucionar este problema evitando el sacrificio de los animales. Esta técnica, aunque con agujas de mayor calibre y peces más grandes, ya fue realizada por Grant en 1996, pero el procedimiento no fue descrito con detalle ni se valoró la influencia de la técnica sobre la supervivencia y el crecimiento de los peces.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y valorar la eficiencia de una técnica de biopsia capaz de extraer pequeñas muestras de músculo de peces pequeños.

## Material y Métodos

Se utilizaron 72 ejemplares adultos de *Carassius auratus* de  $14,38 \pm 0,37$  g (media  $\pm$  SEM) distribuidos al azar en dos grupos (control y biopsia). Cada grupo estaba constituido por 3 unidades experimentales. Éstas fueron repartidas en 3 acuarios según un diseño en bloques (ANOVA de 1 vía) completamente aleatorizado. Cada acuario contenía 2 unidades experimentales que compartían sistema de filtración. Los parámetros físico-químicos del agua se monitorizaron periódicamente. El agua fue esterilizada por UV cada 2-3 días. El fotoperiodo consistió en 12L y 12O. Se alimentó con una ración diaria del 1,6% del peso corporal.

---

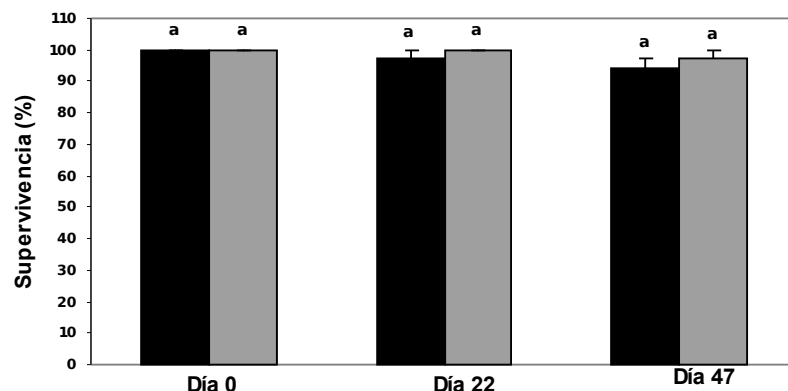
Este abstract se publicó originalmente como: Sánchez, P., Ambrosio, P.P., Reig, L. y Flos, R. 2003. Técnica de biopsia muscular con aguja cortante fina en peces pequeños. IX Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de Resúmenes. 360-362. Ed: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.

Las medidas biométricas y las biopsias se llevaron a cabo los días 0, 22 y 47 del experimento. El procedimiento seguido durante los muestreos en los dos grupos sólo difirió en la biopsia realizada a los peces del grupo biopsia. Cada pez fue anestesiado localmente mediante una inyección intramuscular de lidocaína (9µl de lidocaína al 2%) en el músculo epaxial (músculo blanco) del flanco izquierdo, por debajo del primer radio de la aleta dorsal. Inmediatamente después se pesó y midió la longitud estándar del pez. Aproximadamente 2 minutos tras la inyección del anestésico se practicó la biopsia en las inmediaciones del lugar de la punción. Para ello se usó una aguja BIOPINCE (Amedic) del calibre 18 G, montada sobre una cánula guía coaxial de fabricación propia consistente en una aguja de acero inoxidable unida a un tubo de plástico solidario con la pistola de biopsia. Este sistema evita extraer tejido epidérmico (que puede ser una contaminación para según qué análisis), favorece la cicatrización y permite regular el recorrido de la aguja. Tras el disparo se recuperó la biopsia de tejido muscular y se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido.

Como método profiláctico se aplicó una pomada antibiótica de oxitetraciclina en el lugar de la herida y se trató la zona con povidona yodada al 10%. Los peces control siguieron el mismo protocolo hasta llegar a la biopsia, permaneciendo fuera del agua el mismo tiempo que los peces del grupo biopsia.

Se calculó la tasa de crecimiento específico (SGR) siguiendo la fórmula:  $SGR = 100(\ln W_2 - \ln W_1)n^{-1}$ , donde  $W_1$  y  $W_2$  son el peso inicial y el peso final respectivamente y  $n$  es el número de días del periodo entre muestreos.

Las diferencias entre la supervivencia, los pesos y las SGR de cada grupo, fueron analizadas con el software estadístico SPSS v9.0 mediante ANOVA de 1 vía ( $p < 0,05$ ). Cuando no hubo homogeneidad en las varianzas se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).



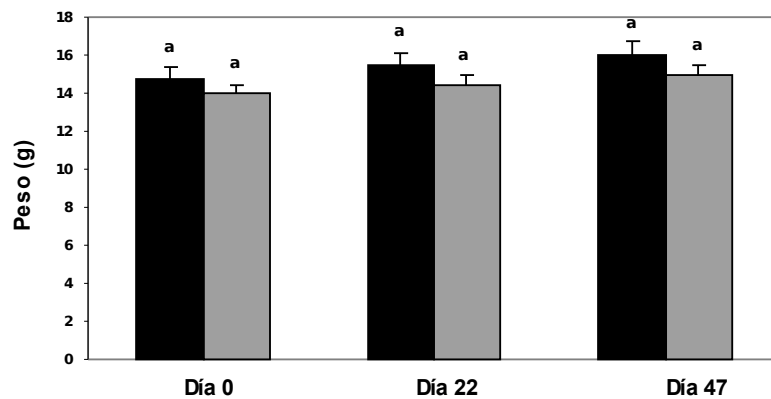
**Fig. 1.** Porcentaje de supervivencia en los días 0, 22 y 47 de la experiencia para los grupos control (en negro) y biopsia (rayado). Letras iguales dentro de cada día de muestreo indican que no hay diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). Media  $\pm$  SEM.

## Resultados y discusión

Fue posible extraer pequeños cilindros de tejido muscular de 1,1 mm de diámetro por 1,3 mm de largo sin afectar de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a la supervivencia (Fig. 1) ni al crecimiento (Fig. 2). Las tasas de crecimiento específico no fueron significativamente diferentes ( $0,18 \pm 3,3 \cdot 10^{-3}$  grupo control,  $0,12 \pm 4,16 \cdot 10^{-2}$  grupo biopsia,  $p < 0,05$ ).

El pez más pequeño al que se le realizaron las 3 biopsias pesaba 10,7 g inicialmente.

La técnica de biopsias sucesivas con aguja cortante fina es adecuada para la toma de muestras de tejido *in vivo* en peces de pequeño tamaño sin afectar a la supervivencia ni al crecimiento en periodos cortos.



**Fig. 2.** Pesos medios en gramos en los días 0, 22 y 47 de la experiencia para los grupos control (en negro) y biopsia (rayado). Letras iguales dentro de cada día de muestreo indican que no hay diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). Media  $\pm$  SEM.