

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*) EXPOSTOS A BANHOS COM PRAZIQUANTEL.

Kamila Oliveira dos SANTOS¹; Elizabeth Gusmão AFFONSO²; Patricia Oliveira MACIEL³.

¹Bolsista PIBIC/FAPEAM/INPA; ²Orientadora CPAQ/INPA; ³Co-orientadora CPAQ/INPA.

1. Introdução

A utilização de quimioterápicos para o controle de enfermidades nas pisciculturas pode ser viável quando a dosagem correta do medicamento é usada e quando o peixe for exposto por um tempo tolerável a ação da substância. No entanto, o uso indiscriminado de medicamentos, a falta de conhecimento técnico-científico sobre as questões sanitárias do cultivo das espécies e a aplicação das boas práticas de manejo (BPM) que minimizam a influência dos agentes estressores têm sido uns dos principais entraves enfrentados na piscicultura. Alguns produtos químicos têm sido testados e aplicados no controle de parasitas de peixes, e o anti-helmíntico praziquantel tem demonstrado bons resultados. O praziquantel (PZQ) é um antiparasitário amplamente usado na medicina humana no tratamento de trematódeos e cestódeos, e, desde 1978, sua aplicação vem sendo estudada em outros animais (Cioli, 2003; Souza, 2008). Em peixes, o PZQ já foi testado em carpas (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758), por Sudová *et al.* (2008), em rockfish *Sebastes schlegeli* (Kim *et al.*, 2001), em pacus (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) (Onaka *et al.*, 2003), entre outros. Embora diversos trabalhos descrevam o uso deste quimioterápico no controle de parasitas em peixes, é fundamental a realização de testes para avaliar a sensibilidade dos organismos não alvos, como os peixes, à exposição deste produto. Considerando o tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) como uma espécie de destaque na piscicultura regional, devido a sua aceitação no mercado de pescados e ao amplo conhecimento técnico e científico sobre sua biologia e métodos de criação (Val, 1995), esta foi a espécie escolhida para este estudo.

Os objetivos deste estudo foram avaliar os efeitos do PZQ administrado na forma de banhos de longa duração (24 horas), em diferentes concentrações, e avaliar a recuperação dos peixes após a exposição a este fármaco.

2. Materiais e métodos

Os juvenis de tambaquis adquiridos de um piscicultor local permaneceram por 3 meses em viveiros escavados e alimentados com ração comercial com 36 % de proteína bruta. Para o bioensaio foram utilizados 216 peixes ($31,59 \pm 7,37$ g) aclimatados no ambiente experimental por uma semana e mantidos em jejum por 24 horas antes da exposição. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde os peixes foram distribuídos aleatoriamente em caixas de PVC de 250 litros abastecidas com água de poço artesiano e mantidas em sistema estático. As soluções de praziquantel foram administradas na forma de banhos, em 4 concentrações distintas, preparadas em triplicata: 0 (controle); 12,5; 25 e 35 mg.L⁻¹. Os peixes ficaram expostos por 24 horas ao PZQ. Foram coletadas amostras de sangue de seis peixes de cada tratamento e suas réplicas em três tempos: imediatamente após a exposição (tempo 0), e 24 e 96 horas (período de recuperação do banho terapêutico). Para isso, os peixes foram anestesiados de acordo com as recomendações de Gomes *et al.* (2001) e, posteriormente, coletado o sangue por punção do vaso caudal. Foram realizadas as seguintes análises hematológicas: Hematócrito (Ht), pelo método de microhematócrito; contagem de eritrócitos (RBC) em solução de Natt e Herrick (1952) e hemoglobinometria ([Hb]) pelo método da cianometahemoglobina. O volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e a hemoglobina corpuscular média (HCM) foram calculados segundo Wintrobe (1934). A determinação da glicose plasmática e proteínas plasmáticas totais (PPT) em plasma sanguíneo foram realizadas por método colorimétrico. Os parâmetros físicos e químicos da água foram acompanhados com utilização de equipamentos multiparâmetros e coleta de água para análises laboratoriais. A análise estatística dos dados consistiu na realização de análises de variância (ANOVA) de um fator (concentrações), visando identificar as variações dos parâmetros hematológicos em relação ao controle em cada tempo de coleta.

3. Resultados e discussão

Os parâmetros de qualidade da água permaneceram estáveis durante todo o período experimental (Tabela1), encontrando-se dentro dos limites toleráveis para a espécie em estudo (Arana, 2004).

Tabela 1- Parâmetros de qualidade da água onde permaneceram os tambaquis (*Colossoma macropomum*) logo após (tempo 0) a exposição a diferentes concentrações de praziquantel e 24 e 96 horas após (período de recuperação).

Tempos de coleta (horas)	Parâmetros da água	Concentrações de praziquantel (mg/L ⁻¹)			
		0	12,5	25	35
0 h	pH	5,93 ± 0,74	4,71 ± 0,10	5,01 ± 0,44	5,62 ± 0,77
	Condutividade elétrica (µs.cm ³⁻¹)	24,5 ± 3,35	20,5 ± 0,38	19,6 ± 2,37	20,8 ± 0,51
	Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	6,21 ± 0,24	4,53 ± 11,46	4,00 ± 1,24	2,84 ± 2,15
	Temperatura (°C)	27,40 ± 0,20	27,40 ± 0,06	27,40 ± 4,35	27,47 ± 0,31
	Dióxido de Carbono (mg.L ⁻¹)	8,33 ± 2,29	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
	Alcalinidade total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	25,00 ± 5,00	20,00 ± 5,00	21,67 ± 2,89	25,00 ± 5,00
	Dureza total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	21,67 ± 2,89	25,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	23,33 ± 5,77
	Amônia total (mg.L ⁻¹)	2,07 ± 0,54	0,46 ± 0,26	0,18 ± 0,15	0,64 ± 0,55
	Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,01 ± 0,00	0,50 ± 0,45	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
24 h	pH	4,45 ± 0,06	4,68 ± 0,03	4,41 ± 0,04	4,21 ± 0,14
	Condutividade elétrica (µs.cm ³⁻¹)	21,9 ± 0,70	21,6 ± 0,50	22,1 ± 0,70	21,8 ± 1,67
	Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	5,11 ± 0,46	5,19 ± 0,43	5,03 ± 1,06	4,84 ± 0,46
	Temperatura (°C)	26,77 ± 0,25	26,60 ± 0,26	26,83 ± 0,06	27,10 ± 0,44
	Dióxido de Carbono (mg.L ⁻¹)	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
	Alcalinidade total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	18,33 ± 2,89	18,33 ± 2,89	18,33 ± 5,77	18,33 ± 2,89
	Dureza total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	18,33 ± 2,89	18,33 ± 5,77	18,33 ± 2,89	18,33 ± 2,89
	Amônia total (mg.L ⁻¹)	0,41 ± 0,06	0,48 ± 0,08	0,36 ± 0,01	0,25 ± 0,14
	Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
96 h	pH	4,45 ± 0,10	5,38 ± 1,14	4,55 ± 0,16	4,30 ± 0,09
	Condutividade elétrica (µs.cm ³⁻¹)	21,47 ± 0,47	21,6 ± 0,62	21,33 ± 0,86	22,97 ± 0,38
	Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	5,26 ± 0,50	5,44 ± 0,98	4,33 ± 1,74	5,20 ± 0,78
	Temperatura (°C)	27,20 ± 0,20	27,27 ± 0,60	27,10 ± 0,46	28,23 ± 0,15
	Dióxido de Carbono (mg.L ⁻¹)	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00
	Alcalinidade total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	18,33 ± 2,89	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	18,33 ± 2,89
	Dureza total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	18,33 ± 2,89	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	18,33 ± 2,89
	Amônia total (mg.L ⁻¹)	0,30 ± 0,37	0,24 ± 0,16	0,28 ± 0,22	0,31 ± 0,08
	Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00

Imediatamente após a administração do PZQ, aproximadamente 70% dos peixes que receberam as maiores concentrações (25 e 35 mg.L⁻¹) apresentaram efeitos colaterais: letargia, natação errática, aumento dos lábios inferiores caracterizando a utilização de respiração na superfície aquática (ASR) e aumento na produção de muco durante as primeiras 24 horas de exposição. Logo após a exposição, houve mortalidade de 12,96 % (7/54) dos peixes expostos à maior concentração de praziquantel (35 mg.L⁻¹). Durante período de 96 horas após o banho, os peixes apresentaram inapetência.

Nos parâmetros hematológicos dos peixes do controle (sem praziquantel) no tempo 0 (imediatamente após a exposição), foram observadas alterações hematológicas significativas (p<0,05) entre todos os parâmetros sanguíneos nas concentrações de 25 e 35 mg.L⁻¹, exceto hematócrito e proteínas plasmáticas totais, caracterizando o efeito do PZQ sobre os tambaquis (Tabela 2). A hiperglicemia observada nestes peixes (tempo 0) representa uma resposta secundária de estresse com utilização de energia proveniente da glicose para manutenção das funções fisiológicas. Embora este fármaco não seja biodisponível na água devido a sua alta lipofilia, as alterações nas maiores concentrações testadas, provavelmente, ocorreram devido a maior assimilação do PZQ pelos peixes. Considerando que a dose tem relação direta com a quantidade de fármaco absorvida (Azevedo e Chasin, 2003), sugere-se que as maiores concentrações de PZQ desencadearam efeitos maiores e mais rápidos nos peixes.

Após 24 horas de exposição (período de recuperação) não foram observadas alterações significativas nos valores dos parâmetros sanguíneos dos peixes expostos às maiores concentrações (25 e 35 mg.L⁻¹) com relação ao controle, caracterizando um retorno à homeostase nestes animais. Contudo, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas nos peixes expostos à menor concentração (12,5 mg.L⁻¹). Esta pode ter sido uma resposta tardia, ou um efeito tardio a esta concentração de PZQ, devido a lenta absorção do fármaco relacionada a dose. Em 96 horas após a exposição não foram observadas alterações fisiológicas nos peixes expostos ao praziquantel com relação ao controle, indicando que após este período os peixes conseguiram retornar à homeostase, mesmo tendo sofrido variações em suas funções fisiológicas. Os valores de proteínas totais não apresentaram nenhuma alteração significativa em todas as amostragens, indicando que, pode ser possível, que este parâmetro não seja um bom indicador de estresse em tambaquis expostos ao PZQ.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos de tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos ao praziquantel em banhos de longa duração (24 horas), imediatamente após o banho (tempo 0) e 24 e 96 horas após (período de recuperação). Ht (hematócrito), RBC (contagem de eritrócitos), [Hb] (concentração total de hemoglobina), VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média). Médias e desvios padrão seguidos de letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tempos de coleta (horas)	Parâmetros hematológicos	Concentrações de praziquantel (mg.L ⁻¹)			
		0	12,5	25	35
0	Ht (%)	42,86 ± 7,98	39,69 ± 6,65	39,19 ± 6,10	41,25 ± 5,50
	RBC (x10 ⁶ eritrócitos/μL)	1,64 ± 0,15 a	1,55 ± 0,23 a	1,45 ± 0,25 ab	1,33 ± 0,20 b
	Hb (g/dL)	8,82 ± 0,93 a	8,41 ± 1,36 ab	7,66 ± 1,66 bc	6,74 ± 1,19 c
	VCM (fL)	261,31 ± 42,88 a	256,80 ± 28,26 a	276,63 ± 70,12 ab	312,86 ± 44,98 b
	CHCM (%)	21,46 ± 5,78 a	21,39 ± 3,20 a	19,86 ± 4,30 ab	16,44 ± 2,44 b
	HCM (g/dL)	53,84 ± 2,11 a	54,09 ± 2,24 a	52,31 ± 5,14 ab	50,55 ± 4,33 b
	Glicose (mg/dL)	63,70 ± 18,60 a	61,00 ± 15,27 a	111,00 ± 30,42 b	152,81 ± 41,48 c
	Proteínas totais (g/dL)	4,53 ± 1,38	4,21 ± 1,00	4,75 ± 1,12	4,32 ± 0,65
24	Ht (%)	26,22 ± 7,87	35,72 ± 10,78	28,75 ± 11,07	31,67 ± 10,85
	RBC (x10 ⁶ eritrócitos/μL)	0,99 ± 0,19 a	1,37 ± 0,44 ab	1,05 ± 0,15 ab	0,90 ± 0,24 ac
	Hb (g/dL)	8,01 ± 1,11	7,39 ± 1,34	6,96 ± 1,30	7,02 ± 1,40
	VCM (fL)	273,57 ± 101,55	296,70 ± 149,74	282,86 ± 133,07	378,70 ± 167,15
	CHCM (%)	33,84 ± 14,81 a	27,49 ± 5,27 b	27,80 ± 5,42 ab	24,65 ± 4,62 ab
	HCM (g/dL)	84,17 ± 21,56 a	59,97 ± 22,72 b	67,19 ± 16,22 ab	81,69 ± 19,47 a
	Glicose (mg/dL)	39,34 ± 16,91	32,23 ± 8,34	31,47 ± 8,57	45,50 ± 10,99
	Proteínas totais (g/dL)	4,70 ± 1,48	4,42 ± 0,73	4,55 ± 1,19	4,28 ± 0,56
96	Ht(%)	31,75 ± 4,57	29,67 ± 5,89	28,91 ± 6,96	30,90 ± 4,46
	RBC (x10 ⁶ eritrócitos/μL)	1,05 ± 0,10	1,01 ± 0,23	0,94 ± 0,23	1,07 ± 0,25
	Hb (g/dL)	8,48 ± 0,67	8,09 ± 1,80	7,85 ± 1,78	7,53 ± 1,36
	VCM (fL)	301,99 ± 24,09	302,99 ± 64,40	313,86 ± 72,45	300,59 ± 69,79
	CHCM (%)	27,23 ± 4,65	27,49 ± 5,27	27,80 ± 5,42	24,65 ± 4,62
	HCM (g/dL)	81,18 ± 8,77	82,12 ± 17,76	85,17 ± 17,62	72,46 ± 15,51
	Glicose (mg/dL)	42,38 ± 13,12	32,85 ± 10,70	38,03 ± 21,36	42,95 ± 13,00

Proteínas totais (g/dL)	4,83 ± 0,99	4,65 ± 1,00	4,57 ± 0,72	4,68 ± 9,67
-------------------------	-------------	-------------	-------------	-------------

4. Conclusão

Em 96 horas após a exposição ao PZQ, os peixes foram capazes de recuperar seu equilíbrio homeostático. Este tempo de recuperação ocorre, principalmente, devido as características de rápida absorção e eliminação conferidas ao praziquantel. Dentre as concentrações testadas a mais viável para a aplicação seria a de menor concentração ($12,5 \text{ mg.L}^{-1}$), em vista que as respostas fisiológicas e efeitos colaterais ocorrem com menor intensidade. Entretanto, é necessário mais estudos e, portanto, não é recomendado o uso deste fármaco como tratamento em tambaquis.

5. Referências

Arana, L. V. 2004. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões*. Editora da UFSC: Florianópolis, 231 p.

Azevedo, F. A., Chasin, A. A. M.; 2003. *As bases toxicológicas da ecotoxicologia*. São Carlos: Rima; São Paulo: Intertox, 340 pp.

Cioli D, Pica-Mattocchia, L. 2003. Praziquantel. *Parasitology Research*, 90: 3-9

Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, N.P.L.; Roubach, R.; Araújo-Lima, C.A.R.M. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile Tambaqui, *Colossoma macropomum*. *Journal Of the World Aquaculture Society, USA*, 32: 426-431

Kim, K.H., Kim, C.S., Kim, J.W. 2001. Depletion of praziquantel in plasma and muscle tissue of cultured rockfish *Sebastes schlegeli* after oral and bath treatment. *Disease of Aquatic Organisms*, 45: 203 – 207.

Natt, M.P. e Herrick, C.A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Science*, 31: 735-738.

Onaka, E.M.; Martins, M.L.; Moraes, F.R. 2003. Eficácia do Albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasitos de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 29: 101 – 107.

Souza, A.L. R., 2008. Avaliação do efeito do praziquantel veiculado em dispersões lipídicas no tratamento de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*. Tese de mestrado : Universidade Estadual Paulista – São Paulo, 79 pp.

Sudová, E.; Piacková, V.; Kroupová, H.; Pijáček, M.; Syobodova, Z. 2008. The effect of praziquantel applied per os on selected haematological and biochemical indices in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*. Published online 25 November 2008.

Val, A.L.; Honczaryck, A. 1995. *Criando peixes na Amazônia*. Manaus: INPA. 160 pp

Wintrobe, M.M. 1934. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematology*, 51: 32-49.