24

Circular Técnica

Jaguariúna, SP Julho, 2016

Autores

Márcia Mayumi Ishikawa

Médica Veterinária, doutora em Parasitologia Veterinária, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - CP 69, Tanquinho Velho, Cep 13.820-000 - Jaguariúna, SP marcia.ishikawa@embrapa.br

Mariana S. Guerra Silva Bióloga, doutora em Eng. Agrícola, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - CP 69, Tanquinho Velho, Cep 13.820-000 -Jaguariúna, SP mariana.silveira@embrapa.br

Santiago Benites de Pádua

Médico Veterinário, mestre em Aquicultura, Diretor, AquiVet Saúde Aquática, Rua Emília Joaquina de Jesus Castro, 525/33 - Cidade Nova, Cep 15.085-310 -São José do Rio Preto, SP santiago@aquivet.com.br

Jefferson Alcântara Oliveira

Graduando em Ciências Biológicas, Bolsista, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - CP 69, Tanquinho Velho, Cep 13.820-000 -Jaguariúna, SP

Drausio Villa Lobo Dias

Graduando em Medicina Veterinária, Bolsista, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - CP 69, Tanquinho Velho, Cep 13.820-000 -Jaguariúna, SP

Bruno Henrique Souza

Graduando em Ciências Biológicas, Estagiário, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 -CP 69, Tanquinho Velho, Cep 13.820-000 - Jaguariúna, SP



Procedimentos Básicos para Monitoramento da Parasitofauna de Peixes



1. Introdução

O monitoramento da parasitofauna e avaliação do estado de saúde dos peixes são imprescindíveis para o manejo sanitário em produção intensiva. O estudo da parasitofauna dos peixes pode apresentar vários aspectos a serem abordados, e esse estudo é utilizado, também, como um monitoramento nas pisciculturas (MARTINS et al., 2006; MORAES; MARTINS, 2004; TAKEMOTO et. al., 2004). As condições sanitárias e qualidade da água estão estreitamente relacionadas com a saúde dos peixes que é essencial para garantir a qualidade do produto final. Lima (2007) cita que as doenças parasitárias constituem-se na maior causa de prejuízos econômicos em aquicultura comercial. Com isso, o monitoramento parasitário dos peixes em sistemas de produção intensiva tornase uma ferramenta muito interessante para a rotina de uma piscicultura.

Os peixes cultivados podem apresentar uma fauna parasitária considerável nas brânquias e muco, e não manifestar qualquer sintoma clínico de doenças, mas que podem ser importantes como indicador sobre a qualidade do manejo sanitário ou mesmo da sua saúde. Os peixes são produzidos em um ambiente cuja visualização de qualquer alteração no comportamento ou sintoma clínico pode ser observada ou não. Por isso, é importante padronizar metodologias que facilitem o monitoramento do manejo e saúde dos peixes cultivados. Existem alguns trabalhos que abordam a parasitofauna ou identificação de parasitos patogênicos, mas são poucos os trabalhos que avaliam os parasitos como ferramenta para monitoramento da saúde dos peixes.

Este trabalho tem o objetivo de descrever os princípios básicos para o monitoramento da parasitofauna de peixes, especialmente das brânquias e muco e consiste no primeiro passo para viabilizar a padronização de ferramentas para auxiliar o produtor a realizar o monitoramento sanitário em sua produção. Esta é uma metodologia simples e acessível, adaptada em

laboratório da Embrapa Meio Ambiente para monitorar o estado de saúde dos peixes mantidos em experimentos laboratoriais, e que também pode ser utilizada no campo pelos técnicos e piscicultores.

2. Captura e amostragem dos peixes

O primeiro passo consiste na obtenção da amostragem a ser analisada. Os animais devem ser capturados dos viveiros ou tanques de cultivo com auxílio de tarrafa (Fig. 1). Não é necessário fazer a despesca total ou capturar uma amostra muito grande de espécimes. A amostra pode ser de três a cinco peixes, de acordo com o tamanho do peixe e do tanque/viveiro analisado. Uma regra prática para determinar a quantidade de peixe a ser analisado consiste no seguinte protocolo: quando os peixes tiverem aproximadamente 60g utiliza-se uma amostragem de cinco animais por tanque/viveiro ou lago; quando tiverem acima de 60g, utiliza-se uma amostragem de 03 animais por tanque/viveiro.

A amostra deve ser realizada aleatoriamente e de espécimes clinicamente saudáveis, pois o objetivo é realizar um monitoramento e não um diagnóstico de doença. O monitoramento é realizado considerando que todos os peixes do mesmo tanque/viveiro representam o estado de saúde de forma coletiva, isto é, das condições sanitárias do tanque/viveiro ou lago.



Fig.1. Peixes capturados com auxílio de tarrafa.

3. Análises no laboratório ou campo

Após a captura os peixes devem ser acondicionados vivos, em sacos plásticos próprios para transporte de peixes, com água do local, e levados imediatamente ao laboratório para as análises parasitológicas. Obtém-se o muco de todos os peixes do mesmo tanque/viveiro, por método de raspagem, ou seja, realizar raspado por toda a superfície do corpo do peixe, utilizando uma lâmina de vidro de microscopia. Recomenda-se raspar o muco e deixar que esse muco escorra diretamente para dentro do pote plástico de boca larga. Após a coleta do muco de todos os peixes do mesmo tanque, o material coletado pode ser examinado em microscopia óptica, utilizando uma lâmina e lamínula (Fig. 2). Em seguida, realiza-se a anestesia dos peixes com benzocaína diluída a 100mg/L, ou seja, diluído inicialmente em álcool comum (92,8%) e posteriormente na água onde os peixes serão anestesiados e depois de anestesiados, realizase a biometria de cada animal. Fragmentos de brânquias devem ser colocados individualmente em uma lâmina para microscopia, ou seja, uma lâmina por peixe, e examinadas diretamente, utilizando lâmina com uma gota de solução fisiológica 0,65% e lamínula (Fig. 3).



Fig. 2. Coleta do muco em um pote de boca larga (A) amostra do muco preparado entre lâmina e lamínula (B).





Fig. 3. Coleta de amostra (raspado) de brânquia do peixe (A) e lâminas contendo amostra de brânquia para exame direto (B).

Após a eutanásia dos peixes por exposição prolongada à benzocaína (aproximadamente dois a cinco minutos), realiza-se a incisão na região dorsal do animal para confirmar a sua morte. Retira-se as brânquias de cada peixe, realizando o corte com tesoura ou bisturi cirúrgico e todo este material é colocado em um frasco de boca larga com solução de formol 5%. As brânquias dos peixes do mesmo tanque podem ser mantidas no mesmo frasco e conservadas em formol 5%. Posteriormente, são examinadas com mais detalhes, e os parasitos são devidamente identificados. Os parasitos podem ser encaminhados a especialistas para identificação para fins de interesse científico. No entanto, para realizar o monitoramento da parasitofauna na rotina da piscicultura, não é necessário esperar a confirmação da identificação de todos os parasitos.

Durante exame de rotina em uma piscicultura este procedimento pode ser realizado com mais agilidade e sem estressar muito o peixe. Podese conter o peixe com ajuda de um pano úmido e fazer a coleta do muco em um frasco, ou realizar apenas o esfregaço do muco em uma lâmina, e em seguida, com muito cuidado, realizar outro esfregaço da brânquia de cada peixe e levar o material imediatamente para exame direto em microscopia óptica, sem precisar eutanasiar, ou seja, matar o peixe. Neste caso, o peixe pode ser devolvido ao tanque. Todavia, este procedimento com peixes muito pequenos dificulta o acesso às brânquias, sendo necessário utilizar anestésicos e a eutanásia.

No caso de realizar todo o procedimento na piscicultura ou no campo, é necessário possuir um microscópio com bateria interna.

4. Como interpretar os resultados do exame

O exame diretamente a fresco em microscopia de luz comum é mais fácil de ser realizado, pois a maioria dos parasitos apresentam movimentos característicos que facilitam a sua visualização nesta técnica. No entanto, é necessário um microscópio instalado próximo do local da coleta, além de lâminas e lamínulas de microscopia para realizar as análises. Para interpretar esses exames diretos é necessário realizar treinamento para identificação básica dos principais parasitos que podem ser encontrados nas brânquias e muco dos peixes (Fig. 4).

Em algumas regiões do Brasil, Monogenoidea e tricodinídeos têm sido os ectoparasitos de peixes mais observados em exame direto, estes representam potencial de patogenicidade quando ocorre um desequilíbrio na relação ambiente-hospedeiro-parasito. No entanto, estes mesmos parasitos podem ser caracterizados como indicadores de qualidade do ambiente de cultivo (AZEVEDO et al., 2006; GHIRALDELLI et al., 2006a,b). Considerando as observações citadas na literatura, e aquelas acompanhadas nos trabalhos em campo pelos pesquisadores da Embrapa, elaborou-se o protocolo simplificado, descrito na Tabela 1 para facilitar o monitoramento da parasitofauna dos peixes.



Fig. 4. Monogenoidea (A) e tridodinídeo (B) observados em microscópio utilizando o exame direto.

Tabela 1. Protocolo simplificado de monitoramento da parasitofauna de brânquias de peixe para Monogenoidea e Tricodinídeos.

| Parasito observado | Quantidade ou intensidade | Interpretação |
|-----------------------|------------------------------|---|
| Monogenoidea | 1 | Observação de um espécime na lâmina analisada. Normal |
| Monogenoidea | 2 | Observa ção de dois espécimes na lâmina analisada. Normal |
| Monogenoidea | 3 | Observação de três espécimes na lâmina analisada. Normal |
| Monogenoidea | 4 | Observação de quatro espécimes na lâmina analisada. Rever o manejo sanitário |
| Monogenoidea | 4+ | Observação de mais de quatro espécimes na lâmina analisada. Necessário encaminhar a um especialista |
| Tricodinídeos | 1+ | Observação de 1 a 3 espécimes na lâmina. Normal |
| Tricodinídeos | 2+ | Observação de 4 a 6 espécimes na lâmina. Rever o manejo sanitário |
| Tricodinídeos | 3+ | Observação de 7 a 10 espécimes na lâmina. Rever o manejo sanitário com urgência |
| Tricodinídeos | 4+ | Observação de mais de 10 espécimes na lâmina. Necessário encaminhar a um especialista |

A identificação dos parasitos para realizar o monitoramento não precisa ser muito precisa, de forma que a observação de apenas um ou dois espécimes de parasito na mesma lâmina examinada não representa grandes problemas. No entanto, se verificar três ou mais parasitos na mesma lâmina de pelo menos dois peixes do mesmo tanque/viveiro ou lago, significa que algo pode estar errado nas condições ambientais, ou que os peixes não estão muito saudáveis, e assim será necessário avaliar todo o sistema com mais atenção.

Caso seja observada uma quantidade muito grande de parasitos, acima de 10 parasitos por lâmina (Fig. 5 e 6), significa que a saúde dos peixes precisa de atenção especial, e se possível, um especialista* deve ser contatado para efetuar um diagnóstico mais preciso para verificar o que pode estar acontecendo e até mesmo orientar um tratamento específico da parasitose diagnosticada. Todavia, qualquer tratamento deve ser realizado após diagnóstico e recomendação de um profissional habilitado para isso.



Fig. 5. Monogenoidea 4+ observados em exame direto no microscópio entre lâmina e lamínula.

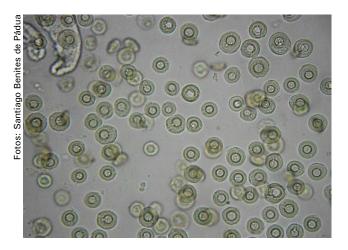


Fig. 6. Tricodinídeos 4+ observados em exame direto no microscópio entre lâmina e lamínula.

5. Considerações Finais

Essa metodologia é simples e prática, mas não deve ser utilizada em caso de ocorrência de mortalidade ou quando os peixes já se encontram com sintomas de doenças. Essa técnica serve para complementar a rotina nas pisciculturas e tem o objetivo de auxiliar o piscicultor, ou técnico, a identificar se algo precisa ser ajustado no manejo sanitário, ou se é o momento certo para encaminhar amostras a um laboratório especializado, antes mesmo que o problema se instale. Não é necessário esperar a ocorrência de mortalidade de peixes para que um especialista em diagnóstico de doenças seja acionado. Portanto, o monitoramento da parasitofauna auxilia o técnico ou piscicultor a acompanhar a saúde dos peixes e a tomar decisões relacionadas ao manejo sanitário realizado na piscicultura. Protocolos simplificados

de outros ectoparasitos serão padronizados para complementar o procedimento básico apresentado neste trabalho.

6. Agradecimentos

Aos piscicultores do estado de São Paulo e de Mato Grosso do Sul que, gentilmente, participaram das diversas atividades dos projetos de pesquisa sob a coordenação dos pesquisadores da Embrapa que viabilizaram a elaboração deste trabalho.

7. Referências

AZEVEDO, T. M. P.; MARTINS, M. L.; BOZZO, F. R.; MORAES, F. R. Haematological and gill responses in parasitized tilapia from Valley of Tijucas River, SC, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 2, p. 115-120, 2006.

GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M. L.; JERÖNIMO, G.T.; YAMASHITA, M. M.; ADAMANTE, W. B. Ectoparasites communities from Oreochromis niloticus cultivated in the State of Santa Catarina, Brazil. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, Busan, v. 1, n. 2, p. 181-190, 2006a.

GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M. L.; ADAMANTE, W. B.; YAMASHITA, M. M. First record of Trichodina compacta Van As and Basson, 1989 (Protozoa: Ciliophora) from cultured Nile tilapia in the State of Santa Catarina, Brazil. International Journal of Zoological Research, Faisala ba d, v. 2, n. 4, p. 369-375, 2006b.

LIMA, L. C. Doenças de importância econômica em piscicultura. In: SEMINÁRIO DE AVES E SUÍNOS, 7.; SEMINÁRIO DE AQÜICULTURA, MARICULTURA E PESCA, 3., 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007.

MARTINS, M. L.; GHIRALDELLI, L.; AZEVEDO, T. M. Ectoparasitos de tilápias (Oreochromis niloticus) cultivadas no Estado de Santa Catarina, Brasil. In: SILVA-SOUZA, A.T. (Org.). Sanidade de organismos aquáticos. Maringá: ABRAPOA, 2006. p. 253-270.

MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSI, D. M.; CASTAGNOLII, N. (Ed.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 2004, p. 343-383.

TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P.; GUIDELI, G. M.; PAVANELLI, G. C. Parasitos de peixes de águas continentais. In: RANZANI-PAIVA, M. J. P.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. Sanidade de organismos aquáticos. São Paulo: Varela, 2004. p. 179-197.

Circular Técnica, 24

Embrapa Meio Ambiente

Endereço: Rodovia SP 340 km 127,5 Caixa Postal 69, Tanquinho Velho 13.820-000 Jaguariúna/SP Fone: (19) 3311-2700 Fax: (19) 3311-2640 www.embrapa.br/meio-ambiente/sac

1ª edição eletônica (2016)



Comitê de publicações

Presidente: Maria Isabel de Oliveira Penteado
Secretária-Executiva: Cristina Tiemi Shoyama
Membros: Rodrigo Mendes, Elisabeth Francisconi
Fay, Nilce Chaves Gattaz, Joel Leandro de Queiroga,
Daniel Terao (suplente), Lauro Charlet Pereira
(suplente), Maria Lúcia Zuccari (suplente) e Victor
Paulo Marques Simão

Expediente

Revisão de texto: Nilce Chaves Gattaz Normalização bibliográfica: Victor P. Marques Simão Tratamento das ilustrações: Silvana Cristina Teixeira Editoração eletrônica: Silvana Cristina Teixeira