

## **AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA E RECUPERAÇÃO DE TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*) ALIMENTADOS COM PRAZIQUANTEL NA RAÇÃO**

Kamila Oliveira dos SANTOS<sup>1</sup>; Patrícia Oliveira MACIEL<sup>2</sup>; Elizabeth Gusmão AFFONSO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/FAPEAM; <sup>2</sup>Co-orientadora/EMBRAPA, <sup>3</sup>Orientadora CPAQ/INPA;

### **1. Introdução**

A piscicultura é uma atividade de produção animal que mais tem crescido no mundo, entretanto, perdas econômicas são registradas devido às altas taxas de mortalidade causadas por doenças de origem parasitária (Pavanelli *et al.*, 2008; Figueiredo, 2011). Uma das formas utilizadas para o tratamento de parasitas nas pisciculturas é o uso de quimioterápicos, como o praziquantel (PZQ) (Cioli e Pica-Mattocchia 2003; Schalch *et al.* 2009). O PZQ tem sido testado em algumas espécies de peixes tropicais e, mais recentemente, em tambaquis (Maciel, 2009 + Autores). De acordo com Maciel (2009), a administração desse fármaco, na forma de banhos, apresentou baixa eficácia, assim como concentrações menores foram mais eficientes na redução de monogenóides em juvenis de tambaquis. A autora observou, ainda, que as altas concentrações de PZQ nessa espécie desencadearam alterações leucocitárias compatíveis com situações de estresse. Santos *et al.* (2009) observaram que tambaquis, após 96 h de recuperação a exposição com diferentes concentrações de PZQ administradas na forma de banho, retornaram ao equilíbrio homeostático

Como parte de um projeto maior, o presente estudo avaliou a eficácia do praziquantel administrado na ração para tambaquis e seus efeitos sobre as respostas fisiológicas dos peixes após 24, 48 e 72 horas de recuperação, complementando os estudos de Santos *et al.* (2010) que determinaram a concentração deste fármaco que não causou prejuízo à homeostase dos peixes.

### **2. Material e Métodos**

Este trabalho é uma continuação dos estudos com quimioterápicos em peixes que têm sido realizados pelo LAFAP-INPA. O praziquantel (PZQ) em pó (Gerbras Química e Farmacêutica Ltda.) foi pesado para alcançar as concentrações desejadas por tratamento, e adicionado à ração moída que foi, posteriormente, extrusada. Foram utilizados 324 peixes com peso inicial de  $34,32 \pm 8,67$  g, distribuídos em 18 tanques de 500 litros. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, consistindo de 5 tratamentos, com 3 repetições cada: (1) Controle - ração peletizada com 36% de proteína bruta sem adição do PZQ; (2) e (3) com 20 mg PZQ/kg de peso vivo (PV), administrado por 3 e 12 dias, respectivamente; (4) e (5) com 100 mg PZQ/kg PV, administrado por 3 e 12 dias, respectivamente. Os peixes nos tratamentos (3) e (5) foram alimentados com a ração medicada durante os 12 dias de experimento, e nos tratamentos (2) e (4) foram alimentados com a ração medicada a partir do 10º dia de experimento. Os peixes do controle foram alimentados com ração sem adição do medicamento durante todo o período experimental. As coletas de sangue foram realizadas 24, 48 e 72 horas após a finalização dos experimentos descritos acima. Foram coletados amostras de sangue de seis peixes de cada tanque experimental e determinados os seguintes parâmetros: hematócrito (Ht) pelo método de microhematócrito; contagem de eritrócitos (RBC) em solução de Natt e Herrick (1952), hemoglobimetria ([Hb]) com solução de Drabkin. O volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e a hemoglobina corpuscular média (HCM) foram calculados segundo Wintrobe (1934). A glicose plasmática foi determinada pelo método enzimático-colorimétrico (glicose oxidase) em espectrofotômetro (BIOPLUS 2000), utilizando kit comercial (Doles®, Goiás, Brasil). No 13º dia, foram coletadas, ainda, as brânquias e o trato gastrointestinal de seis tambaquis de cada unidade experimental para avaliação da carga parasitária e eficiência do tratamento. As amostras foram fixadas em formalina na proporção de 1:5.000 (v/v) e acondicionadas em frascos para posterior análise, utilizando microscópio e estereomicroscópio. Os índices parasitários foram calculados de acordo com Bush *et al.* (1997), sendo a prevalência o número de hospedeiros infectados dividido pelo número total de peixes examinados x 100; e a abundância o número total de peixes parasitados, dividido

pelo número total de peixes examinados. A porcentagem de eficácia dos tratamentos foi calculada segundo Martins *et al.* (2001) e Onaka *et al.* (2003). O percentual de eficácia foi determinado pelo número de parasitos do grupo controle menos o número de parasitos após o tratamento, dividido pelo número de parasitos do grupo controle. Os parâmetros de qualidade da água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica, amônia total, nitrito, CO<sub>2</sub>, alcalinidade e dureza) foram monitorados. As análises dos dados foram feitas no software R (R Development Core Team, 2009) e os resultados significativos foram comparados pelo teste de ScottKnot a 5% de probabilidade.

### 3. Resultados e Discussão

Os valores médios observados nas variáveis físicas e químicas da água, durante o período experimental, permaneceram dentro dos níveis recomendados para o cultivo de peixes (Tabela 1). Estes resultados garantem a qualidade dos resultados encontrados nas análises de sangue. Os valores foram comparados com estudos realizados para a espécie em ambiente natural e de cultivo (Silva e Carneiro, 2007).

**Tabela 1** - Média e desvio padrão das variáveis de qualidade da água monitoradas durante o período de experimental com praziquantel administrado na ração de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Variáveis da água	Concentrações de [PZQ] mg/Kg PV		
	0	20	100
pH	5,68 ± 0,54	4,73 ± 0,61	6,00 ± 0,44
Condutividade elétrica (µs/cm <sup>3</sup> )	27,00 ± 0,78	29,56 ± 3,56	25,79 ± 0,50
Oxigênio dissolvido (mg/L)	4,33 ± 0,05	5,89 ± 1,00	5,78 ± 0,09
Temperatura (°C)	28,40 ± 0,40	26,45 ± 0,04	29,65 ± 0,88
Alcalinidade total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	48,34 ± 4,66	47,66 ± 2,32	36,77 ± 2,00
Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	46,38 ± 3,87	45,45 ± 3,00	43,34 ± 5,67
Amônia total (mg/L)	0,45 ± 0,05	0,45 ± 0,24	0,30 ± 0,20
Nitrito (mg/L)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

As análises hematológicas indicaram que houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em Ht, Hb, RBC e glicose de tambaquis tratados com 100 mg de PZQ/kg PV (Tabela 2). Essas alterações podem ser indicativas de hemodiluição ou de diminuição no número de glóbulos vermelhos (anemia) provocada por hemólise dos eritrócitos ou diminuição na produção de eritrócitos. A anemia, causada pela redução na concentração de hemoglobina, sugere uma redução na capacidade de transporte de oxigênio do sangue para os tecidos. A hipoglicemia observada nos animais dessa concentração pode estar relacionada à depleção do glicogênio hepático (Lehninger, 2002; Garcia-Navarro, 2005).

**Tabela 2** - Média e desvio padrão de hematócrito (Ht), número de eritrócitos (RBC), hemoglobina (Hb) e glicose plasmática de tambaquis (*Colossoma macropomum*) após tratamento com praziquantel, administrado por 3 e 12 dias respectivamente.

Variáveis Sanguíneas	Concentrações de [PZQ] mg/Kg PV		
	0 PZQ/kg PV	20 PZQ/kg PV	100 PZQ/kg PV
Hematócrito (%)	28,6 ± 4,0 a	28,5 ± 4,9 a	27,2 ± 4,2 b
RBC (x10 <sup>6</sup> eritrócitos/µL)	0,9 ± 0,2 a	1,0 ± 0,3 a	0,8 ± 0,1 b
Hemoglobina (g/dL)	7,1 ± 0,9 a	6,9 ± 1,0 a	6,6 ± 1,0 b
Glicose (mg/dL)	43,7 ± 12,2 a	48,0 ± 22,7 a	38,8 ± 12,5 b

Após 24, 48 e 72 h de recuperação aos tratamentos com PZQ administrados por 3 e 12 dias, os parâmetros sanguíneos avaliados (Ht, RBC, Hb, CHCM e glicose) apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) (tabela 3). Estes resultados mostram que o período de recuperação após o tratamento com o praziquantel na ração (via oral), independente da concentração testada, 20 ou 100 mg de PZQ/kg PV, os peixes ainda apresentaram alteração em 72 horas, porem houve uma elevação dos valores de RBC, Hb, CHCM e glicose neste mesmo período de recuperação. Isso reflete uma recuperação do estado fisiológico dos peixes em que se encontravam no período de 24 e 48 horas de recuperação.

**Tabela 3** – Média e desvio padrão de hematócrito, número de eritrócitos (RBC), hemoglobina (Hb), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e glicose plasmática de tambaquis (*Colossoma macropomum*) em 24, 48 e 72 horas após o tratamento com praziquantel administrado por 3 e 12 dias.

Variáveis Sanguíneas	Período de recuperação					
	24		48		72	
Hematócrito (%)	29,9 ± 4,1	a	26,3 ± 4,0	b	26,3 ± 4,0	b
RBC (x10 <sup>6</sup> eritrócitos/μL)	1,0 ± 0,3	a	0,8 ± 0,1	b	0,9 ± 0,1	a
Hemoglobina (g/dL)	6,9 ± 0,9	b	6,1 ± 0,7	c	7,6 ± 0,8	a
CHCM (%)	23,2 ± 2,3	b	23,5 ± 2,5	b	29,6 ± 6,2	a
Glicose (mg/dL)	48,4 ± 19,2	a	30,5 ± 7,4	b	46,7 ± 11,3	a

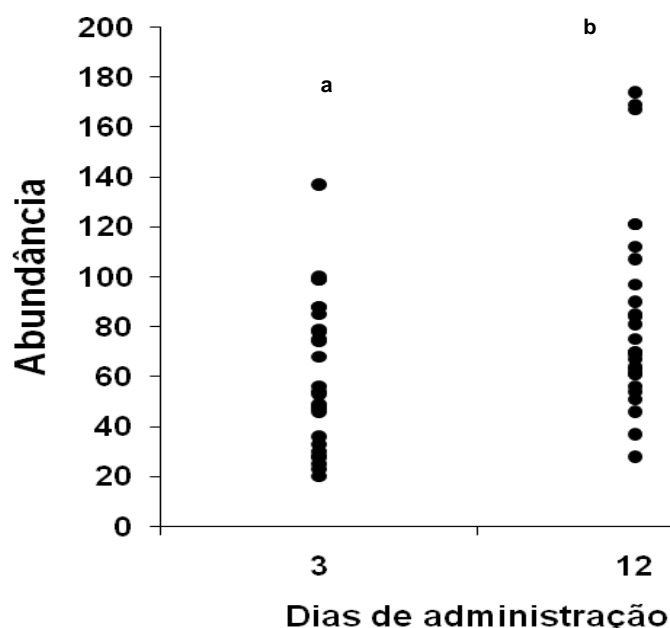
Em todas as amostras de brânquias analisadas foram encontrados parasitas monogênoides, enquanto no trato gastrointestinal foi observada a presença de endoparasitas (filo Acanthocephala), em apenas alguns peixes, com baixa incidência (tabela 4), não sendo possível avaliar a eficácia do praziquantel sobre endoparasitas.

Quanto aos parasitas branquiais, os tratamentos com administração de praziquantel por 3 dias mostraram-se mais eficazes quando comparados aos de longa duração, 12 dias (Figura 1). Nos tratamentos realizados no período de 3 dias a eficácia das concentrações testadas não foram superior a 31,20 %. E os tratamentos realizados durante 12 dias foram inferiores a 23%, sendo que a concentração de 100 mg/Kg PV apresentou percentual zero de eficácia. O praziquantel não apresentou altos percentuais de eficácia, pois este não superou 31%. As diferentes concentrações de praziquantel não apresentaram diferenças na intensidade de parasitas (Tabela 4).

Quanto à forma de administração (via oral) esses resultados não corroboram com os observados por Kim e Cho (2000) que relataram a eficácia do praziquantel na administração oral contra *Microcotyle sebastis* que parasitavam criações de peixe da espécie *Sebastes schlegeli*. Já Mooney *et al.* (2006) também observaram baixa eficácia do praziquantel, no tratamento de monogênios em *Seriola lalandi*. Ao analisar a eficácia do praziquantel no controle do parasito *Clinostomum complanatum* em peixes da espécie *Rhamdia quelen*, Silva *et al.* (2009) constataram que o tratamento com praziquantel foi eficaz no controle do trematoda *C. complanatum* e todos os grupos apresentaram uma redução significativa no número de cistos após 12 dias do tratamento e que os peixes tratados por 20 horas tiveram uma redução de parasitas em um período de tempo menor. Uma explicação para esse fato é que há uma relação entre especificidade parasitária e espécie de peixe hospedeira, as características climáticas da região de estudo, que podem influenciar negativamente quanto a eficácia do produto (Onaka *et al.* 2003). Em forma de banho, Maciel (2009) observou que as concentrações não interferiram na abundancia de parasitos nos peixes, porém, o tempo de tratamento foi mais representativo. Essa autora também verificou baixa eficácia do praziquantel, não sendo superior a 60 %, na eliminação de monogênios em tambaquis, além da redução da carga parasitária.

**Tabela 4** - Intensidade média de infecção por parasitas monogênoides e porcentagem de eficácia dos tratamentos com 20 e 100 mg de praziquantel/kg PV, administrados por 3 e 12 dias, em *Colossoma macropomum*.

Tratamentos		Intensidade média	Eficácia (%)
Praziquantel (mg/kg PV)	Dias de administração		
0	3 dias	76,5 ± 21,8	-
20	3 dias	52,7 ± 38,7	31,20
100	3 dias	53,6 ± 22,3	29,90
0	12 dias	85,5 ± 41,4	-
20	12 dias	66,7 ± 23,0	22,08
100	12 dias	101,1 ± 44,1	0



**Figura 1** - Abundância de monogenóides em *Colossoma macropomum* após tratamentos com concentrações de 20 e 100 mg de praziquantel/kg PV em 3 e 12 dias de administração. Letras diferentes indicam médias significativamente diferentes entre os dias de administração. ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Conclusão

Com os resultados obtidos é possível concluir que a administração de 20 ou 100 mg PZQ/kg na ração, por um período de 3 dias, pode ser mais eficiente na redução da intensidade de parasitas monogenóides em juvenis de tambaqui e, portanto, é tempo-dependente. Entretanto, sugere-se concentrações maiores para avaliar a eficácia do produto contra parasitas de peixes. Os resultados sugerem, ainda, que em 72 horas após a administração oral do praziquantel, os peixes retornam ao equilíbrio homeostático.

#### 5. Referências

- Bush, A.O.; Lafferty, K. D.; Lotz, J. M.; Shostaak, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on this terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83 (4): 575 – 583.
- Cioli, D.; Pica-Mattocchia, L. 2003. Praziquantel. *Parasitology Research*, 90: 3-9.
- Figueiredo, H.C.P. 2011. Certificado sanitário na Aquicultura. . *Panorama da Aquicultura*, 21 (89): 14-19.
- Garcia-navarro, K. C. E. 2005. *Manual de hematologia veterinária*. 2. ed., ver. e ampl. São Paulo: Varela. 206pp.
- Kim, K.H.; Cho, J.B.. 2000. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Polyopisthocotylea) infestation with praziquantel in an experimental cage simulating commercial rockfish *Sebastes schlegeli* culture conditions. *Diseases of Aquatic Organisms*, 40: 229-231.
- Lehninger. 2002. *Princípios de Bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier. 976 pp.
- Maciel, P. O. 2009. *Efeito do praziquantel sobre as variáveis sanguíneas de Colossoma macropomum Curvier, 1818 (Characidae: Serrasalminae) e sua eficiência como anti-helmíntico no controle de parasitas monogenóides (Platyhelminthes: Monogenoidea)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 81 pp.

Martins, M.L.; Onaka, E.M.; Moraes, F.R.; Fujimoto, R.Y. 2001. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes, Characidae) in Brazil. Efficacy and hematology. *Acta Parasitologica*, 46 (4): 332-336.

Mooney, A.J.; Ernst, I.; Whittington, I.D. 2006. An egg-laying rhythm in *Zeuxapta seriola*e (Monogenea: Heteraxinidae), a gill parasite of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Aquaculture* 253: 10– 16

Natt, M.P.; 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 penilabiatu*s (Monogenea: Dactylogyridae), parasitos de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 29(2): 101 – 107.

Pavanelli, G.C.; Eiras, J.C.; Takemoto, R.M. 2008. *Doenças de Peixes. Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento*. EDUEM: Universidade Estadual de Maringá. 3. ed. 307 pp.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R. 2009. A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Santos, K.O.; Maciel, P.O.; Affonso, E.G. 2009. Respostas fisiológicas de tambaquis (*Colossoma macropomum*) expostos a banhos com praziquantel. 2009. XVIII Jornada de Iniciação Científica (2008-2009); *In: Anais do XVIII Iniciação Científica*.

Santos, K.O.; Maciel, P.O.; Affonso, E.G. 2010. Efeitos do anti-helmíntico praziquantel sobre as respostas fisiológicas de tambaquis (*Colossoma macropomum* - Cuvier 1818). XVIII Jornada de Iniciação Científica (2009-2010); *In: Anais do XIX Iniciação Científica*.

Schalch, S.H.C.; Moraes, F.R. e Soares, V.E. 2009. Praziquantel, levamisol e diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) e *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 18 (1) 53-59.

Silva, C.A. e Carneiro, P. 2007. Qualidade da água na engorda de tambaqui em viveiros sem renovação da água. Editoração eletrônica. *Embrapa*. [www.cpatc.embrapa.br/publicacoes\\_2007/f\\_18\\_2007.pdf](http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2007/f_18_2007.pdf)

Silva, A.S.; Pedron, F.A.; Zanette, R.A.; Monteiro, S.G.; Neto, J.R. 2009. Eficácia do praziquantel no controle ao parasito *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1918 (Digenea, Clinostomidae) em peixes da espécie *Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824 (jundiá). *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, 73-76.

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