

# Procedimentos Básicos para Colheita de Sangue em Peixes

Fotos: Márcia Mayumi Ishikawa



# 17

## Circular Técnica

Dourados, MS  
Julho, 2010

## Autores

### Márcia Mayumi Ishikawa

Médica Veterinária, Dra.  
Embrapa Agropecuária Oeste,  
Caixa Postal 661  
79804-970 Dourados, MS  
Fone: (67) 3416-9722  
marcia@cpa0.embrapa.br

### Santiago Benites de Pádua

Acadêmico de Med. Veterinária  
Faculdade Anhanguera  
Dourados, MS  
santiago\_psb@hotmail.com

### Fabiana Satake

Médica Veterinária, Dra.  
Unigran - Dourados, MS  
fabsatake@yahoo.com.br

### Pamela Souza de Pietro

Acadêmica de Biologia  
UEMS - Dourados, MS  
pampietro@hotmail.com

### Hamilton Hisano

Zootecnista, Dr.  
Embrapa Agropecuária Oeste  
Fone: (67) 3416-9775  
hhisano@cpa0.embrapa.br

## Introdução

O monitoramento do estado de saúde dos peixes é imprescindível para o manejo sanitário da produção, seja de grande ou pequeno porte. A hematologia clínica é uma ferramenta que permite a realização de diagnóstico de patologias e pode atuar como um indicador prognóstico das condições patológicas, especialmente quando se considera as alterações morfológicas nas células sanguíneas (SATAKE et al., 2009). Estas avaliações permitem identificar a resposta dos peixes, quando doentes, de maneira rápida, prática e de baixo custo.

O sangue banha todos os tecidos orgânicos, exceto o epitelial e o cartilaginoso. Devido a essa condição fisiológica, seu estudo torna-se estratégico para avaliação do estado de saúde dos peixes. Com este propósito, vários pesquisadores têm utilizado a hematologia clínica como método de avaliação das exigências nutricionais, tais como requerimentos de minerais para tilápia-nilótica *Oreochromis niloticus* (BARROS et al., 2002; FERRARI et al., 2004; HISANO et al., 2007), e vitaminas para pirarucu *Arapaima gigas* (ANDRADE et al., 2007) e matrinxã *Brycon amazonicus* (AFFONSO et al., 2007). Os parâmetros hematológicos têm sido utilizados também na verificação dos efeitos deletérios de pesticidas em estudos com ictiotoxicologia, como os realizados com a tilápia-nilótica (EI-SAYED et al., 2007; SWEILUM, 2006), jundiá *Rhamdia quelen* (BORGES et al., 2007) e *Labeo rohita* (ADHIKARI et al., 2004), além de estudos com sanidade, principalmente envolvendo parasitos (GHIRALDELLI et al., 2006; MARTINS et al., 2004; RANZANI-PAIVA et al., 2005; TAVARES-DIAS et al., 2007) e bactérias (GARCIA; MORAES, 2009; MARTINS et al., 2008a,b; RANZANI-PAIVA et al., 2004; YU et al., 2010).

No entanto, para utilizar a hematologia no monitoramento sanitário de uma piscicultura é necessário investir no treinamento de pessoal especializado, tanto para a colheita quanto para o processamento e a interpretação dos resultados. O exame hematológico exige que a colheita sanguínea seja realizada de forma rápida e sem causar estresse adicional aos animais, pois a captura, a contenção e a punção do animal realizadas de formas inadequadas podem ocasionar alterações nos parâmetros sanguíneos avaliados.

Este documento tem por objetivo apresentar os procedimentos básicos para colheita sanguínea em peixes, pois constitui o primeiro passo para o sucesso no estudo hematológico. A colheita é composta, basicamente, por quatro procedimentos, que são: captura do animal; contenção, que pode ser química ou mecânica; punção do vaso sanguíneo ou coração e acondicionamento do sangue.

## Captura dos Peixes

Os animais devem ser capturados dos viveiros ou tanques com auxílio de redes ou puçás. Não é necessário fazer a despesca total para a colheita de sangue; é realizada com uma amostra que pode ser de dois, cinco, dez ou quantos exemplares forem necessários para o trabalho. A colheita pode ser feita em peixe saudável ou doente, dependendo do objetivo do estudo. Este procedimento exige uma certa habilidade do operador, mas não requer capacitação específica. O peixe deve ser capturado considerando condições adequadas, tanto do ambiente como do animal, ou seja, a temperatura da água não deve estar muito baixa e os peixes devem estar em jejum por pelo menos 12 horas. Deve-se evitar o estresse e cuidar para evitar traumas e retirada do muco do peixe em excesso. Dessa forma, o animal poderá ser reintroduzido ao cultivo após a colheita, sem o risco de morrer.

## Contenção dos Peixes

Para a colheita correta do sangue, o peixe deve estar contido adequadamente, de preferência com um pano úmido sobre os olhos (Figura 1). Em alguns casos é indicado o uso de anestésicos para diminuir o estresse nos peixes, mas estes também podem ocasionar alterações hematológicas e, portanto, devem ser utilizados com algumas restrições e na dosagem indicada para cada espécie e idade (BOLASINA, 2006; INOUE et al., 2004; SUDAGARA et al., 2009; VELISEK et al., 2007). Por isso, a contenção mecânica é a mais adequada e prática para este procedimento, sendo necessárias habilidade e rapidez para ser eficiente.



Foto: Santiago Benites de Pádua

**Figura 1.** Contenção com pano úmido e venopunção caudal em juvenil de dourado (*S. brasiliensis*) previamente anestesiado com óleo-de-cravo (50 mg L<sup>-1</sup>).

## Punção do Vaso Sanguíneo ou Coração

Entre os acessos existentes para realizar a punção sanguínea, a venopunção de vasos localizados na região caudal tem sido mais explorada. Este método proporciona uma colheita rápida, mas é necessário acertar a localização do vaso corretamente, para que este seja canulado de forma adequada, sem ocasionar muitas lesões no animal. A coluna vertebral facilita a utilização desse acesso, pois a artéria e a veia caudal situam-se em sua face ventral. Utiliza-se, portanto, a coluna vertebral para orientar a localização do vaso sanguíneo.

É necessário utilizar uma seringa com agulha, geralmente banhada em anticoagulante (EDTA 3%). Ela deve ser inclinada em torno de 45° e realizada a penetração em direção à região ventral da coluna vertebral, local onde se localizam a artéria e a veia caudal. A inclinação mais apropriada para realizar esta técnica pode variar de acordo com a espécie, podendo ser realizada até com 90°, orientando-se pela linha medial da região ventral, utilizada principalmente em peixes siluriformes como os surubins (*Pseudoplatystoma* spp.).

Não se deve exercer pressão negativa desnecessária após a canulação do vaso sanguíneo, pois este procedimento implica na ruptura das células vermelhas do sangue, apresentando-se como discreta hemólise após a sedimentação das células sanguíneas.

Esta técnica pode não ser eficiente em peixes ornamentais de pequeno porte e alevinos em geral. Nestas situações, recomenda-se a indução anestésica até o estágio de anestesia cirúrgica e corte completo do pedúnculo caudal com auxílio de bisturi (Figura 2a).

O sangue deverá ser colhido em um capilar para dosagem do percentual de hematócrito (Figura 2b) e extensões sanguíneas deverão ser confeccionadas a partir do sangue contido no capilar. Na primeira gota de sangue, que flui logo após o corte, pode-se realizar a pipetagem de sangue para realizar a contagem de eritrócitos, imprescindível para leucometria e trombometria global realizada por métodos indiretos em peixes. A principal desvantagem desta técnica é a necessidade do sacrifício dos peixes, além da contaminação do sangue com fluidos extracelulares dos tecidos próximos aos que foram cortados.

Entre outros acessos, a punção branquial e a punção intracardíaca também são utilizadas, principalmente em situações em que a venopunção caudal não pode ser realizada ou as peculiaridades anatômicas dos peixes não permitem e/ou dificultam a realização desta técnica.

A punção branquial e a punção intracardíaca têm sido utilizadas em algumas espécies de peixes. Quando realizada a punção cardíaca em surubim híbrido, após penetrar a agulha na região da linha média caudal às brânquias, deve-se inclinar a seringa para o sentido cranial para localizar o coração (Figura 3).

Foto: Santiago Benites de Pádua

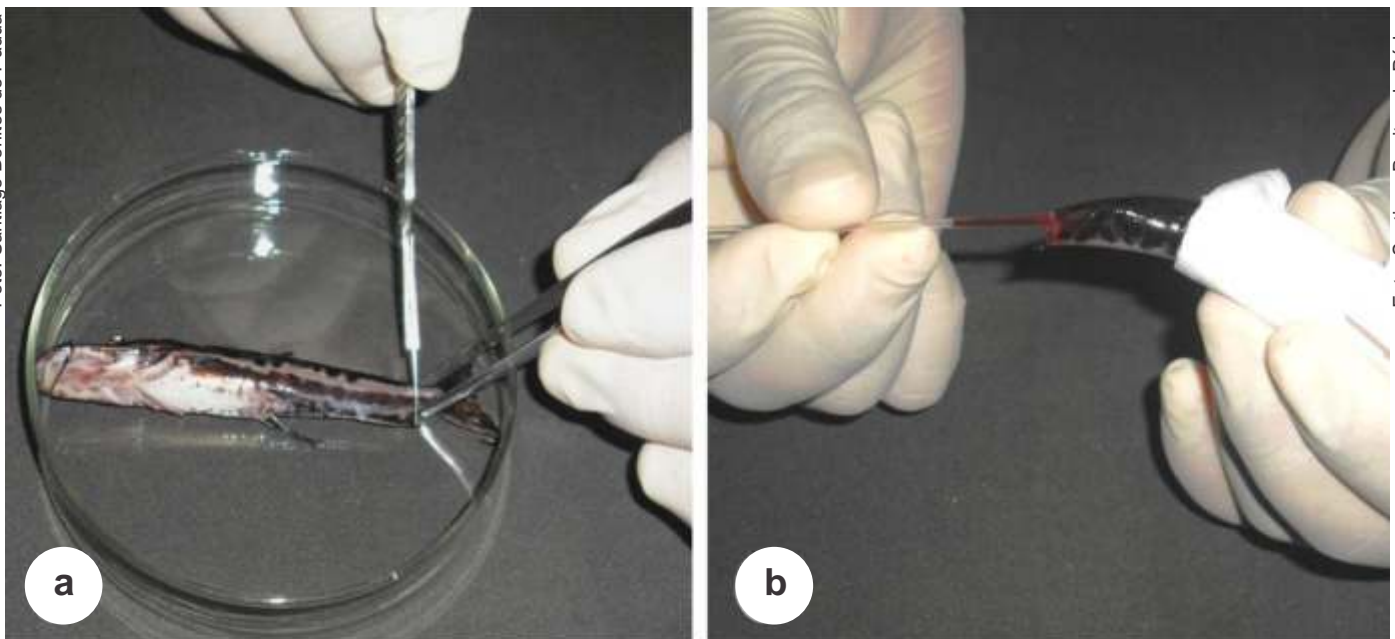


Foto: Santiago Benites de Pádua

**Figura 2.** Colheita sanguínea em juvenil de surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*) por meio do corte do pedúnculo caudal após estágio de anestesia cirúrgica com óleo-de-cravo (50 mg L<sup>-1</sup>). a) Corte do pedúnculo caudal com auxílio de bisturi; b) colheita de sangue utilizando um capilar de microhematócrito.



Foto: Santiago Benites de Pádua

**Figura 3.** Punção intracardíaca em juvenil de surubim híbrido previamente anestesiado com óleo-de-cravo (50 mg L<sup>-1</sup>).



Para que seja realizado este tipo de acesso na colheita sanguínea, a utilização de anestésicos torna-se fundamental, a fim de reduzir o sofrimento animal. Por se tratar de um órgão vital, este tipo de colheita sanguínea deve ser realizada de forma correta, para que não resulte em áreas de degeneração e necrose no miocárdio, que pode ser fatal, principalmente em peixes de pequeno porte.

## Acondicionamento do Sangue após Colheita Sanguínea

Após o procedimento da punção sanguínea utilizando seringas, o sangue deve ser homogeneizado por inversão e acondicionado em tubos apropriados; geralmente empregando-se microtubos de polipropileno. Para a transferência do sangue contido na seringa, a agulha deve ser retirada e o bico da seringa levado próximo à superfície interna do microtubo; em seguida, deve ser exercida leve pressão sobre o êmbolo para que o sangue seja transferido sem causar turbilhonamento do mesmo, escorrendo pela parede do microtubo (Figura 4).

Logo após a colheita do sangue recomenda-se a confecção das extensões sanguíneas (Figura 5). Estas extensões serão fixadas, coradas e utilizadas posteriormente para contagem diferencial de células

sanguíneas e também para pesquisa de hemoparasitos. Para este procedimento pode-se utilizar o sangue que restou na agulha, o qual encontra-se isento de anticoagulante. Dessa forma, as extensões serão de boa qualidade e as células sanguíneas estarão isentas de alterações determinadas pelos anticoagulantes, bem como pelo armazenamento.



Foto: Santiago Benites de Pádua

**Figura 4.** Acondicionamento do sangue em um microtubo de polipropileno.

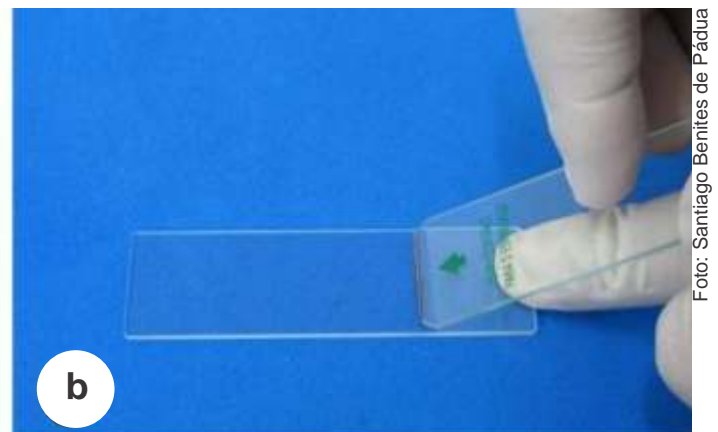
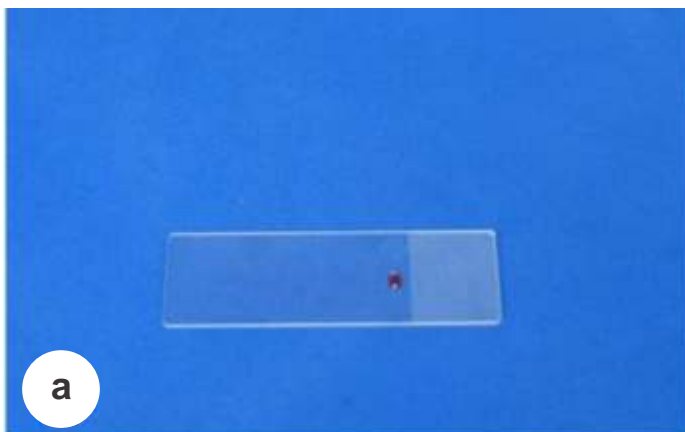
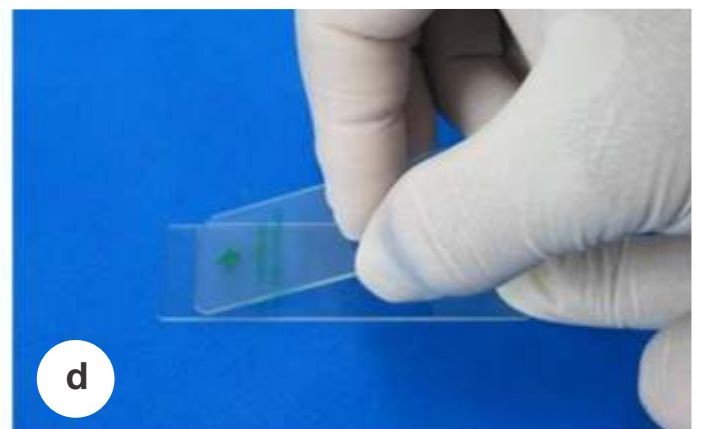
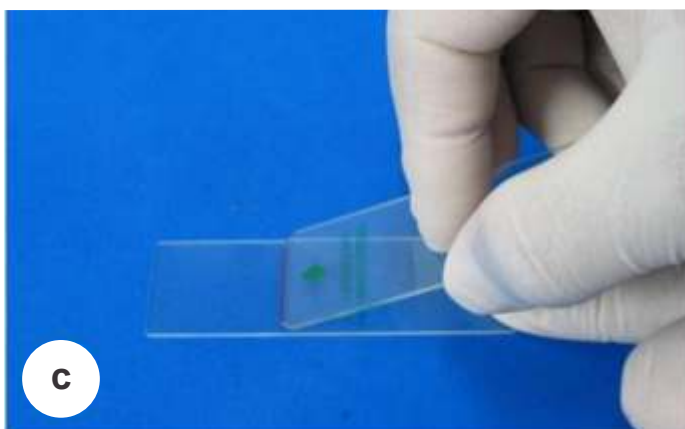


Foto: Santiago Benites de Pádua



**Figura 5.** Confecção da extensão sanguínea logo após a colheita do sangue, observada na sequência (a, b, c, d).

O sangue colhido e acondicionado em microtubos deve ser armazenado sob refrigeração (entre 5 °C a 7 °C) desde os primeiros momentos após os procedimentos de venopunção. Para isso, deve estar ao alcance do operador um isopor e/ou caixa térmica com gelo e/ou similares para que o sangue seja imediatamente refrigerado, mas nunca congelado quando se pretende realizar o hemograma, pois no momento em que o sangue for descongelado haverá ruptura das células sanguíneas, apresentando-se visualmente como intensa hemólise. Para evitar o congelamento do sangue, os microtubos devem ser colocados em estantes apropriadas e estas serão acomodadas sobre o gelo; os microtubos não devem ficar em contato direto com o gelo.

O processamento das amostras sanguíneas no laboratório deve ser realizado o mais breve possível, devido a uma série de alterações *in vitro* que podem interferir nos resultados do hemograma. Portanto, este material deve ser levado ao laboratório em até 12 horas após a colheita.

## Considerações Finais

Os procedimentos para colheita sanguínea em peixes são simples e exigem poucos recursos para sua realização; no entanto, requerem alguns cuidados que foram apresentados nesta circular. A hematologia constitui uma importante ferramenta para a realização do monitoramento do estado de saúde dos peixes em uma piscicultura. O processamento laboratorial, bem como a interpretação, exigem conhecimentos e capacitação específica, mas a colheita pode ser realizada por técnico ou funcionário treinado para esses procedimentos básicos. Nesta circular foram apresentados os procedimentos básicos para orientar técnicos, alunos e profissionais de interesse na área sobre colheita de amostras sanguíneas em peixes e, assim, contribuir para viabilizar o recebimento de amostras e o processamento laboratorial de hemogramas de peixes de forma rotineira e eficiente, como observado em laboratórios destinados para mamíferos.

## Agradecimentos

Pelo apoio técnico e financeiro, os autores agradecem ao Ministério da Pesca e Aquicultura e à Fundect (Processo: 23/200.321/2008).

## Referências

- ADHIKARI, S.; SARKAR, B.; CHATTERJEE, A.; MAHAPATRA, C. T.; AYYAPPAN, S. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 58, n. 2, p. 220–226, June 2004.
- AFFONSO, E. G.; SILVA, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MENEZES, G. C.; CARVALHO, C. S. M.; NUNES, E. S.; ITUASSÚ, D. R.; ROUBACH, R.; ONO, E. A. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology: part A: molecular & integrative physiology**, New York, v. 147, n. 2, p. 383–388, June 2007.
- ANDRADE, J. I. A.; ONO, E. A.; MENEZES, G. C.; MARTINS-BRASIL, E.; ROUBACH, R.; URBINATH, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. **Comparative Biochemistry and Physiology: part A: molecular & integrative physiology**, New York, v. 146, n. 4, p. 576–580, Apr. 2007.
- BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; KLEEMANN, G. K.; HISANO, H.; ROSA, G. J. M. Níveis de vitamina C e ferro para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 6, p. 2149-2156, 2002.
- BOLASINA, S. N. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. **Aquaculture International**, Andrews, v. 14, n. 6, p. 569-575, Dec. 2006.
- BORGES, A.; SCOTTI, L. V.; SIQUEIRA, D. R.; ZANINI, R.; AMARAL, F.; JURINITZ, D. F.; WASSERMANN, G. F. Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. **Chemosphere**, Oxford, v. 69, n. 6, p. 920–926, Oct. 2007.
- EL-SAYED, Y. S.; SAAD, T. T.; EL-BAHR, S. M. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 212–217, Nov. 2007.

FERRARI, J. E. C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; GONÇALVES, G. S.; HISANO, H.; KLEEMANN, G. K. Níveis de cobre em dietas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 429-436, Oct./Dec. 2004.

GARCIA, F.; MORAES, F. R. Hematologia e sinais clínicos de *Piaractus mesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. **Acta Scientiarum: biological sciences**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 17-21, Jan./Mar. 2009.

GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M. L.; JERONIMO, G. T.; YAMASHITA, M. M.; ADAMANTE, W. de B. Ectoparasites influence on the haematological parameters of Nile tilapia and carp culture in the state of Santa Catarina South Brazil. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, New York, v. 1, n. 2, p. 270-276, 2006.

HISANO, H.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Levedura e zinco como pró-nutrientes para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): aspectos hematológicos. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 35-42, 2007.

INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Biodiversidade Pampeana**, Uruguiana, v. 2, p. 10-15, 2004.

MARTINS, M. L.; MOURIÑO, J. L. P.; AMARAL, G. V.; VIEIRA, F. N.; DOTTA, G.; JATOBÁ, A. M. B.; PEDROTTI, F. S.; JERÔNIMO, G. T.; BUGLIONE-NETO, C. C.; PEREIRA JUNIOR, G. Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 68, n. 3, p. 631-637, Aug. 2008a.

MARTINS, M. L.; TAVARES-DIAS, M.; FUJIMOTO, R. Y.; ONAKA, E. M.; NOMURA, D. T. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 5, p. 640-646, Oct. 2004.

MARTINS, M. L.; VIEIRA, F. N.; JERÔNIMO, G. T.; MOURIÑO, J. L. P.; DOTTA, G.; SPECK, G. M.; BEZERRA, A. J. M.; PEDROTTI, F. S.; BUGLIONE-NETO, C. C.; PEREIRA JUNIOR, G. Leukocyte response and phagocytic activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 35, n. 1, p. 219-222, Mar. 2008b.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FELIZARDO, N. N.; LUQUE, J. L. Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum: biological sciences**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 231-237, July/Sept. 2005.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ISHIKAWA, C. M.; EIRAS, A. C.; SILVEIRA, V. R. Effects of an experimental challenge with *Mycobacterium marinum* on the blood parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 6, p. 945-953, 2004.

SATAKE, F.; PÁDUA, S. B. de; ISHIKAWA, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. p. 330-345. 1 CD-ROM.

SUDAGARA, M.; MOHAMMADIZAREJABADA, A.; MAZANDARANIA, R.; POORALIMOTLAGHA, S. The efficacy of clove powder as an anesthetic and its effects on hematological parameters on roach (*Rutilus rutilus*). **Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition**, Faisalabad, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2009.

SWEILUM, M. A. Effect of sublethal toxicity of some pesticides on growth parameters, haematological properties and total production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and water quality of ponds. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, n. 11, p. 1079-1089, Aug. 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; ONAKA, E. M.; REZENDE, P. C. B. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, v. 77, n. 4, p. 355-363, 2007.

VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; NOVOTNY, L. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). **Veterinary Medicine**, Bonner Springs, v. 52, n. 3, p. 103-110, 2007.

YU, J. H.; HAN, J. J.; PARK, S. W. Haematological and biochemical alterations in Korean catfish, *Silurus asotus*, experimentally infected with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 295-302, Jan. 2010.

**Circular  
Técnica, 17**

Embrapa Agropecuária Oeste  
Endereço: BR 163, km 253,6 - Caixa Postal 661  
79804-970 Dourados, MS  
Fone: (67) 3416-9700  
Fax: (67) 3416-9721  
E-mail: sac@cpao.embrapa.br

1ª edição  
(2010): online

**Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

**Comitê de  
Publicações**

Presidente: *Guilherme Lafourcade Asmus*  
Secretário-Executivo: *Harley Nonato de Oliveira*  
Membros: *Alexandre Dinny's Roese, Claudio Lazzarotto,  
Éder Comunello, Josiléia Acordi Zanatta, Milton Parron  
Padovan, Sílvia Mara Belloni e Walder Antonio Gomes de  
Albuquerque Nunes*  
Membros suplentes: *Alceu Richetti e Carlos Ricardo  
Fietz.*

**Expediente**

Supervisão editorial: *Eliete do Nascimento Ferreira*  
Revisão de texto: *Eliete do Nascimento Ferreira*  
Editoração eletrônica: *Eliete do Nascimento Ferreira*  
Normalização bibliográfica: *Eli de Lourdes Vasconcelos.*



---

## **Agropecuária Oeste**

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

BR 163, km 253,6 - Trecho Dourados-Caarapó

Caixa Postal 661 - 79804-970 Dourados, MS

Telefone (67) 3416-9700 Fax (67) 3416-9721

[www.cpao.embrapa.br](http://www.cpao.embrapa.br)