

Macapá, AP
Maio, 2011

Métodos para Coleta de Parasitos de Peixes



Autores Introdução

Gabriela Tomas Jerônimo
Engenheira de Aquicultura, Doutoranda,
Universidade Federal de Santa Catarina,
Florianópolis, SC.
gabriela@cca.ufsc.br

Maurício Laterça Martins
Biólogo, Doutor,
Universidade Federal de Santa Catarina,
Florianópolis, SC.
mlaterca@cca.ufsc.br

Márcia Mayumi Ishikawa
Médica Veterinária, Doutora,
Embrapa Agropecuária Oeste,
Dourados, MS.
marcia@cpoa.embrapa.br

Arlene Sobrinho Ventura
Acadêmica de Medicina Veterinária,
Faculdade Anhanguera, Dourados, MS.
arlene_s_ventura@hotmail.com

Marcos Tavares-Dias
Biólogo, Doutor,
Embrapa Amapá,
C.Postal: 10, 68903-419, Macapá, AP.
marcostavares@cpafap.embrapa.br

Entre as metodologias para diagnóstico de doenças em peixes podem ser ressaltadas as análises parasitológicas, sendo importante coletar e processar os parasitos de maneira correta, para obtenção de material que possa ser identificado.

Para obtenção dos parasitos é necessário realizar uma necropsia do peixe, ou seja, é importante retirar e analisar todas as partes do peixe onde podemos encontrar os parasitos. É então necessário seguir uma sequência de procedimentos que facilite a execução e garanta a preservação dos parasitos (EIRAS et al., 2006).

Sempre que possível, os peixes deverão ser examinados imediatamente após sua coleta e morte, para observação de parasitos externos (ectoparasitos) e internos (endoparasitos).

O objetivo desta circular é orientar técnicos, estudantes e profissionais da área sobre as metodologias adequadas para coleta de parasitos de peixes, principalmente na piscicultura.

Insensibilização dos Peixes

Para conter e sacrificar os peixes podem ser utilizados alguns anestésicos sintéticos como a tricaina metano sulfonato (MS-222) e a benzocaína, os quais são muito utilizados. Estes anestésicos podem causar efeitos indesejados em algumas espécies de peixes, tais como a perda de muco, irritação das brânquias e danos na córnea (INOUE et al., 2003), além da perda de ectoparasitos.



Outra alternativa é a utilização do óleo de cravo que apresenta algumas vantagens como a praticidade, baixo custo, eficiência em baixas concentrações e rápida metabolização e depuração (CHO; HEAT, 2000; MUNDAY; WILSON, 1997; WATERSTRAT, 1999).

Em geral, os anestésicos não são recomendados para estudos e coletas de ectoparasitos, mas quando o objetivo é coletar ectoparasitos não há inconveniência

Dados Biométricos

A biometria é realizada para complementar as informações referentes ao diagnóstico de doenças parasitárias no peixe. Na biometria, são realizadas algumas medidas do peixe tais como seu peso (g) e comprimento (cm).

no uso de anestésicos (EIRAS et al., 2006).

Assim, para estudos e coletas de ectoparasitos, a maneira simples e eficaz de causar a morte dos peixes consiste em perfurar a parte superior da cabeça com um instrumento pontiagudo. Um pequeno movimento lateral nesta posição causa a comção cerebral, provocando a morte do peixe.

O comprimento pode ser o total, que vai da boca até a cauda ou o comprimento padrão, quando se mede da boca até o início do pendúculo caudal.

Seqüência de Procedimentos para Coleta de Parasitos de Peixe

A) Coleta de ectoparasitos de peixes de pequeno porte

1. Colocar o peixe em um frasco com formol 1:4.000.
2. Esperar duas horas e completar com formaldeído 37%-40% até atingir uma concentração aproximada de 5%.
3. Etiquetar o frasco identificando a espécie, data e informações do proprietário.



B) Coleta de ectoparasitos do tegumento

1. Fazer uma inspeção macroscópica com objetivo de detectar possíveis parasitos visíveis a olho nu.
2. Realizar raspagem do tegumento no sentido cabeça-cauda, não se esquecendo das nadadeiras.
3. Colocar o conteúdo do tegumento em um frasco.
4. Adicionar formol a 10% até alcançar a concentração de 5% sobre esse conteúdo.
5. Etiquetar o frasco, contendo o órgão, peixe analisado e data.



C) Coleta de ectoparasitos das narinas

1. As narinas devem ser abertas com auxílio de uma tesoura de ponta fina e deve-se realizar a lavagem das suas cavidades com soro fisiológico 0,65% ou formol 1:4.000.
2. O conteúdo deve ser colocado em um frasco.
3. Adicionar formol a 10% até alcançar a concentração de 5% sobre o conteúdo.
4. Etiquetar o frasco contendo o órgão e identificá-lo com informações sobre espécie, local e data de coleta.



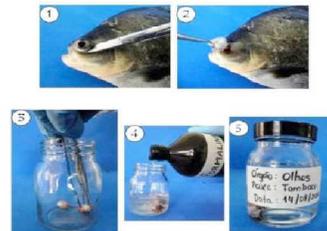
D) Coleta de ectoparasitos de brânquias (guelras)

1. Levantar o opérculo, expondo as brânquias, retirá-las com cuidado e separar os arcos.
2. Colocar em frasco e banhá-las com água a 55 °C, e após aproximadamente 30* minutos, completar o frasco com formol a 10%.
3. Etiquetar o frasco, contendo o órgão, espécie, data e informações do proprietário.

*Em regiões que registram altas temperaturas ambientais, como as que ocorrem na Amazônia, não é necessário expor as brânquias à água quente por longo período. Cerca de 10-15 minutos são o suficiente.

E) Coleta de endoparasitos de olhos de peixes

1. Com auxílio de instrumento pontiagudo, externar o globo ocular do peixe.
2. Retirar os dois globos oculares.
3. Estourar os globos oculares dentro de um frasco.
4. Adicionar AFA frio ou formol 10%.
5. Etiquetar o frasco contendo o órgão, com dados do peixe analisado e a data de coleta.



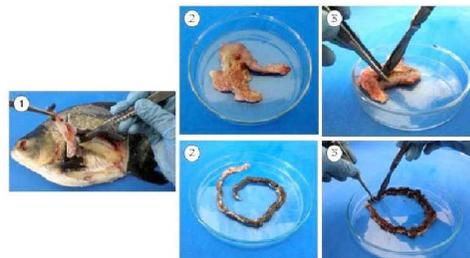
F) Necropsia para coleta de endoparasitos

A necropsia dos peixes consiste na abertura da cavidade visceral e exposição dos órgãos.

1. Fazer uma incisão ventral, começando na região do ânus e prolongando-a até a região anterior.
2. A seguir, rebater as paredes laterais da cavidade visceral.
3. Expor os órgãos internos e observar se há parasito aderido à superfície dos órgãos ou na própria cavidade visceral.

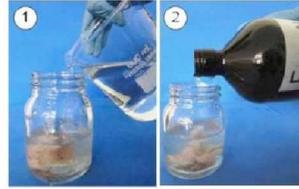
G) Coleta de endoparasitos de órgãos de peixes

1. Retirar o órgão desejado (estômago e/ou intestino).
2. Individualizá-los em placa de Petri.
3. Os órgãos devem ser abertos cuidadosamente.



h) Processamento dos órgãos para coleta de endoparasitos

1. Os órgãos devem ser banhados em água a 55 °C (estômago e/ou intestino).
 2. Após 30 minutos completar o frasco com formol 10% ou AFA aquecido a 60 °C. O intestino e o estômago devem ser abertos e fixados diretamente no frasco com formol 10% ou AFA aquecido a 60 °C.
 3. Etiquetar identificando qual órgão, data, espécie e informações do proprietário.
 4. Para facilitar a coleta, o conteúdo do estômago e/ou intestino poderão ser lavados em peneiras com malha de 100-150µm de abertura.
 5. Observar o órgão em estereomicroscópio.
- OBS: Se a coleta for realizada em laboratório, pode seguir direto para o passo 4.



Detecção e Métodos de Fixação de Parasitos de Peixes

Nos peixes de cultivo podem ser encontrados diferentes parasitos pertencentes aos vários grupos, em órgãos distintos (Tabela 1). Assim, são necessárias as seguintes recomendações para detecção e fixação:

Protozoários – A detecção é efetuada através da observação microscópica de raspados de brânquias e tegumento, ou de pequenos fragmentos de brânquias colocados entre lâmina e lamínula. A fixação pode ser feita diretamente em lâmina ou após remoção dos arcos branquiais e raspado do tegumento usando formol a 5%.

Myxozoa – Podem ser encontrados nas brânquias, rins, fígado, baço, coração e ovários. São caracterizados, na sua fase de parasito de peixes, por possuírem esporos, podendo ter formas e dimensões muito diferentes. A sua observação deve ser feita, tanto quanto possível, imediatamente depois de coletados, colocando-se entre lâmina e lamínula. Se for impossível observar os esporos a fresco, então pode proceder-se a fixação dos mesmos em formol tamponado a 4%-10%.

Monogenoides – Se encontram nas brânquias, narinas e superfície do corpo dos peixes (tegumento). Pode-se detectar também no estômago, cavidade visceral, ovidutos e canais

urinários. A verificação da parasitose causada por Monogenoidea pode ser feita analisando-se peixes vivos, através de raspados de tegumento e brânquias, ou de pequenos fragmentos de brânquias colocados entre lâmina e lamínula. Para visualização dos mesmos nos órgãos internos, necropsia-se o peixe, retirando o órgão desejado. Para fixação do parasito, recomenda-se banhar as brânquias em água aquecida (a 60 °C) até cobrir seu volume, e aproximadamente 30 minutos após, adicionar formol 5%-10%.

Digenéticos – Podem ser coletados no trato-gastrointestinal (estômago e/ou intestino), órgãos ocos, sistema circulatório ou tecido conjuntivo. Já em sua forma larval (metacercárias) podem localizar-se nas brânquias, olhos, encéfalo, pericárdio, musculatura, cavidade geral, parede interna e vários órgãos e mesentério. Os adultos devem ser comprimidos entre lâminas ou entre lâmina e lamínula e fixados com formol 5% ou AFA.

Cestoides e nematoides – Em geral, os cestoides e nematoides são encontrados na fase adulta parasitando intestino e/ou a cavidade do corpo dos peixes. Estes devem ser fixados com formol 5% ou AFA quente, para distensão do corpo.

Acantocéfalos – Os parasitos adultos são quase

Tabela 1. Principais órgãos onde parasitos de peixes podem ser encontrados.

Parasitos	Local de preferência					
	Muco e nadadeiras	Brânquias	Olhos	Músculo e mesentério	Intestino	Demais órgãos internos
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	+	+	-	-	-	-
Tricodineídeos	+	+	-	-	-	-
Mixosporídeos	+	+	+	+	+	+
Monogenoídeos	+	+	-	-	+	-
<i>Lernaea</i> (larvas e adultos)	+	+	-	-	-	-
<i>Argulus/Dolops</i>	+	+	-	-	-	-
Larvas de molusco	+	+	-	-	-	-
Larvas de digenéticos	-	-	+	+	+	+
Larvas de cestóides	-	-	-	+	+	+
Larvas de nematóides	-	-	-	+	+	+
Digenéticos, cestóides e nematóides adultos	-	-	-	-	+	+

Preparação dos Reagentes Fixadores de Parasitos

A) Formol 1:4.000

Formol (37%-40%).....1 mL
Água destilada 4.000 mL

B) Formol a 5%:

Formol (37%-40%)..... 50 mL
Água destilada 950 mL

C) Formol 10%:

Formol (37%-40%).....100 mL
Água destilada..... 900 mL

D) Formol 10% tamponado:

Formol (37%-40%).....100 mL
Água destilada..... 900 mL
Fosfato de sódio dibásico.....6,5g (Na₂HPO₄)
Fosfato de sódio monobásico.....4,0g (NaH₂PO₄)

E) Álcool 70%

Álcool absoluto.....700 mL
Completar com água destilada.....300 mL

F) AFA

Álcool 70 °GL.....930 mL
Formol (37%-40%).....50 mL
Ácido acético glacial.....20 mL

OBS: Deve ser armazenado em geladeira (4°C), para na eversão da probóscide de acantocéfalos.

São necessários cuidados básicos na manipulação dos reagentes indicados para fixação dos órgãos e/ou parasitos de peixes. Recomenda-se a utilização de luvas e máscaras para manipulação dos reagentes, visto que formol e ácido acético são altamente tóxicos, cancerígenos e irritantes para as vias respiratórias. Esses produtos quando entram em contato com a pele, podem causar irritação nos olhos, nariz e mucosas, mas em altas concentrações pode causar ainda bronquite, pneumonia e laringite.

Os sintomas mais frequentes no caso de inalação são: forte dor de cabeça, tosse, falta de ar, vertigem e dificuldade para respirar. O contato com o vapor ou com a solução pode deixar a pele esbranquiçada, áspera e causar forte sensação de anestesia e necrose na pele superficial. O ácido acético quando concentrado pode causar queimaduras graves na pele e nos olhos.

Considerações Finais

A coleta de parasitos de peixe pode ser realizada, preferencialmente, no Laboratório, no entanto, pode também ser realizada na piscicultura ou no campo. No primeiro caso, o material deve estar acondicionado adequadamente em frasco, seguindo as recomendações acima e de tal maneira que a amostra fique coberta, pelo fixador (formol), 5 a 10 vezes o seu volume. Junto com a amostra deverá ser encaminhado para o Laboratório algumas informações complementares sobre o material que está sendo enviado:

- > Nome, endereço e telefone da propriedade;
- > Data da coleta dos parasitos;
- > Nome e espécie do peixe que foi feita a coleta os parasitos;
- > Ração utilizada e a frequência com que os peixes estavam sendo alimentados;
- > Data que iniciou a mortalidade;
- > Descrição do tratamento (produto, quantidade e frequência) caso tenha sido utilizado.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), pelo apoio financeiro ao Projeto Aquabrazil e Projeto MAPA/CNPq (Proc. 578159/2008-2).

Referências

CHO, G. K.; HEAT, D. D. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquaculture Research*, Oxford, n. 31, p. 537-546, 2000.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2. ed. Maringá: Eduem, 2006. 199 p.

INOUE, L. A. K. A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943-947, 2003.

MUNDAY, P. L.; WILSON, S. K. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *Journal of Fish Biology*, London, v. 51, p. 931-938, 1997.

WATERSTRAT, P. R. Induction and recovery from anaesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *Journal of World Aquaculture Society*, Baton Rouge, v. 30, n. 2, p. 250-255, 1999.

Circular Técnica, 39

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Amapá

Endereço: Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 5, N° 2600, CEP 68903-419, Macapá, AP.

Caixa Postal 10, CEP 68906-970

Fone: (96) 4009-9500

Fax: (96) 4009-9501

E-mail: sac@cpafap.embrapa.br

† edição

† impressão (2011): 500 exemplares

Comitê de Publicações

Presidente: Rogério Mauro Machado Alves

Secretária: Elisabete da Silva Ramos

Membros: Marcelino Carneiro Guedes, Raimundo Pinheiro Lopes Filho, Valéria Saldanha Bezerra, Ricardo Adaime da Silva, Adilson Lopes Lima.

Expediente

Supervisor Editorial: Rogério Mauro Machado Alves

Normalização bibliográfica: Adelina do Socorro Serrão Belém

Revisão de Texto: Elisabete da Silva Ramos

Fotos: Gabriela Tomas Jerônimo e Marcos Tavares Dias



