

Procedimentos de Manuseio e de Colheita do Sangue em Arraias de Água Doce



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amapá
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 77

Procedimentos de Manuseio e de Colheita do Sangue em Arraias de Água Doce

*Adriano Teixeira de Oliveira
Jefferson Raphael Gonzaga Lemos
Márcio Quara Carvalho Santos
Maria Lúcia Góes de Araújo
Marcos Tavares-Dias
Jaydione Luiz Marcon*

Embrapa Amapá

Endereço: Rodovia Juscelino Kubitschek, km 05, CEP 68903-419,

Caixa Postal 10, CEP 68906-970, Macapá, AP

Fone: (96) 4009-9500

Fax: (96) 4009-9501

Home page: <http://www.cpaafap.embrapa.br>

E-mail: cpafap.sac@embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Joffre Kouri*

Secretário-Executivo: *Aderaldo Batista Gazel Filho*

Membros: *Adelina do Socorro Serrão Belém, José Antonio Leite de Queiroz, Maguida Fabiana da Silva, Marcos Tavares-Dias, Ricardo Adaime da Silva, Rogério Mauro Machado Alves*

Supervisão editorial: *Adelina do S. Serrão Belém*

Revisores Técnicos: *Eliane Tie Oba Yoshioka – Embrapa Amapá*

Rodrigo Yudi Fugimoto – Embrapa Tabuleiros Costeiros

Revisão de texto: *Elisabete da Silva Ramos*

Normalização bibliográfica: *Adelina do Socorro Serrão Belém*

Editoração eletrônica: *Fábio Sian Martins*

Foto da capa: *Adriano Teixeira de Oliveira*

1ª edição

Versão eletrônica (2012)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Amapá

Oliveira, Adriano Teixeira de

Procedimentos de manuseio e de colheita do sangue em arraiais de água doce / Adriano Teixeira de Oliveira...[et al.]. – Macapá: Embrapa Amapá, 2012.

18 p. : il. -- (Documentos / Embrapa Amapá ; ISSN 1517-4859, 77).

1. Peixe de água doce. 2. Hematologia. 3. Análise. 4. Processamento laboratorial. I. Oliveira, Adriano Teixeira de. II. Título. III. Série.

CDD 639.31

© Embrapa 2012

Autores

Adriano Teixeira de Oliveira

Biólogo, Doutorando em Diversidade Biológica,
Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia (IFAM), Presidente Figueiredo, AM.
adriano.oliveira@ifam.edu.br

Jefferson Raphael Gonzaga Lemos

Biólogo, Mestre em Diversidade Biológica,
Faculdade Metropolitana de Manaus (Fametro),
Manaus, AM. jeffraphael@yahoo.com.br

Marcio Quara Carvalho Santos

Biólogo, Mestre em Diversidade Biológica,
Universidade Federal do Amazonas (UFAM),
Manaus, AM. marcioquara@hotmail.com

Maria Lúcia Góes de Araújo

Oceanógrafa, Doutora em Diversidade Biológica,
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).
mlpotamotrygon@gmail.com

Marcos Tavares-Dias

Biólogo, Doutor em Aquicultura de Águas
Continentais, Pesquisador da Embrapa Amapá,
Macapá, AP, marcos.tavares@embrapa.br

Jaydione Luiz Marcon

Biólogo, Doutor em Biologia de Água Doce e
Pesca Interior, Universidade Federal do Amazonas
(UFAM), Manaus, AM. jlmarcon@ufam.edu.br

Agradecimentos

Este trabalho obteve licença (Número: 18.285/10) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas/FAPEAM (Processos: 2459/08 e 126/08) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq (Processo: 408795/2006-9).

Apresentação

A aquarioria é um hobby praticado em todo o mundo, assim com esse crescente aumento de demanda, o mercado de espécies ornamentais vem se expandindo, nos Estados Unidos e Europa. Neste mercado, o Brasil é um grande exportador, com predomínio marcante de espécies de água doce provenientes em sua maioria da bacia amazônica, principalmente do Estado do Amazonas, responsável por 90% de toda a produção, incluindo as arraias pertencentes à família Potamotrygonidae.

A exploração das arraias vem ocorrendo há mais de 25 anos e os procedimentos que envolvem as atividades de pesca até o transporte para os exportadores em Manaus, são os mesmos praticados desde o início da atividade na região, ou seja, ocorrem de forma artesanal e rudimentar. As arraias potamotrygonídeos vivem a maior parte do tempo semienterradas na areia ou lama do fundo dos rios e lagos, e possuem ferrões na cauda, o que pode causar graves acidentes durante sua captura e manuseio também para colheita de qualquer material biológico. Porém, há necessidade de cuidados para esses procedimentos em arraias, principalmente para estudos fisiológicos.

A Embrapa Amapá, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFAM) e a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em parceria, disponibilizaram informações sobre procedimentos corretos e seguros de manuseio de arraias de água doce e também para

a padronização de análises sanguíneas dessas espécies de animais, na publicação técnica “Procedimentos de manuseio e de colheita do sangue em arraiais de água doce”, visando assim contribuir com aqueles que coletam amostras biológicas de arraiais para fins de estudos.

Silas Mochiutti
Chefe-Geral da Embrapa Amapá

Sumário

Introdução	9
Captura na natureza	10
Contenção para o manuseio	11
Colheita do sangue	14
Considerações finais	16
Referências	17

Procedimentos de Manuseio e de Colheita do Sangue em Arraias de Água Doce

Adriano Teixeira de Oliveira
Jefferson Raphael Gonzaga Lemos
Márcio Quara Carvalho Santos
Maria Lúcia Góes de Araújo
Marcos Tavares-Dias
Jaydione Luiz Marcon

Introdução

As arraias de água doce pertencem à família Potamotrygonidae e estão inseridas no único grupo de elasmobrânquios adaptados à vida exclusiva em água doce (COMPAGNO; COOK, 1995). Esses animais possuem o corpo achatado dorso-ventralmente e cauda com até três ferrões retosserrilhados, que contém toxinas. Devido a essa característica, os potamotrigonídeos causam grande temor aos banhistas e pescadores, pois podem causar acidentes que provocam ferimentos graves e bastante dolorosos (GARRONE NETO; HADDAD-JUNIOR, 2009). Assim, durante a manipulação desses animais para colheita de sangue em estudos hematológicos, acidentes podem ocorrer na manipulação e captura realizadas sem instrumentos de pesca apropriados e sem os devidos cuidados (GARRONE-NETO; HADDAD-JUNIOR, 2010).

Em peixes teleósteos os procedimentos básicos para a colheita de sangue já estão bem estabelecidos (ISHIKAWA et al., 2010; TAVARES-DIAS; MORAES, 2004), entretanto, em tubarões a colheita de sangue é recomendada na região dorsal, procedimento conhecido como punção caudal (ARNOLD, 2005; RIJN; REINA, 2010; WALSH; LUER, 2004; WILHELM-FILHO et al., 1992). Para as arraias marinhas a via mais utilizada para colheita do sangue é a punção cardíaca (WALSH; LUER,

2004; WILHELM-FILHO et al., 1992) e essa mesma via é a recomendada para as arraiais de água doce (DUNCAN et al., 2009).

Com a finalidade de minimizar acidentes durante procedimentos de manipulação de arraiais de água doce e, principalmente, com a finalidade de reduzir o manuseio estressante em arraiais para a colheita sanguínea adequada e determinação de parâmetros fisiológicos, evitando assim possíveis alterações nessas determinações (ISHIKAWA et al., 2010), o objetivo desse trabalho foi padronizar os procedimentos de manuseio e colheita sanguínea em arraiais de água doce.

Captura na natureza

Em ambiente natural, dependendo da finalidade, a captura de arraiais é geralmente realizada com diferentes instrumentos de pesca, tais como: o puçá de mão (Figura 1), também conhecido como rapiché na Amazônia central; malhadeiras; espinhel; e arpão, também conhecido como zagaia. Entretanto, para a determinação dos parâmetros hematológicos em população natural de qualquer espécie de arraiais de água doce, recomenda-se o uso do puçá de mão, pois esse instrumento não causa ferimentos nos animais e



Foto: Adriano Teixeira de Oliveira

Figura 1. Captura de arraiais na natureza com o uso de puçá de mão.

permite que eles sejam capturados rapidamente, minimizando o efeito do estresse de captura, indesejável para os estudos fisiológicos, principalmente para determinação de valores sanguíneos basais de qualquer espécie de arraia.

Na Amazônia, as arraias coletadas da natureza com puçá de mão são mantidas em recipientes de caixa plástica (tipo-caçapa) com capacidade de até 30 litros de água. Assim, nesses recipientes contendo 2-3 litros de água elas são mantidas e estocadas na densidade média de duas em cada recipiente.

Contenção para o manuseio

Os ferrões das arraias derivam de formas ancestrais que os utilizavam para afugentar predadores e não para a captura de presas, reforçando o conceito de que arraias não são agressivas, utilizando seus ferrões apenas quando pisadas inadvertidamente ou manuseadas sem o devido cuidado (GARRONE-NETO; HADDAD JUNIOR, 2009).

Diferentemente de peixes teleósteos e algumas espécies de tubarões e arraias marinhas, as arraias potamotrigonídeos dulciaquícolas possuem ferrões com toxinas em suas caudas que podem provocar úlceras que têm um período de cicatrização de até três meses (GARRONE-NETO; HADDAD-JUNIOR, 2009). Esses acidentes causam dor intensa no local da ferroadada, edema e extensão variável de sangramento (MAGALHÃES et al., 2006). Desta forma, em arraias de água doce, as práticas necessárias ao manuseio de colheita de sangue requerem procedimentos de segurança para evitar a ocorrência desses graves acidentes ao manipulador.

Em alguns casos o uso de anestésicos é indicado, entretanto, sabe-se que essas substâncias podem ocasionar alterações hematológicas como tem sido relatado para algumas espécies de peixes teleósteos (BOLASINA, 2006; INOUE et al., 2004; SUDAGARA et al., 2009; TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). Porém, para os potamotrigonídeos não existe qualquer

estudo sobre os possíveis efeitos de anestésicos em parâmetros hematológicos. Em arraiais dulciaquícolas, o anestésico MS-222 (0,5 g/L) tem efeito somente depois de cerca de 10-15 minutos, além de ser uma substância tóxica para os animais. Assim, quando há necessidade da utilização de anestésicos para contenção dos animais, recomenda-se o uso de eugenol (Tabela 1), por 3-4 minutos. Em períodos inferiores a três minutos, os animais ainda possuem reflexos e batimentos do espiráculo bem evidentes. Em períodos superiores a quatro minutos, os batimentos do espiráculo são muito baixos e dificultam a colheita de sangue, por punção branquial, em um curto período de tempo.

Tabela 1. Recomendações quanto ao uso de seringas, agulhas e concentração do anestésico eugenol de acordo com a massa corporal de arraiais coletadas para colheita de sangue.

Peso (g)	Seringas	Agulhas	Eugenol (g/L)
1-50	1 mL	13 x 4 mm	0,2
51-10.000	3 mL	25 x 7 mm	0,2
Acima de 10.000	3 mL	1,20 x 40 mm	0,2

Como medida preventiva de acidentes, é recomendado o uso da pinça Foster para contenção mecânica dos animais, prendendo somente o ferrão como mostrado na Figura 2. Alguns raros indivíduos de *Potamotrygon motoro*, uma espécie muito ativa, mesmo sob letargia da anestesia, podem tentar desferir ferroadas no manipulador, mas isso pode ser bloqueado pelo próprio peso da pinça Foster, que pode ser usada em procedimentos de manuseio dessas arraiais de qualquer tamanho. Porém, um procedimento que não deve ser realizado é a imobilização da cauda e do ferrão simultaneamente sem o uso de equipamentos adequados, pois podem ocorrer ferimentos causados pelo ferrão, bem como o rompimento da cauda e até mesmo a perda desse membro, o qual exerce importante função no equilíbrio natatório das arraiais e das atividades dependentes da natação, tais como: a caça, a fuga e o acasalamento.

Foto: Adriano Teixeira de Oliveira



Figura 2. Contenção mecânica do ferrão de arraias com o uso da pinça Foster.

Para manusear as arraias, após a contenção do ferrão com pinça Foster, deve-se também utilizar luvas de couro resistentes, que permitam a mobilidade das mãos. Porém, como as arraias de água doce liberam muito muco na superfície do corpo, esse dificulta o manuseio desses animais, devido à redução da aderência entre as luvas e os animais. Assim, a utilização de um pano umedecido em água para cobrir o ferrão também auxilia bastante nos procedimentos de manuseio correto de arraias (Figura 3).

Foto: Adriano Teixeira de Oliveira

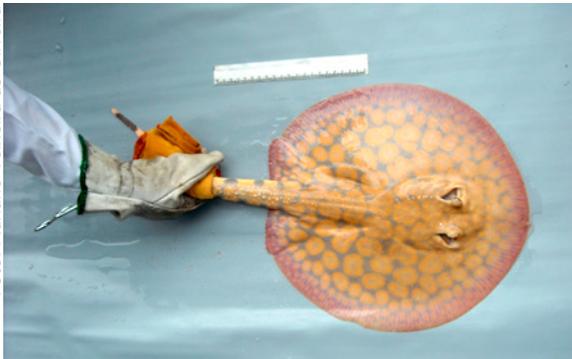


Figura 3. Utilização de pinça Foster, pano e luva de couro para manusear arraias com segurança para o animal e para o manipulador.

Após a contenção mecânica da arraia, essa deve ser mantida com a região ventral para cima e, em seguida, coloca-se um pano umedecido sobre as suas brânquias, para evitar a sua mobilidade e diminuir ao máximo o seu estresse causado pelo manuseio fora da água.

Colheita do sangue

Nas arraias de água doce há três locais que podem ser usados para colheita sanguínea: punção do vaso caudal, punção cardíaca e punção do vaso branquial. Recomenda-se utilizar seringas descartáveis previamente umedecidas em anticoagulantes como o EDTA 10% ou heparina 5.000 UI (0,1 mL para cada 1 mL de sangue), sendo que o tamanho dessas seringas depende da massa corpórea dos animais coletados. Em arraias de água doce, para um maior sucesso na colheita de sangue, é necessário o uso de seringa e agulha com tamanho compatível à massa corporal dos animais coletados (Tabela 1).

A punção do vaso caudal (Figura 4A-B) tem procedimentos difíceis de executar, devido à natureza rígida do membro e pouca vascularização, o que reduz a quantidade de sangue circulante na localidade quando comparados aos outros locais de colheita do sangue. Além disso, esse é o local onde se localiza o ferrão desse grupo de elasmobrânquios dulciaquícolas, tornando assim esse procedimento de colheita sanguínea bastante perigoso para o manipulador.

Foto: Adriano Teixeira de Oliveira

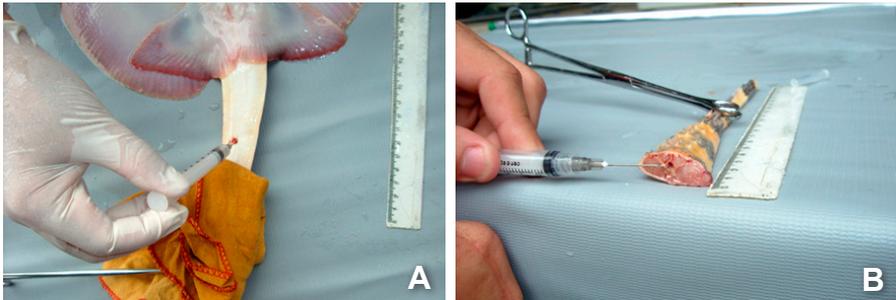


Figura 4. (A) Local de punção caudal em arraias de água doce. (B) Vaso caudal por onde circula o sangue.

Na colheita de sangue por punção cardíaca, a seringa deve estar inclinada em ângulo de aproximadamente 60° em relação ao corpo da arraia (Figura 5A-B). Nesse método, a confiabilidade da amostragem está consignada ao enrijecimento perceptível após a perfuração do músculo do coração, órgão que se localiza entre a primeira e a segunda fenda branquial. Dentre os três locais de colheita sanguínea, a punção cardíaca é o procedimento mais invasivo para os animais. Assim, como o coração é o órgão vital responsável pelo bombeamento do sangue, a utilização de anestésicos (Tabela 1) é necessária para evitar o sofrimento dos animais. Porém, a colheita sanguínea deve ser precisa, para que não ocorra posteriormente necrose do miocárdio, que pode ser fatal (ISHIKAWA et al., 2010). Além disso, nessa localidade há um maior risco de se retirar outros fluidos (corporais e linfa) e não o sangue desejado. Portanto, devido a todos os fatores anteriormente mencionados, a escolha do local de colheita sanguínea em arraiais de água doce dependerá, principalmente, do uso ou não de anestésicos e da habilidade do manipulador.

Foto: Adriano Teixeira de Oliveira

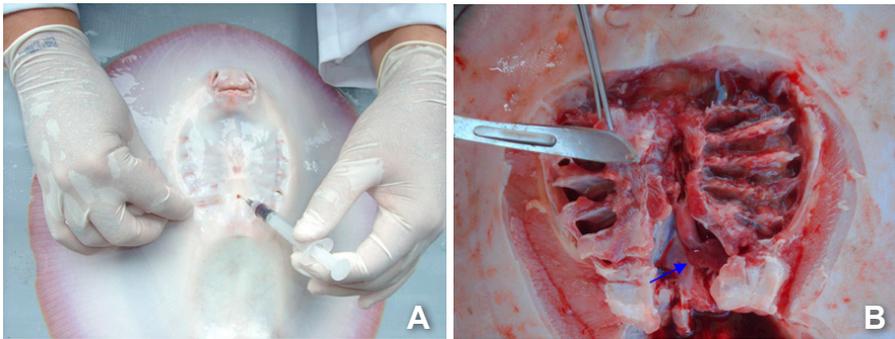


Figura 5. (A) Local e posicionamento correto da seringa para a colheita sanguínea por punção cardíaca em arraia de água doce. (B) Câmara branquial aberta indicando a posição do coração (seta azul).

A colheita sanguínea por punção do vaso branquial deve ocorrer na posição da terceira fenda branquial e com a seringa disposta em ângulo de 90° (Figura 6). A perfuração com a agulha deve ir até a percepção

da coluna vertebral, em seguida um leve retorno com um pequeno aumento da pressão negativa no êmbolo devem ser feitos. Não se deve exercer pressão exagerada, pois pode ocorrer hemólise (ISHIKAWA et al., 2010). A punção do vaso branquial é o método mais eficiente para se colher o sangue de arraiais de água doce. Esse procedimento é o mais seguro contra as ferroadas dos animais e, além disso, reduz as chances de colheita de outros fluidos corporais indesejáveis durante a colheita do sangue. Portanto, esse é o método em que se obtém sangue com maior rapidez para a análise e proporcionando menor estresse aos animais.

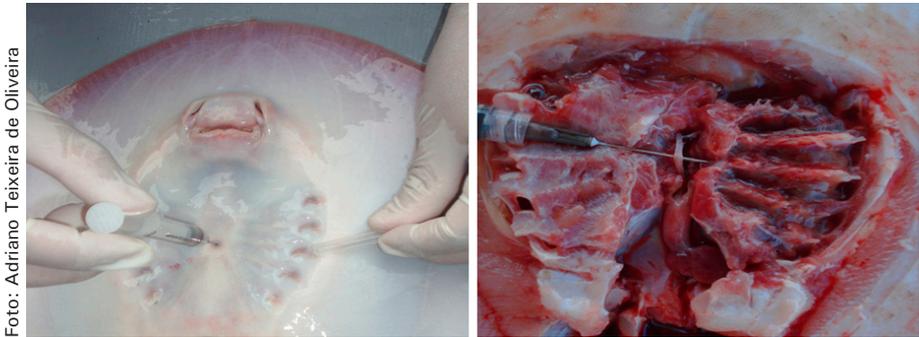


Foto: Adriano Teixeira de Oliveira

Figura 6. (A) Colheita do sangue por punção do vaso branquial. (B) Detalhe do vaso branquial em arraiais de água doce, indicado pela agulha da seringa.

Considerações finais

Devem ser considerados sempre os procedimentos mais seguros para o manuseio adequado de arraiais de água doce durante a obtenção de amostras biológicas, incluindo a colheita de sangue, evitando assim a ocorrência de acidentes graves com os ferrões desses animais aquáticos. Portanto, recomenda-se a colheita de sangue de arraiais de água doce por punção do vaso branquial devido a maior segurança para o manipulador, pela facilidade, precisão e rapidez nesse procedimento. Além disso, a punção do vaso branquial reduz o sofrimento dos animais, causado geralmente pelo estresse de manuseio e pela contenção mecânica fora da água.

Referências

- ARNOLD, J. E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. **Veterinary Clinical Pathology**, Bethesda, v. 34, n. 2, p. 115, 123, Jun. 2005.
- 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, Sep. 2006.
- COMPAGNO, L. J. V.; COOK, S. F. The exploitation and conservation of freshwater elasmobranchs: status of taxa and prospects for the future. **Journal Aquatic of Science**, Nigéria, v. 7, p. 62-90, 1995.
- DUNCAN, W. P.; COSTA, O. T. F.; ARAÚJO, M. L. G.; FERNANDES, M. N. Ionic regulation and Na⁺-K⁺-ATPase activity in gills and kidney of the freshwater stingray *Paratrygon aiereba* living white and blackwaters in the Amazon Basin. **Journal of Fish Biology**, São Carlos, v. 74, n. 5, p. 956-960, Oct. 2009.
- GARRONE NETO, D.; HADDAD JUNIOR, V. Acidentes por arraias. In: CARDOSO J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M.; HADDAD JÚNIOR, V. (Org.) **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. 2. ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2009. p. 295-305.
- GARRONE NETO, D.; HADDAD JUNIOR, V. Arraias em rios da região sudeste do Brasil: locais de ocorrência e impactos sobre a população. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 1, p. 82-88, jan./fev. 2010.
- INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocafina no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Biodiversidade Pampeana**, Uruguai-ana, v. 2, n. 1, p. 10-15, 2004.

ISHIKAWA, M. M.; PÁDUA, S. B.; SATAKE, F.; PIETRO, P. S. de; HISANO, H. **Procedimentos básicos para colheita de sangue em peixes**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 7 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular técnica, 17).

MAGALHÃES, K. W.; LIMA, C.; PIRAN-SOARES, A. A.; MARQUES, E. E.; HIRUMA-LIMA, C. A.; LOPES-FERREIRA, M. Biological and biochemical properties of the Brazilian Potamotrygon stingrays: *Potamotrygon cf. scobina* and *Potamotrygon gr. orbignyi*. **Toxicon, Glasgow**, v. 47, n. 5, p. 575-583, Apr. 2006.

RIJN, J. A. V.; REINA, R. D. Distribution of leukocytes as indicators of stress in the Australian swellshark, *Cephaloscyllium laticeps*. **Fish and Shellfish Immunology**, Bethesda MD, v. 29, n. 3, p. 534-538, Sep. 2010.

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.

WALSH, C. J.; LUER, C. A. Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications. In: SMITH, M.; WARMOLTS, D.; THONEY, D.; HUETER, R. COLUMBUS (Ed.). **The elasmobranch husbandry manual: captive care of sharks, rays and their relatives**. Ohio: Biological Survey, 2004. p. 307-323.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematology in teleosts fish**. Ribeirão Preto: Villimpress, 2004. 144 p.

WILHELM FILHO, D.; EBLE, G. J.; KASSNER, G.; CAPRARIO, F. X.; DAFRET, A. L.; OHIRA, M. Comparative hematology in marine fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 102, n. 2, p. 311-321, Jun. 1992.



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



CGPE 10211