

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental



ISSN 1517-3135

Dezembro, 2012

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

Documentos 100

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental

*Ronaldo Ribeiro Morais
Cheila de Lima Boijink
Kátia Emidio da Silva
Regina Caetano Quisen*

Embrapa Amazônia Occidental
Manaus, AM
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Edsandra Campos Chagas, Jeferson Luis Vasconcelos de Macêdo, Jony Koji Dairiki, José Clério Rezende Pereira, Kátia Emídio da Silva, Lucinda Carneiro Garcia, Maria Augusta Abtibol Brito, Maria Perpétua Beleza Pereira, Rogério Perin, Ronaldo Ribeiro de Moraes e Sara de Almeida Rios.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Lúcio Rogerio Bastos Cavalcanti*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300

Todos os direitos reservados.

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Morais, Ronaldo Ribeiro et al.

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / (editado por) Regina Caetano Quisen et al.

- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012.

320 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 100).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Heparina e EDTA como Anticoagulantes para Pirarucu (*Arapaima gigas*)

Paloma Inessa de Souza Dantas

Edsandra Campos Chagas

Jony Koji Dairiki

Cheila de Lima Bojink

Resumo

Este estudo avaliou a eficácia de heparina e EDTA como anticoagulantes e o efeito desses fármacos sobre os parâmetros hematológicos do pirarucu (*Arapaima gigas*). Foram utilizados 10 peixes pesando $666,3 \text{ g} \pm 61,5 \text{ g}$ para avaliação de heparina 5.000 UI e 100 UI, bem como de EDTA 3% e 10%. Os parâmetros avaliados foram: inibição da coagulação por 10 horas e eritrograma. Os resultados obtidos mostram que o EDTA 10% foi eficaz na inibição da coagulação sanguínea por mais de 10 horas, no entanto a heparina 100 UI e 5.000 UI causaram hemólise desde os primeiros momentos. No eritrograma não foi observada diferença na hemoglobina, contagem de eritrócitos, VCM e HCM, no entanto houve redução significativa dos valores de hematócrito com emprego de heparina 100 UI em comparação ao EDTA 10% e aumento dos valores da CHCM nas amostras acondicionadas com heparina 100 UI em comparação à heparina 5.000 UI, EDTA 3% e EDTA 10%. A utilização do EDTA 10% como anticoagulante é mais apropriada para pirarucu, visto que foi eficiente na prevenção da coagulação por mais de 10 horas, sem ocasionar hemólise ou alterações nos parâmetros hematológicos.

Palavras chaves: heparina, EDTA, parâmetros hematológicos.

Introdução

A utilização de diferentes anticoagulantes na hematologia clínica de peixes tem sido alvo de recentes estudos (WALENCIK; WITESKA, 2007; ISHIKAWA et al., 2010), visto que existem peculiaridades que tornam alguns fármacos mais apropriados, de acordo com a espécie, conforme observado em outros vertebrados (HARR et al., 2005). Para que se estabeleçam valores hematológicos de referência, torna-se fundamental o conhecimento do anticoagulante mais apropriado, uma vez que inúmeras alterações *in vitro* relacionadas aos anticoagulantes têm sido reportadas em peixes (WALENCIK; WITESKA, 2007; ISHIKAWA et al., 2010).

Entre os anticoagulantes empregados para realizar os procedimentos hematológicos em peixes, a heparina e o EDTA são os mais utilizados (WALENCIK; WITESKA, 2007). Esses anticoagulantes, por sua vez, atuam em diferentes etapas da cascata de coagulação, inibindo-a (HARR et al., 2005). Dessa forma preserva-se a fluidez do sangue que viabiliza a realização do hemograma. A escolha do anticoagulante adequado é fundamental não somente para os exames hematológicos, alguns parâmetros imunológicos também sofrem interferência desses fármacos (WALENCIK; WITESKA, 2007).

O pirarucu (*A. gigas*) é uma espécie nativa da Bacia Amazônica que apresenta alta taxa de crescimento, podendo alcançar de 7 kg a 10 kg no primeiro ano de criação (IMBIRIBA, 2001; PEREIRA-FILHO et al., 2003). Os estudos sobre a fisiologia e parâmetros hematológicos dessa espécie já vem sendo realizados (DRUMOND et al., 2010), e, entre os anticoagulantes, a heparina e o EDTA são empregados por diferentes pesquisadores.

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de heparina e EDTA como anticoagulantes, bem como o efeito desses fármacos sobre os parâmetros hematológicos de pirarucu (*A. gigas*).

Material e Métodos

Foram utilizados dez indivíduos de pirarucu (*A. gigas*) pesando $666,3 \text{ g} \pm 61,5 \text{ g}$, aclimatados durante um mês em tanques de polietileno de 310 L. Os peixes foram capturados com auxílio de puçá, contidos mecanicamente por meio de pano úmido e submetidos à venopunção caudal (2,5 mL) utilizando seringas isentas de anticoagulantes. O sangue foi rapidamente distribuído em igual volume de 0,5 mL em quatro tubos de polietileno (1,5 mL). A primeira alíquota foi acondicionada em tubo isento de anticoagulante (controle) e nos demais tubos com as seguintes concentrações de anticoagulantes: 15 μL de EDTA 3% (0,3 mg mL^{-1} de sangue), 15 μL de EDTA 10% (1 mg mL^{-1} de sangue), 15 μL de heparina 5.000 UI (150 UI mL^{-1} de sangue) e 15 μL de heparina 100 UI (1,5 UI mL^{-1} de sangue), após diluição a partir da heparina 5.000 UI em solução fisiológica a 0,65% (1:50).

A partir das amostras sanguíneas acondicionadas com os anticoagulantes, foi realizada a dosagem do percentual do hematócrito pela técnica do micro-hematócrito, dosagem da taxa de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina e contagem de eritrócitos utilizando a diluição de 1:200 em solução de formol-citrato, realizando a contagem em hemocítômetro. De posse desses dados, foram calculados os índices hematimétricos de Wintrobe (1934), compreendidos pelo volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O sangue remanescente foi estocado em temperatura entre 5 °C e 7 °C, por um período de 10 horas, sendo avaliado após esse período visualmente quanto à ocorrência de coagulação e/ou hemólise.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A inibição da coagulação sanguínea em pirarucu foi promovida com a utilização do EDTA 10% de forma eficiente e por mais de 10 horas sob refrigeração, sendo esse tempo adequado para a realização do exame hematológico. No entanto, o emprego de EDTA 3% e heparina (100 UI e 5.000 UI) determinou a ocorrência de hemólise desde os primeiros momentos (Figura 1). De forma semelhante, em surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*), a coagulação foi eficientemente inibida com a utilização do EDTA. Entretanto, para tambaqui (*Colossoma macropomum*), a utilização da heparina mostrou-se mais apropriada, visto que foi eficiente na prevenção da coagulação por mais de 10 horas, sem ocasionar hemólise ou alterações nos parâmetros hematológicos (PÁDUA et al., 2012).

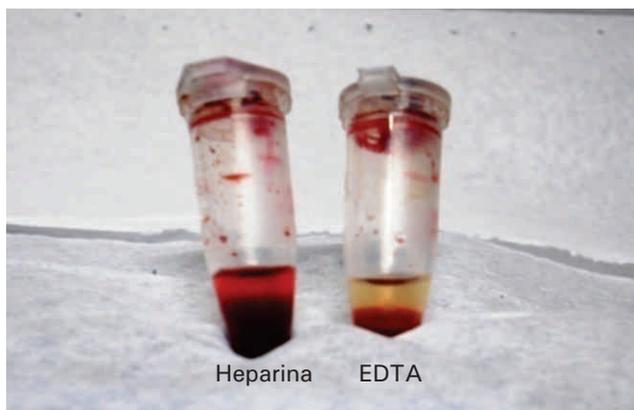


Figura 1. À esquerda, intensa hemólise observada em pirarucu (*A. gigas*) após 10 horas de armazenamento do sangue sob refrigeração utilizando heparina 5.000 UI como anticoagulante; à direita, amostra sanguínea isenta de hemólise, apresentando plasma de cor palha, em que foi utilizada EDTA 10% como anticoagulante.

Os resultados dos parâmetros hematológicos de pirarucu utilizando o EDTA e a heparina como anticoagulantes estão relacionados na Tabela 1. Pode-se observar que os parâmetros influenciados por esses fármacos foram o hematócrito, com redução significativa dos valores

desse indicador no tratamento com emprego de heparina 100 UI, em comparação ao EDTA 10% e aumento dos valores da CHCM nas amostras acondicionadas com heparina 100 UI em comparação aos demais tratamentos (heparina 5.000 UI, EDTA 3% e 10%). Entretanto, em espécies como carpa comum e surubim híbrido, a utilização da heparina, citrato de sódio e EDTA não ocasionaram alterações nos parâmetros hematológicos (WALENCIK; WITESKA 2007; ISHIKAWA et al. 2010).

Tabela 1. Parâmetros hematológicos de pirarucu (*A. gigas*) utilizando diferentes anticoagulantes.

Parâmetros	Heparina		EDTA	
	5.000 UI	100 UI	10%	3%
Hematócrito (%)	30,05 ± 4,99ab	27,11 ± 3,56b	32,30 ± 4,54a	31,50 ± 4,25ab
Eritrócitos (x 10 ⁶ μ L ⁻¹)	3,27 ± 0,92a	3,23 ± 0,78a	2,97 ± 1,17a	3,08 ± 1,09a
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	13,39 ± 2,21a	16,11 ± 4,54a	14,47 ± 1,85a	14,1 ± 2,29a
VCM (fL)	103,40 ± 51,20a	89,80 ± 29,80a	127,05 ± 57,80a	112,05 ± 34,49a
HCM (g dL ⁻¹)	45,24 ± 18,62a	54,47 ± 26,96a	57,06 ± 24,83a	52,00 ± 22,37a
CHCM (g dL ⁻¹)	45,42 ± 9,40b	63,59 ± 26,40a	45,52 ± 8,16b	45,64 ± 10,38b

Valores com letras diferentes em uma mesma linha são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey (P<0,05).

Conclusões

A utilização do EDTA 10% como anticoagulante é mais apropriado para pirarucu, visto que foi eficiente na prevenção da coagulação por mais de 10 horas, sem ocasionar hemólise ou alterações nos parâmetros hematológicos.

Referências

DRUMOND, G. V. F.; CAIXEIRO, A. P. A.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. Características bioquímicas e hematológicas do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) de cultivo semi-intensivo na Amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, p. 591-596, 2010.

HARR, K. E.; RASKIN, R. E.; HEARD, D. J. Temporal effects of 3 commonly used anticoagulants on hematologic and biochemical variables in blood samples from macaws and Burmese pythons. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 4, p. 383-388, 2005.

IMBIRIBA, E. P. Potencial da criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 31, p. 299-316, 2001.

ISHIKAWA, M. M.; PÁDUA, S. B.; SATAKE, F.; HISANO, H.; JERÔNIMO, G. T.; MARTINS M. L. Heparina e Na₂EDTA como anticoagulantes para surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*): eficácia e alterações hematológicas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1557-1561, 2010.

PÁDUA, S. B.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; DIAS-NETO, J.; CHAGAS, E. C.; ISHIKAWA, M. M. Heparina e K3EDTA como anticoagulantes para tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1816). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 42, p. 293-298, 2012.

PEREIRA-FILHO, M.; CAVERO, B. A. S.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D. R.; GANDRA, A. L.; CRESCÊNCIO, R. Cultivo do pirarucu (*Arapaima gigas*) em viveiro escavado. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 33, p. 715-718, 2003.

WALENCIK, J.; WITESKA, M. The effects of anticoagulants on hematological indices and blood cell morphology of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology: Part C: Toxicology and Pharmacology**, v. 146, n. 3, p. 331-335, 2007.

WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, v. 51, p. 32-49, 1934.