

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE SULFONAMIDAS NA HEMATOLOGIA DE TILÁPIA DO NILO (OREOCHROMIS NILOTICUS)

Maria Lídia Carra, Juliana Montovani Thomaz, Fernanda Garcia Sampaio, Kátia Damacena, Felix Reyes Reyes, José Henrique Vallin, Claudio Martin Johsson, Genoeffa Dal'Bo, Fabiola Santana, Vitória Teodoro Gonçalves

1. RESUMO

Para prevenção e controle de doenças bacterianas na aquicultura grandes quantidades de antimicrobianos, entre eles as sulfonamidas são usados, embora a maioria se mostrasse efetiva e de grande benefício para o piscicultor, certos problemas foram associados ao seu uso. Ferramentas de análise da saúde do peixe, como os parâmetros hematológicos, podem auxiliar a compreensão do efeito da administração das sulfonamidas e determinar um padrão de dosagem ótima para piscicultura. Desta forma o presente trabalho propõe o uso de parâmetros hematológicos para análise da saúde da tilápia em tratamento com sulfonamidas. Tilápias foram tratadas oralmente com sulfametazina na dosagem de 200 mg/kg de peso vivo, durante 11 dias consecutivos. Ao final deste período 60 peixes foram anestesiados e foi feita coleta de sangue por punção caudal para análise de hematócrito, hemoglobina, eritrócito, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, contagem de leucócitos totais e diferencial. Através deste estudo observou-se que a administração de sulfametazina pelo período de sete dias não alterou os parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo.

2. INTRODUÇÃO

De acordo com a FAO (2008) a produção mundial de pescado apresentou um crescimento extremamente rápido nas últimas décadas, consolidando-se como um setor de grande importância econômica. No Brasil mais de 415 mil toneladas de pescado são provenientes da aquicultura, deste volume cerca de 338 mil toneladas são oriundas de pisciculturas, mostrando ser esta a principal atividade aquícola do país (MPA, 2010).

Paralelamente ao desenvolvimento e à intensificação da aquicultura, cresce os surtos de doenças, este fato ocorre porque o ambiente aquático é mais favorável a bactérias patogênicas, assim, o risco de infecções bacterianas na criação de peixes é alto, podendo ser consequência de fatores estressantes. Na tentativa de minimizar esses problemas antibióticos são administrados, através da ração, tanto para prevenir doenças como para seu tratamento (Paschoal, 2007).

Em função do baixo custo e eficácia no combate as infecções bacterianas mais comuns, as sulfonamidas são amplamente usadas. Embora a maioria se mostrasse efetiva e de grande benefício para o piscicultor, certos problemas foram associados ao seu uso, como palatabilidade, danos ao rim e esterilidade reprodutiva (McCarthy, 1974). Desta forma ferramentas de análise da saúde do peixe podem auxiliar a compreensão do efeito que possa resultar da administração das sulfonamidas e determinar um padrão de dosagem ótima para piscicultura, sem comprometer a qualidade do pescado.

Por ser uma importante fonte de proteína as tilápias são um dos peixes mais cultivados em todo mundo, no Brasil são cultivados em represas, pesque pague e pisciculturas. O crescente consumo de proteína animal vinda da aquicultura fez com que uma necessidade de informações acuradas sobre a identificação e controle de situações de estresse e/ou de enfermidades a fim de assegurar a saúde dos peixes. Nesse caso as variáveis hematológicas assumem importância como meio auxiliar de diagnóstico (Tavares Dias; Moraes, 2003).

Desta forma o presente projeto propõe o uso de parâmetros hematológicos para análise da saúde da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratadas com sulfametazina.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da administração via oral de sulfametazina como antibiótico por 11 dias em parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo.

4. METODOLOGIA

Os parâmetros de qualidade da água foram mensurados através de uma sonda multiparâmetros modelo Horiba U10.

A contagem de hematócrito (Htc; %) foi realizada pelo método do microhematócrito; para determinação do eritrócito (Eri; $\times 10^{-6} \mu\text{L}^{-1}$) foi feita a contagem em câmara de Neubauer com sangue diluído em solução de formol-citrato; para a determinação da concentração de hemoglobina (Hb; g.dL^{-1}) foi utilizado o método do cianeto de hemiglobina com Kit da Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG. Com os dados do hemograma foram calculados os parâmetros hematimétricos de volume corpuscular médio (VCM; fL) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM; %). Para cada peixe foram confeccionadas extensões sanguíneas, coradas pelo método do panóptico rápido e analisada em microscópio óptico Nikon, eclipse E200 para a contagem total dos leucócitos e a contagem diferencial (linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosófilos, basófilos, trombócitos e células granulocíticas especiais (CGE)).

As amostras utilizadas do presente estudo são de peixes abatidos depois de 12 horas após a interrupção do tratamento com a medicação.

Para análise estatística foi utilizado o teste t comparando as médias do grupo tratado com o grupo controle utilizando-se o software SAS versão 8.2. Para todos os testes adotou-se um nível de significância $\alpha = 0,05$.

5. DESENVOLVIMENTO

Juvenis de tilápia do Nilo adquiridos na Rio Doce Piscicultura, Aguaí, SP, foram mantidos em tanques experimentais com sistema de filtro biológico, oxigenação artificial e temperatura controlada. Para acompanhamento da qualidade da água nos aquários foram feitas as análises de pH, condutividade (mS/cm), turbidez (UNT), oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e salinidade (%) de todos os tanques.

Os peixes foram divididos em 6 tanques com 10 peixes em cada, 5 gruposalimentados com sulfametazina, teor mínimo 99.0% (Fluka analytical – Sigma Aldrich, USA) - grupo medicado - e 1 sem medicação - grupo controle. Os peixes

foram medicados com a sulfametazina em 200 mg/kg de peso vivo, durante 11 dias consecutivos. Os aquários foram higienizados e a água trocada pelo menos duas vezes por semana para remoção de dejetos e eventuais sobras de ração. O sistema de retenção de matéria orgânica do filtro foi lavado periodicamente. Ao final do período experimental dez peixes por tratamento foram anestesiados com benzocaína (65 mg.L⁻¹) e após a insensibilização foi coletado sangue por punção caudal para realização das análises hematológicas.

6. RESULTADOS

Não foram observados comportamentos anormais dos peixes durante o período experimental, nenhuma morte foi registrada ao longo dos 11 dias de exposição.

Os dados médios de temperatura da água foram de 24,59 ± 0,78 °C, o do oxigênio dissolvido 5,04 ± 0,86 mg.L⁻¹, do pH 7,64 ± 0,13, a turbidez 9,47 ± 4,89 NTU e a condutividade 4,24 ± 0,57 mS.cm⁻¹, se mantiveram em padrões aceitáveis para o desenvolvimento da espécie.

Os dados hematológicos de eritrócito (Eri, μL⁻¹), hematócrito (Htc, %), hemoglobina (Hg, g.dL⁻¹), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM; %), volume corpuscular médio (VCM; fL), das tilápias alimentadas com e sem administração de sulfametazina estão apresentados na tabela 1. Verificamos que não houve alteração na concentração no Eri, no Htc, no Hg, no CHCM e no VCM entre o grupo controle e o medicado.

Dal'Bo et al. (dados não publicado) avaliaram o perfil hematológico de diferentes espécies de peixes tropicais de interesse comercial e encontraram os valores basais para a tilápia.. Ao compararmos os dados do presente trabalho ao de Dal'Bo et al. (dados não publicado) observa-se que os valores de Ht e CHCM se mantiveram na mesma faixa dos considerados basais para a espécies. Já os resultados de Eri e Hg estão abaixo dos apontados por Dal'Bo et al. (dados não publicado) como de referência, tanto para o grupo controle como para o grupo com medicação. O mesmo acontece ao comparar os dados com Araujo et al (2011) que

ao avaliar parâmetros hematológicos de tilápias do Nilo alimentadas com diferentes concentrações de óleo de linhaça e girassol e estimuladas pelo frio encontraram valores de Ht semelhantes, já Hb, Eri e CHCM foram maiores que os mensurados no presente trabalho. Tavares-Dias e Faustino (1998) determinaram o hemograma e leucograma da tilápia em cultivo extensivo e encontraram concentração de hemoglobina maior do que a encontrada neste trabalho para os dois tratamentos.

Tabela 1: Dados de média \pm desvio padrão de eritrócito (μL^{-1}), hematócrito (%), hemoglobina (g.dL^{-1}), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM; %), volume corpuscular médio (VCM; fL), da tilápia do Nilo alimentada ou não com sulfametazina.

Tratamento	Controle	Medicado
Eritrócito (μL^{-1})	1,45 \pm 0,38	1,45 \pm 0,18
Hematócrito (%)	26 \pm 7	29 \pm 3
Hemoglobina (g.dL^{-1})	5,18 \pm 0,95	5,69 \pm 0,99
CHCM (%)	27,47 \pm 11,93	23,09 \pm 6,58
VCM (fL)	149,69 \pm 44,39	185,15 \pm 62,01

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t no nível de significância de $p < 0,05$.

A tabela 2 apresenta os dados de contagem total de leucócito (μL^{-1}), neutrófilo (μL^{-1}), linfócito (μL^{-1}), monócito (μL^{-1}) e trombócito (μL^{-1}) de tilápia

expostas e não expostas a administração de sulfametazina. Entre as células da série branca não houve diferença significativa na contagem de leucócitos totais, nem de neutrófilos, linfócitos, monócitos e trombócitos para os diferentes grupos controle e medicado.

Dal'Bo et al. (dados não publicado) encontraram os valores basais para a tilápia de total de leucócitos = $26.929 \mu\text{L}^{-1}$, neutrófilo = $2.776 \mu\text{L}^{-1}$, linfócito = $23.274 \mu\text{L}^{-1}$, monócito = $865 \mu\text{L}^{-1}$ e trombócito = $35.929 \mu\text{L}^{-1}$. Ao compararmos os dados do presente trabalho ao de Dal'Bo et al. (dados não publicado) observa-se que os valores de neutrófilo e monócito foram maiores nos dois tratamentos, assim como os valores de linfócitos foram menores que os basais. Os trombócitos foram maiores no grupo medicado e o grupo controle se manteve de acordo os níveis basais da espécie de acordo com Dal'Bo et al. (dados não publicado). De acordo com Tavares-Dias et al. (1999) a função dos trombócitos ainda é controversa, a participação na coagulação destas células em aves, répteis e anfíbios é bem descrita. A atividade dos trombócitos em processos inflamatórios de tilápias foi descritos por (Matushima e Mariano, 1996) que demonstraram a predisposição destas células no processo de defesa orgânica, reduzindo o risco de infecções. Martins et al. (2008) ao avaliar a resposta inflamatória de tilápias tratadas com ração suplementada com vitaminas C e E concluíram que o tratamento com vitaminas possibilitou maior migração de trombócitos para o tecido doente, diminuindo a concentração desta célula no sangue periférico. No presente trabalho administração via oral sulfametazina elevou a concentração de trombócitos podendo ser um indicativo de processo de defesa do organismo.

Não houve ocorrência de eosinófilos, basófilos e CGE tanto no grupo controle como nos peixes medicados. Eosinófilos e basófilos não foram encontrados no sangue periférico de *C. macropomllrn* de acordo com Tavares-Dias, Sandrim e Campos-Filho (1999). Resultados similares foram descritos por BOOMKER (1981) em *C. gariepinus* e por RANZANI-PAIVA & GODINHO (1983, 1986) em *P. scrofa*, os quais também relatam ausência eosinófilos nessas espécies. Em *H. paulinus* (SA TAKE et al. 1989) e em *H. littorale* (MOURA et al. 1994) também foi verificado ausência de basófilos.

Tabela 2: Dados de média \pm desvio padrão de leucócito (μL^{-1}), neutrófilo (μL^{-1}), linfócito (μL^{-1}), monócito (μL^{-1}), eosófilo (μL^{-1}), basófilo (μL^{-1}), CGE (μL^{-1}) e trombócito (μL^{-1}) dos aquários de tilápia expostos e não expostos a administração de sulfametazina.

Tratamento	Controle	Medicado
Total de Leucócito (μL^{-1})	25.861 \pm 18.074	26.533 \pm 8.405
Neutrófilo (μL^{-1})	6.056 \pm 5.458	5.320 \pm 2.628
Linfócito (μL^{-1})	18.554 \pm 11.878	19.881 \pm 6.685
Monócito (μL^{-1})	1.250 \pm 1.301	1.331 \pm 663
Eosinófilo (μL^{-1})	0 \pm 0	0 \pm 0
Basófilo (μL^{-1})	0 \pm 0	0 \pm 0
CGE (μL^{-1})	0 \pm 0	0 \pm 0
Trombócito (μL^{-1})	33.088 \pm 11.180	41.689 \pm 12.312

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste t no nível de significância de $p < 0,05$.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para tilápias do Nilo, criadas em condições ótimas de temperatura, e oxigenação, a concentração de sulfametazina administradas na dieta foram adequadas á manutenção do padrão hematológico dos animais.

8. FONTES CONSULTADAS

ARAUJO, D.M.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E., NAKAGOME F.K. Hematologia de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. Brasília, DF. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.3, p.294-302, 2011.

AZEVEDO, T.M.P.; MARTINS, M.L.; YAMASHITA, M.M.; FRANCISCO, C.J. Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mentidos em piscicultura consorciada com suínos e em pesque-pague no Vale do Rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. **B.Inst. Pesca**, São Paulo, v.32, p.41-49, 2006.

BOOMKER, J. The haemocytology and histology of the haemopoietic organs of South African freshwater fish. III. The leukocytes, plasma cells and macrophages of *Clarias gariepinus* and *Sarotherodon mossambicus*. **Onderstepoort Jour.** V.48, p. 185 – 193. 1981.

Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO] (2009). **Environmental impact assessment and monitoring in aquaculture**. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 527. Rome, FAO. 2009. 57p.

MARTINS, M.L.; MIYAZAKI D.M.Y.; MORAES F.R.; GHIRALDELLI L.; ADAMANTE W.B.; MOURIÑO J.L.P. Ração suplementada com vitaminas C e E influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. Santa Maria, SC, **Ciência Rural**, v.38, p.213 – 218, 2008.

MATUSHIMA, E.R.; MARIANO, M. Kinetics of the inflammatory reaction induced by carrageenin in the swimbladder of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). **Braz. J. Vet. Anim. Sci.**, v. 33, p. 5-10, 1996.

MCCARTHY, D.H.; STEVENSON, J.P.; SALSBURY, A.W.; Combined In-vitro of trimethoprim and sulphonamides on fish-pathogenic bacteria. *Aquaculture*, v. 3, p. 87-91, 1974.

Ministério da Pesca e Aquicultura. 2010. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**. Brasil 2008 – 2009.

MOURA, M.A.F.; FARIAS, I.P.; VAL, A.L. Effects of temperature on leucocytes of *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale* (Pisces). **Brazilian Journal Medicine Biology**. V.27, p. 1589-1598. 1994.

PASCHOAL, J.A.R. Resíduos de antimicrobianos em peixe: depleção residual e desenvolvimento de métodos analíticos [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 2007.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. & H.M. GODINHO. Sobre células sangüíneas e contagem diferencial de leucócitos e eritroblastos em curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindacher, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). **Rev. Brasileira de Biologia**. V. 43, p. 331-338. 1983.

-----Hemaiological characteristics of the curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindacher, 1881 (Osteichthyes, Cyprini formes, Prochilodontidae), stocked in experimental conditions. **Boletim Instituto de Pesca**, v.13, p.115-120. 1986.

SATAKE, T.; NUTRI-SOBRINHO A.; PAULA-LOPES O.V.; LOPES R.A.; LEMESANTOS H.S. Estudo hematológico de peixes brasileiros. XI. As células brancas do cascudo *Hypostomus paulinus* Ihering 1905 (Pisces, Loricariidae). *Ars Veterinaria*. V. 5, p.107-111. 1989.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R., Características hematológicas da Tilápia *rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: cichlidae) capturada em “pesque pague” de Franca, São Paulo, Brasil. **Biosci.J.**, Uberlandia, v.19, n.1, p.107 – 114, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C.D. Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Chilidae) em cultivo extensivo. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.14, p.254-263, 1998.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH S.H.C.; MARTINS M.L.; SILVA E.D.; MORAES F.R.; PERECIN D. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária. I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavelo e Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). **Acta Scientiarum**, v.21, p.331-342, 1999.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E.F.S.; CAMPOS-FILHO, E. Características hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes, Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. II. Leucócitos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.16, p.175 – 184. 1999.