

## Anestesia por Aspersão de Eugenol nas Brânquias de Peixes como Alternativa para Estudos de Parasitos

Rodrigo Yudi Fujimoto<sup>1</sup>  
Patricia Oliveira Maciel<sup>2</sup>  
Marcos Tavares Dias<sup>3</sup>  
Marina Keiko Iwashita<sup>4</sup>  
Mayene da Silva Morais<sup>5</sup>  
Daniel Massato Vital Hide<sup>6</sup>  
Natalino da Costa Sousa<sup>7</sup>  
Marcia Valéria Silva do Couto<sup>8</sup>  
Juliana Oliveira Meneses<sup>9</sup>  
Fernanda dos Santos Cunha<sup>10</sup>  
Cheila Bojjink<sup>11</sup>

### Introdução

A utilização de anestesia prévia em peixes submetidos à eutanásia por secção medular, para estudos parasitológicos é contestada devido às possíveis alterações na fauna de ectoparasitos e na sua morfologia. Além disso, os ictioparasitologistas são questionados pelas Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs) pela não adoção de anestesia prévia para efetuar eutanásia nos peixes, de forma a minimizar a dor e o sofrimento.

Segundo o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea), a eutanásia em peixes deve ser realizada em duas etapas: 1) anestesia até perda do equilíbrio; 2) seguida de um método físico, como concussão (atordoamento) ou secção medular, ou método químico que cause a morte cerebral (CONCEA, 2013).

Os anestésicos são utilizados nas práticas aquícolas de produção, ensino e pesquisa para promover redução do estresse dos peixes em práticas de manejo, para reduzir a reação a estímulos durante coleta de materiais biológicos e mesmo para promover insensibilização prévia à eutanásia (ROSS; ROSS, 1999; ROUBACH et al., 2005; INOUE et al., 2005; CONCEA, 2013).

Embora, no Brasil, sejam escassas as legislações de uso de anestésicos para peixes, o Concea (2013) indica principalmente MS-222, benzocaína e eugenol para anestesia prévia à eutanásia.

Na maioria dos procedimentos anestésicos em peixes, as soluções são administradas na água por meio de banhos de imersão (STOSKOPF, 1993) para permitir a entrada do princípio ativo no sistema circulatório do animal, por meio da

<sup>1</sup>Zootecnista, doutor em Aquicultura, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE

<sup>2</sup>Médica Veterinária, mestre em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, TO

<sup>3</sup>Biólogo, doutor em Aquicultura, pesquisador da Embrapa Amapá, Macapá, AP

<sup>4</sup>Médica Veterinária, doutora em Aquicultura, pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, TO

<sup>5</sup>Graduanda em Biologia, Uninorte, Manaus, AM

<sup>6</sup>Engenheiro de Pesca, mestre em Saúde e Ambiente, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE

<sup>7</sup>Engenheiro de Pesca, mestre em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Belém, PA

<sup>8</sup>Engenheira de Pesca, mestre em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Belém, PA

<sup>9</sup>Engenheira de Pesca, Aracaju, SE

<sup>10</sup>Engenheira de Pesca, mestre em Saúde e Ambiente, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE

<sup>11</sup>Bióloga, doutora em Ciências Fisiológicas, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM

absorção branquial e cutânea, bloqueando ações reflexas (SUMMERFELT; SMITH, 2000). Banhos de imersão nas doses de 100 mg/L de benzocaína por 10 minutos (GOMES et al., 2001) e de 65 mg/L de eugenol por 30 minutos (ROUBACH et al. 2005) foram previamente validados para anestesia de tambaquis. Contudo, Boijink et al. (2015) verificaram que o método de banhos não é recomendado quando o objetivo do estudo for a avaliação da intensidade e abundância parasitária nas brânquias dos peixes.

Recentemente, foi demonstrada a atividade anti-helmíntica do eugenol contra parasitos branquiais monogenéticos de tambaquis (BOIJINK et al., 2015), que evidencia a possibilidade de interferência de anestésicos nos estudos com ectoparasitas.

Alternativas que atendam aos preceitos de abate humanitário sem interferir na fauna ectoparasitária, bem como na morfologia dos parasitas, são importantes para viabilizar estudos dessa natureza em peixes. Assim, a aspersão de eugenol diretamente nas brânquias é uma alternativa para atender os preceitos de bem estar animal e promover, sem perda de qualidade, os estudos de parasitos monogenéticos branquiais.

Este método de aspersão do anestésico diretamente nas brânquias já foi testada em pirarucus, mostrando-se ser viável nas concentrações de 30 e 60 mg de eugenol/L (HONCZARYCK; INOUE, 2009). Porém ainda não se conhece a influência da aspersão do eugenol nos parasitos branquiais de tambaqui. Assim o presente documento apresenta o procedimento utilizado e validado pela Embrapa que permite a anestesia dos tambaquis sem prejuízo na carga e viabilidade parasitária.

## Procedimento

Prepara-se uma solução de anestésico, composta por 1 mL de eugenol (solução comercial de óleo de cravo), diluído em 9 mL de etanol 95% e em seguida, em 440 mL de água destilada (v/v/v). Essa solução deve ser armazenada em aspersores de polietileno para pronto uso (Figura 1).



Foto: Daniel Massato Vital Hide

**Figura 1.** Aspersor de polietileno utilizado para o método de anestesia por aspersão contendo a solução anestésica já preparada.

Os peixes devem ser retirados da água, imobilizados com pano umedecido e terem seus olhos cobertos para diminuir a agitação do animal. Com os animais em decúbito lateral, realiza-se a aspersão da solução em quatro aplicações de cada lado da cavidade branquial, que totalizam aproximadamente 2 mL (Figura 2).



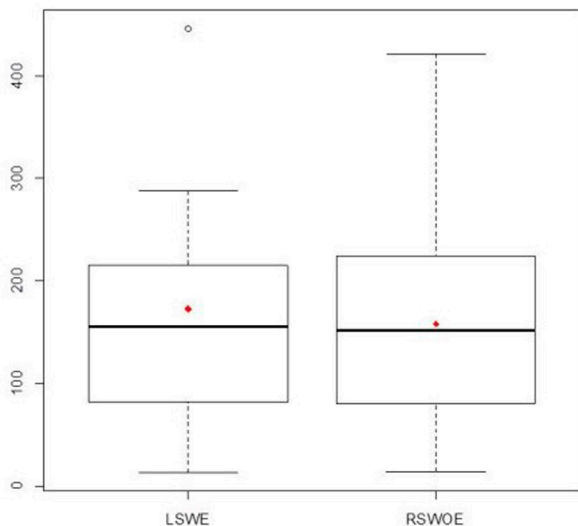
Foto: Daniel Massato Vital Hide

**Figura 2.** Aspersão da solução anestésica diretamente nas brânquias.

## Considerações sobre o procedimento

Com essa metodologia, os animais são insensibilizados após 40 segundos aproximadamente, quando se observa parada dos batimentos operculares. Nesse momento, pode-se proceder com a eutanásia do animal por sangria e secção da medula, ou a recuperação do plano anestésico, retornando o peixe à água livre de eugenol.

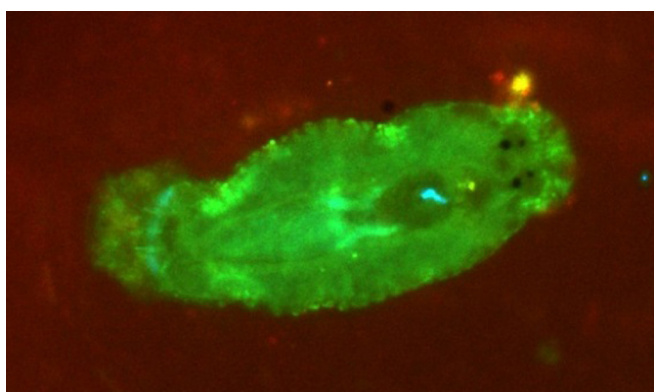
Com a aplicação desse procedimento, líquidos residuais coletados não apresentaram parasitos monogenéticos, demonstrando que não se perde parasitos nesse método, preservando assim a intensidade de infecção (Figura 3).



**Figura 3.** Intensidade de parasitos nas brânquias de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomun*: arcos branquiais do lado esquerdo com aplicação de eugenol por aspersão (LSWE) e arcos branquiais do lado direito sem aplicação de eugenol (RSWOE) .

Apesar de estudos na literatura demonstrarem efeito anti-helmintico do eugenol sobre os parasitos monogenéticos que poderia interferir na sua identificação morfológica, a aspersão de eugenol nas brânquias não altera a viabilidade dos monogenéticos, assim a morfologia dos parasitos não se altera, sendo possível então sua identificação até o nível de espécie. (Figura 4).

Foto: Natalino C. Sousa



**Figura 4.** Parasito monogenético com emissão de fluorescência verde (fluorocromos SYBR-14) indicando viabilidade e morfologia inalterada após a aspersão com a solução anestésica com eugenol.

Além disso, a aplicação do eugenol por essa metodologia não compromete a sobrevivência dos peixes embora as brânquias apresentem hiperplasia e edema (Figura 5). Essas alterações são consideradas transitórias e ocorreram em função do contato com o anestésico (VELISEK et al. 2005; VELISEK et al. 2006)

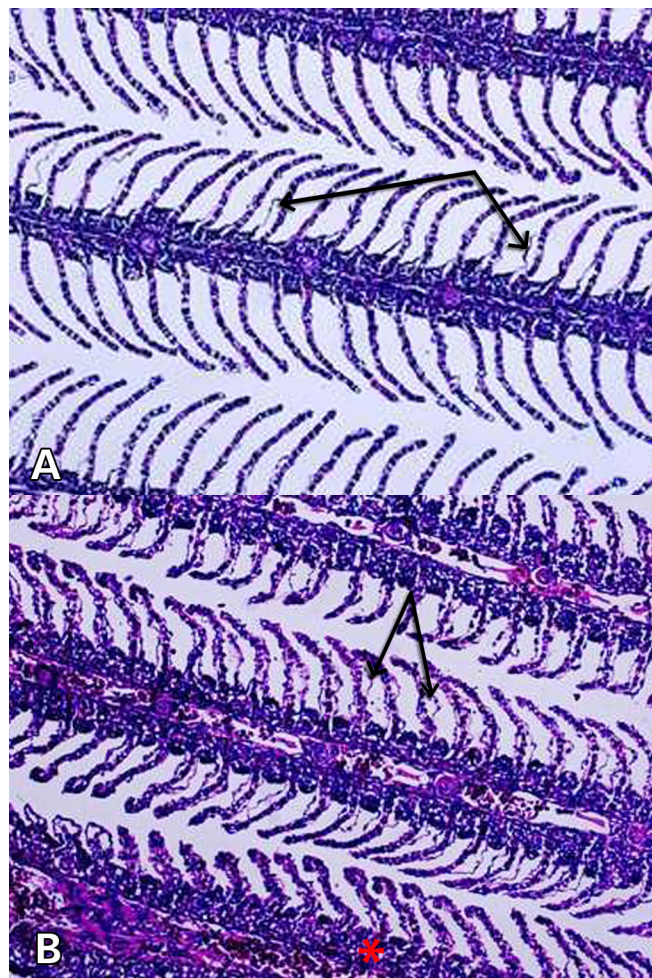


Foto: Fernanda Cunha

**Figura 5.** (A) Morfologia das brânquia de tambaqui: A: Filamento branquial sem aplicação da solução anestésica apresentando características normais e apenas edemas pontuais (setas). (B) Filamento branquial após a aplicação da solução anestésica de eugenol apresentando aumento no número de edemas (setas) e hiperplasia (asterisco). 10X, HE.

## Conclusão

O método de anestesia por aspersão do eugenol nas brânquias é uma alternativa para estudos parasitológicos pois preserva a intensidade e morfologia dos parasitas monogenéticos das brânquias dos peixes. Sendo assim a utilização dessa metodologia previamente à eutanásia dos peixes é viável, estando de acordo com os preceitos de ética animal e abate humanitário.

## Referências

- Boijink, C. L.; Miranda, W. S. C.; Chagas, E. C.; Dairiki, J. K.; Inoue, L. A. K. A. Anthelmintic activity of eugenol in tambaquis with monogenean gill infection. **Aquaculture**, Amsterdam, NL, v. 438, p. 138-140, 2015.
- CONCEA. **Diretrizes da prática de eutanásia do conselho nacional de controle de experimentação animal**. Brasília, DF: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2013. 54 p.
- Gomes L. C.; Chippari-Gomes A. R.; Lopes N. P.; Roubach R.; Araujo-Lima C. A. R. M. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). **Journal of the World Aquaculture Society**, Malden, U.S.A., v. 31, p. 426-431, 2001.
- Inoue, L.A.K.A.; Afonso, L.O.B.; Iwama, G.K.; Moraes, G. Effects of clove oil on stress responses of matrinxá subjected to transport. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, p. 289-295, 2005.
- Honczaryk, A.; Inoue, L. A. K. A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 577-579, 2009.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A. L. Eugenol as an efficacious anesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, UK, v. 36, p. 1.056-1.061, 2005.
- Ross L.G.; Ross B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. Oxford, UK: Blackwell Science, 1999.
- Stoskopf, M. Anaesthesia. In: L., BROWN (Ed.). **Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine**. London: Pergamon Veterinary Handbook Series, 1993. p. 161-168.
- Summerfelt, R. C.; Smith, L. S. Anesthesia, surgery, and related techniques. In: Schreck, C. B.; Moyle, P. B. **Methods for fish biology**. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 1990. p. 213-272.
- Velisek, J.; Svobodova, Z.; Piackova, V.; Groch, L.; Nepejchalova, L. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Veterinarni Medicina**, Praha, CZE, v. 50, n. 6, p. 269-275, 2005.
- Velisek, J.; Lasow, T.; Gomulka, P.; Svobodova, Z.; Novot, L.; Ziomek, E. Effects of Clove Oil Anaesthesia on European Catfish (*Silurus glanis* L.). **Acta Veterinaria Brno**, Tchechoslovaqui, CAE, v.75,

### Comunicado Técnico, 180

Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Endereço: Avenida Beira Mar, 3250  
CEP 49025-040, Aracaju - SE.  
Fone: (79) 4009-1344  
Fax: (79) 4009-1399  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Publicação disponibilizada on-line no formato PDF

1ª edição  
On-line (2015)

### Comitê de publicações

Presidente: Marcelo Ferreira Fernandes  
Secretária-executiva: Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues  
Membros: Ana Veruska Cruz da Silva Muniz, Carlos Alberto da Silva, Élio César Guzzo, Hymerson Costa Azevedo, João Gomes da Costa, Josué Francisco da Silva Junior, Julio Roberto Araujo de Amorim, Viviane Talamini e Walane Maria Pereira de Mello Ivo

### Expediente

Supervisora editorial: Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues  
Tratamento das ilustrações: Joyce Feitoza Bastos  
Editoração eletrônica: Joyce Feitoza Bastos