

TÉCNICA PARA CONTAGEM GLOBAL DE GLÓBULOS BRANCOS EM PEIXES

BERRA, J.A.P.¹, FIOCCO, R.A.², RAMOS, R.O.³ & RAMOS, S.M.³

¹.Instituto Adolpho Lutz

².Laboratório de Análises Clínicas de Pirassununga - SUS

³.Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura
CEPTA

RESUMO

Foi descrita uma técnica de contagem global de leucócitos em amostras de sangue de duas espécies de peixes, pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) e tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Esta técnica foi adaptada daquela recomendada por Olson para hematologia de aves, a qual mostrou-se efetiva no evidenciamento dos leucócitos através da coloração de seus núcleos pela floxina.

Palavras-chaves: sangue, hematologia, leucócito, peixe de água doce, *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum*.

ABSTRACT

Total leucocyte counting technic in fish blood.

A total leucocyte count technic in blood samples of two species of fish, pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) was described. The technic was adapted from Olson for bird hematology which made possible the evidence of leucocytes through staining of its nucleus by phloxine.

Key words: blood, haematology, leucocyte, freshwater fish, *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum*.

INTRODUÇÃO

Os métodos hematológicos de rotina, utilizados normalmente para humanos na determinação de possíveis anormalidades ou processos patológicos, já vêm sendo utilizados ou adaptados para sangue de peixes por pesquisadores (Blaxhall, 1972). Embora haja um grande número de trabalhos sobre hematologia de peixes, ainda são limitadas as informações no que se refere às técnicas de diluição para contagem global de leucócitos. As técnicas normalmente utilizadas para essa contagem não se mostram eficazes quando utilizadas em peixes, os quais possuem hemácias nucleadas. Quando esta é feita, utiliza-se o diluente de Türk, (Jannini & Jannini Filho, 1978), técnica empregada para mamíferos, não se conseguindo diferenciar os glóbulos brancos das hemácias, o que impossibilita sua contagem. Dessa forma, é evidente a necessidade de adaptação e melhoramento de técnicas hematológicas de rotina para serem usadas efetivamente no monitoramento de mudanças fisiológicas e patológicas em peixes.

O presente trabalho teve como objetivo a adaptação de uma técnica de contagem global de leucócitos, a partir da técnica de Olson *apud* David & Coffin (1953) utilizada para aves.

MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes utilizados para a padronização da técnica foram o pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) e tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), provenientes do Centro

de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura (CEPTA). Os indivíduos de ambas as espécies com 2,5 anos de idade, foram estocadas separadamente em viveiros de 500m² numa densidade de 250g/m², com peso médio de 1.500g e 2.440g, respectivamente, recebendo ração balanceada peletizada, com 25% de proteína bruta, administrada 3 vezes por semana à taxa de 2% da biomassa.

As amostragens de sangue foram realizadas nas quatro estações do ano, através de punção venosa no pedúnculo caudal, utilizando-se um sistema a vácuo (new-vacuo), com EDTA, executada às margens do viveiro a fim de minimizar possíveis variações nos componentes do sangue, não ultrapassando 2 minutos por coleta.

A técnica para contagem global dos leucócitos de peixes foi adaptada da utilizada em hematologia de aves por Olson *op. cit.* Foi utilizada como diluente uma solução composta por floxina (50mg), formalina a 3% (0,5ml) e solução de Ringer não lactada (95ml). O sangue foi diluído na proporção de 1/20 em solução diluente, ou seja, utilizou-se 0,4ml da solução de floxina para 0,02ml de sangue. Após a diluição, a amostra foi estocada em geladeira (4-8°C) por 24 horas antes da leitura, a qual foi realizada em câmara de Neubauer, utilizando-se microscópio óptico binocular com aumento de 400X, contando-se os núcleos corados e o resultado expresso em número de leucócitos/mm³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para todas as amostras de sangue, num total de 175, a técnica utilizada permitiu claramente o evidenciamento dos leucócitos através da coloração de seus núcleos pela floxina, ou seja, sua estrutura permaneceu íntegra e seus núcleos se coraram em vermelho, o citoplasma em róseo, permitindo uma efetiva contagem global dos leucócitos.

Das diversas técnicas já empregadas por diferentes pesquisadores em hematologia de peixes, é importante a observação quanto a efetividade, visto que algumas apresentam vantagens e desvantagens. O diluente de Dacie modificado utilizando-se azul cresil brilhante (Blaxhall & Daisley, 1973) mostrou-se relativamente efetivo, uma vez que houve o inconveniente de o fator de diluição resultante ter sido grande, dando um alto coeficiente de variação, além de dificultar a remoção do corante existente na pipeta.

Uma outra solução já utilizada é a de Shaw (McCarthy *et al.*, 1973), que também apresentou dificuldades na leitura. Segundo Blaxhall (1972), a desvantagem desta solução é sua instabilidade, enquanto para Mahajan & Dheer (1979) sua vantagem é permitir a diferenciação entre eritrócitos e leucócitos ao mesmo tempo.

A técnica desenvolvida no presente trabalho é de grande importância na pesquisa da contagem global de leucócitos, permitindo sua contagem, pelo fato de ocorrer a hemólise das hemácias e a coloração dos leucócitos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. José Sávio Colares de Melo pelas críticas e sugestões ao manuscrito do trabalho, e aos auxiliares de pesquisa pela colaboração nas amostragens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLAXHALL, P.C. The haematological assessment of the health of freshwater fish. *J. Fish. Biol.*, v.4, n.4, p.593-605, 1972.
- _____. DAISLEY, K.W. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish. Biol.*, v.5, n.6, p.771-781, 1973.
- DAVID, L., COFFIN, V.M.D. *Manual of Veterinary clinical Pathology*. 3 ed. New York: Comstock Publishing Associates, 1953. 322p.
- JANNINI, P., JANNINI FILHO, P. *Interpretação clínica do hemograma*. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 1978. 625p.
- MAHAJAN, C.L., DHEER, J.S. Cell types in the peripheral blood of an air-breathing fish *Channa punctatus*. *J. Fish. Biol.*, v.14, n.15, p.481-487, 1979.
- MCCARTHY, D.H., STEVENSON, J.P., ROBERTS, M.S. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J. Fish Biol.*, v.5, n.1, p.1-8, 1973.