

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**UTILIZAÇÃO DE HOMEOPATIA 100<sup>®</sup> EM DIETA PARA  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Autor: Luiz Sérgio Merlini  
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez  
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
março - 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**UTILIZAÇÃO DE HOMEOPATIA 100<sup>®</sup> EM DIETA PARA  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Autor: Luiz Sérgio Merlini  
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez  
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
março - 2006



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**DESEMPENHO, PARÂMETROS RUMINAIS E TAXA  
DE PASSAGEM EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA  
EM PASTAGEM DE COASTCROSS**

Autor: Luiz Sérgio Merlini  
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez  
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia – Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 02 de março de 2006.

---

Prof. Dr. Itamar Teodorico Navarro (UEL)

---

Prof. Dr. Nilton Garcia Marengoni (UNIOESTE)

---

Prof. Dr. Gentil Vanini Moraes (UEM)

---

Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya (UEM)

---

Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez (Orientador)

“O êxito na vida não se mede pelo que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho”.

Autor desconhecido

Dedico...

A Deus  
À minha esposa Rosely  
Aos meus filhos, Fernanda, Natalie e Izidoro  
À minha mãe *in memoriun*

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, UEM, por ter me possibilitado realizar o curso de doutorado.

Ao Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez, pela orientação, auxílio, amizade e confiança.

Ao Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro pela co-orientação.

À Universidade Paranaense – UNIPAR, através da DEGPE, pelo apoio financeiro para realização do curso e realização do experimento nas dependências do Hospital Veterinário.

À empresa Real H<sup>®</sup> Nutrição e Saúde Animal, pelo fornecimento do produto homeopatia 100<sup>®</sup>, nas pessoas dos médicos veterinários Cláudio Martins Real e Mário Renck Real.

Ao Prof. Dr. Luiz Rômulo Alberton, Diretor do HV da UNIPAR – Campus sede

Ao Prof. Dr. Ranulfo Piau Júnior, Coordenador do Curso de Medicina Veterinária da UNIPAR – Campus sede, pelo apoio amigo e incentivo.

Ao Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva, pelo apoio nas análises estatísticas dos dados.

À Médica Veterinária e amiga Daniele Viotto, pelo auxílio nos trabalhos e incentivo.

À Waldirene Rossi Baquette e Denilson dos Santos Vicentin, Secretários do Programa de Pós-graduação, pela atenção e presteza de serviços quando solicitados.

À amiga Lisiane, pelas sugestões que contribuíram para concluir o trabalho.

Ao amigo Jerri, companheiro de jornada de estudo e viagens.

Aos estagiários: Natalie Bertelis Merlini, Eder Riva, Juliana N. S. Amarante e Raphael F. Stel, pela colaboração durante o desenvolvimento do projeto.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

Luiz Sergio Merlini, filho de Izidoro Merlini e Nair O. Merlini (*in memoriam*), nasceu em Bandeirantes, PR em 06 de fevereiro de 1953.

Em 25 de julho de 1979, concluiu o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual de Londrina – UEL.

Atuou na Empresa Húmus Agrícola, área de suinocultura, período de agosto de 1979 a dezembro de 1981.

Autônomo na cidade de Bandeirantes, período 1982 a 1992.

Fundação Faculdade de Agronomia de Bandeirantes, professor, período de 1990 a 2000.

Chefe do Departamento de Zootecnia da Fundação Faculdade de Agronomia de Bandeirantes, período de 1997-1999.

Membro da Congregação da Fundação Faculdade de Agronomia de Bandeirantes, período de 1997 a 1999.

Em 1995, concluiu o curso de Licenciatura plena em Biologia pela Faculdade de Filosofia de Cornélio Procópio.

Coordenou a área de produção animal do Colégio Agrícola Fernando Costa, município de Santa Mariana, PR. No período de 1994 a 1997.

Em 1997, concluiu o Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal, em nível de mestrado, área de concentração Parasitologia, na Universidade Estadual de Londrina.

Em 1998, concluiu o curso de Pós-graduação (*Latu Sensu*) em Metodologia do Ensino pela Faculdade de Filosofia de Cornélio Procópio.

Professor da Universidade Paranaense – UNIPAR, disciplinas de Suinocultura e Aqüicultura, de 1999 até a presente data.

Membro do colegiado do curso de Medicina Veterinária da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus sede, de 2000 até a presente data.

Responsável-técnico pelo Setor de Suinocultura e Piscicultura da Fazenda Experimental da Universidade Paranaense – UNIPAR, de 2002 até a presente data.

Coordenador de Estágio do curso de Medicina Veterinária da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus -sede, de 1999 até a presente data.

Coordenador do curso de Pós-graduação (*Latu Sensu*) em Vigilância Sanitária e Epidemiologia em Saúde, da Universidade Paranaense – UNIPAR, de 2002 até a presente data.

Em março de 2001, iniciou o Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração em Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, e em 02 de março de 2006 submeteu-se à banca para defesa de tese.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	vii
RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
I- INTRODUÇÃO .....	1
II- OBJETIVOS GERAIS .....	4
III- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
Citação Bibliográfica .....	18
IV- Parâmetros hematológicos, níveis de cortisol e glicose de tilápias do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), criadas no sistema intensivo em resposta ao homeopatila 100 <sup>®</sup> .....	24
Resumo .....	24
IV- Hematological parameters, levels of cortisol and glucose of “tilápias do Nilo” ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), grown in intensive system, in response to Homeopatila 100 <sup>®</sup> .....	26
Abstract .....	26
1 INTRODUÇÃO .....	28
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	30
2.1 Animais experimentais .....	30
2.2 Tratamento experimental .....	32
2.3 Monitoramento dos parâmetros físicos e químicos da água .....	32
2.4 Coleta de sangue .....	33
2.5 Avaliação das variáveis hematológicas .....	33
2.6 Dosagem da glicose no sangue .....	34
2.7 Dosagem de cortisol no sangue .....	34
2.8 Dosagem de hemoglobina no sangue .....	34
2.9 Análise estatística .....	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4 CONCLUSÃO .....	45
CITAÇÃO BIBLIOGRÁFICA .....	46
V- CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	50



## LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1. Composição da ração comercial (SUPRA <sup>®</sup> ) fornecida aos animais experimentais durante o período de estudo. Umuarama – PR. 2006....	31
Tabela 2. Composição do núcleo homeopático Homeopatila 100 <sup>®</sup> , por quilo do produto, utilizado no grupo-tratado durante o período experimental. Umuarama – PR. 2006 .....	32
Tabela 3. Parâmetros físicos químicos da água do experimento com o Homeopatila 100 <sup>®</sup> em tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ). Umuarama – PR. 2006 .....	35
Tabela 4. Valores médios do nível de glicose plasmática em Tilápia ( <i>O. niloticus</i> ) alimentadas com o produto Homeopatila 100 <sup>®</sup> e o grupo controle. Umuarama. Pr. 2006 .....	37
Tabela 5. Porcentagem média das células sangüíneas de tilápias do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ) tratadas ou não (controle) com o Homeopatila 100 <sup>®</sup> durante o período experimental. Umuarama. PR. 2006 .....	39
Tabela 6. Porcentagem médias dos parâmetros hematológicos sangüíneos de tilápias do Nilo tratadas ou não (controle), com Homeopatila 100 <sup>®</sup> , durante o período experimental. Umuarama – PR. 2006 .....	42

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do produto homeopático Homeopatila 100<sup>®</sup> nos níveis de cortisol, glicose, hemoglobina e nos parâmetros hematológicos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foi utilizado um grupo homogêneo de 60 peixes com peso médio de  $98,11 \pm 0,10$ , distribuídos aleatoriamente 10 peixes em cada caixa d'água de fibra de vidro, totalizando 6 seis caixas, com capacidade de 1.000 litros cada uma, com 20% de taxa de renovação diária de água, divididos em dois tratamentos: 30 animais do grupo-controle e 30 animais do grupo que recebeu Homeopatila 100<sup>®</sup>. O trabalho foi dividido em 3 partes, sendo que a primeira avaliou o nível de cortisol da tilápia do Nilo; no encerramento do experimento, aos 60<sup>o</sup> dias do seu início, os animais foram anestesiados com 1 g de benzocaína para cada 10 L de água. Após a anestesia, foram colhidos 3 mL de sangue em seringa com EDTA, posterior análise de cortisol plasmático, através do método de Radioimunoensaio, utilizando o kit Coat-a-Count - DPC – (*Diagnostic Products Corporation*). Nos peixes que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup> a média de nível de cortisol plasmático foi  $17,19 \text{ng/mL} \pm 0,95$  e do grupo-controle foi  $38,68 \text{ng/mL} \pm 1,21$ . A segunda parte avaliou o nível de glicose e hemoglobina, no dias 0 (zero), 15, 35, e 60 da implantação do experimento cada animal, após captura foi anestesiado com benzocaina e foi colhido 1,0 mL de sangue de cada peixe, por punção do vaso caudal, com auxílio de seringa contendo EDTA (10%) para dosagem da glicemia realizada através do método enzimático utilizando-se kit da Labtest (Glicose God-Ana) e dosagem da hemoglobina pelo método de cianometa-hemaglobina. Os animais do grupo controle apresentaram um aumento significativo na média de concentração de glicose  $58,27 \pm 1,32 \text{ng/mL}$ , e para o grupo-tratado foi  $34,60 \pm 0,73 \text{ng/mL}$  do grupo-tratado e para hemoglobina foi de  $5,38 \pm 0,16 \text{ng/mL}$  e o grupo controle de  $5,98 \pm 0,31 \text{ng/nL}$ . Na última parte foram avaliados os parâmetros

hematológicos, nos dias 0 (zero), 15, 35, e 60 da implantação do experimento cada animal, após captura, foi anestesiado com benzocaina, e foi colhido de cada peixe 1,0 mL de sangue, por punção do vaso caudal, com auxílio de seringas contendo EDTA (10%). Esse sangue destinou-se às determinações do hematócrito e a contagem diferencial de linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e trombócitos. O hematócrito foi determinado segundo método de GOLDENFARD *et. al* (1971) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), segundo WINTROBE (1934). O número de eritrócitos foi realizado em câmeras hematimétrica de Neubauer. As contagens dos leucócitos e trombócitos foram feitas em extensões coradas pelo método de ROSENFELD (1947). Os resultados dos parâmetros hematológicos, no grupo controle, foram os seguintes: linfócitos(%)  $41,88 \pm 1,41$ , neutrófilos(%)  $31,73 \pm 1,46$ , monócitos(%)  $7,04 \pm 0,19$ , eosinófilos(%)  $1,29 \pm 0,23$ , basófilos(%)  $1,06 \pm 0,12$ , trombócitos(%)  $57,88 \pm 1,43$ , hematócrito(%)  $32,80 \pm 0,80$ , eritrócitos  $3,15 \pm 0,19\%$  VCM(%)  $100,97 \pm 1,51$ , HCM (%)  $19,41 \pm 0,75$ , CHCM (%)  $19,47 \pm 0,53$ . No grupo-tratado, os resultados foram os seguintes: linfócitos (%)  $43,54 \pm 0,88$ , neutrófilos (%)  $30,07 \pm 0,87$ , monócitos (%)  $6,78 \pm 0,40$ , eosinófilos (%)  $1,95 \pm 0,20$ , basófilos (%)  $1,06 \pm 0,16$ , trombócitos (%)  $69,71 \pm 0,02$ , hematócrito (%)  $30,92 \pm 0,76$ , eritrócitos  $5,38 \pm 0,16$  VCM (%)  $133,69 \pm 0,71$ , HCM (%)  $22,34 \pm 0,33$ , CHCM(%)  $16,22 \pm 0,34$ . Nas condições desse estudo, conclui-se que os animais que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup> apresentaram aumento significativo na porcentagem de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e trombócitos, sendo que os monócitos e basófilos não apresentaram alterações ( $p > 0,05$ ). Os níveis de cortisol, glicose e hemoglobina plasmáticos foram significativamente inferiores no sangue dos peixes que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup>, quando comparados com os animais do grupo controle.

Palavras-chave: tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, homeopatia, cortisol, glicose, hematologia.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of the homeopathic product Homeopatila 100® on the levels of cortisol, glucose, hemoglobin and on hematologic parameters of the fish “tilapia do Nilo” (*Oreochromis niloticus*). An homogeneous group of 60 fish weighting on average  $98.11 \pm 0.10$  g was randomly distributed in 6 polyethylene 1,000-L water tanks of 10 fish each, at a daily water turnover of 20%. These fish were divided into two treatments: 30 fish as a control and 30 fish receiving the treatment with Homeopatila 100®. The investigation was divided into three assessments. The first evaluated the cortisol level of the “tilapia” at the end of the experimental period of 60 days. The animals were anesthetized with 1g benzocaine/10 L water. After anesthesia, 3 ml of blood were collected with EDTA-containing syringe, and plasma cortisol was determined through radioimmunoassay using the Coat-a-Count kit – DPC (Diagnostic Products Corporation). In the fish receiving Homeopatila 100® the mean plasma cortisol was  $17.19 \text{ ng/mL} \pm 0.95$  and in the control group it was  $38.68 \text{ ng/mL} \pm 1.21$ . The second assessment evaluated glucose and hemoglobin at the days 0 (zero), 15, 35, and 60 of the experimental period. After capture, each animal was anesthetized with benzocaine and 1.0 mL of blood was collected of each animal through caudal puncture with 10% EDTA-containing syringe. Glicemia was determined through enzymatic method using Labtest kit (Glicose God-Ana) and hemoglobin was determined through the cyanomethemoglobin method. The animals of the control group showed a significant increase in the mean glucose concentration,  $58.27 \pm 1.32 \text{ ng/mL}$ , while the experimental group had  $34.60 \pm 0.73 \text{ ng/mL}$ . Hemoglobin values were  $5.38 \pm 0.16 \text{ ng/mL}$  for the experimental group and  $5.98 \pm 0.31 \text{ ng/mL}$  for the controls. At the third assessment it was evaluated the hematological parameters at days 0 (zero), 15, 35 and 60 of the experimental period. After capture, each animal was anesthetized with

benzocaine and 1 mL of blood was collected through caudal puncture with the aid of 10% EDTA-containing syringe. This blood was used for hematocrit determination and differential counting of lymphocytes, neutrophils, monocytes, eosinophils and thrombocytes. Hematocrit was determined according to the method of GOLDENFARD *et al.* (1971) and mean concentration of corpuscular hemoglobin (CHCM), mean corpuscular volume (VCM) and mean corpuscular hemoglobin (HCM) according to WINTROBE (1974). The number of erythrocytes was determined in hematimetric chambers of Neubauer. The counts of leucocytes and thrombocytes were made in extensions stained through the method of ROSENFELD (1947). The results of the hematological parameters in the control group were the following: lymphocytes (%)  $41.88 \pm 1.41$ , neutrophils (%)  $31.73 \pm 1.46$ , monocytes (%)  $7.04 \pm 0.19$ , eosinophils (%)  $1.29 \pm 0.23$ , basophils (%)  $1.06 \pm 0.12$ , thrombocytes (%)  $57.88 \pm 1.43$ , hematocrit (%)  $32.80 \pm 0.80$ , erythrocytes (%)  $3.15 \pm 0.19$ , VCM (%)  $100.97 \pm 1.51$ , HCM (%)  $19.41 \pm 0.75$ , CHCM (%)  $19.47 \pm 0.53$ . In the experimental group, the results were the following: lymphocytes (%)  $43.54 \pm 0.88$ , neutrophils (%)  $30.07 \pm 0.87$ , monocytes (%)  $6.78 \pm 0.40$ , eosinophils (%)  $1.95 \pm 0.20$ , basophils (%)  $1.06 \pm 0.16$ , thrombocytes (%)  $69.71 \pm 0.02$ , hematocrit (%)  $30.92 \pm 0.76$ , erythrocytes (%)  $5.38 \pm 0.16$ , VCM (%)  $133.69 \pm 0.71$ , HCM (%)  $22.34 \pm 0.33$ , CHCM (%)  $16.22 \pm 0.34$ . In the conditions of this study, it is concluded that the animals that received Homeopatila 100® showed a significant increase in the percentage of lymphocytes, neutrophils, eosinophils and thrombocytes, while monocytes and basophils showed no changes ( $p > 0.05$ ). The plasma levels of cortisol, glucose and hemoglobin were significantly lower in the fish receiving Homeopatila 100®, when compared to the animals of the control group.

Keywords: “tilapia do Nilo”, *Oreochromis niloticus*, hemopathy, cortisol, glucose, hematology.

## I – INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma das atividades agroindustriais que atualmente mais se desenvolve no mundo, sendo o Brasil co-responsável por essa estatística, graças a seu potencial hídrico. Na piscicultura, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é considerada a segunda espécie de peixe mais criada no mundo, visto sua capacidade adaptativa aos atuais sistemas de produção e a evolução de técnicas para a produção de populações revertidas sexualmente para machos (BORGHETTI *et al.* 2003).

A tilápia no Nilo, uma espécie de peixe territorialista, apresenta hierarquia de dominância e submissão estabelecida por confrontos entre os indivíduos (confrontos agonísticos), em que os animais maiores, geralmente, são dominantes e os menores, submissos. O estabelecimento e a manutenção desta hierarquia provocam tanto nos animais dominantes como nos submissos uma situação de estresse social, porém com maior intensidade nos animais submissos (FERNANDES, 1997).

Segundo VOLPATO *et al.* (1989), em tilápias do Nilo (*O. niloticus*), o estresse social possui forte influência nas respostas fisiológicas individuais, por caracterizarem-se como animais territorialista e bastante agressivos.

A piscicultura tem sido considerada uma das atividades agroindustriais mundiais. Segundo a FAO (2003), no ano de 2001 foram produzidas 142,1 milhões de toneladas de pescados, tendo a aquicultura contribuído com mais de 48,4 milhões de toneladas. Neste

contexto, o Brasil é considerado um dos países da América Latina com a maior perspectiva para a aquicultura (BORGHETTI *et al.* 2003). A produção aquícola brasileira passou de 20,5 mil toneladas em 1990 para 210 mil toneladas em 2000, representando um aumento de 925%, desta forma, a aquicultura constitui um segmento vital e de rápido crescimento, existente na agropecuária mundial (FAO, 2003).

O Paraná tem aproximadamente 22 mil piscicultores, numa área com lâmina de água de 8566 hectares, é o maior Estado produtor de tilápia do Brasil, e também da América Latina, com cerca de 10 mil toneladas/ano, a região noroeste do Estado responde por 3.500 toneladas/ano (BORGHETTI *et al.* 2003).

Observa-se, então, que o desenvolvimento progressivo da aquicultura mundial deve-se ao avanço tecnológico na área de nutrição e genética dos animais e instalações para criação/manejo. Novos modelos de cultivo têm sido adaptados para aumentar a quantidade de alimentos protéicos e garantir a sustentabilidade do setor (CYRINO *et al.* 1998).

O crescente interesse pelo cultivo de peixes exige cada vez mais informações sobre os conhecimentos dos parâmetros hematológicos de peixes, uma vez que podem ser utilizados como indicadores do seu estado fisiológico, assim como no controle de patologias e estresse de manipulação (ALDRIN *et al.* 1982) ou do estado nutricional dos peixes (RANZANI-PAIVA, 1991a).

Ocorrem variações nas concentrações de cortisol, glicose e nas características hematológicas responsáveis pelo mecanismo de defesa orgânica dos peixes, como resultado das variações ambientais e do estresse de manejo (YADA e NAKANISHI JR., 2002).

O crescimento da piscicultura, nos últimos anos, está tornando evidente alguns dos problemas relacionados à criação intensiva de peixes, tais como: distúrbios

nutricionais e maior exposição dos peixes a fatores estressantes. A captura e o transporte de peixes do ambiente natural para o de criações, constituem-se em importantes fatores de estresse, sendo igualmente relevantes às alterações ambientais encontradas no meio aquático, como: redução do oxigênio dissolvido, variações de pH e temperatura, excesso de amônia ou poluentes (MARTINS *et al.* 2000).

A indústria aquícola, no Brasil, necessita de conhecimento técnico e científico sobre o transporte de peixes, particularmente, com respeito à comercialização de peixes adultos para os estabelecimentos voltados à pesca esportiva amadora. Os animais devem chegar aos viveiros no seu melhor estado fisiológico, a fim de evitar a necessidade de um longo período de recuperação e possíveis problemas de mortalidade (WURTS, 1995).

No Brasil, a piscicultura passa por uma fase de consolidação e expansão inquestionáveis, tornando-se, em algumas regiões do país, a principal atividade de centenas de pequenos, médios e grandes produtores rurais (KUBTIZA, 2000).



## **II – OBJETIVOS GERAIS**

O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de cortisol e glicose sangüíneos, a distribuição percentual das células sangüíneas, o volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), criadas em sistema intensivo, em resposta ao núcleo homeopático Homeopatila 100<sup>®</sup>.

### **III – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Atualmente, a Tilápia do Nilo é considerada a segunda espécie de peixe mais criada no mundo, visto que se adaptam muito bem aos sistemas de produção semi-intensivo e intensivo (POPMA e PHELPS, 1998).

As tilápias são naturais da África, Israel e Jordânia e devido a seu potencial para a aquicultura, tiveram sua distribuição expandida nos últimos cinquenta anos; a motivação inicial foi por serem uma espécie apropriada para a piscicultura de subsistência em países em desenvolvimento, foi introduzida no Brasil em 1971 (LOVSHIN, 1997).

A tilápia do Nilo, dentre as demais espécies de tilápia existentes, vem se destacando por apresentar inúmeras qualidades zootécnicas, como: rusticidade, crescimento rápido, grande adaptação alimentar, boa conversão alimentar e ganho de peso. Além disso, apresenta uma carne branca de excelente paladar e textura e ausência de espinhos na musculatura lateral que facilita a técnica de filetagem e a industrialização da carcaça. Além da presença de poucos espinhos, não possui aqueles que se apresentam em forma de “Y”, não desejáveis pelo consumidor. Pode-se incluir, ainda, a utilização da sua pele para o curtimento, que pode representar outra fonte de renda para o produtor ou indústria (BORGHETTI *et al.* 2003).

Qualquer alteração no meio aquático influencia o estado de saúde dos peixes, sendo que variações, dentro dos parâmetros físico-químicos, afetam o quadro hematológico dos peixes, independentemente da categoria de piscicultura exercida; o criador sempre encontrará a barreira das doenças, oriundas do manejo inadequado e/ou de fatores extrínsecos ao criatório. De forma semelhante aos outros animais, os peixes são susceptíveis a uma série de doenças ocasionadas por fatores relacionados com o ambiente, ao agente e ao próprio peixe, sendo que qualquer alteração nesses fatores poderá provocar o aparecimento de uma situação de estresse (ROBERTS, 1981).

Na criação intensiva, há maiores riscos de enfermidades bacterianas, virais e parasitárias, devido a fatores como superpopulação, variação brusca de temperatura, baixo nível de oxigênio dissolvido na água, elevação de dióxido de carbono, decomposição da matéria orgânica, manejo e/ou transporte inadequado (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Parece inevitável que a população mundial se torne cada vez mais dependente do cultivo artificial de organismos aquáticos, em particular peixes, uma vez que a pesca extrativista e predatória vem determinando a escassez do produto em condições naturais (CYRINO *et al.* 1998). O autor também mencionou que tal fato ocorre também no Brasil, e como consequência, surgem novas criações a cada dia, sem que técnicas profiláticas sejam devidamente aplicadas nos ambientes restritos às criações.

As enfermidades são fatores limitantes para o crescimento de populações de peixes em ambiente natural ou confinado. O ambiente aquático facilita o acesso, a invasão e a disseminação de agentes patogênicos nos peixes, fazendo com que a piscicultura seja mais susceptível que ambientes terrestres; o sistema de cultivo intensivo, usualmente praticado por grandes partes das pisciculturas, caracteriza-se pelo

aumento da densidade de estocagem de peixes, visando à máxima produção (TAVARES-DIAS *et al.* 2000a).

A orientação adequada, quanto à relevância das medidas profiláticas, para evitar a ocorrência de enfermidades, e conseqüentes perdas econômicas na piscicultura, faz-se necessária, visto que a prevenção é a melhor maneira de evitar que o peixe adoeça ou deixe de crescer (TAVARES-DIAS e FAUSTINO, 1998).

O sistema de cultivo intensivo, usualmente praticado por grande parte das pisciculturas, caracteriza-se pelo aumento da densidade de estocagem de peixes, visando à máxima produção. Assim, neste tipo de exploração comercial surgem problemas relativos ao manejo inadequado, tanto em aspectos às questões nutricionais, como infecciosos e/ou parasitários (TAVARES-DIAS *et al.* 2000b).

O crescente interesse pelo cultivo de peixes exige cada vez mais informações sobre parâmetros hematológicos de peixes que é de grande valia em pisciculturas, quando utilizados como indicadores do estado fisiológico, assim como no controle de patologias, estresse de manipulação e/ou do estado nutricional dos peixes (RANZANI-PAIVA, 1991b).

As enfermidades, de modo geral, estão relacionadas às alterações do hemograma nos animais e no homem, por isso, o quadro hematológico de diferentes peixes e condições de criação vêm sendo estudados, além disto, a hematologia em peixes contribui para a compreensão da fisiologia, condições alimentares e outros parâmetros ecológicos (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Apesar da grande importância da hematologia, ainda são escassos estudos científicos sobre teleósteos. Estima-se que, de 50 a 100 novas contribuições são publicadas anualmente, porém, originárias de diferentes países, tornando-se

inexpressivas quando se considera a diversidade biológica existente na zona intertropical, como no Brasil (HOUSTON *et al.* 1996).

Os dados sobre a origem e desenvolvimento das células sangüíneas nos órgãos hematopoéticos dos peixes são divergentes, alguns bastante antigos e até contraditórios (RANZANI-PAIVA, 1995), o que dificulta a sua interpretação.

Estudos sobre hematologia de peixes de clima temperado tiveram início no século passado com as observações de Gulliver em 1845, citado por ORIA (1932). Os primeiros relatos sobre leucócitos surgiram nos primórdios do século passado, com as informações de Drzewina em 1905 e Jordan em 1926, citados por ELLIS (1977).

No Brasil, estudos sobre variáveis hematológicas de teleósteos tiveram início com ORIA (1932), que descreveu características morfométricas de eritrócitos em 24 espécies, de cinco famílias de teleósteos fluviais brasileiros. A partir do final da década de 60, tais estudos foram retomados com peixes marinhos (BASTOS, 1966; PITOMBEIRA e MARTINS, 1970).

A partir da década de 80, pesquisadores do Instituto de Pesca do Estado de São Paulo desenvolveram estudos sobre o tecido sangüíneo de espécies de água doce como o *Prochilodus lineatus* (RANZANI-PAIVA e GODINHO, 1986) e tainhas *Mugil platanus* de região estuarina de Cananéia (RANZANI-PAIVA, 1995). Mais tarde, foram estudadas algumas espécies de valor econômico oriundas de ambientes lóticos ou de cativeiro (RANZANI-PAIVA, 1991a). O grupo de interessados nessa área aumentou e concentrou-se no cascudo (SATAKE *et al.* 1986).

Os peixes são desprovidos de medula óssea e linfonodos, assim os tecidos mielóide e linfóide estão, geralmente, associados no mesmo órgão, sendo que o tecido linfóide é de maior ou menor complexidade, de acordo com a posição do peixe na escala filogenética (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Nos teleósteos, o rim cefálico, além de tecido hematopoiético, possui função endócrina (ROCHA e FLORES, 2001) e imunológica e promovem a interação imuno-endócrina, de importância para ambos os sistemas, atuando na produção de anticorpos e de catecolaminas (KENNEDY-STOSKOPF, 1993). Os peixes, de modo geral, possuem timo e baço desenvolvidos (WEYTS *et al.* 1999).

A atividade hematopoiética varia entre as diferentes famílias de peixes (ISHIZEKI *et al.* 1984). Na *O. niloticus*, o baço também é um órgão armazenador de reticulócitos e eritrócitos que mantém reservas de leucócitos maduros e trombócitos, os quais são liberados quando há demanda (FIJAN, 2002).

A hematopoiese sofre influência de diversos fatores biológicos, com infecções e parasitismo, e ambientais, como estresse, pH, temperatura, sazonalidade e oxigênio dissolvido na água (ALVAREZ-PELLITERO e PINTO, 1997).

Os eritrócitos maduros são as células mais numerosas no sangue. A função dessas células consiste no transporte do oxigênio e gás carbônico, desempenhado pelo componente principal, a hemoglobina. Esse padrão tem sido observado em grande variedade de peixes de diversos tipos de clima, exceto naqueles de clima frio (PHAN, 1991).

Estudos hematológicos de diferentes espécies de peixes são de interesse ecológico e fisiológico. Estes estudos auxiliam na compreensão da relação entre as características sanguíneas, a filogenia, a atividade física, o habitat e a adaptabilidade dos peixes ao ambiente (VAL, 2002).

Leucócitos imaturos são, geralmente, observados nas extensões sanguíneas dos teleósteos, hígidos ou não, que resultam de estímulos externos e internos; estes leucócitos podem variar de tamanho, podendo assemelhar-se a linfócitos ou pequenos

monócitos e apresentam citoplasma de coloração intensamente basofílica (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Os plasmócitos caracterizam-se por apresentar grande quantidade de retículo endoplasmático e complexo de Golgi bem desenvolvido e estão presentes, tanto no sangue como nos tecidos hematopoiéticos (LOPEZ-RUIZ *et al.* 1992).

Os monócitos são considerados verdadeiras células em trânsito no sangue periférico, sendo que o citoplasma possui poucos pseudópodes, grande quantidade de mitocôndrias e vacúolos (LORENZI, 1999). Segundo DOGGETT *et al.* (1987), os monócitos são células parcialmente diferenciadas, e apresentam moderada propriedade fagocítica, e que sob condições apropriadas, deixam o sistema vascular e completam sua maturação, tornando-se macrófagos maduros.

Nos peixes teleósteos, os neutrófilos são predominantemente arredondados, cujo citoplasma possui granulações acidólicas muito finas. O núcleo apresenta forma de bastonete, ocasionalmente segmentado (TAVARES-DIAS *et al.* 2002). Nos mamíferos, e em peixes, os neutrófilos são células fagocíticas com importante papel na defesa contra infecções (VALE *et al.* 2002) e possuem um sistema de agentes microbicidas. Os imunoestimuladores e os adjuvantes aumentam a mobilização enzimática e a atividade fagocítica de neutrófilos (SIWICKI *et al.* 1998).

Os eosinófilos muitas vezes estão ausentes no sangue periférico dos peixes, e quando aparecem apresentam frequência relativamente baixa (FORERO, 1995). Suas funções nos peixes ainda estão por ser esclarecidas. A literatura demonstra aumento do percentual de eosinófilos em água com elevado grau de salinidade (FARGHALY *et al.* 1973).

À semelhança dos eosinófilos, os basófilos estão presentes no sangue periférico de peixes em baixo percentual e, raramente, encontrados (CAMPBELL, 1988). A ausência

de basófilos sangüíneo, em peixes, pode estar associada ao uso de técnicas de coloração inadequadas (LOPEZ-RUIZ *et al.* 1992).

Em peixes, os eritrócitos são comuns em todas as fases da vida dos indivíduos. São descritos em várias espécies, por diversos autores, entre eles RANZANI-PAIVA e GODINHO (1986) que constataram que os eritroblastos constituem 1 a 2% da população eritrocitária de peixes.

BURROWS e FLETCHER (1987), em estudos feitos *in vivo*, demonstraram que os trombócitos têm alto grau de variação da forma podendo ser arredondada, alongada ou fusiforme. Os trombócitos aparecem em maior proporção em tecido inflamatório de *O. niloticus*, com claras evidências de fagocitose. Os trombócitos geralmente são considerados responsáveis pelo processo de coagulação e apresentam ultra-estrutura semelhante à da plaqueta dos mamíferos (MORROW e PULSFORD, 1980).

As variáveis relativas à série vermelha são de grande valia na identificação de processos anêmicos (MAHONEY e McNULTY, 1992), enquanto o leucograma auxilia no diagnóstico dos processos infecciosos (RANZANI-PAIVA e EIRAS, 1992; SERPUNIN e LIKHATCHAYOVA, 1998).

Apesar da grande importância da hematologia, ainda é escassa a informação literária sobre teleósteos. HOUSTON *et al.* (1996) estimou que de 50 a 100 novas contribuições fossem publicadas anualmente. Porém, essas contribuições têm origem em diferentes países, tornando-se ínfimas quando se considera a diversidade biológica existente na zona intertropical, como no Brasil.

Na literatura, são ainda bastante divergentes os dados em relação à origem e desenvolvimento das células sangüíneas, nos órgãos hematopoéticos dos peixes, e algumas idéias vêm sendo propostas há muito tempo, há a necessidade de identificação das células sangüíneas de defesa orgânica de cada espécie de teleósteo, em condições de



normalidade, para entendimento do comportamento de populações dessas células, na vigilância de processos mórbidos (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

A aqüicultura intensiva tem 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, o conhecimento das variáveis hematológicas assume importância como meio auxiliar no diagnóstico (TAVARES-DIAS *et al.* 2000b).

Segundo SVOBODOVÁ (1999), a hematologia de peixes pode ser importante tanto na avaliação de propriedades de rações, como na avaliação das condições fisiológicas do peixe e na determinação do efeito tóxico de certas substâncias, assim como no diagnóstico de doenças.

O estresse é um estado orgânico, produzido por um fator ambiental, físico ou biológico que requer ajustes fisiológicos e/ou bioquímicos, resultando numa diminuição da capacidade de sobrevivência do animal em persistindo a exposição ao agente estressante, o manejo, o confinamento, a densidade de estocagem e o transporte estão entre os agentes físicos que causam estresse aos organismos aquáticos (VAL, 2002).

Os peixes podem apresentar-se estressados tanto no seu ambiente natural como em cultivo (VIJAYAN *et al.* 1997). Portanto, o fator estresse intervém na maioria das enfermidades dos peixes e é muito mais ostensivo nestes do que quando se apresenta em mamíferos. SELYE (1950) define estresse como: “Uma série de reações fisiológicas pelas quais um animal tenta restabelecer seu metabolismo normal frente a agentes externos de origem física ou química”.

Os efeitos mais imediatos do estresse estão relacionados às variações da concentração plasmática de cortisol, da glicose e do perfil hematológico (MARTINS, 2000).

Os níveis elevados de cortisol e a hiperglicemia, normalmente, estão associados com condições de estresse como manipulação, exposição a substâncias tóxicas na água e em situações em que os peixes estão submetidos a perigo (JENEY *et al.* 1997).

Elevações crônicas do cortisol plasmático deprimem a resposta imune em peixes e aumentam a sua sensibilidade aos patógenos em concentrações levemente maiores do que o normal. (MAULE *et al.* 1987).

O efeito do estresse, no sistema imune, tem sido pesquisado intensamente em peixes. A principal conclusão geral é que a situação de estresse tem efeitos complexos na imunidade. O mecanismo de ação mais importante para a redução do estresse induzido na resistência à doença em peixes é através do efeito supressivo tanto do número como da função dos linfócitos circulantes (PICKERING *et al.* 1987).

As alterações fisiológicas resultantes do estresse são denominadas de síndrome geral de adaptação (GAS- General Adaptation Syndrome) SELYE (1950).

Alguns experimentos encontram dificuldades em reproduzir os efeitos do ambiente de criação, que podem ser devidos ao fato que a exposição crônica aos fatores ambientais cause uma baixa regulação (concentração e/ou afinidade) dos receptores teciduais do cortisol (VIJAYAN *et al.* 2003). Ainda podem ser encontradas diferentes respostas devido a fatores como: sexo, idade, fatores genéticos, interação genótipo-ambiente. A seleção de linhagens melhor adaptada pode levar à seleção de indivíduos com menor sensibilidade a estresse crônico (VAN WEERD, 1998).

Diferentes tipos de estresse ambiental (diminuição pH; aumento de amônia; diminuição de oxigênio dissolvido e poluente), sociais (subordinação e aglomeração) e desafios físicos (captura e manuseio) têm sido considerados por inibir o consumo de alimentos pelos peixes, porém os mecanismos de ação são ainda pouco relatados (BERNIER e PETER, 2001).

Os fatores estressantes ambientais estudados em relação ao metabolismo e ao crescimento incluem temperatura, pH, salinidade, poluentes e agentes contaminantes (VAN WEERD, 1998).

Aumentos bruscos de temperatura podem ser letais devido à sobrecarga no metabolismo e desequilíbrio no transporte de gases respiratórios. Pequena diminuição da temperatura da água é menos traumática e muitas vezes proveitosa no manejo de transporte de peixes, pois reduz a atividade dos mesmos e o consumo de oxigênio. O aumento gradual da temperatura (1°C/dia) pode levar os peixes a aclimatar-se à ampla margem, podendo alcançar 20 a 30 °C, dependendo da espécie (ROBERTS, 1981).

Os efeitos metabólicos do estresse social, provavelmente, são maiores em condições de cativeiro, pois a oportunidade para fuga é limitada, influenciando no desempenho dos peixes na aquicultura. Esta situação, caracterizada pela perda homeostasia, é um fenômeno complexo que vem sendo estudado sob diferentes perspectivas (FRIEND, 1991).

O aumento da atividade muscular e o estresse sofrido durante o transporte, a captura e o manejo dos peixes podem, inclusive, reduzir o tempo de *rigor mortis*, assim, o peixe estressado pode desenvolver um rigor mais rápido, podendo afetar até a textura da carne (NAKAYAMA *et al.* 1992). De fato, a carne de peixes submetidos a diferentes níveis de estresse apresenta qualidade inferior e maior susceptibilidade aos processos degradativos durante o armazenamento, comparada à carne de peixes não estressados antes do abate (LOWE *et al.* 1993).

Os efeitos mais imediatos do estresse estão relacionados às variações da concentração plasmática de cortisol (BRION e BENFEY, 1994) e a glicemia é a resposta secundária mais utilizada como indicador de estresse em peixes. O nível sanguíneo de glicose aumenta na presença de agentes estressores para suprir a demanda

energética aumentada, característica de situações adversas. A glicose aumenta em condições estressantes para suportar o aumento do requerimento energético normalmente presente em situações adversas. Adicionalmente, estresse está relacionado com a redução da resistência do organismo aos patógenos, aumentando a susceptibilidade às doenças. (MORGAN e IWAMA, 1997).

Embora os peixes tenham a capacidade natural de adaptarem-se às alterações provocadas por estresse moderado, BARTON e IWAMA (1991) complementam que, no caso de estresse crônico, o animal perde a capacidade de adaptabilidade, tornando-se mais susceptível às doenças e, em casos mais extremos, morre.

Em peixes, a gliconeogênese pode estar aumentada durante estresse ou inanição, assim como em peixes que recebem alimentação contendo altas concentrações de proteínas, após captura (MORATA *et al.* 1982; HIGUERA e CARDENAS, 1985). Contudo, o sistema regulador da glicose parece ser mais sensível aos níveis de proteína ou aminoácidos do que aos níveis de glicose (HERTZ *et al.* 1989).

Devido à glicose ser um importante substrato energético para vários tecidos (cérebro, sistema nervoso, eritócitos, gônada), a elevada síntese é necessária para atender ao metabolismo do animal, devido ao aumento da demanda energética decorrente do estresse (ROBERTS, 1981; VIJAYAN *et al.* 2003).

A exposição crônica ao estresse a que os peixes são expostos em cultivo resulta em elevações nas concentrações de cortisol, glicose e variações hematológicas que prejudicam seu sistema de defesa (YADA e NAKANISHI JR., 2002).

O grande desafio da homeopatia, em animais, é desenvolver a Homeopatia Populacional, procurando, entre outras coisas, aprofundar o conceito de prevenção homeopática e o desenvolvimento de uma imunidade indireta adquirida através dos produtos homeopáticos.

Experimentos revelam que plantéis tratados com produtos homeopáticos apresentam melhor desempenho reprodutivo, de produtividade e da conversão alimentar. Paralelamente, esses plantéis tornam-se menos susceptíveis às patologias comuns aos peixes e mais dóceis para serem manejados, nos plantéis de bovinos e aves homeopatizadas geram proles com maior uniformidade em relação ao tamanho e ao desempenho.

As fortes pressões sociais e comerciais, por alimentos saudáveis e produzidos com respeito à natureza e ao animal, vêm criando uma opção de mercado, que são os produtos orgânicos (ZACHARIAS *et al.* 2003).

A agricultura orgânica é definida como sistema de manejo ecológico de produção que promove e aumenta a biodiversidade, os ciclos biológicos e a atividade biológica do solo, baseando-se ainda, no uso mínimo de insumos externos e em práticas que restauram, mantêm e aumentam a harmonia ecológica.

As certificadoras de produtos orgânicos incluem nos seus protocolos a exigência do uso da fitoterapia e da homeopatia no controle das doenças dos animais. Desde a sua concepção pelo médico alemão Sameul Hahneman (1755-1843), a Homeopatia vem ao longo dos anos sendo objeto de questionamentos quanto a sua eficácia, situação reforçada pela escassez de trabalhos devidamente enquadrados na metodologia de investigação científica (ZACHARIAS *et al.* 2003). Esta situação vem se revertendo também no campo da medicina veterinária, com a produção de trabalhos científicos que demonstraram que essa terapêutica é aplicável na prevenção e tratamento de doenças em animais domésticos e de produção, em ensaios com animais de laboratório (CABARET, 1996; HOVI *et al.* 2000; ENBERGS *et al.* 2001; SUKUL *et al.* 2001; SMARTH *et al.* 2002; BENITES, 2002; SELUKAR *et al.* 2002).

A medicação homeopática tem origem a partir de vegetais, minerais e animais. Estes produtos são preparados através de diluições e dinamizações sucessivas, portanto, o processo de preparação da medicação homeopática é um processo de liberação da energia dinâmica do produto de origem e esta energia dinâmica interage com o organismo do indivíduo. O estímulo do medicamento homeopático produz, por consequente patogênese que, quando semelhante à manifestação da doença, estimula a célula do sistema imune, ativando-as de maneira a eliminar o estímulo inicial e promover modificações muito rápidas das taxas de gamaglobulinas. (BENITES, 2002).

Estudos dos parâmetros hematológicos, nível de cortisol e glicose específico para a tilápia do Nilo são escassos e muitas vezes contraditórios, o que dificulta a interpretação de seus resultados. O conhecimento dos padrões destes parâmetros em tilápias nilóticas permitiria a detecção precoce de alterações nas células sanguíneas desses animais, oriundas de variações na fisiologia, condições de criação e/ou alimentação, muitas vezes responsáveis ou co-responsáveis, por enfermidades capazes de comprometer o ganho de peso e/ou a vida desses animais.

## Citação Bibliográfica

ALDRIN, J. F. *et al.* La biochimie clinique en aquaculture. Interet et perspectiva. **ANEXO Actes et Colloques**, v. 14, p.219-326, 1982.

ALVAREZ-PELLITERO, P.; PINTO, R. M. Some blood parameters in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, infected by bacteria, virus and parasites. **Journal of Fish Biology**, v.31, p.259-261, 1997.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish form stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v.10, p. 3-26, 1991.

BASTOS, J. R. Sobre a série vermelha do sangue de *Scomberomorus maculatus* (Mitchill). Arquivos da Estação de Biologia Marinha da Universidade Federal do Ceará, v.6, n.1, p.39-45, 1966.

BENITES, N. R. Utilização de medicamento homeopático na prevenção da cinomose. **Clinica Veterinária**, v.3, n.39, julho/agosto 2002.

BERNIER, N. J.; PETER, R. E. The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 129, p. 639-644, 2001.

BORGHETTI, N. R. *et al.* Aquicultura: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. 1. ed. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2003. 129p.

BRION, M.; BENFEY, T. J. Cortisol, glucose and hematocrit changes during acute stress, cohort sampling, and the diel cycle in diploid and triploid brook trout. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.13, n.2, p.153-160, 1994.

BURROWS, A. S.; FLETCHER, H. H. Blood leucocytes of the turbot. *S. maximus* (L.) **Aquaculture**, v.67, p.2114-215, 1987.

CABARET, J. The homeopathic cina does not reduce the egg output of digestive tract nematodes in lambs. **Revue de Medicine**, v.147, n.6, p.445-446, 1996.

CAMPBELL, T. W. Fish cytology and hematology. **Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice**, v.18, n.2, p.349-364, 1998.

CYRINO, J. E. P. et al. Desenvolvimento da criação de peixes em tanque-redes: uma análise dos fundamentos, viabilidade e tendências, baseadas em experiências bem sucedidas no Sudeste do Brasil. In: AQUICULTURA BRASIL'98, 1., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Simbraq, 1998. p.409-433.

DOGGETT, T. A. et al. A cytochemical and light microscopical study of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*, Cichlidae. **Journal of Fish Biology**, v.31, p.147-53, 1987.

ELLIS, A. E. The leucocytes and of fish: a review. **Journal of Fish Biology**, v.11, p. 453-491, 1977.

ENBERGS, H. et al. Efficacy of Nux Vomica Homaccord and Veratrum Homaccord in the treatment of diarrhea in suckling foals during the mare's fist. **Biologesche Tiermaedizin**, v.18, p.1, p.4-17, 2001.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**. Disponível em: [www.fao.org](http://www.fao.org). Acesso em out. de 2003.

FARGHALY, A. M. et al. Effect of temperature and salinity changes on the blood characteristics of *Tilapia zilli* G. in Egyptian littoral lakes. **Comparative Biochemistry Physiology, Part A**, v.46, p.183-193, 1973.

FERNANDES, M. O. **Estresse social, metabolismo e crescimento em peixes**. 1997. 82p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

FIJAN, N. Morphogenesis of blood cell lineages in channel catfish. **Journal of Fish Biology**, v.60, p.1142-1154, 2002.

FORERO, A. R. Determinacion de algunos aspectos hematológicos de *O. mykiss*. **Revista de Biología Tropical**, v.43, p.283-288, 1995.

FRIEND, T. H. Symposium Response of animals to stress: behavioral aspects of stress. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.292-203, 1991.

HERTZ, Y. et al. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) the effects of cobalt and chromium. **Aquaculture**, v.76, p.255-267, 1989.

HIGUERA, Y.; CARDENAS, T. Influence of dietary composition on gluconeogenesis for L glutamate in rainbow trout. **Comparative Biochemistry and Physiology A. Physiology**, v.81, p.391-395, 1985.

HOUSTON, A. H. et al. The nature of hematological response in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.15, n.4, p. 339-347, 1996.

HOVI, M. et al. Mastitis in organic dairy in England and Wales, INFOAM 2000: the word grows organic. INFOAM Scientific Conference, 13<sup>th</sup>, Basel, Switzerland. **Proceedings...** Basel, Switzerland, [s.n.], 2000. p.3342.



- ISHIZEKI, K. *et al.* Hematopoietic sites and development of eosinophil granulocytes in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. **Cell and Tissue Research**, v.2335, p.419-426, 1984.
- KENNEDY-STOSKOPF, S. Introductions, spread and colonization of new localities by fish helminth and crustacean parasites in the British Isles: a perspective and appraisal. **Journal of Wildlife Diseases**, v.43, p.287-301, 1993.
- KUBITZA, F. **Tilapia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí, SP, [s.n], 2000. 285p.
- LOPEZ-RUIZ, H. *et al.* Blood cells of the gilthead seabream; light and electron microscopic studies. **Anatomical Record**, v.234, p.161-171, 1992.
- LORENZI, T. F. **Manual de hematologia propedêutica e clínica**. São Paulo: MSDI, 1999. 641p.
- LOVSHIN, L. L. Tilapia farming: A Growing Worldwide Aquaculture industry. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1988, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP: CBNA, 1997. p. 137-164.
- LOWE, T. E. *et al.* Flesh quality in snapper. *Pagrus-auratus*, affected by capture stress. **Journal of Food Science**, v. 58, n.4, p.770-773, 1993.
- MAHONEY, J. B.; McNULTY, J. K. Disease-associated blood changes and normal seasonal hematological variation in winter flounder in the Hudson-Raritan estuary. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.121, p.261-268, 1992.
- MARTINS, M. L. *et al.* Falha na resposta do cortisol ao estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Hollmberg, 1887. **Acta Scientiarum**, v.22, p.545-552, 2000.
- MAULE, A.G. *et al.* Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon. **Journal of Endocrinology**, v.120, p.135-142, 1987.
- MORATA, P. *et al.* Hormonal effects on the liver glucose metabolism in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comparative Biochemistry Physiology. B. Biochemistry and Molecular Biology**, v.72, p.543-545, 1982.
- MORGAN, J. D.; IWAMA, G. K. **Measurements of stressed status in the field: fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p. 247-270.
- MORROW, J. W.; PULSFORD, A. Identification of peripheral blood leucocytes of the dogfish by electron microscopy. **Journal of Fish Biology**, v.17, p.461-475, 1980.
- NAKAYAMA, T.; DA-JIA, L.; OOI, A. Tension changes of stresses and unstressed carp muscle isometric rigor contraction and resolution. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 58, p.1517-22, 1992.

ORIA, J. Elementos figurados do sangue de alguns teleósteos fluviais brasileiros. I. Eritrócitos: formas normais, formas jovens e formas evoluídas. **Anais da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.8, p.43-46, 1932.

PHAN, M.T. Histologia de peixes antárticos, p. 11-25. In: Santos, H.S.L. (Ed). **Histologia de peixes**. São Paulo: FCAV-UNESP, 1991.83p.

PICKERING, A. D. *et al.* .Poor water quality suppresses the cortisol response of salmonid fish to handling and confinement. . **Journal of Fish Biology**, v.30, p.363-374, 1987.

PITOMBEIRA. M. S.; MARTINS, J. M. Hematology of the Spanish mackerel. *Scomberomecs maculatus*. **Copeia**, v.1, p.182-186, 1970.

POPMA, T. J.; PHELPS, R. P. Status report to commercial tilapia producers on monosex fingerling productions techniques. In: AQUICULTURA BRASIL'98. 1., 1998, RECIFE. **Anais...** Recife: SIMBRAQ, 1998. p.127-145.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; GODINHO, H. M. Hematological characteristics of the curimatá, *Prochilodus scrofa Steindacher*, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae), stocked in experimental conditions. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.13, p.115-120, 1986.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. Características sanguíneas da pirapitinga do sul, *Brycon* sp, sob condições experimentais de criação intensiva. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.28, n.2, p.141-153. 1991.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. Hematologia de peixes. In: SANTOS, H. S. L. (Ed.) **Histologia de peixes**. São Paulo, SP: FCAV-UNESP, 1991. p. 65-70

RANZANI-PAIVA, M. J.T.; EIRAS. A. C. Células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos de 13 espécies de teleósteos do Rio Paraná - PR. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., e ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 2., Peruíbe, SP. **Anais...** Peruíbe, SP: [s.n.], 1992. p.173-182.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. Características hematológicas de tainha. *Mugil platanus* Gunther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuário-laguna de Cananéia-SP. (Lat. 25<sup>00</sup>'S – Long. 47<sup>055</sup>'W). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, n.1, p.1-22. 1995

ROBERTS, R. J. **Patologia de los peces**. Madrid: Maundi-Prensa, 1981. 366p.

ROCHA, R. M.; FLORES, C. Q. The ultrastructure of the hematopoietic tissue in the responses of cultured red drum to several transportation procedures. **Acta Microscópica ; Supl. B**, p.207-208, 2001.

SATAKE, T. *et al.* Haematological study brazilian fish. III. Blood parameters in armored catfish *Hypostomus paulinus* Ihering 1905 (Pisces, Loricariidae). **Ars Veterinaria**, v. 2, n.2, p.179-183, 1986.

SELUKAR, P. S. *et al.* Evaluation of homeopathic drugs in hypogalactia of cows. . **India Veterinary Journal**, v.77, n.9, p. 813-814, 2002.

SERPUNIN, G. G.; LIKHATCHAYOVA O. A. Use of the ichthohaematological studies in ecological monitoring of the reservoirs. **Acta Veterinaria Brno**, v.67, p.339-345, 1998.

SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. **British Medical Journal**, v.1, p.1383-1392, 1950.

SIWICKI, A. K. *et al.* Modulation of moospecific defence mechanisms and protections against diseases in fish. . **Acta Veterinaria Brno**, v.67, p.323-328, 1998.

SMARTH, V. R. *et al.* Effect of a homeopathic drug (calcarea phosphorica) on the performance of broilers. **India Veterinary Journal**, v.79, n.4, p.402-403, 2002.

SUKUL, N. C. *et al.* Strychnos nux vomica extract and its ultra high dilution reduce voluntary ethanol intake in rats. . **India Veterinary Journal**, v. 7, n. 2, p. 187-193, 2001.

SVOBODOVÁ, A. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma on common carp. **Acta Veterinaria**, v.68, p.265-274, 1999.

TAVARES-DIAS, M. FAUSTINO, C. D. Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em cultivo extensivo. **Ars. Veterinaria**, v.14, n.3, p.254-263, 1998.

TAVARES-DIAS, M. *et al.* Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes Cichlidae) cultivada intensivamente em pesque-pague do município de Franca, SP, Brasil. **Ars Veterinaria**, v.16, n.2, p. 76-82, 2000a.

TAVARES-DIAS, M. *et al.* Características hematológicas de teleósteos brasileiros. V. Variáveis do piauçu *Leporinus macrocephalus* Garavello e Britski, 1988 (Anostomidas). **Naturalia**, v.25, p.39-52, 2000b.

TAVARES-DIAS, M. *et al.* Haematological changes in *O. niloticus* Linnaeus, 1758 with gill ichthyophthiriasis and saprolegniosis. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.28, v.1, p.1-9; 2002.

TAVARES-DIAS, M. *et al.* Hematological characteristics of Hybrid Florida Red Tilapia, *Oreochromis urolepis hornorun x O. mossambicus* under intensive rearing. In: INTERNATIONAL SIMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5<sup>th</sup>, 2000, Rio de Janeiro, RJ. **Proceedings...** Rio de Janeiro: [s.n.], 2000c. p.533-541.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Lillimpress Complexo Gráfico, 2004. 144p..

VAL, A. L. Estresse em peixes: ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 7., e ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 3, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu, PR: ABRAPOA, 2002. p.220.

VALE, A. *et al.* The professional phagocytes of sea bass (*Dientrarchus labrax* L.): cytochemical characterisation of neutrophils and macrophages in the normal and inflamed peritoneal cavity. **Fish and Shellfish Immunology**, v.13, p.183-198, 2002.

VAN WEERD, J. H. The effects of chrome stress on growth in fish a critical appraisal. **Comparative Biochemistry and Physiology A. Physiology**, v.120, p.107-112, 1998.

VIJAYAN, M. M. *et al.* Cortisol treatment affects glucocorticoid receptor and glucocorticoid-responsive genes in the liver of rainbow trout. **General and Comparative Endocrinology**, v. 132, p.256-263, 2003.

VIJAYAN, M. M. *et al.* Metabolic responses associated with confinement stress in tilápia: the role of cortisol. **Comparative Biochemistry and Physiology C. Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v.116, n.1, p.89-95, 1997.

VOLPATO, G. L. *et al.* Heterogeneous growth in fishes: some new data in the Nile tilapia and a general view about the causal mechanisms. **Boletim of Physiology Animal**, v.13, p.7-22, 1989.

WEYTS, F. A. A. *et al.* Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. **Fish and Shellfish Immunology**., v.9, p.1-20, 1999.

WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **World Aquaculture**, v.26, p. 80-81, 1995.

YADA, T.; NAKANISHI JR., J. J. Interactions between endocrine and immune system in fish. **International Review of Cytology**, v. 220, p.35-92, 2002.

ZACHARIAS, F. Avaliação de substâncias tratadas homeopaticamente no controle da Eimeriose Caprina. In: ENCONTRO DE CAPRINO-OVINOCULTORES DE CORTE DA BAHIA. 3., 2003, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, BA: [s.n.], 2003. p. 81-92.

**IV – Parâmetros hematológicos, níveis de cortisol e glicose de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), criadas em sistema intensivo em resposta ao homeopatila**

**100<sup>®</sup>**

**RESUMO.** Nesse estudo avaliou-se o efeito de Homeopatila 100<sup>®</sup> sobre os níveis de cortisol, glicose e parâmetros hematológicos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foi utilizado grupo homogêneo de 60 peixes, da linhagem chitralada, com peso médio de  $98,11 \pm 0,10$  gramas, distribuído aleatoriamente em seis caixas d'água de fibra de vidro, com capacidade de 1.000 litros, cada uma com 10 peixes, sendo que a renovação diária de água foi de 20%. Os animais foram divididos em dois tratamentos: 30 animais do grupo-controle e 30 animais do grupo-tratado (Homeopatila 100<sup>®</sup>). No dia zero, aos 15, 35, e 60 dias de tratamento, os animais foram anestesiados todos os animais com benzocaína para colheita de 3 mL de sangue, através de punção do vaso caudal, para avaliação do hemograma, verificando-se da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), do volume corpuscular médio (VCM), da hemoglobina corpuscular média (HCM), nível plasmático de glicose e hemoglobina. No 60º dia foram colhidos 3 mL de sangue para avaliação do nível de cortisol plasmático. Nos peixes que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup>, o nível médio do cortisol plasmático foi  $17,96 \pm 0,95$  ng/mL e para o grupo-controle foi  $38,68 \pm 1,21$  ng/mL. Os animais do grupo-controle apresentaram um aumento significativo na média de concentração de glicose ( $58,27 \pm 1,32$ ng/mL) em relação ao grupo-tratado ( $45,20 \pm 0,73$ ng/mL)  $p < 0,05$ . O nível médio de hemoglobina plasmática do grupo-tratado foi de  $5,38 \pm 0,16$ ng/mL e o grupo-controle de  $5,98 \pm 0,31$ ng/nL. Os resultados referentes aos parâmetros hematológicos do grupo-controle e tratado, respectivamente, foram: linfócitos  $31,73 \pm 1,46\%$  e  $30,07 \pm 0,87$  de neutrófilo,  $7,04 \pm 0,19\%$  e  $6,78 \pm 0,40\%$  de monócitos,  $1,29 \pm 0,23\%$  e  $1,95 \pm 0,20\%$  de eosinófilos,  $1,06 \pm 0,12\%$  e  $1,06 \pm 0,16\%$  de basófilos e  $1,06 \pm 0,16\%$  e  $69,71 \pm 0,02\%$  de trombócitos,  $32,80 \pm 0,80\%$  e  $30,92 \pm 0,76\%$  de Hematócrito,  $3,15 \pm 0,19\%$  e  $2,27 \pm 0,12\%$  de eritrócitos,  $100,97 \pm 1,51\%$  de VCM,  $19,41 \pm 0,75\%$  e  $133,69 \pm 0,71\%$  de HCM e  $19,47 \pm 0,51\%$  e  $16,22 \pm 0,34\%$  de CHCM. Nas condições desse estudo, conclui-se que os animais que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup> apresentaram aumento significativo na porcentagem de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e trombócitos, sendo que os monócitos e basófilos não

apresentaram alterações ( $p > 0,05$ ). Os níveis de cortisol, glicose e hemoglobina plasmáticos foram significativamente inferiores no sangue dos peixes que receberam Homeopatia 100<sup>®</sup>, quando comparados com os animais do grupo controle.

Palavras-chave: tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, homeopatia, cortisol, glicose, hematologia.

**IV – Hematological parameters, levels of cortisol and glucose of “tilapias do Nilo” (*Oreochromis niloticus*), grown in intensive system, in response to Homeopatila**

**100®**

**ABSTRACT.** In this study the effect of Homeopatila 100® on the levels of cortisol, glucose and hematological parameters of the “tilapia do Nilo” (*Oreochromis niloticus*) was investigated. An homogenous group of 60 specimens of average weight of  $98.11 \pm 0.10$  g was randomly distributed in six polyethylene 1,000-L water tanks, each with 10 fish, at a daily water turnover of 20%. The animals were divided into two treatments: 30 animals of the control group and 30 animals of the experimental group (treated with Homeopatila 100®). At day 0 (zero), and at days 15, 35 and 60 of the experimental period, the animals were anesthetized with benzocaine and 3 mL of blood were collected through caudal puncture for the essays of hemogram, where it was recorded mean corpuscular hemoglobin concentration (CHCM), mean corpuscular volume (VCM), mean corpuscular hemoglobin (HCM), and plasma level of glucose and hemoglobin. At the 60<sup>th</sup> day 3 mL of blood were collected for plasma cortisol level determination. In the fish receiving Homeopatila 100®, the mean level of plasma cortisol was  $17.96 \pm 0.95$  ng/mL and for the control group it was  $38.68 \pm 1.21$  ng/mL. The animals of the control group has a significant increase in the mean concentration of glucose ( $58.27 \pm 1.32$ ) relative to the control group ( $45.20 \pm 0.73$ ),  $p < 0.05$ . The mean level of plasma hemoglobin of the experimental group was  $5.38 \pm 0.16$  ng/mL and of the control group was  $5.98 \pm 0.31$  ng/mL. The results of the hematological parameters of the control and experimental groups were, respectively:  $41.88 \pm 1.41$  and  $43.54 \pm 0.88$  of lymphocytes,  $31.73 \pm 1.46$  and  $30.07 \pm 0.87$  of neutrophils,  $7.04 \pm 0.19$  and  $6.78 \pm 0.40$  of monocytes,  $1.29 \pm 0.23$  and  $1.95 \pm 0.20$  of eosinophils,  $1.06 \pm 0.12$  and  $1.06 \pm 0.16$  of basophils,  $1.06 \pm 0.16$  and  $69.71 \pm 0.02$  of thrombocytes,  $32.80 \pm 0.80$  and  $30.92 \pm 0.76$  of hematocrit,  $3.15 \pm 0.19$  and  $2.27 \pm 0.12$  of erythrocytes,  $100.97 \pm 1.51$  of VCM,  $19.41 \pm 0.75$  and  $133.69 \pm 0.71$  of HCM, and  $19.47 \pm 0.51$  and  $16.22 \pm 0.34$  of CHCM. In the conditions of this study, it is concluded that the animals receiving Homeopatila 100® showed a significant increase in the percentage of lymphocytes, neutrophils, eosinophils and thrombocytes, while monocytes and basophils showed no changes ( $p > 0.05$ ). The plasma levels of cortisol, glucose and hemoglobin were

significantly lower in the fish receiving Homeopatila 100®, when compared to the control animals.

Keywords: “tilapia do Nilo”, *Oreochromis niloticus*, homeopathy, cortisol, glucose, hematology.



## 1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da piscicultura, nos últimos anos, estão tornando evidentes alguns problemas relacionados à criação intensiva de peixes, como: distúrbios nutricionais e maior exposição dos peixes a fatores estressantes. A captura e o transporte de peixes do ambiente natural para o de criação constituíram-se como importantes fatores de estresse, sendo igualmente relevante as alterações encontradas no meio aquático, como: redução do oxigênio dissolvido, variações de pH e temperatura, excesso de amônia ou poluentes (MARTINS *et al.* 2000).

As tilápias são o segundo grupo de peixes mais produzidos no mundo, com produção estimada em 1.265.789 toneladas no ano de 2000 (FAO, 2002). A produção no Brasil vem crescendo a cada ano, devido ao aumento na demanda do mercado interno e externo (TACHIBANA *et al.* 2004).

A produção brasileira de peixes na aquicultura continental, em 2004, foi de 179.737,5 toneladas e as principais espécies criadas, em todas as regiões do Brasil, foram as tilápias, com 69.078,0 t (38,4%), segundo o IBAMA (2005). De acordo com esta Instituição, os principais produtores são os Estados de Ceará (18.000,0 t), Paraná (11.921,5 t), São Paulo (9.758,0 t), Bahia (7.137,0 t) e Santa Catarina (7.121,0 t).

O estresse é um estado orgânico, produzido por fatores ambientais, físicos ou biológicos, que requer ajustes fisiológicos e/ou bioquímicos do organismo do peixe. Isso resulta numa diminuição da capacidade de sobrevivência do animal, se persistir a exposição ao agente estressante. O manejo, o confinamento, a densidade de estocagem e o transporte estão entre os agentes físicos que causam estresse aos organismos aquáticos (VAL, 2002).

Os diferentes tipos de estresses: ambientais (diminuição pH; aumento de amônia; diminuição de oxigênio dissolvido e presença de poluentes), sociais (subordinação e aglomeração) e desafios físicos (captura e manuseio), inibem o consumo de alimentos pelos peixes, porém os mecanismos de ação são ainda pouco relatados (BERNIER, 2001).

Como resultado das variações ambientais e do estresse de manejo, ocorrem variações nas concentrações de cortisol, glicose e nas características hematológicas responsáveis pelos mecanismos de defesa dos peixes (YADA e NAKANISHI JR., 2002).

Os níveis plasmáticos de cortisol e glicose variam de acordo com o tipo e a duração do estresse. A elevação nas concentrações de cortisol e glicose em peixes submetidos ao estresse de manejo, o transporte e a anóxia foram relatados por McCORMICK *et al.* (2003).

As enfermidades, de modo geral, estão relacionadas às alterações no hemograma em animais e no homem. Por isso tem-se estudado tanto os quadros hematológicos de diferentes peixes, como as condições de criação. Além disso, a hematologia em peixes contribui para a compreensão da fisiologia, relação filogenética, condições alimentares e outros parâmetros ecológicos (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Em relação ao tratamento veterinário, o objetivo principal das práticas de criação orgânica é a prevenção de doenças. Quando ocorre uma enfermidade, deve-se encontrar a causa e prevenir futuras ocorrências modificando as técnicas de manejo (SILVA *et al.* 2005).

As fortes pressões sociais e comerciais por alimentos saudáveis e produzidos com respeito à natureza e ao animal vêm criando uma opção de mercado, que são os produtos orgânicos (ZACHARIAS, 2003).

A homeopatia por seu custo reduzido, sua eficácia, pela ausência total de toxidez e por utilizar princípios ativos extremamente diluídos, com impossibilidade absoluta de deixar resíduos na carne ou no leite capazes de prejudicar a saúde humana, tornou-se a medicina ideal em rebanhos e populações (REAL, 2006).

O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de cortisol e glicose sangüíneos, determinar distribuição percentual das células sangüíneas, o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM), a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), criadas em sistema intensivo, em resposta ao núcleo homeopático Homeopatila 100<sup>®</sup>.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido no Setor de Piscicultura da Universidade Paranaense (UNIPAR), no município de Umuarama, região noroeste do Paraná, durante os meses de outubro e novembro de 2005, durante de 60 dias.

### **2.1 Animais experimentais**

Foi utilizado um grupo homogêneo contendo 60 tilápias do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem chitralada, revertidas sexualmente para machos com a utilização de 17 $\alpha$ -metiltestosterona e com peso médio de 98,11  $\pm$  0,10 gramas. Esses animais foram distribuídos aleatoriamente 10 peixes em cada caixa, em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com dois tratamentos e três repetições, em caixas d'água de fibra de vidro de cor azul com 1000 litros, com 20% de taxa de renovação diária de água e uso de compressor de ar.

Os animais foram alimentados com ração comercial extrusada (SUPRA<sup>®</sup>), com 32% de proteína bruta (PB) e 3500 kcal de energia digestível/g de dieta, fornecida três vezes ao dia *ad libitum*, como apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição da ração comercial (SUPRA<sup>®</sup>) fornecida aos animais experimentais durante o período de estudo. Umuarama – PR. 2006.

NUTRIENTES	Nível de garantia
umidade	12%
proteína bruta	32%
extrato etéreo	9%
matéria fibrosa	4%
material mineral	14%
fósforo	3%
cálcio	1,5%
vitamina a	18.000 UI
vitamina c	500 mg
vitamina d3	5.700 UI
vitamina e	140 mg
vitamina b1	10 mg
vitamina b2	12,5 mg
vitamina b 6	12 mg
vitamina b12	175 mg
vitamina k3	15 mg
ácido fólico	1,2 mg
ácido pantotênico	100 mg
biotina	1 mg
colina	1.650 mg
niacina	200 mg
inositol	225 mg
cobre	20 mg
ferro	60mg
iodo	5 mg
manganês	30 mg
selênio	0,4 mg
zinco	150 mg

## 2.2 Tratamento experimental

Os grupos experimentais foram formados por um grupo-controle (não tratado) e por um grupo-tratado que receberam o núcleo homeopático *Homeopatila 100* (REAL H<sup>®</sup>), cuja composição em cada quilo de produto está representada na Tabela 2.

**Tabela 2.** Composição do núcleo homeopático Homeopatila 100<sup>®</sup>, por quilo do produto, utilizado no grupo-tratado durante o período experimental. Umuarama – PR, 2006.

Composição	Diluição
Iodum	10 <sup>-24</sup>
Sulphur	10 <sup>-60</sup>
Natrum muriaticum	10 <sup>-400</sup>
Streptococinum	10 <sup>-60</sup>
Veículo (Álcool etílico 30° GL)	1 litro

Após a pesagem da porção da ração a ser fornecida aos animais tratados, a mesma foi impregnada por aspersão com solução do núcleo homeopático do produto (Homeopatila 100<sup>®</sup>), cuja composição está apresentada na Tabela 2, com volume correspondente a 10 % do peso da ração. O fornecimento da ração acrescida da Homeopatila 100<sup>®</sup> foi realizado após cinco minutos do término da aspersão.

## 2.3 Monitoramento dos parâmetros físicos e químicos da água

A água das caixas de polietileno foi monitorada, duas vezes ao dia, para aferição da temperatura com termômetro de bulbo, às 08h00min e 15h00min e semanalmente para aferição do pH em peagâmetro TECNAL<sup>®</sup>, do oxigênio dissolvido (mg/L) e da amônia (mg/L) com kit da ALFAKT<sup>®</sup>.

## 2.4 Coleta de sangue

Nos dia zero, 15, 35 e 60, todos os animais foram anestesiados com 1 g de benzocaína para cada 10 L de água, segundo STOSKOPF (1993). Após a anestesia, foram colhidos 3,0 mL de sangue em seringa com EDTA (10%), por punção de vaso caudal, o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm, por 10 minutos, para separação do plasma.

## 2.5 Avaliação das variáveis hematológicas

Cada amostra de sangue foi destinada às determinações do hemograma e a contagem diferencial de linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e trombócitos.

O hematócrito foi determinado, segundo método de GOLDENFARB *et al.* (1971), e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), segundo WINTROBE (1934). O número de eritrócitos foi estimado em câmeras hematimétrica de Neubauer, observadas ao microscópio óptico com aumento de 100x para a contagem celular.

As contagens dos leucócitos e trombócitos foram feitas em extensões coradas pelo método de ROSENFELD (1947), contadas em microscópio óptico, com objetiva de imersão, onde foram contadas 100 células em cada extensão, estabelecendo-se o porcentual de cada componente celular. Os exames descritos foram realizados no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade Paranaense, em Umuarama - PR.

## **2.6 Dosagem da glicose no sangue**

A dosagem de glicemia foi realizada nos dias zero, 15, 35 e 60, através do método enzimático, utilizando-se kit da Labtest (Glicose God-Ana<sup>®</sup>). Os resultados obtidos foram expressos em mg/dl. O material foi analisado no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade Paranaense, em Umuarama - PR.

## **2.7 Dosagem de cortisol no sangue**

Na amostra do último dia do experimento (dia 60), um mL do plasma foi separado e mantido a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise de cortisol plasmático, através do método de Radioimunoensaio, utilizando o kit Coat-a-Count<sup>®</sup> – DPC – (*Diagnostic Products Corporation*), no Instituto Hermes Pardini, em Belo Horizonte – MG.

## **2.8 Dosagem de hemoglobina no sangue**

A dosagem de hemoglobina foi realizada nos dias 0, 15, 35 e 60, através do método de cianometá-hemoglobina (COLLIER, 1944).

## **2.9 Análise estatística**

Utilizou o delineamento inteiramente casualizado, dois grupos (controle e tratado) com três repetições cada e 10 animais por grupo.

Utilizou-se a análise de variância e para as comparações de médias o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 estão representados os parâmetros físicos químicos da água, (Temperatura, pH, Oxigênio dissolvido e Amônia), monitorados durante o período experimental.

**Tabela 3.** Parâmetros físicos químicos da água do experimento com o Homeopatila 100<sup>®</sup> em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Umuarama – PR. 2006.

Parâmetros avaliados	Grupos experimentais	
	Controle	Homeopatila 100 <sup>®</sup>
Temperatura (° C)	24,0±0,02°C	24,0±0,02°C
pH	6,44 ± 0,10	6,42 ± 0,08
Oxigênio dissolvido (mg/L)	7,11 ± 0,92	7,08 ± 0,95
Amônia (mg/L)	1,9 ± 0,17	1,8 ± 0,18

A análise físico-química da água das caixas, relativas à temperatura, pH, Oxigênio dissolvido e amônia, não revelou variação sendo que os parâmetros avaliados mantiveram-se durante, todo o período experimental, dentro da faixa considerada adequada para a espécie, segundo SIPAÚBA-TAVARES, (1995), e estão apresentadas na Tabela 3.

O nível de cortisol avaliado, no 60º dia do experimento na da tilápia do Nilo (*O. niloticus*) em resposta ao uso de Homeopatila 100<sup>®</sup> apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ), sendo para o grupo-tratado e controle, respectivamente  $17,19 \pm 0,95$ ng/mL e  $38,68 \pm 1,21$ ng/mL. O aumento do cortisol plasmático é uma resposta primária característica observada em peixes, submetidos a qualquer tipo de estresse (IVERSEN *et al.* 1998).

O estresse é a resposta hormonal e metabólica do organismo frente ao agente estressante. Um dos primeiros autores a definir estresse foi SELYE (1950) como sendo



a resposta fisiológica do organismo para tentar manter ou restabelecer o metabolismo normal frente ao fator físico ou químico.

Em peixes tropicais, KRIEGER-AZZOLINI *et al.* (1989) e BARCELLOS *et al.* (2001) observaram aumento nas concentrações de cortisol e glicose uma hora após o estresse de manejo. O estresse ocupa papel relevante na piscicultura e é considerado um dos principais responsáveis pelo desencadeamento de epizootias. (MARTINS *et al.* 2000).

A concentrações média de cortisol no grupo-tratado, desse estudo, ( $17,19 \pm 0,95$ ng/mL), menor à verificada por BARCELLOS *et al.* (1997), que relataram uma média de 23,0 ng/mL de cortisol em *O. niloticus*, criadas em sistema intensivo. Os mesmos autores relataram efeito acumulativo do cortisol nos dias sete, 14 e 21 de experimento, o que provavelmente pode ter ocorrido neste estudo, pois a avaliação ocorreu no 60º dia do início do experimento.

Segundo SIGISMONDI e WEBER (1998), o estresse acumulativo pode ser considerado a maior fonte de perda de produtividade na piscicultura intensiva. No entanto, o nível médio de cortisol obtido, no grupo controle desse estudo, está elevado em comparação aos aferidos por MORGAN *et al.* (1997) 10,0ng/mL e por FOO e LAM (1993) 15,0 ng/mL em tilápia do Nilo. Neste experimento, a concentração e o peso dos animais foram maiores do que as utilizadas por aqueles autores.

As respostas ao estresse também incluem a elevação no fluxo sanguíneo nas brânquias e aumento da permeabilidade do epitélio branquial, facilitando as trocas gasosas e, com isso, aumentando o fornecimento de oxigênio para o organismo (McDONALD e MILLIGAN, 1997).

Em tilápia do Nilo, o estresse social possui forte influência nas respostas fisiológicas individuais, por caracterizarem-se como animais territorialistas e bastante

agressivos. O ambiente azul inibe o aumento do cortisol na espécie, sendo que os efeitos metabólicos do estresse social, provavelmente, são maiores em condições de cativeiro, pois a oportunidade para a fuga é limitada, influenciando o desempenho dos peixes na aquicultura (VOLPATO *et al.* 1989), esses relatos talvez possam ter ocorrido neste experimento, visto que se utilizaram condições semelhantes às citadas, como a criação de tilápia em caixa azuis.

O aumento da atividade muscular e o estresse sofrido durante o transporte, a captura e o manejo dos peixes podem, inclusive, reduzir o tempo de *rigor mortis* e assim, o peixe estressado pode desenvolver um *rigor mortis* mais rápido, afetando a textura da carne (NAKAYAMA *et al.* 1992).

A Tabela 4 apresenta os valores médios de glicose plasmática em tilápia do Nilo submetidas ou não ao tratamento com o Homeopatila 100<sup>®</sup>.

**Tabela 4.** Valores médios do nível de glicose plasmática em Tilápia (*O. niloticus*) alimentadas com o produto Homeopatila 100<sup>®</sup> e o grupo-controle. Umuarama - PR. 2006.

	0 dia	15 dias	35 dias	60 dias
<b>Grupo controle</b>	<b>57,43<sup>A</sup> ± 0,44</b>	<b>58,53<sup>A</sup> ± 1,15</b>	<b>57,90<sup>A</sup> ± 1,21</b>	<b>58,37<sup>A</sup> ± 1,32</b>
<b>Grupo-tratado</b>	<b>57,43<sup>A</sup> ± 0,44</b>	<b>57,43<sup>A</sup> ± 0,44</b>	<b>43,57<sup>B</sup> ± 0,68</b>	<b>34,60<sup>B</sup> ± 1,07</b>

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos-Controle e Tratadas, para cada Dia de análise, pelo teste t de Student, para um nível de significância de 5%.

Os indicadores mais utilizados na avaliação do estresse e que normalmente dão uma resposta adequada, são os níveis plasmáticos de cortisol e glicose (BARTON, 2000). O cortisol é utilizado para caracterizar a resposta primária, e a glicose a resposta secundária do estresse em peixes (NOLAN *et al.* 1999). As respostas ao estresse são divididas em três categoriais: primária, secundária e terciária; as respostas primárias são

hormonais, as secundárias são as mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos e as terciárias são o comprometimento do crescimento, mudanças no comportamento e aumento da susceptibilidade a doenças (MAZEAUD *et al.* 1977).

Os resultados da análise da glicemia demonstraram uma diminuição significativa no nível de glicose do grupo-tratado ( $p < 0,05$ ); observou-se uma redução do nível de glicose com o decorrer do experimento, iniciando (dia zero) com  $58,37 \pm 1,32$ mg/L e terminando (dia 60) com  $34,60 \pm 1,07$ mg/L nos animais do grupo-tratado. No entanto, o grupo-controle apresentou redução significativa no nível de glicose ( $p \leq 0,05$ ). Observou-se diminuição da concentração de glicose, a partir de 30 dias do experimento, nos animais tratados, sugerindo que o efeito do produto não é imediato, conforme apresentado na tabela 04.

Esse estudo do Homeopatia 100 em tilápia do Nilo contribui para o de VIJAYAN *et al.* (1997), que mostraram concomitante glicogenólise no tecido hepático, e conseqüente aumento nos níveis glicêmicos de tilápias submetidas ao estresse de confinamento por 2 a 24 horas. A mobilização de glicose em resposta ao estresse é geralmente interpretada como fornecimento extra de energia necessária durante situações adversas.

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios do nível de linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e trombócitos em tilápia do Nilo do gênero *Oreochromis niloticus* que receberam ou não o Homeopatia 100<sup>®</sup>, nos dias zero, 15, 35 e 60 do início do experimento.

**Tabela 5.** Porcentagem média das células sanguíneas de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) tratadas ou não (controle) com o Homeopatila 100<sup>®</sup> durante o período experimental. Umuarama. PR. 2006.

Variável	Dia 0		Dia 15		Dia 35		Dia 60	
	Controle	Tratadas	Controle	Tratadas	Controle	Tratadas	Controle	Tratadas
Linfócitos (%)	29,94 <sup>A</sup> ± 1,52	30,75 <sup>A</sup> ± 2,65	29,22 <sup>A</sup> ± 2,85	30,93 <sup>A</sup> ± 1,10	41,75 <sup>A</sup> ± 2,00	42,49 <sup>A</sup> ± 1,68	41,88 <sup>A</sup> ± 1,41	43,54 <sup>B</sup> ± 0,88
Neutrófilos (%)	25,28 <sup>A</sup> ± 0,94	25,23 <sup>A</sup> ± 2,05	25,75 <sup>A</sup> ± 0,69	25,40 <sup>A</sup> ± 1,61	28,97 <sup>A</sup> ± 1,13	30,83 <sup>B</sup> ± 1,69	31,73 <sup>B</sup> ± 1,46	30,07 <sup>A</sup> ± 0,87
Monócitos (%)	4,61 <sup>B</sup> ± 0,45	4,11 <sup>A</sup> ± 0,51	4,71 <sup>B</sup> ± 0,48	4,13 <sup>A</sup> ± 0,24	5,41 <sup>A</sup> ± 0,38	5,42 <sup>A</sup> ± 0,35	7,04 <sup>A</sup> ± 0,19	6,78 <sup>A</sup> ± 0,40
Eosinófilos (%)	2,28 <sup>B</sup> ± 0,30	1,98 <sup>B</sup> ± 0,19	2,56 <sup>B</sup> ± 0,26	2,04 <sup>A</sup> ± 0,29	1,63 <sup>A</sup> ± 0,19	1,92 <sup>B</sup> ± 0,33	1,29 <sup>A</sup> ± 0,23	1,95 <sup>B</sup> ± 0,20
Basófilos (%)	0,99 <sup>A</sup> ± 0,14	1,02 <sup>A</sup> ± 0,20	1,19 <sup>A</sup> ± 0,35	1,05 <sup>A</sup> ± 0,18	1,04 <sup>A</sup> ± 0,10	1,04 <sup>A</sup> ± 0,19	1,06 <sup>A</sup> ± 0,12	1,06 <sup>A</sup> ± 0,16
Trombócitos (%)	65,80 <sup>A</sup> ± 4,10	62,88 <sup>A</sup> ± 3,52	67,87 <sup>B</sup> ± 1,24	58,36 <sup>A</sup> ± 1,14	62,58 <sup>A</sup> ± 1,67	68,12 <sup>B</sup> ± 1,07	57,88 <sup>A</sup> ± 1,43	69,71 <sup>B</sup> ± 1,02

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos no mesmo dia ( $p \leq 0,05$ ), análise pelo teste t de Student, para um nível de significância de 5%.

Observa-se, nos dados da Tabela 5, que o grupo que recebeu Homeopatila 100 apresentou na média final um aumento na percentagem média de linfócitos, eosinófilos e trombócitos ( $p < 0,05$ ), com o decorrer do tratamento. Os neutrófilos e monócitos diminuíram e os basófilos não apresentaram alteração ( $p > 0,05$ ).

Os animais que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup> apresentaram maior percentagem das células de defesa orgânica, como os trombócitos e linfócitos nas extensões sanguíneas. FELDMAN *et al.* (2000) ressaltaram que a resposta leucocitária é uma importante ferramenta para análise do estado de saúde dos animais, e tem papel importante no desenvolvimento da imunidade humoral e celular. Na piscicultura, há interesse especial em aumentar a resistência às doenças, e o incremento da atividade fagocitária de células de defesa é um aspecto importante (SIWICKI *et al.* 1998).

O resultado da média final do número de linfócitos do grupo-tratado foi de 43,54%, sendo similar aos resultados encontrados em *O. niloticus* por UEDA *et al.* (1997), que foi de 43,42. MARTINS *et al.* (2004) relataram diminuição no número de linfócitos de 75,0% para 25,0% em tilápia do Nilo que receberam injeção de salina e carragenina. ALKAHEM (1994) relatou 50,0% e NUSSEY *et al.* (1995) 69,0% em tilápias criadas em sistema intensivo. Os linfócitos B produzem e secretam anticorpos contra agentes infecciosos e os linfócitos T, que destroem as células infectadas com microrganismos (TAVARES-DIAS e FAUSTINO, 1998). Enquanto que a queda na quantidade de linfócitos representa uma possível redução na capacidade imunológica dos peixes, provocada provavelmente pelo estresse (BARTON e IWAMA, 1991), sendo um fenômeno mediado pelo cortisol.

No grupo-controle, observou-se um aumento na percentagem média de neutrófilos. Segundo BARTON e ZITZOW (1995), o aumento de neutrófilos é apontado como uma resposta típica desencadeada pela presença de um agente estressor. Esses autores relataram ainda uma elevação no número de neutrófilos em peixes submetidos ao estresse de confinamento. Segundo TAVARES-DIAS e MORAES (2004), os neutrófilos são células eficientes na fagocitose e destruição intracelular de agentes infecciosos e substâncias estranhas. CARNEIRO e URBINATI (1998) encontraram resultados semelhantes em matrinxãs expostas ao estresse de transporte. SILVEIRA e RIGORES (1989) relataram valor de 1,6% de neutrófilos; NUSSEY *et al.* (1995) de 7,8%, ALKAHEM (1994) de 3,2%, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) de 6,7% e UEDA *et al.* (1997) de 6,3%, em tilápias criadas no sistema intensivo.

Em relação aos parâmetros hematológicos, JOHANSON-SJOBECK *et al.* (1978) observaram que enguias com aumento no nível de cortisol apresentaram diminuição na contagem total de leucócitos no sangue de peixes. Entretanto, neste estudo, o grupo-

controle apresentou maior média de neutrófilos e monócitos em relação ao grupo-tratado. SOPINSKA (1984) observou que carpas submetidas ao estresse de captura ou de transporte apresentaram aumento na porcentagem de neutrófilos no sangue, semelhante o que ocorreu com as tilápia do Nilo, submetidas às condições desse estudo.

Os monócitos são células responsáveis pela fagocitose ou digestão de partículas estranhas ao corpo (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004), embora não tenham ocorrido diferenças significativas entre os grupos. O grupo-controle, maior porcentagem de monócitos  $7,04 \pm 0,19\%$  e o grupo-tratado  $6,78 \pm 0,40\%$ , outros pesquisados encontram valores próximos ao deste estudo, como: UEDA *et al.* (1997) encontraram média de 6,37 % de monócitos, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) 7,8%; SILVEIRA e RIGORES (1989) 8,0% em *O. niloticus* criadas em sistema intensivo. Outros pesquisados relataram porcentagens diferentes em tilápia do Nilo criadas no sistema extensivo, como: ALKAHEM (1994) 2,6% e NUSSEY *et al.* (1995) 21,2%.

Os eosinófilos são responsáveis pelo combate às infecções no corpo por parte de parasitas, e estão presentes no sangue periférico de peixes em baixo percentual, são mais observados em órgãos hematopoiéticos do que no sangue circulante possivelmente, onde são detectados na circulação somente quando necessários (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004). No grupo-tratado, a porcentagem média dessas células foi de 1,95%, próximos ao relatados por UEDA *et al.* (1997) em média de 0,09, ALKAHEM (1994) 1,0% e NUSSEY *et al.* (1995) de 1,2% e TAVARES-DIAS *et al.* (2000a) de 4,0% em *O. niloticus* criadas em sistema intensivo. A baixa porcentagem de eosinófilos, nos dois grupos deste experimento, é porque esta célula não ocorre no sangue circulante, ocorre em grande quantidade na pele, intestinos, brânquias e tecidos hematopoiéticos dos peixes, POWELL *et al.* (1990), embora estejam relacionados com o processo de defesa imune dos peixes.

Na Tabela 6 estão apresentados os valores médios no nível de Hematócrito, hemoglobina, eritrócitos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em tilápia do Nilo (*O. niloticus*) que receberam ou não o produto Homeopatila 100<sup>®</sup>, nos dias zero, 15, 35 e 60 do início do experimento.

**Tabela 6.** Porcentagem médias dos parâmetros hematológicos sanguíneos de tilápias do Nilo tratadas ou não (controle), com Homeopatila 100<sup>®</sup>, durante o período experimental. Umuarama – PR. 2006.

Variável	Dia 0		Dia 15		Dia 35		Dia 60	
	Controle	Tratadas	Controle	Tratadas	Controle	Tratadas	Controle	Tratadas
Hematócrito (%)	29,95 <sup>A</sup> ± 0,86	29,16 <sup>A</sup> ± 3,73	29,76 <sup>A</sup> ± 0,79	30,42 <sup>A</sup> ± 0,77	30,43 <sup>A</sup> ± 0,56	30,76 <sup>A</sup> ± 0,92	32,80 <sup>B</sup> ± 0,80	30,92 <sup>A</sup> ± 0,76
Hemoglobina (g%)	4,97 <sup>A</sup> ± 0,42	5,04 <sup>A</sup> ± 0,20	4,96 <sup>A</sup> ± 0,39	5,11 <sup>A</sup> ± 0,20	5,20 <sup>A</sup> ± 0,33	5,08 <sup>A</sup> ± 0,20	5,98 <sup>B</sup> ± 0,31	5,38 <sup>A</sup> ± 0,16
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> ul)	2,63 <sup>A</sup> ± 0,38	2,40 <sup>A</sup> ± 0,29	2,88 <sup>B</sup> ± 0,44	2,34 <sup>A</sup> ± 0,24	3,08 <sup>B</sup> ± 0,36	2,29 <sup>A</sup> ± 0,11	3,15 <sup>B</sup> ± 0,19	2,27 <sup>A</sup> ± 0,12
VCM (pg)	132,18 <sup>A</sup> ± 2,07	130,93 <sup>A</sup> ± 4,71	132,68 <sup>A</sup> ± 1,89	132,93 <sup>A</sup> ± 1,50	119,37 <sup>A</sup> ± 4,39	133,17 <sup>B</sup> ± 1,23	100,97 <sup>A</sup> ± 1,51	133,69 <sup>B</sup> ± 0,71
HCM (%)	22,29 <sup>A</sup> ± 0,30	22,49 <sup>A</sup> ± 0,42	22,25 <sup>A</sup> ± 0,50	22,33 <sup>A</sup> ± 0,54	21,52 <sup>A</sup> ± 0,80	22,30 <sup>B</sup> ± 0,42	19,41 <sup>A</sup> ± 0,75	22,34 <sup>B</sup> ± 0,33
CHCM (%)	16,36 <sup>A</sup> ± 0,42	16,45 <sup>A</sup> ± 0,42	16,37 <sup>A</sup> ± 0,32	16,19 <sup>A</sup> ± 0,32	16,76 <sup>A</sup> ± 0,43	16,40 <sup>A</sup> ± 0,44	19,47 <sup>B</sup> ± 0,51	16,22 <sup>A</sup> ± 0,34

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos Controle e Tratadas, para cada Dia de análise, pelo teste t de Student, para um nível de significância de 5%.

Em peixes estressados, as alterações hematológicas, geralmente, são acompanhadas de hiperglicemia e aumento de hemoglobina, decorrente da liberação aumentada de cortisol, que induz incremento da gliconeogênese hepática (CARNEIRO, 2001). Além do aumento no nível de cortisol e glicose observou-se o aumento no nível de hemoglobina. O grupo-controle apresentou nível de 5,98 de hemoglobina e o grupo-tratado 5,38, valores superiores ao encontrados por outros autores em tilápia do Nilo,

como os descritos por SILVEIRA e RIGORES (1989) que relataram valor de 1,4, ALLEN (1994) de 1,9, NUSSEY *et al.* (1995) de 1,9, ALKAHEM (1994) de 1,3, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) 2,4 e BARROS *et al.* (2004) de 8,3 ng/mL UEDA *et al.* (1997) relatou nível de 7,0, sendo que estes autores realizaram apenas uma amostra de hemoglobina, enquanto que nesse estudo foram realizadas 4 colheitas, Neste estudo, o grupo-controle apresentou aumento no nível de hemoglobina, a partir do 35 dias, após início do uso do homeopatia 100<sup>®</sup>, conforme demonstrado na Tabela 6.

O hematócrito, a concentração da hemoglobina e o número de linfócitos são considerados indicadores hematológicos auxiliares da resposta ao estresse em peixes (CARNEIRO e URBINATI, 1998). Neste estudo, o aumento do hematócrito apresentou uma alteração no grupo-controle de 29,95%(dia zero) para 32,80%(60 dias), que pode estar associado com maior demanda de oxigênio pelo organismo do animal e observaram valores médios de 29,76% (15 dias) e 30,43 (35 dias). Outros pesquisadores como TAVARES-DIAS *et al.* (2000a) relataram índice de 28,6%; SILVEIRA e RIGORES (1989), de 30,6%; ALLEN (1994) de 36,8%; NUSSEY *et al.* (1995) de 28,0% e UEDA *et al.* (1997) de 27,85% em tilápias do Nilo criadas em sistema intensivo. Segundo McDONALD e MILLIGAN, (1997), o aumento das células vermelhas tem sido usado como um índice de resposta de estresse em peixes de água doce.

A porcentagem média de eritrócitos foi de 3,15% e 2,27% para os animais do grupo-controle e tratado, respectivamente; esses dados corroboram com os resultados encontrados em tilápia do Nilo por ALLEN (1994) de 2,19%, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) de 1,73 a 4,83%; TAVARES-DIAS (2003) média de 2,47%, BITTENCOURT *et al.* (2003) 6,93%, sendo que o valor encontrado neste experimento foi 2,27% nos animais do grupo-tratado, está dentro da média apresentada por esses



autores. Embora outros pesquisadores tenham encontrado valores inferiores a esse estudo como: ALKAHEM (1994), que relatou índice de 1,31% e SILVEIRA e RIGORES (1989) de 1,4%.

No grupo-controle observou-se um aumento do número de eritrócitos e na concentração hemoglobina que pode estar associado com maior demanda de oxigênio pelo organismo, normalmente presente em situações adversas, que pode ter contribuído para o aumento da capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue dos animais, visto que os eritrócitos participam no transporte do oxigênio e do gás carbônico.

O volume corpuscular médio (VCM) encontrada no grupo-tratado foi 133,69%; este valor é inferior ao encontrado por SILVEIRA e RIGORES (1989) que relataram valor de 214,7%; ALLEN (1994) 180,8%, ALKAHEM (1994) 246,4%, NUSSEY *et al.* (1995) de 149,00%, BARROS *et al.* (2004) de 153,1%, BITTENCOURT (2003) de 148,80%, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) de 133,7% e inferior ao encontrado por UEDA *at al.* (1997) de 118,6% em tilápias criadas no sistema intensivo. Estes pesquisados realizaram apenas uma coleta de material, enquanto no presente trabalho quatro coletas foram realizadas, embora as pesquisas fossem realizadas todas no período do verão.

A hemoglobina corpuscular média (HCM), no grupo-tratado, foi de 22,34pg sendo inferior ao encontrado por SILVEIRA e RIGORES (1989) que relataram valor de 35,8pg; ALLEN (1994) de 52,4pg, ALKAHEM (1994) de 48,8pg, NUSSEY *et al.* (1995) de 45,0pg, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) de 37,4pg, UEDA *et al.* (1997) de 30,3pg, BITTENCOURT *et al.* (2003) de 40,7pg, e BARROS *et al.* (2004) de 29,9pg em tilápias criadas em sistema intensivo, mas todos estes pesquisadores relataram índices de hemoglobina e eritrócitos superiores a este estudo com o

Homeopatila 100<sup>®</sup>, pois estes índices estão diretamente relacionados com o cálculo do valor do HCM.

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), no grupo-tratado, foi de 16,22; ALLEN (1994) relatou valor de 33,8%, ALKAHEN (1994) de 20,2%, NUSSEY *et al.* (1995) de 33,0%, TAVARES-DIAS e FAUSTINO (1998) de 33,8%, UEDA *et al.* (1997) de 25,7%, BITTENCOURT *et al.* (2003) de 35,2% e em tilápias criadas no sistema intensivo, mas outros autores encontraram valores menores como SILVEIRA e RIGORES (1989) de 17,7% e BARROS *et al.* (2004) de 8,34%. A CHCM representa a concentração ou peso médio de hemoglobina por eritrócitos; no presente estudo foi avaliada a porcentagem e não o volume dos eritrócitos. Para o cálculo do CHCM, utilizam-se os índices de Hemoglobina e Hematócrito, que foram superiores nos relatos destes autores em relação com estudo com o Homeopatila 100<sup>®</sup>.

O homeopatila 100<sup>®</sup> alterou significativamente os índices de eritrócitos, VCM, HCM e CHCM do grupo-tratado quando comparado ao grupo-controle, conforme demonstrada na Tabela 6.

#### **4 CONCLUSÃO**

Nas condições desse estudo, conclui-se que os animais que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup> apresentaram os níveis de cortisol, glicose e hemoglobina plasmáticos significativamente inferiores no sangue dos peixes que receberam Homeopatila 100<sup>®</sup>, quando comparados com os animais do grupo controle.

Apresentou também um aumento significativo na porcentagem de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e trombócitos, sendo que os monócitos e basófilos não apresentaram alterações ( $p > 0,05$ ).

Observou-se que ocorreram alterações a partir do 35º dia do início do experimento em todos os parâmetros avaliados no grupo em que foi administrado o composto homeopático Homeopatila 100®.

## CITAÇÃO BIBLIOGRÁFICA

ALKAHEM, M. F. The toxicity of nickel and the effects of sublethal levels on haematological parameters and behaviour of the fish, *O. niloticus*. **Journal of the University of Kuwait**, v.21, p.243-252, 1994.

ALLEN, P. Changes in the hematological profile of the cichlid *O. aureus* during acute inorganic mercury intoxication. **Comparative Biochemical and Physiology. C. Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v.108, n.1, p.117-121, 1994.

BARCELOS, L. J. G. et al. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* a South American catfish. **Aquaculture Research**, v. 32, p.121-123, 2001.

BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S. M. G.; LOURENÇO, L. F. Estudos preliminares sobre o cortisol em resposta ao estresse na tilápia no Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 224, p.239-245, 1997.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v.10, p. 3-26, 1991.

BARTON, B. A.; ZITZOW, R. E. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the saline water. **Annual Review. Fish of Diseases**, v.57, p.267-276, 1995.

BERNIER, N. J. The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology. B. Biochemistry and Molecular Biology**, v.129, p.639-644, 2001.

BITTENCOURT, N. L. R. Hematological and biochemical values for Nile tilapia *O. niloticus* cultured in semi-intensive system. **Acta Scientiarum**, v.25, n.2, p.385-89, 2003.

CARNEIRO, P. C. F. **Estresse provocado pelo transporte e resposta fisiológica do matrinxã *Brycon cephalus***. 2001. 137p. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Jaboticabal, 2001.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Alterações metabólicas, hematológicas e osmorregulatórias do matrinxã *Brycon cephalus* causadas pelo estresse de transporte.

AQUICULTURA BRASIL'98, 1., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Simbraq, 1998. p.609-620.

COLLIER, H.B. The standardization of blood hemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v. 50, p.550-552, 1994.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**: 2002. Rome: [s.n.], 2002. 150p.

FELDMAN, D. M. *et al.* **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>th</sup>. Philadelphia: Donna Balado, 2000.

FOO, J. T.W.; LAM, T. J. Serum cortisol response to handling stress and the effect of cortisol implantation on testosterone level in the tilapia. **Aquaculture**, v. 115, p. 145-158. 1993.

GOLDENFARB, P. B. *et al.* Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v.56, p.35-39, 1971.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Estatística da Pesca 2004, Brasil**. Brasília: IBAMA, 2005.136p.

IVERSEN, M. *et al.* Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon smolts. **Aquaculture**, v.168, p.387-394, 1998.

JOHANSSON-SJOBECK, M. *et al.* Hematological effects of cortisol in the european eel, *Anguilla anguilla* L. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 60, p. 165-168, 1978.

KRIEGER-AZZOLINI, M. H. *et al.* A time-course study of physiological indicators of handling stress in the tropical fish *Piaractus mesopotamicus* **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, p.1019-1022, 1989.

MARTINS, M. L. *et al.* Falha na resposta do cortisol ao estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Hollmberg, 1887. **Acta Scientiarum**, v.22, p.545-552, 2000.

MARTINS, M. L. *et al.* Hematologia e resposta inflamatória aguda em *O. niloticus* submetidas aos estímulos único e consecutivos de estresse de captura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.1, p.71-80, 2004.

MARTINS, M. L. *et al.* **Histopatologia e hematologia de tilápias (*Oreochromis niloticus* infectadas por *Ichthyophthirius multifiliis* e *Saprolegnia* sp.** Disponível em: <[www.caunesp.unesp.br](http://www.caunesp.unesp.br)>. Acesso em 10 abr. 2006.

MAZEAUD, M. M. *et al.* Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p. 201-212, 1977.

McCORMICK, S. D. *et al.* Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor 1 and cortisol. **Aquaculture**, v.177, p. 297-309, 2003.

McDONALD, G.; MILLIGAN, L. **Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress: fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p.119-144.

MORGAN J. D. *et al.* Physiological and respiratory responses of the mozambique tilapia to salinity acclimation. **Comparative Biochemistry and Physiology A. Physiology**, v.117, n.3, p.391-398, 1997.

NAKAYAMA, T.; DA-JIA, L.; OOI, A. Tension changes of stresses and unstressed carp muscle isometric rigor contraction and resolution. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 58, p.1517-22, 1992.

NOLAN *et al.* Ambient salinity modulates the response of the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to net confinement. **Aquaculture**, v.168, p.297-309, 1999.

NUSSEY, G. *et al.* Effects of copper on the haematological and osmoregulation of the Mozambique tilapia. **Comparative Biochemistry and Physiology C. Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 111, n.3, p.369-380, 1995.

POWELL, M. *et al.* Eosinophilic granule cells in the gills of rainbow trout: evidence of migration. **Journal of Fish Biology**, v.37, p.495-497, 1990.

REAL, C. M. **Homeopatia populacional**. Disponível em: < [www.realh.com.br](http://www.realh.com.br)>. Acesso em 15 fev. 2006.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grunwald e do Giensa num só corante de emprego rápido. *Memorias do Instituto Butantan*, v.20, p. 329-334, 1947.

SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. **British Medical Journal**, v.1, p.1383-1392, 1950.

SIGISMONDI, L. A.; WEBER, L. J. Changes in avoidance response time of juvenile Chinook salmo exposed to multiple handling stress. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.117, p.196-201, 1998.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. S **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: FINEP,1995. 70p.

SILVA, A. M. C. P. *et al.* Uso de bioterápico de *Mycoplasma Spp.* em rebanho bovino leiteiro. **Revista Cultura Homeopática**, v. 13, p.43-47, 2005.

SILVEIRA, R.; RIGORES, C. Características hematológicas normales de *O. aureus* em cultivo. **Revista Latinoamericana de Acuicultura**, v.39, p.54-56, 1989.

SIWICKI, A. K. *et al.* Modulation of nonspecific defence mechanisms and protection against diseases in fish. **Acta Veterinaria BRNO**, v.67, p.323-328, 1998.

SOPINSKA A. Effects physiological factors, stress, and disease on hematological parameters of carp, with a particular reference to the leukocyte patterns II. Hematological results of stress in carp. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v.14,n.1/2, p.125-139, 1984.

STOSKOPF, M. K. **Fish medicine**. 9<sup>th</sup> edition, [s.l.]: W.B. Saunders, 1993. 882p.

TACHIBANA, L. Desempenho de diferentes linhagens de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) na fase de reversão sexual. **Acta Scientiarum**, v. 26, n.3, p. 305-311, 2004.

TAVARES-DIAS, M. **Variáveis hematológicas de teleósteos brasileiros de importância zootécnica**. 2003. 209p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C. D. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichidae) em cultivo extensivo. **Ars Veterinária**, v.14, p.254-63, 1998.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes Teleósteos**. Ribeirão Preto: Lillimpress Complexo Gráfico, 2004. 144p.

UEDA, I. K. *et al.* Estudo hematológico do sangue periférico de *O. niloticus*.(Linneus, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n.5, p.270-5, 1997.

VAL, A. L. Estresse em peixes: ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 7., e ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 3, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu, PR: ABRAPOA, 2002. p. 220.

VIJAYAN, M. M. *et al.* Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. **Comparative Biochemistry and Physiology C. Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v.116, n.1, p.89-95, 1997.

VOLPATO, G. L. *et al.* Heterogeneous growth in fishes: some new data in the Nile tilapia and a general view about the causal mechanisms. **Boletim of. Physiology Animal**, v.13, p.7-22, 1989.

YADA, T.; NAKANISHI JR., J. J. Interactions between endocrine and immune system in fish. **International Review of Cytology**, v. 220, p.35-92, 2002.

ZACARIAS, F. Avaliação de substâncias tratadas homeopaticamente no controle da Eimeriose Caprina. In: ENCONTRO DE CAPRINO-OVINOCULTORES DE CORTE DA BAHIA. 3., 2003, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, BA: [s.n.], 2003. p. 81-92.

## V – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Nas condições experimentais, o produto da homeopatia populacional Homeopatila 100<sup>®</sup> alterou significativamente ( $p > 0,05$ ) os níveis de cortisol e glicose o hemograma, e a hemoglobina corpuscular média (HCM), o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), criadas em sistema intensivo.

O presente estudo oferece informações importantes sobre o produto homeopático Homeopatila 100<sup>®</sup> em tilápias do Nilo. Espera-se que os conhecimentos advindos deste trabalho forneçam subsídios para melhorar as condições de saúde dos peixes criados no sistema intensivo. Embora o produto tenha apresentado resultados satisfatórios para tilápia do Nilo criadas nas condições deste experimento, serão necessários novos experimentos em criações comerciais e com outras espécies de peixes.