

# PERMANGANATO DE POTÁSSIO COMO AGENTE TERAPÊUTICO NO CONTROLE DE *Epistylis* sp. EM CACHARA *Pseudoplatystoma reticulatum* E SEUS EFEITOS NA HEMATOLOGIA\*

Cristiane Meldau de CAMPOS<sup>1</sup>; Robson Andrade RODRIGUES<sup>1</sup>; Carlos Antonio Lopes de OLIVEIRA<sup>2</sup>; André Luiz NUNES<sup>1</sup>; Letícia Emiliani FANTINI<sup>1</sup>; Thiago Tetsuo USHIZIMA<sup>3</sup>

## RESUMO

A fase inicial da produção de bagres carnívoros sul americanos é comumente acometida por ectoparasitos. Neste trabalho avaliou-se o uso do permanganato de potássio  $\text{KMnO}_4$  como agente terapêutico no controle do protozoário ciliado *Epistylis* sp. em juvenis de cachara, *Pseudoplatystoma reticulatum*, naturalmente parasitados e seus efeitos na hematologia. Os peixes foram submetidos a três banhos terapêuticos, com intervalos de 48 h e duração de 20 min, com permanganato de potássio nas concentrações de 0,0 mg L<sup>-1</sup> (controle); 1,0 mg L<sup>-1</sup>; 2,5 mg L<sup>-1</sup> e 4,0 mg L<sup>-1</sup>. As diferentes concentrações do permanganato de potássio testadas não interferiram ( $P > 0,05$ ) na sobrevivência. A menor ( $P < 0,05$ ) prevalência parasitária foi observada para a concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> (6,67 ± 6,70%). Não foi observado efeito dos tratamentos ( $P > 0,05$ ) sobre os parâmetros hematológicos da série eritrocitária. Os peixes tratados com o permanganato de potássio na concentração 1,0 mg L<sup>-1</sup> apresentaram maior percentual ( $P < 0,01$ ) de célula granulocítica especial (CGE) em relação aos tratados com a concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup>, 4,0 mg L<sup>-1</sup> e grupo controle. Independente da concentração utilizada, os peixes apresentaram menor valor ( $P > 0,01$ ) absoluto de eosinófilos em relação aos peixes do grupo controle. O permanganato de potássio na concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> foi eficaz no controle do protozoário ciliado *Epistylis* sp. em juvenis de cacharas naturalmente parasitados.

**Palavras chave:** Bagre; parâmetros hematológicos; parasito; sobrevivência; tratamento

## POTASSIUM PERMANGANATE AS THERAPEUTIC AGENT IN CONTROL OF *Epistylis* sp. IN CACHARA *Pseudoplatystoma reticulatum* AND ITS EFFECTS AN HEMATOLOGY

### ABSTRACT

The early phase of South American carnivorous catfish is commonly affected by ectoparasites. The use of the potassium permanganate  $\text{KMnO}_4$  as therapeutic agent for control of the natural infestation by ciliate protozoan *Epistylis* sp. in cachara juveniles, *Pseudoplatystoma reticulatum* and its effects on hematology, was evaluated in this study. The fish were submitted to three therapeutic baths, lasting 20 min in intervals of 48 h with potassium permanganate in the concentrations of 0.0 mg L<sup>-1</sup> (control); 1.0 mg L<sup>-1</sup>; 2.5 mg L<sup>-1</sup> and 4.0 mg L<sup>-1</sup>. The different levels of the potassium permanganate tested did not interfere ( $P > 0.05$ ) in survival. The smaller ( $P < 0.05$ ) prevalence was observed in the concentration of 2.5 mg L<sup>-1</sup> (6.67 ± 6.70%). Effect on the erythrogram was not observed ( $P > 0.05$ ). The fish treated with the potassium permanganate in the concentration of 1.0 mg L<sup>-1</sup> showed higher percentage ( $P < 0.01$ ) of special granulocytic cells (SGC) in relation to treated with the concentration of 2.5 mg L<sup>-1</sup>, 4.0 mg L<sup>-1</sup> and control group. Independent of the concentration, the treated fish showed smaller absolute value of eosinophils ( $P < 0.01$ ) in relation to fish of control group. Potassium permanganate in the concentration of 2.5 mg L<sup>-1</sup> was effective in the control of the ciliate protozoan *Epistylis* sp. in cachara juveniles naturally infected.

**Keywords:** Catfish; hematological parameters; parasite; survival; treatment

**Artigo Científico:** Recebido em 03/06/2013 – Aprovado em 17/01/2014

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Produção Animal no Cerrado-Pantanal. Rodovia Aquidauana, km 12 – CEP: 79200-000 – Aquidauana – MS – Brasil. e-mail: cmeldau@uems.br (autora correspondente)

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Maringá – UEM – Maringá – PR – Brasil. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Produção Animal no Cerrado-Pantanal, UEMS

<sup>3</sup> Empresa Mar & Terra Ind. e Com. de Pescado Ltda., Itaporã – MS – Brasil

\* Apoio financeiro: CNPq (Proc. nº 479303/2010-0) e Macroprograma Aquabrazil/Embrapa

Projeto aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/UEMS, protocolo 015/2013/CEUA

## INTRODUÇÃO

Na piscicultura comercial intensiva, as fases de larvicultura e alevinagem são críticas, uma vez que larvas, pós-larvas e juvenis apresentam maior susceptibilidade aos microrganismos patogênicos presentes no ambiente de cultivo.

A produção de surubins, bagres sul americanos do gênero *Pseudoplatystoma*, de grande importância na piscicultura em Mato Grosso do Sul, apresenta em geral, no período inicial, baixa taxa de sobrevivência média, de 30% a 40% (INOUE *et al.*, 2003), no qual a ocorrência de ectoparasitoses é uma das principais causas (INOUE *et al.*, 2009).

Na fase inicial de criação, a fauna parasitária de juvenis de *Pseudoplatystoma* sp. é composta principalmente por protozoários ciliados, como o *Ichthyophthirius multifiliis*, *Epistylis* sp. e *Trichodina* sp. (ISHIKAWA *et al.*, 2011; PÁDUA *et al.*, 2012).

O *Epistylis* sp. é um protozoário ciliado colonial, sésil, pertencente à ordem Peritrichia (HÜSEYIN e SELCUK, 2005), que parasita tegumento, nadadeiras e brânquias de peixes de cativeiro e de ambiente natural (MARTINS *et al.*, 2002; ABO-ESA, 2008) e causam a doença Epistilíase (ISHIKAWA *et al.*, 2012). Em geral, esse protozoário utiliza estruturas firmes do corpo do peixe para se fixar, como por exemplo, raios das nadadeiras, bordas do opérculo e lábios e superfície da cabeça, mas não se alimenta das células dos peixes (ISHIKAWA *et al.*, 2012). No entanto, segundo ISHIKAWA *et al.* (2012), muitas colônias mistas de *Epistylis* associadas a outros agentes patogênicos podem causar doenças de etiologia mista.

A associação do *Epistylis* sp. com a bactéria *Aeromonas hydrophila* forma um complexo simbiótico que pode desencadear a “Doença da ferida vermelha”, severa patologia que acomete peixes de água doce em cultivo intensivo (HAZEN *et al.*, 1978). As bactérias colonizam o pedúnculo dos zoóides do parasito e secretam enzimas, as quais lesionam os tecidos próximos às colônias. Estas lesões funcionam como porta de entrada para a própria *A. hydrophila*, assim como para outras bactérias patogênicas presentes no ambiente (GRINGNARD *et al.*, 1996).

A reprodução do *Epistylis* acontece por meio de divisão binária e também por meio de reprodução sexuada, com formação de estágios não sésseis (ISHIKAWA *et al.*, 2012). Ambos os tipos de reprodução são formas eficientes e, por isso, em sistemas de produção, medidas preventivas e/ou terapêuticas merecem atenção.

Para o controle de protozoários ciliados, segundo KLEIN *et al.* (2004) e CARNEIRO *et al.* (2005), é recomendado o uso de formalina, sulfato de cobre, permanganato de potássio, verde de malaquita e cloreto de sódio. No Brasil, até o momento, não existem trabalhos publicados relacionados ao controle de *Epistylis* sp. em espécies nativas de interesse comercial, como o cachara. No entanto, é crescente a demanda por métodos de controle que sejam eficazes e aplicáveis pelo setor produtivo ao manejo sanitário desta espécie, uma vez que a sanidade constitui uma das principais limitações na produção do cachara.

Os estudos que visam a determinação de métodos de controle para as enfermidades parasitárias de peixes de cultivo não são válidos para todas as espécies nativas, assim como para os parasitos, devido às particularidades de cada um destes em relação à tolerância aos produtos utilizados.

O permanganato de potássio é usado há muito tempo na aquicultura para tratamento e prevenção, entretanto, dependendo da concentração usada, pode causar danos na pele e brânquias (INTORRE *et al.*, 2007). Os parâmetros hematológicos são considerados marcadores histofisiopatológicos (ADHIKARI *et al.*, 2004), pois podem ser alterados quando os peixes são expostos a mudanças no ambiente (RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA, 2004). Por isso, são ferramentas para avaliar o status estrutural e corporal de peixes expostos a uma substância tóxica (ADHIKARI *et al.*, 2004).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o permanganato de potássio como agente terapêutico no controle do *Epistylis* sp. em juvenis de cachara, *Pseudoplatystoma reticulatum*, naturalmente parasitados, e seus efeitos na hematologia, visando a determinação de um protocolo de tratamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Ictioparasitologia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, em Aquidauana. Foram utilizados 66 juvenis de cachara *P. reticulatum*, provenientes de piscicultura comercial, naturalmente parasitados por *Epistylis* sp., com peso total médio de  $41,67 \pm 6,96$  g e comprimento total médio de  $19,74 \pm 1,05$  cm.

Todos os peixes selecionados para o experimento estavam com colônias visíveis (mancha esbranquiçada) na superfície do corpo, entretanto, uma amostra de 10% desses peixes foi submetida a exame parasitológico para comprovação do parasitismo por *Epistylis* sp.. Para tanto, foi realizada uma raspagem do muco da superfície corporal dos peixes e o material obtido foi comprimido entre lâmina e lamínula e examinado sob microscopia de luz no aumento de 40x.

Os peixes (n = 60) foram estocados, aleatoriamente, em caixas de polietileno com volume útil de 80 L, sendo cinco peixes por caixa, com fluxo contínuo de água, aclimatados e alimentados até a aparente saciedade com ração comercial para peixes carnívoros contendo 40% de proteína bruta.

Posteriormente, os peixes foram submetidos a quatro tratamentos, correspondentes às concentrações de permanganato de potássio testadas: 0,0 mg L<sup>-1</sup> (controle); 1,0 mg L<sup>-1</sup>; 2,5 mg L<sup>-1</sup> e 4,0 mg L<sup>-1</sup>. Para todos os tratamentos foram realizadas três repetições (procedimentos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEMS sob protocolo nº 015/2013).

O permanganato de potássio foi administrado sob a forma de banho terapêutico. O protocolo de tratamento consistiu em três banhos terapêuticos realizados em intervalos de 48 h, com duração de 20 min. O tempo adotado foi estabelecido em um ensaio prévio, no qual um grupo de peixes foi exposto à concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de permanganato de potássio. Durante a realização dos banhos, o fluxo de água das caixas foi interrompido e a oxigenação mantida com aerador. No sexto dia, ao final dos tratamentos, foi efetuada a contagem do número de peixes de cada unidade experimental para avaliação da sobrevivência.

Para análise da qualidade da água, diariamente, duas vezes ao dia (08h00min e 16h30min), foram mensurados os seguintes parâmetros: pH (com peagâmetro digital), oxigênio dissolvido (com oxímetro portátil) e temperatura (com termômetro de mercúrio).

Para avaliar o efeito dos banhos terapêuticos no controle dos parasitos, decorrido 24 horas após a realização do último banho terapêutico, todos os peixes de todos os tratamentos foram submetidos a exame parasitológico conforme o procedimento descrito anteriormente. Os peixes que ainda apresentavam alguma colônia de *Epistylis* sp. sobre a superfície corporal foram considerados parasitados. A eficácia dos tratamentos foi avaliada com base na prevalência parasitária obtida ao final dos tratamentos, calculada de acordo com o proposto por BUSH *et al.* (1997).

Após a realização do exame parasitológico, os peixes foram anestesiados em solução de eugenol, na concentração de 50 mg L<sup>-1</sup>, até o estágio de anestesia cirúrgica, contidos mecanicamente com pano umedecido e submetidos à colheita de sangue por punção do vaso caudal, utilizando-se seringas e agulhas banhadas em EDTA a 3%. Os parâmetros hematológicos determinados foram: microhematócrito (Ht), após a centrifugação do sangue a 12.000 g, por 5 min, em tubos microcapilares e posterior leitura em escala padronizada (GOLDENFARB *et al.*, 1971); concentração de hemoglobina (Hb), segundo o método da cianometahemoglobina (COLLIER, 1944); contagem do número de eritrócitos (Er) em câmara de Neubauer, após diluição do sangue em solução de formol citrato; volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de WINTROBE (1934). Foram confeccionadas extensões sanguíneas em duplicata, secas ao ar e coradas pancromicamente com May Grünwald-Giemsa-Wright (TAVARES-DIAS e MORAES, 2003), posteriormente utilizadas para a contagem diferencial de leucócitos e contagem total de leucócitos e trombócitos.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e um grupo controle, com três repetições cada. Os dados de prevalência parasitária e parâmetros

hematológicos foram submetidos à ANOVA, com nível de significância de 5% e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. A variável resposta do exame parasitológico ao final dos banhos terapêuticos é dicotômica (PP = peixe parasitado e PNP = peixe não parasitado), assim como da sobrevivência (S = sobreviveu aos tratamentos e NS = não sobreviveu aos tratamentos) e, portanto apresentam distribuição binomial. Para estimar a probabilidade de peixes parasitados e a probabilidade de sobrevivência dos mesmos ao final dos tratamentos foi ajustado um modelo linear generalizado com função de ligação logística ('logit') (MCCULLOCH e SEARLE, 2001), adotando-se nível de significância de 10%. O programa utilizado foi o software estatístico R versão 2.15.0.

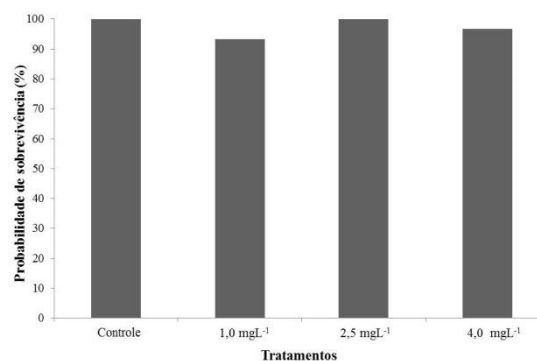
## RESULTADOS

O monitoramento dos parâmetros de qualidade da água de cultivo dos cacharas indicou que o pH ( $7,32 \pm 0,37$ ); oxigênio dissolvido ( $6,20 \pm 0,36 \text{ mg L}^{-1}$ ) e temperatura ( $29,04 \pm 0,14^\circ\text{C}$ ) apresentaram valores dentro da faixa ideal de cultivo para peixes tropicais.

O exame parasitológico inicial demonstrou que 100,0% dos cacharas apresentavam colônias de *Epistylis* sp., predominantemente localizadas sobre o tegumento da cabeça.

A probabilidade de sobrevivência dos peixes

ao final dos banhos (Figura 1) não apresentou efeito dos tratamentos ( $P > 0,05$ ), indicando que o permanganato de potássio nas concentrações testadas não oferece riscos aos animais no tempo utilizado.



**Figura 1.** Probabilidade de sobrevivência de juvenis de cachara parasitados por *Epistylis* sp. submetidos a banhos terapêuticos com permanganato de potássio.

O permanganato de potássio, independente da concentração utilizada, proporcionou a eliminação do protozoário ciliado, visto que foi observada redução na prevalência em todos os tratamentos. Esse mesmo parâmetro foi significativamente menor no tratamento de  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$  quando comparado à concentração de  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$  e ao grupo controle, porém não diferiu da concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  (Tabela 1). Apesar de ser constatada diminuição da prevalência final no grupo controle, seu valor ainda se manteve alto e próximo do tratamento de  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

**Tabela 1.** Média  $\pm$  erro-padrão da prevalência inicial e final e probabilidade de peixes parasitados por *Epistylis* sp. após banhos terapêuticos com permanganato de potássio em diferentes concentrações.

Tratamentos	Prevalência inicial (%) <sup>*</sup>	Prevalência final (%) <sup>*</sup>	Probabilidade de peixes parasitados (%) <sup>**</sup>
Controle	100,00 $\pm$ 0,00	41,67 $\pm$ 6,80 <sup>AB</sup>	40,24 <sup>ab</sup>
1,0 mg L <sup>-1</sup>	100,00 $\pm$ 0,00	13,33 $\pm$ 6,67 <sup>BC</sup>	14,41 <sup>ab</sup>
2,5 mg L <sup>-1</sup>	100,00 $\pm$ 0,00	6,67 $\pm$ 6,70 <sup>C</sup>	6,73 <sup>b</sup>
4,0 mg L <sup>-1</sup>	100,00 $\pm$ 0,00	45,00 $\pm$ 10,41 <sup>A</sup>	46,40 <sup>a</sup>

<sup>\*</sup>Significativo pela ANOVA ( $P < 0,05$ ). <sup>\*\*</sup>Significativo pela análise de modelos lineares generalizados ( $P = 0,054$ ). Médias com letras distintas na coluna diferem entre si.

O sucesso do tratamento, evidenciado pela prevalência final, foi reforçado pela probabilidade de ocorrência de peixes parasitados ao final dos tratamentos. Mais uma vez, a concentração de  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$  demonstrou maior eficácia na

eliminação dos parasitos da superfície corporal dos peixes, ou seja, após o tratamento com permanganato de potássio nesta concentração, estimou-se que 93,27% dos peixes tratados estarão livres do protozoário.

No presente estudo, o permanganato de potássio nas concentrações testadas não promoveu alteração no eritrograma dos juvenis de cachara, não sendo observada diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos para

os valores de hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) conforme mostra a Tabela 2.

**Tabela 2.** Eritrograma (média  $\pm$  erro-padrão) de juvenis de surubim híbrido parasitados por *Epistylis* sp. submetidos a banhos terapêuticos com permanganato de potássio em diferentes concentrações.

Parâmetros Avaliados	Concentrações de permanganato de potássio (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	1,0	2,5	4,0	CV (%)
Ht (%)	20,42 $\pm$ 2,08	19,33 $\pm$ 2,89	20,35 $\pm$ 2,30	19,38 $\pm$ 1,67	16,6
Hb (g dL <sup>-1</sup> )	4,56 $\pm$ 0,57	4,43 $\pm$ 0,57	4,28 $\pm$ 0,64	4,52 $\pm$ 0,59	16,8
Er ( $\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ )	1,78 $\pm$ 0,17	1,62 $\pm$ 0,17	1,70 $\pm$ 0,14	1,94 $\pm$ 0,08	13,3
VCM (fl)	120,06 $\pm$ 5,31	134,12 $\pm$ 17,41	128,34 $\pm$ 20,85	110,74 $\pm$ 8,97	19,6
CHCM (g dL <sup>-1</sup> )	21,01 $\pm$ 1,16	23,84 $\pm$ 2,65	24,37 $\pm$ 4,01	22,98 $\pm$ 2,18	18,5

Ht = Hematócrito; Hb = Hemoglobina; Er = Número de eritrócitos; VCM = Volume Corpuscular Médio; CHCM = Hemoglobina Corpuscular Média. CV = Coeficiente de variação.

Foi observado, nos cacharas, efeito ( $P<0,05$ ) das diferentes concentrações do permanganato de potássio sobre a contagem diferencial de leucócitos, sendo que os peixes expostos à

concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> apresentaram maior ( $P<0,05$ ) percentual de célula granulocítica especial (CGE) em relação aos expostos à concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> e 4,0 mg L<sup>-1</sup> (Tabela 3).

**Tabela 3.** Valores relativos (média  $\pm$  erro-padrão) dos leucócitos sanguíneos de juvenis de cachara naturalmente parasitados por *Epistylis* sp. e submetidos a banhos terapêuticos com permanganato de potássio.

Leucócitos	Concentrações de permanganato de potássio (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	1,0	2,5	4,0	CV (%)
Mon(%)	0,83 $\pm$ 0,17	0,72 $\pm$ 0,06	0,37 $\pm$ 0,19	0,69 $\pm$ 0,32	55,3
Lin(%)	67,33 $\pm$ 10,33	63,72 $\pm$ 3,03	61,12 $\pm$ 7,18	75,36 $\pm$ 1,55	14,5
Bas(%)	0,92 $\pm$ 0,42	0,88 $\pm$ 0,25	0,57 $\pm$ 0,12	0,69 $\pm$ 0,17	46,5
Eos(%)	3,33 $\pm$ 0,33	2,25 $\pm$ 0,91	1,17 $\pm$ 0,69	1,82 $\pm$ 0,53	61,4
Neu(%)	23,50 $\pm$ 9,50	20,70 $\pm$ 1,06	30,25 $\pm$ 6,96	17,24 $\pm$ 1,92	38,5
CGE(%)*	2,67 $\pm$ 1,33 <sup>B</sup>	10,18 $\pm$ 1,21 <sup>A</sup>	5,22 $\pm$ 1,09 <sup>B</sup>	3,29 $\pm$ 0,04 <sup>B</sup>	61,5
LI(%)	1,42 $\pm$ 0,04	1,55 $\pm$ 0,85	1,32 $\pm$ 0,36	0,91 $\pm$ 0,31	62,1

Mon: Monócitos; Lin: Linfócitos; Bas: Basófilos; Eos: Eosinófilos; Neu: Neutrófilos; CGE: Célula Granulocítica Especial; LI: Leucócitos Imaturos. CV = Coeficiente de variação. \*\*Significativo pela análise de variância ( $P<0,01$ ). Médias com letras distintas em linha diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ). Médias com letras distintas na linha diferem entre si.

Para os valores absolutos dos leucócitos sanguíneos, foi observado efeito de tratamento ( $P<0,05$ ) apenas para os eosinófilos (Tabela 4). O

valor absoluto dos leucócitos totais e trombócitos não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos e em relação ao grupo controle.

**Tabela 4.** Valores absolutos (média  $\pm$  erro-padrão) dos leucócitos sanguíneos de juvenis de cachara naturalmente parasitados por *Epistylis* sp. e submetidos a banhos terapêuticos com permanganato de potássio.

Leucócitos	Concentrações de permanganato de potássio				
	Controle	1,0	2,5	4,0	CV(%)
Mon ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	1,01 $\pm$ 0,40	0,76 $\pm$ 0,37	0,17 $\pm$ 0,09	0,28 $\pm$ 0,11	96,6
Lin ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	53,20 $\pm$ 5,45	39,51 $\pm$ 7,42	36,33 $\pm$ 7,03	59,06 $\pm$ 18,88	42,2
Bas ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	0,72 $\pm$ 0,53	0,78 $\pm$ 0,15	0,47 $\pm$ 0,37	0,60 $\pm$ 0,35	77,7
Eos ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )**	3,65 $\pm$ 0,09 <sup>A</sup>	1,18 $\pm$ 0,59 <sup>B</sup>	0,57 $\pm$ 0,19 <sup>B</sup>	1,19 $\pm$ 0,35 <sup>B</sup>	85,2
Neu ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	21,20 $\pm$ 11,13	14,86 $\pm$ 3,52	22,42 $\pm$ 6,68	16,01 $\pm$ 6,18	52,7
CGE ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	2,59 $\pm$ 1,01	4,36 $\pm$ 2,23	3,24 $\pm$ 1,16	3,27 $\pm$ 1,11	65,6
LI ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	0,99 $\pm$ 0,10	0,93 $\pm$ 0,20	0,98 $\pm$ 0,27	0,64 $\pm$ 0,31	43,9
Leu ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	83,38 $\pm$ 6,75	56,04 $\pm$ 9,33	64,18 $\pm$ 13,95	81,05 $\pm$ 26,55	38,9
Trom ( $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$ )	77,47 $\pm$ 3,01	61,20 $\pm$ 11,03	62,27 $\pm$ 7,71	80,96 $\pm$ 28,14	37,17

Mon: Monócitos; Lin: Linfócitos; Bas: Basófilos; Eos: Eosinófilos; Neu: Neutrófilos; CGE: Célula Granulocítica Especial; LI: Leucócitos Imaturos; Leu: Leucócitos e Trom: Trombócitos. CV = Coeficiente de variação. \*\*Significativo pela análise de variância ( $P < 0,01$ ). Médias com letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A presença de colônias de *Epistylis* sp., predominantemente em regiões com ausência de epiderme, como observado no presente estudo, no qual o protozoário apareceu na região da cabeça dos cacharas, já foi registrada em diversos trabalhos (HUBERT e WARNER, 1975; ESCH *et al.*, 1976; ABO-ESA, 2008).

ESCH *et al.* (1976) observaram que as colônias de *Epistylis* sp. estavam localizadas predominantemente nas nadadeiras dorsal e anal em “bluegill”, *Lepomis machochirus*, e “largemouth bass”, *Micropterus salmoides*. Em bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, e em bagre africano, *Clarias gariepinus*, HUBERT e WARNER (1975) e ABO-ESA (2008), respectivamente, observaram que as áreas de fixação das colônias de *Epistylis* sp. localizavam-se sobre o tegumento e raios das nadadeiras dorsal, peitorais, pélvicas e anal.

Os tratamentos avaliados neste trabalho, com banhos de 20 min, não afetaram a sobrevivência dos cacharas. Em contrapartida, KORI-SIAKPERE (2008) observou que o aumento na concentração do permanganato de potássio de 2,0 mg L<sup>-1</sup> para 4,0 mg L<sup>-1</sup> promove a redução da sobrevivência de 80,0% para 56,7% em bagres africanos, *C. gariepinus*, durante 96 h de exposição.

Banhos com tempos de exposição maiores do que usado no presente trabalho, sem afetar

a sobrevivência dos peixes, já foram registrados. HUBERT e WARNER (1975) não observaram mortalidade em juvenis de bagre do canal, *I. punctatus*, submetidos a banho terapêutico único com permanganato de potássio nas concentrações de 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> durante três horas. ANDRADE *et al.* (2005) verificaram que todas as larvas de lebigostas, *Poecilia reticulata*, sobreviveram após a exposição ao permanganato de potássio na concentração de 0,02 g L<sup>-1</sup> por 60 minutos.

O tempo de exposição dos peixes a produtos químicos é inversamente proporcional à concentração utilizada. Banhos terapêuticos com permanganato de potássio com concentrações de 2,0 mg L<sup>-1</sup> a 10 mg L<sup>-1</sup> devem ser feitos entre 60 e 10 min, respectivamente. Em geral, quando se utiliza altas concentrações, o período que o animal fica exposto ao produto deve ser menor (KLEIN *et al.*, 2004; CARNEIRO *et al.*, 2005).

A sobrevivência observada no presente estudo difere de outros trabalhos, possivelmente, devido à tolerância particular de cada espécie de peixe quando submetida a determinado produto, em função da concentração e tempo de exposição. Entretanto, a elevada probabilidade de sobrevivência observada para os cacharas, indica a menor sensibilidade desses peixes à toxicidade do permanganato de potássio nas concentrações e tempo de exposição utilizados.

Os resultados encontrados para cachara, em relação à eliminação dos parasitos, contradizem os achados de HUBERT e WARNER (1975), visto que estes autores observaram que as concentrações de 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de KMnO<sub>4</sub> não eliminaram as colônias de *Epistylis* sp. em juvenis de *I. punctatus*. Entretanto, os peixes do trabalho supracitado foram submetidos a banho terapêutico único. Embora o tempo de exposição dos peixes ao produto tenha sido de 180 min, cerca de nove vezes superior ao utilizado no presente estudo, este não foi capaz de eliminar os protozoários. Neste sentido, acredita-se que a forma de administração do agente terapêutico tenha influencia no sucesso do tratamento.

O controle de parasitos utilizando banhos terapêuticos em intervalos de 48 h é a mais adequada e indicada para as fases de larvicultura e alevinagem, devido à menor dimensão dos tanques de cultivo e também por ser a fase em que os animais estão mais susceptíveis as parasitoses e outras doenças (KLEIN *et al.*, 2004; CARNEIRO *et al.*, 2005; FUJIMOTO *et al.*, 2006).

KLEIN *et al.* (2004) e CARNEIRO *et al.* (2005), respectivamente, evidenciaram a eficácia de 1,30 mg L<sup>-1</sup> e de 10 mgL<sup>-1</sup> de KMnO<sub>4</sub>, sob a forma de banhos terapêuticos intercalados a cada 48 h no controle de *I. multifiliis* em jundiá, *Rhamdia quelen*, por 60 min, e em surubim do Iguaçu, *Steindachneridion* sp., por 10 min.

No controle de moluscos, a eficácia desse produto já foi comprovada. Para o controle de juvenis do caramujo asiático, *Corbicula fluminea*, CAMERON *et al.* (1989) consideraram eficazes as concentrações que variaram de 1,1 mg L<sup>-1</sup> a 4,8 mg L<sup>-1</sup> de KMnO<sub>4</sub>. Para o controle de adultos de mexilhão zebra, *Dreissena polymorpha*, KLERKS e FRALEIGH (1991) reportaram a eficácia em concentrações que variam de 0,5 mg L<sup>-1</sup> a 2,5 mg L<sup>-1</sup>.

Estudos demonstram que a exposição dos peixes a produtos tóxicos pode promover alterações nos parâmetros hematológicos, como eritrograma e valores dos leucócitos sanguíneos, conforme o relatado por DARWISH *et al.* (2002) em *I. punctatus* e por FRANÇA (2009) em juvenis de tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus*, após exposição ao permanganato de potássio, supostamente devido ao efeito estressor do quimioterápico sobre o organismo animal.

Contudo, neste trabalho, foram observadas apenas alterações no percentual de CGE e valores absolutos de eosinófilos.

O aumento de CGE geralmente está relacionado à ocorrência de parasitoses (TAVARES-DIAS *et al.*, 1999). Em pacus, *Piaractus mesopotamicus* parasitados por *Argulus* sp. e submetidos a tratamento com organofosforado, TAVARES-DIAS *et al.* (1999) observaram aumento dessa célula. Aumento deste granulócito também foi relatado por TAVARES-DIAS *et al.* (2002) em pacus expostos à concentração de 0,50 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de cobre cerca de 15 dias após a exposição ao produto.

O menor valor absoluto de eosinófilos nos cacharas submetidos aos banhos é visto pela primeira vez em peixes tratados com produto químico. Não se sabe ao certo a função dessas células no sistema imune dos peixes, entretanto, existem evidências que estejam relacionados aos mecanismos de defesa contra parasitos (ALEXANDRINO *et al.*, 1995; RANZANI-PAIVA *et al.*, 1987; 1988/1999; MARTINS *et al.*, 2004; DEL RIO-ZARAGOZA *et al.*, 2010). Portanto, o menor número de eosinófilos observados nos peixes tratados pode ser devido à menor carga parasitária observada nestes quando comparados aos peixes do grupo controle. FRANÇA (2009) não observou a ocorrência de eosinófilos em tilápias do nilo, *O. niloticus*, expostas as concentrações de 1,0 mg L<sup>-1</sup> e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de KMnO<sub>4</sub>, o que reforça a suposição de que a alteração nos valores dessas células não esteja diretamente relacionada aos tratamentos, mas sim com a redução da carga parasitária proporcionada por estes.

Como agente terapêutico para a aquicultura, ainda são poucos os trabalhos que apresentam resultados satisfatórios utilizando o permanganato de potássio no controle de protozoários ciliados. Porém, os resultados do presente estudo demonstram que o mesmo é um produto promissor no controle de *Epistylis* sp. em juvenis de cachara. Nas condições testadas, demonstrou baixa toxicidade, proporcionando, após os banhos, taxa de sobrevivência dos peixes e baixa prevalência do parasito, satisfatórias, além de não ocasionar alteração nos parâmetros hematológicos da série eritrocitária.

## CONCLUSÃO

O permanganato de potássio na concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> foi eficaz no controle de *Epistylis* sp. em juvenis de cachara, *P. reticulatum*, naturalmente parasitados e submetidos a três banhos com duração de 20 min em intervalos de 48 horas. O permanganato de potássio não teve efeito sobre a série eritrocitária e leucocitária, já que o aumento das CGE e a diminuição de eosinófilos estão, provavelmente, relacionados com a carga parasitária.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Científico Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Proc. nº 479303/2010-0) e ao Macroprograma Aquabrazil/Embrapa pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- ABO-ESA, J.F.K. 2008 Study on some ectoparasitic diseases of catfish, *Clarias gariepinus* with their control by ginger, *Zingiber officiale*. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 1: 1-9.
- ADHIKARI, S.; SARKAR, B.; CHATTERJEE, A.; MAHAPATRA, C.T.; AYYAPPAN, S. 2004 Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58: 220-226.
- ALEXANDRINO, A.C.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; ISHIKAWA, C.M.; ARANA, S.; MANDELLI-JÚNIOR, J.; EIRAS, A.C. 1995 Infestação aguda por *Henneguya* sp. (Protozoa, Myxosporea) e por *Dactylogyridae* (Platyhelminthes, Monogenea) em pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Osteichthyes, Characidae). *Boletim do Instituto de Pesca*, 22(2): 115-119.
- ANDRADE, R.L.B.; ANDRADE, L.S.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. 2005 Comportamento, sobrevivência e desenvolvimento de lebetes, *Poecilia reticulata*, submetidos a agentes utilizados na profilaxia de doenças. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 27: 523-528.
- BUSH, A.O.; LAFFERTY, K.D. LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. 1997 Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4): 575-583.
- CAMERON, G.N.; SYMONS, J.M.; SPENCER, S.R.; MA, J.Y. 1989 Minimizing THM formation during control of the asiatic alga: A comparison of biocides. *Journal American Water Works Association*, 81(10): 53-62.
- CARNEIRO, P.C.F.; SCHORER, M.; MIKOS, J.D. 2005 Tratamentos terapêuticos convencionais no controle do ectoparasita *Ichthyophthirius multifiliis* em Jundiá (*Rhamdia quelen*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(1): 99-102.
- COLLIER, H.B. 1944 The standardizations of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 50: 550-552.
- DARWISH, A.M.; GRIFFIN, B. R.; STRAUS, D.L.; MITCHELL, A.J. 2002 Histological and hematological evaluation of potassium permanganate exposure in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 14: 134-144.
- DEL RIO-ZARAGOZA, O.B.; FAJER-AVILA, E.J.; N-RUEDA, P.A. 2010 Haematological and gill responses to an experimental infection of dactylogyrid monogeneans on the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture Research*, 42(1): 1-10.
- ESCH, G.W.; HAZEN, T.C.; DIMOCK JUNIOR, R.V.; GIBBONS, J.W. 1976 Thermal effluent and the epizootiology of the ciliate *Epistylis* and the bacterium *Aeromonas* in association with centrarchid fish. *Transactions of the American Microscopical Society*, 95: 687-693.
- FRANÇA, J.G. 2009 *Toxicidade aguda e crônica do permanganato de potássio em Oreochromis niloticus, Ceriodaphnia dubia e Pseudokirchneriella subcapitata*. Jaboticabal. 96p. (Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"). Disponível em: <www.caunesp.unesp.br>
- FUJIMOTO, R.Y.; VENDRUSCULO, L.; SCHALCH, S.H.C.; MORAES, F.R. 2006 Avaliação de três diferentes métodos para o controle de monogenéticos e *Capillaria* sp. (Nematoda: Capillariidae), parasitos de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare* Liechtenstein, 1823. *Boletim do Instituto de Pesca*, 32: 183 - 190.



- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIUS, E. 1971 Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology*, 56: 35-39.
- GRINGNARD, J.C.; MÉLARD, C.; BARAS, E.; POIRIER, A.; PHILIPPART, J.C.; BUSSERS, J.C. 1996 Occurrence and impact of *Heteropolaria* sp. (Protozoa, Ciliophora) on intensively cultured perch (*Perca fluviatilis*). *Annales Zoologici Fennici*, 33: 653-657.
- HAZEN; T.C.; RAKER, M.L.; ESCH, G.W.; FLIERMANS, C.B. 1978 Ultrastructure of red-sore lesions on Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*): association of the ciliate *Epistylis* sp. and the bacterium *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 25: 351-355.
- HUBERT, W.A. e WARNER, M.C. 1975 Control of *Epistylis* on channel catfish in raceways. *Journal of Wildlife Disease*, 11: 241-244.
- HÜSEYİN, S. e SELCUK, B. 2005 Prevalence of *Epistylis* sp. Ehrenberg, 1832 (Peritrichia, Sessilida) on the Narrow-clawed Crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1832) from Manyas Lake in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(9): 789-793.
- INOUE, L.A.K.A.; CECCARELLI, P.S.; SENHORINI, J.A. 2003 A larvicultura e a alevinagem do Pintado e do Cachara. *Panorama da Aquicultura*, 76: 15-21.
- INOUE, L.A.K.A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; ROTA, M.A.; SENHORINI, J.A. 2009 *Princípios básicos para a produção de alevinos de surubins (Pintado e Cachara)*. 1ª ed Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste. 29p.
- INTORRE, L.; MEUCCI, V.; DI BELLO, D.; MONNI, G.; SOLDANI, G.; PRETTI, C. 2007 Tolerance of benzalkonium chloride, formalina, malachite green and potassium permanganate in goldfish and zebrafish. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231: 590-595.
- ISHIKAWA, M.M.; PÁDUA, S.B.; VENTURA, A.S.; CAPECCI, R.S.; VENDRUSCOLO, A.B.; CARRIJO-MAUAD, J.R. 2011 Infestação por ictio em surubim híbrido durante a fase inicial de criação. Dourados: Embrapa Agropecuária do Oeste. Embrapa Agropecuária do Oeste: *Comunicado Técnico*, 128: 5p.
- ISHIKAWA, M.M.; PÁDUA, S.B.; VENTURA, A.S.; JERÔNIMO, G.T.; RUSSO, M.R.; CARRIJO-MAUAD; MARTINS, M.L. 2012 *Biologia e estratégias na sanidade de alevinos de bagres carnívoros*. 1ª ed. Dourados: Embrapa Agropecuária do Oeste. 47p. (Embrapa Agropecuária do Oeste: Documentos, 111).
- KLEIN, S.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R.; REIDEL, A.; SIGNOR, A.; SIGNOR, A.A. 2004 Utilização de produtos químicos no controle de *Ichthyophthirius multifiliis*, Fouquet (1876) em alevinos de surubim do Iguaçú *Steindachneridion* sp., Garavelo (1991). *Ciências Agrárias*, 25: 51-58.
- KLERKS, P.L. e FRALEIGH, P.C. 1991 Controlling adult zebra mussels with oxidants. *Journal American Water Works Association*, 83(12): 92-100.
- KORI-SIAKPERE, O. 2008 Acute toxicity of potassium permanganate to fingerlings of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *African Journal of Biotechnology*, 7: 2514-2520.
- MACCHULLOC, C.E. e SEARLE, S.R. 2001 *Generalized, linear and mixed models*. Wiley Interscience. New York.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; BOZZO, F.R.; PAIVA, A.M.F.C.; GONÇALVES, A. 2002 Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum*, 24(4): 981-985.
- MARTINS, M.L.; DIAS, M.T.; FUJIMOTO, R.Y.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D.T. 2004 Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporine* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56(5): 640-646.
- PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M.; KASAI, R.Y.D.; JERÔNIMO, G.T.; CARRIJO-MAUAD, J.R. 2012 Parasitic infestations in hybrid surubim catfish fry (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(3): 235-240.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. e SILVA-SOUZA, A.T. 2004 Hematologia de Peixes Brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.;

- LIZAMA, M.A.P. (eds.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*. São Paulo: Ed. Varela. p.89-120.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T.; ISHIKAWA, C.M.; PORTELLA, M.C.; CELIBERTO, R.J. 1987 Hematologia da carpa *Cyprinus carpio*, infestada por *Argulus* sp. e após um tratamento com fosfonato de 0,0-dimentil-oxi-2,2,2-tricloetilo (Neguvon). *Boletim do Instituto de Pesca*, 14: 83-92.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SALLES, F.A.; EIRAS, J.C.; EIRAS, A.C.; ISHIKAWA, C.M.; ALEXANDRINO, A.C. 1998/1999 Análises hematológicas de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, Estado de São Paulo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 25: 77-83.
- TAVARES-DIAS, M. e MORAES, F.R. 2003 Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "Pesque-Pague" de Franca, São Paulo, Brasil. *Bioscience Journal*, 19: 103-110.
- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; KRONCA, S.N. 1999 Evaluation of the haematological parameters in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) with *Argulus* sp. (Crustacea, Branchiura) infestation and treatment with organophosphate. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16: 553-555.
- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; SCHALCH, S. H.C.; ONAKA, E.M.; QUINTANA, C.I.F.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. 2002 Alterações hematológicas e histopatológicas em pacu, *Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) tratado com sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>). *Acta Scientiarum*, 24: 547-554.
- WINTROBE, M.M. 1934 Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, 51: 32-49.