

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Kamila Oliveira dos Santos**

**Eficácia de antiparasitários combinados à lecitina de soja em tainha (*Mugil liza*), no  
controle de parasitos metazoários**

Rio Grande - RS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Eficácia de antiparasitários combinados à lecitina de soja em tainha (*Mugil liza*), no controle de parasitos metazoários**

**Kamila Oliveira dos Santos**

**Orientador:** Prof. Dr. Joaber Pereira Júnior

**Co-orientador:** Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande

Rio Grande - RS

Abril/2014

## **Ata de aprovação**

## **Ficha catalográfica**

## Sumário

Ata de aprovação .....	i
Ficha catalográfica.....	ii
Lista de Figuras .....	vi
Lista de Tabelas .....	vii
Dedico.....	x
Agradecimentos .....	xi
Resumo Geral .....	xii
Abstract Geral.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL .....	xiv
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>27</b>
Resumo .....	28
Abstract.....	29
1. Introdução .....	30
2. Material e Métodos .....	32
2.1. Coletas dos peixes.....	32
2.2. Local do experimento e aclimação dos peixes.....	32
2.3. Análise parasitológica prévia.....	33
2.4. Delineamento experimental .....	33
2.5. Análise dos parâmetros físico-químicos da água.....	35
2.6. Sobrevivência (%) .....	36

2.7. Eficácia (%).	36
2.8. Análises estatísticas	36
3. Resultados	36
4. Discussão	44
5. Conclusão	53
Referências	53
<b>CAPÍTULO II</b>	<b>62</b>
Resumo	63
Abstract	64
1. INTRODUÇÃO	65
2. MATERIAL E MÉTODOS	66
3. RESULTADOS	68
4. DISCUSSÃO	71
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
Conclusões Gerais	81
Sugestões	82

## Lista de Figuras

### Capítulo I

**Figura 1** (1) *Ligophorus uruguayense* e (2) *Solostamenides platyorchinas* brânquias de *Mugil liza*.....37

**Figura 2** Sobrevivência de tainha (*Mugil liza*) após banhos terapêuticos de curta (30 minutos) e longa (24 horas) duração em diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ) combinado à LS (2,0 mg/L).....40

### Capítulo II

**Figura 1** Sobrevivência de tainha, *M. liza*, após banhos terapêuticos de longa duração (24 horas) em diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ), associado a lecitina de soja.....69

## Lista de Tabelas

### Capítulo I

<b>Tabela 1</b> Delineamento experimental para verificação da concentração letal média (CL <sub>50</sub> ) do PZQ em banhos com duração de 24 horas em juvenis de tainhas, <i>Mugil liza</i> .....	34
<b>Tabela 2</b> Delineamento experimental dos testes definitivos com o PZQ, em <i>Mugil liza</i> .....	35
<b>Tabela 3</b> Índices parasitológicos, (P) prevalência (%), (IMI) intensidade média de infecção/Infestação e (MA) abundância média de infecção/Infestação de juvenis de tainha <i>Mugil liza</i> , em ambiente natural, Arroio do Navio.....	37
<b>Tabela 4</b> Parâmetros da qualidade de água (médias $\pm$ DP) durante os banhos terapêuticos com juvenis de tainha, <i>Mugil liza</i> , expostas a diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ).....	38
<b>Tabela 5</b> Valores de sobrevivência juvenis de tainhas, <i>Mugil liza</i> no teste da CL <sub>50</sub> , durante 24 horas, em exposição a diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ), diluído em Álcool e combinado a lecitina de soja .....	39
<b>Tabela 6</b> Valores médios dos índices parasitológicos, (P) prevalência (%), (IMI) intensidade média de infecção/Infestação e (MA) abundância média de infecção/Infestação de juvenis de tainha, <i>Mugil liza</i> , expostos a diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ), diluído em Álcool combinado à LS através de banhos terapêuticos com duração de 30 minutos.....	41
<b>Tabela 7</b> Valores médios dos índices parasitológicos, (P) prevalência (%), (IMI) intensidade média de infecção/Infestação e (MA) abundância média de infecção/Infestação	



de juvenis de tainha, *Mugil liza*, submetidos aos banhos com Praziquantel (PZQ) diluído em Álcool e combinado à LS por de 24 horas .....42

**Tabela 8** Valores médios dos índices parasitológicos, (P) prevalência (%), (IMI) intensidade média de infecção/Infestação e (MA) abundância média de infecção/Infestação de juvenis de tainha (*Mugil liza*), expostos a diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ) em água e LS através de banhos terapêuticos com duração de 24 horas.....43

**Tabela 9** Eficácia (%) de diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ), combinado a LS (2,0 mg/L) em banhos terapêuticos de curta e longa duração (30 minutos e 24 horas, respectivamente) contra (*Ligophorus uruguayense* e *Solostamenides platyorchis*) e digenéticos. ....44

**Tabela 10** Valores de CL<sub>50-24h</sub> para o uso de Praziquantel (PZQ) em diferentes espécies de peixes.....46

**Tabela 11** Valores de eficácia do PZQ em diferente espécie parasitos.....50

## Capítulo II

**Tabela 1** Parâmetros da qualidade de água (médias ± desvio Padrão) de Juvenis de tainha (*Mugil liza*), expostos a diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ) combinado a lecitina de soja através de banhos terapêuticos com duração de 24 hora.....68

**Tabela 2** Valores de sobrevivência juvenis de tainhas no teste da CL<sub>50</sub>, durante 24 horas, em exposição a diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ), combinado à lecitina de soja.....69

**Tabela 3** Índices Parasitológicos de Juvenis de tainha, *Mugil liza*, expostos a diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ) combinado a lecitina de soja através de banhos terapêuticos com duração de 24 hora.....70

**Tabela 4** Eficácia (%) de diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ), combinado a lecitina de soja (2,0 mg/L) em banhos terapêuticos de 24 horas contra monogenéticos (*Ligophorus uruguayense* e *Solostamenides platyorchis*) .....71

## **Dedicatória**

A Deus, senhor e princípio fundamental da minha vida

A minha família: Oliveira e Santos

A vocês o meu eterno amor e admiração

Ao meu noivo Everaldo Souza

Pelo amor, apoio e compreensão durante mais um passo da minha vida

A minha amiga Fabíola Barão

Pela amizade incondicional

## **Agradecimentos**

A Deus por me ajudar em meus momentos de desafios durante o mestrado. Por está ao meu lado quando o caminho se parecia demasiadamente difícil.

A minha família. Ao meu pai Airton e minha mãe Nacirema, meu porto seguro. Meus irmãos Joscirley e Jônatas, cunhada Sueidy e sobrinhas Emily e Lilian pelo constante incentivo, apoio e amor entre família, obrigado.

Ao Everaldo Souza, meu amigo, noivo. Pela companhia, cumplicidade e amor.

Aos meus primos Nayara Pinto e Paulo Santos, pela acolhida e suporte em Rio Grande. A Dalva e Maine Menna, Taisson Furtado, Mayra Za, Mariana Lamperti, Sandro Troian Deise Wolfart, Stephanie Stofel, Maria Silveira e família, Eloá e Paulo Abreu, aos Jovens Adventistas. Aos colegas de curso. A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste sonho, que proporcionaram boa convivência e dias melhores.

Ao Meu orientador Joaber Pereira Junior e ao professor Dr. Rogério Tubino Vianna, pelas importantes contribuições em minha formação e principalmente pela paciência.

Ao prof. Dr. Marco Vinicius Chaud da Universidade de Sorocaba/SP, pela doação do Praziquantel. Obrigada pela atenção, gentileza e simpatia durante todo o processo.

A mestra Patrícia Maciel (Pesquisadora Científico/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) pela importante contribuição em meu trabalho.

Aos Amigos do LABIPOA-FURG pela convivência pacífica e pelas trocas que tivemos ao longo de dois anos. Ao Francis Almeida pela ajuda nas coletas. A Yorleis Navaro, a Jaqueline e ao Mario, ao Renatinho (Dr. Renato Zacarias), ao Marcelo Bruno e a Amanda.

Ao Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos, pelas análises histopatológicas. A Marta Klosterhoff pela ajuda com as técnicas histológicas.

Ao curso de pós graduação em Aquicultura, por possibilitar essa interação de estudantes de outros estados do Brasil. Aos Professores, técnicos e servidores em geral por serem sempre dispostos a nos atender e ajudar sempre que possível.

A fundação de Amparo a Pesquisa do Amazonas – FAPEAM, por fomentar minha bolsa e conceder todo o apoio financeiro para me manter em Rio Grande.

Aos órgãos da FURG que concederão fundos para a execução do projeto.

## Resumo Geral

A tainha, *Mugil liza* esta inserida entre as espécies com potencial de crescimento e de mercado na piscicultura marinha brasileira. Contudo, dificuldades são encontradas no sentido de prevenir e tratar doenças presentes nos animais em sistema de criação. A utilização de quimioterápicos tem sido uma prática comum para o controle de enfermidades nas pisciculturas e pode ser viável quando a dosagem e o tempo de exposição correto do medicamento forem usados. No controle terapêutico de enfermidades parasitárias os banhos de curta e longa duração tem sido uma prática comum. No entanto, em tratamentos via banhos com fármacos de baixa solubilidade em água é de difícil aplicação. O praziquantel (PZQ) e o mebendazol (MBZ) são fármacos indicados no controle de doenças parasitárias na medicina humana e veterinária. Em peixes a eficiência destes fármacos tem sido reportada através de diferentes espécies e métodos de aplicação. No entanto devido à baixa solubilidade em água, a aplicação destes fármacos em forma de banhos é dificultada. A lecitina é um fosfolipídio extraído da gema do ovo ou da soja e seu principal componente é a fosfatidilcolina, podendo agir de diversas maneiras, como dispersantes, estabilizantes, solubilizantes das formas farmacêuticas. A lecitina de soja é considerada um bom veículo para fármacos lipofílicos, sendo um dispersante da forma sólida na líquida. Sendo assim o objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do PZQ e do MBZ combinado à lecitina de soja (LS). Para isso os peixes foram coletados no arroio do navio (32° 29' 48" S; 52° 26' 74" O) e mantidos no Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos. Foi realizado o teste da concentração média letal (CL<sub>50</sub>-24 h), verificada a taxa de sobrevivência, o percentual de eficácia e monitorado os parâmetros de qualidade da água. Foram realizadas necropsias de 40 peixes para determinação da presença de parasitos e seus índices parasitológicos. O teste da CL<sub>50</sub>-24 h referente ao PZQ e MBZ combinado a LS, foi realizado nas seguintes concentrações: Controle, LSA, 0,5; 1,5; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 mg/L e controle, LS, 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 12,0 mg/L, respectivamente, 30 peixes por concentração. Foram realizados três experimentos de eficácia com o PZQ: controle, LSA, 0,5; 1,5; 2,0 mg/L banhos de 30 minutos e 24 horas, respectivamente. As mesmas concentrações também foram testadas em banhos de 24 horas sem a presença de álcool na diluição do PZQ. O teste definitivo com o MBZ constituiu de três concentrações 4,0; 8,0; 12,0 mg/L, controle zero e o grupo controle com LS (2,0 mg/L). Todos os experimentos foram inteiramente casualizados e em

três repetições simultâneas. As análises dos dados parasitológicos foram feitas no programa Quantitative Parasitology, as demais análises estatística consistiram na realização de análises de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, com programa estatístico sigmaStat 3.5 a 5% de probabilidade. Nas brânquias de juvenis de tainhas houve ocorrência de *Ligophorus uruguayense* e *Solostamenides platyorchis* e digenéticos com prevalência de 42,5%; 30% e 20%, intensidade média de infecção/Infestação (3,5; 2,0 e 2,3), abundância média de infecção/Infestação (1,5; 0,6 e 0,45), respectivamente. Não foi possível determinar a  $CL_{50-24\ h}$  para ambos os fármacos. Os parâmetros de qualidade de água não apresentaram diferença estatística. A taxa de sobrevivência foi superior a 90% em 30 minutos e 24 horas de banhos com o PZQ e superior a 80% em banhos com o MBZ. Não houve eficácia do PZQ após 30 minutos de banho para *L. uruguayense*, mas foi eficaz com percentual acima de 70% em 0,5; 1,5; 2,0 mg/L contra *S. platyorchis*, contra digenéticos 0,5 mg/L foi efetivo em 83,3%. Após 24 horas de banho com o PZQ diluído em álcool e combinado a LS 2,0 mg/L foi efetivo contra *L. uruguayense*. Após 24 horas de banho com PZQ e LS sem álcool houve eficácia para *L. uruguayense* de 59% e 76,7% em 1,5 e 2,0 mg/L, respectivamente. O MBZ foi eficaz 74,5% em 4,0 mg/L contra *L. uruguayense* e 100% em todas concentrações contra *S. platyorchis* e digenéticos.

## Abstract Geral

The mullet, *Mugil liza* is inserted between species with potential for growth and market share in the Brazilian marine fish farming. However, difficulties are encountered in preventing and treating disease in the animals in the breeding system. The use of chemotherapy has been a common practice for the control of diseases in fish farms and can be viable when the correct dosage and duration of exposure of the drug are used. In therapeutic control of parasitic diseases baths short and long term has been a common practice. However, in the baths via treatment with drugs of low water solubility is difficult to apply. Praziquantel (PZQ) and mebendazole (MBZ) are indicated drugs in the control of parasitic diseases in human and veterinary medicine. In fish the efficiency of these drugs has been reported by various species and methods of application. However, due to low water solubility, the application of these drugs in the form of baths is difficult. Lecithin is a phospholipid extracted from egg yolk or soybeans and their main component is phosphatidylcholine, which may act in several ways, such as dispersants, stabilizers, solubilizers of dosage forms. Soy lecithin is considered a good vehicle for lipophilic drugs, being a solid dispersant in the liquid. Therefore the aim of this study was to determine the efficacy of PZQ and MBZ combined with soy lecithin (SL). For this fish were collected in the stream of the vessel (32° 29' 48" S, 52° 26' 74" W) and maintained in the Laboratory of Biology of Parasites of Aquatic Organisms. Testing the median lethal concentration (LC50-24 h), the survival rate checked the percentage of efficacy was conducted and monitored parameters of water quality. Autopsies of 40 fish for the presence of parasites and their parasitological indices were performed. The test of LC50-24 h referring to PZQ and MBZ combined SL was performed at the following concentrations: Control, LSA, 0.5; 1.5; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0 mg/L and control, LS, 0.5; 1.0; 2.0; 3.0; 5.0; 7.0; 9.0; 12.0 mg/L, respectively 30 fish per concentration. Three experiments with PZQ efficacy were performed: control, LSA, 0.5; 1.5; 2.0 mg/L baths, 30 minutes and 24 hours, respectively. The same concentrations were also tested in baths of 24 hours without the presence of alcohol in the dilution PZQ. The ultimate test with MBZ consisted of three concentrations 4.0; 8.0; 12.0 mg/L, zero control and the control group with LS

(2.0 mg/L). All experiments were randomized and three simultaneous replicates. The analysis of parasitological data were made in Quantitative Parasitology program, other statistical analysis consisted in performing analyzes of variance (ANOVA) followed by Tukey test, with statistical program SigmaStat 3.5 to 5 % probability. In the gills of juvenile mullet was no occurrence of *Ligophorus uruguayense* and *Solostamenides platyorchis* and digeneans with a prevalence of 42.5%; 30% and 20% , mean intensity of infection/infestation (3.5, 2.0 and 2.3), mean abundance of infection/infestation (1.5, 0.6 and 0.45), respectively. Unable to determine the LC50-24 h for both drugs. The water quality parameters showed no statistical difference. The survival rate was higher than 90 % in 30 minutes and 24 hours PZQ baths and more than 80 % by bathing the MBZ. There was no efficacy of PZQ after 30 minutes of bathroom *L. uruguayense* but was effective with percentage above 70 % in 0.5; 1.5; 2.0 mg/L against *S. platyorchis* against Digenetic 0.5 mg/L was effective in 83.3%. After 24 hours in the bathroom with PZQ diluted in alcohol and combined with LS 2.0 mg/L was effective against *L. uruguayense*. After 24 hours bath with PZQ and LS without alcohol for *L. uruguayense* efficacy was 59% and 76.7% at 1.5 and 2.0 mg/L, respectively. The MBZ were effective in 74.5% 4.0 mg/L to *L. uruguayense* and 100% at all concentrations against *S. platyorchis* and Digenetic.



## INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é praticada em âmbito mundial com vistas à produção de alimentos, sendo o pescado o seu produto principal, em suas diferentes ramificações (Camargo & Pouey 2005, Ostrensky *et al.* 2008, Gjedrem *et al.* 2012). O crescimento da produção aquícola no Brasil ocorre gradualmente. Dados mostram que em 2010 a produção atingiu 479.398 t, sendo a aquicultura marinha responsável por 85.057 t; um incremento na produção de 6,7% no ano (MAPA 2010). A aquicultura marinha se destaca, sobretudo, na produção de crustáceos, porém espécies de peixes marinhos são cogitadas para entrar no cenário produtivo da aquicultura. Como exemplos se destacam o robalo-peva (*Centroponus parallelus*), o peixe-rei marinho (*Odontesthes argentinensis*), linguado (*Paralichthys orbignyanus*) e tainhas (*Mugil spp.*) (Tsuzuki 2006, MAPA 2010).

Dentre as espécies marinhas de *Mugil* com potencial de crescimento e de mercado na piscicultura marinha brasileira está a tainha, *Mugil liza* (Mugilidae). E apesar de um baixo valor de mercado nacional, destaca-se por possuir importância econômica no mercado internacional (Tsuzuki 2006, Saleh 2008, FAO 2012). A criação das tainhas se dá em diversos países do mundo, com destaque para *Mugil cephalus*, sua produção mundial em 2010 foi superior a 260 milhões de toneladas. O Egito é atualmente o maior produtor, outros países produtores são a Coreia, Itália, China, Taiwan e Israel (FAO, 2012). Toda a produção de tainhas é consumida nos próprios países produtores (Saleh, 2008; FAO, 2012).

Embora o potencial da aquicultura seja eminente no Brasil e em diversos países do mundo, o sucesso nesta atividade é limitado pelo surgimento e disseminação de patologias associadas a parasitoses (Boeger e Vianna 2006). Surtos epizooticos são comuns e podem provocar altas taxas de mortalidade, gerando significativas perdas econômicas (Pavanelli *et al.* 2002, Lester *et al.* 2009).

Diante desses desafios vários esforços são realizados a fim de minimizar os impactos e melhorar o sucesso produtivo. As boas práticas de manejo são as principais ferramentas aplicáveis na produção como medida preventiva (Pavanelli *et al.* 2002, Schalch *et al.* 2009). Porém, o difícil controle das condições de cultivo torna necessárias medidas emergentes, como o uso de químicos para o tratamento de enfermidades ou mesmo como medida profilática (Moraes & Martins 2004, Fugimoto *et al.* 2006, Schalch *et al.* 2009). Deve ser considerada a preocupação quanto ao uso de produtos químicos na aquicultura, incluindo a possibilidade dos efeitos adversos ao ambiente (Burka *et al.* 1997).

Além disso, a utilização indiscriminada de quimioterápicos na piscicultura pode trazer danos aos peixes, resistência a quimioterápicos e ocasionar prejuízos ao produtor (Burka *et al.* 1997, Pavanelli *et al.* 2002).

Diferentes tipos de quimioterápicos para o combate a parasitoses têm sido testados e sua eficiência comparada, entre os mais citados na literatura destacam-se a formalina (Fajer-Ávila *et al.* 2003, Pahor-Filho *et al.* 2012), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Bravo *et al.* 2010), diflubenzuron, praziquantel, levamisol (Schalch *et al.* 2009), Schmahl & Benini (1997), estudaram os derivados de Benzimidazol (Albendazol, Fenbendazol, Bebandazol), Benzoato de Emamectina (Duston & Cusack 2002, Bravo *et al.* 2008).

Dentre os fármacos com ação antiparasitária conhecidos na medicina humana e veterinária o Mebendazol (MBZ) C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> e o Praziquantel (PZQ) C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> são vermífugos com ação efetiva sobre vários grupos de parasitos como os cestóides, trematódeos e nematódeos (Mehlhorn 2001, Cioli & Pica-Mattoccia 2003).

O mebendazol pertence ao grupo dos benzimidazóis e atua inibindo a polimerização da tubulina após ligar-se com a β-tubulina (Liu & Weller 1996). O uso de benzimidazóis em criação de peixes já foi reportado em diversos países, em cultivos das principais espécies de peixes comerciais, como enguias, *Anguilla anguilla* (Buchmann e Bjerregaard 1990<sub>a</sub>, Buchmann e Bjerregaard 1990<sub>b</sub>), salmão (Burka *et al.* 1997), e pargo, *Pagrus pagrus* (Katharios *et al.* 2006). Com maior frequência a eficiência deste anti-helmíntico é reportada para a eliminação de monogenóides (Tojo *et al.* 1992, Kim & Choi 1998)

O praziquantel (PZQ) é um fármaco amplamente usado na medicina humana indicado contra a esquistossomose, na medicina veterinária no tratamento de trematódeos e cestóides (Cioli & Pica-Mattoccia 2003) e, mais recentemente, estudos tem demonstrado efetividade do fármaco contra parasitos de peixes (Kim & Kim 2002, Sharp *et al.* 2004, Sudová *et al.* 2008).

O PZQ age alterando o equilíbrio das células transportadoras de cálcio, inibindo a bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, resultando em contração involuntária e paralisia da musculatura dos vermes. Os danos causados no tegumento pelo fármaco e as alterações nas funções musculares levam a morte do parasito (Korolkovas 2004, Cioli & Pica-Mattoccia 2003).

Na piscicultura, a eficiência do mebendazol e do praziquantel sobre o organismo do peixe tem sido estudada (Katharios *et al.* 2006, Schalch *et al.* 2009, Shirakashi *et al.* 2012). Porém devido à natureza química de ambos os fármacos como baixa solubilidade diante de

solventes como a água ou tipos de alcoóis é inerente a dificuldade de utilização em forma de banhos (Taraschewsk *et al.* 1988). Geralmente tipos de alcoóis, são usados na diluição do praziquantel, no entanto é preciso investigar se esse solvente não influencia na sua eficácia (Stephens *et al.* 2003, Mitchell 2004, Sitja-Bobadella *et al.* 2006, Mitchell & Hobbs 2007).

Nos tratamentos aplicados em forma de banhos, os produtos geralmente ficam aderidos à borda dos tanques devido à baixa afinidade com as moléculas de água, assim o fármaco não estaria inteiramente disponível na coluna da água para entrar em contato com os organismos a serem tratados (Schmahl & Benini 1997, Zagatto & Bertolotti 2006).

Os excipientes, também denominados de adjuvantes, são constituintes farmacêuticos que auxiliam na obtenção de formas medicamentosas estáveis, eficazes e atraentes (Kalinkova 1999, Pifferi *et al.* 1999, Pifferi & Restani 2003) Suas principais funções são de solubilizar, suspender, espessar, diluir, emulsificar, estabilizar, conservar, colorir, flavorizar e assim, possibilitar o sucesso da forma farmacêutica final (Kalinkova 1999, Pifferi & Restani, 2003). Tecnicamente são componentes inativos, não influenciando nos tratamentos quanto presentes em fármacos utilizados na medicina humana (Fabiano *et al.* 2011).

Um tipo comum de adjuvante são os emulsificantes, que atuam sobre a superfície do líquido, provocando a suspensão do mesmo, promovendo a interação entre as superfícies imiscíveis e reduz a tensão interfacial. Desse modo, possibilitam a formação de uma emulsão de um líquido em outro através da combinação de grupos polares com apolares (Balbani *et al.* 2006).

A lecitina, fosfatidilcolina pura, é um emulsificante que está presente na gema do ovo e também em grãos de soja. Os fosfolípidios purificados são utilizados para fins farmacêuticos sendo conhecida sua ação no processo de solubilidade de drogas pouco solúveis em água (Sznitowska *et al.* 2002).

Na aquicultura, estudos mostram que o uso de adjuvantes se faz necessário na formulação de vacinas, otimizando assim as respostas imunes dos organismos tratados (Anderson 1992, Lamas *et al.* 2008). Porém a contribuição destes constituintes para melhorar a eficácia de produtos químicos em banhos terapêuticos com a finalidade de tratar peixes infectados/infestados por parasitos é pouco estudada.

O principal benefício procurado na lecitina de soja neste trabalho será o potencial deste como dispersante da fase sólida do MBZ e PZQ na líquida (sistema de banho

terapêutico) de maneira simples, com aspecto homogêneo, sem ocorrer aglomeração dos fármacos no ambiente de tratamento. E, se possível aumentar a eficácia do fármaco.

Com base no contexto apresentado, o objetivo da presente dissertação foi avaliar a eficácia do uso do praziquantel e do mebendazol, combinado à lecitina de soja através de banhos terapêuticos na eliminação de parasitos em juvenis de tainhas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, DP. 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: Applications to aquaculture. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 2: 281-307.
- BALBANI, APS, LB STELZER & JC MONTOVANI. 2006. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. *Rev Bras Otorrinolaringol*, 72(3):400-6.
- BOEGER, WA & RT VIANNA. 2006. Monogenoidea. In: THATCHER, EV. (Ed.). Amazon Fish Parasites. Sofia-Moscow: Pensoft, p. 508.
- BRAVO, S, S SEVATDAL & TE HORSBERG. 2008. Sensitivity assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate in Chile. *Aquaculture*, 282:7-12.
- BRAVO, S, J TREASURER, M SEPULVEDA & C LAGOS. 2010. Effectiveness of hydrogen peroxide in the control of *Caligus rogercresseyi* in Chile and implications for sea louse management. *Aquaculture*, 303: 22-27.
- BUCHMANN, K & J BJERREGAARD. 1990<sub>a</sub>. Comparative efficacies of commercially available benzimidazoles against *Pseudodactylogyris* infestations in eels. *Dis. Aquat. Org. Chem*, 9: 117-120.
- BUCHMANN, K & J BJERREGAARD. 1990<sub>b</sub>. Mebendazole treatment of pseudodactylogyrosis in an intensive eel-culture system. *Aquaculture*, 86: 139-153.

- BURKA, JF, KL HAMMELL, TE HORSBERG, GR JOHNSON, DJ RAINNIE & DJ SPEARE. 1997. Drugs in salmonid aquaculture—a review. *J. Vet. Pharm. and Therap.*, 20: 333–349.
- CAMARGO, SGO & JLOF POUHEY. 2005. Aquicultura: um mercado em expansão. *R. bras. Agrociência*, 11: 393-396.
- CIOLI, D & L PICA-MATTOCCIA. 2003. Praziquantel. *Parasitol. Res.*, 90: 3-9.
- DUSTON, JE & RR CUSACK. 2002. Emamectin benzoate: an effective in-feed treatment against the gill parasite *Salmincola edwardsii*. *Aquaculture*, 207 (1–2): 1-9.
- FABIANO, V, C MAMELI & GV ZUCCOTTI. 2011. Paediatric pharmacology: Remember the excipients. *Pharmacol. Res.*, 63:362-365.
- FAJER-ÁVILA, EJ, IA PARRA, G AGUILAR-ZARATE, R CONTRERAS-ARCE, J ZALDIVAR-RAMIREZ & M BETANCOURT-LOZANO. 2003. Oxicity of formalin to bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites. *Aquaculture*, 223: 41-50.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2012. Culture Aquatic Species Information Programme. *Mugil cephalus*. Culture Aquatic Species Information Programme. Text by Saleh, M. A. In: FAO Fisheries and Aquaculture Departement [online]. Rome. Updated 7 April 2006. [Cited 21 June 2012]. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil\\_cephalus/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en). [Cited 21 June 2012]. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil\\_cephalus/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en).
- FUJIMOTO, RY, L VENDRUSCOLO, SHC SCHALCH & FR MORAES. 2006. Avaliação de três diferentes métodos para o controle de monogênicos e *Capillaria* sp. (Nematoda: Capillariidae) parasitos de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*

- Liechtenstein, 1823). *Bol. Inst. Pesca*, 32: 183-190.
- GJEDREM, T, N ROBINSON & M RYE. 2012. The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: A review. *Aquaculture*, 350–353: 117–129.
- KALINKOVA, GN. 1999. Review studies of beneficial interactions between active medicaments and excipients in pharmaceutical formulations. *Int. J. Pharm.*, 187: 1–15.
- KATHARIOS, P, N PAPANDROULAKIS & P DIVANACH. 2006. Treatment of *Microcotyle* sp. (Monogenea) on the gills of cage-cultured red porgy, *Pagrus pagrus* following baths with formalin and mebendazole. *Aquaculture*, 251: 167– 171.
- KIM KH & ES CHOI. 1998. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea) on the gills of cultured rockfish (*Sebastes schlegeli*) with oral administration of mebendazole and bithionol. *Aquaculture*, 167:115-121.
- KIM, KH & CS KIM. 2002. Cimetidine enhances the plasma praziquantel concentration and treatment efficacy against *Microcotyle sebastis* in cultured rockfish *Sebastes schlegeli*. *Dis. Aquat. Org.*, 49: 45–49.
- KOROLKOVAS, A. 2004. Dicionário terapêutico Guanabara. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- LAMAS, J, ML SANMARTÍN, AI PARAMÁ, R CASTRO, S CABALEIRO, MVR OCENDA, JL BARJA & J LEIRO. 2008. Optimization of an inactivated vaccine against a scuticociliate parasite of turbot: Effect of antigen, formalin and adjuvant concentration on antibody response and protection against the pathogen. *Aquaculture*, 278: 22-26.
- LESTER, RJG, SE RAWLINSON, LC WEAVER. 2009. Movement of sea mullet *Mugil*

- cephalus* as indicated by a parasite. *Fis. Res.*, 96: 129–132.
- LIU LX & PF WELLER. 1996. Antiparasitic Drugs. *N. Engl. J. Med.*, 334:1178-1184.
- MEHLHORN, H. 2001. Encyclopedic reference of Parasitology: Diseases, treatment and Therapy. Berlin, Heidelberg: Springer. 676 p.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). 2010. Produção Pesqueira e Aquícola: Estatísticas 2008 e 2009. Brasília, DF. 30 p.
- MITCHELL, AJ & MS HOBBS. 2007. The Acute Toxicity of Praziquantel to Grass Carp and Golden Shiners. *N. Am. J. Aquacult.*, 69: 203-206.
- MITCHELL, AJ. 2004. Effectiveness of Praziquantel Bath Treatments against *Bothriocephalus acheilognathi* in Grass Carp. Journal: *J. Aquat. Anim. Health*, 16: 130-136.
- MORAES, FR & ML MARTINS. 2004. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. CYRINO *et al.* (Ed.). São Paulo: TecArt. 343-386.
- OSTRENSKY, A, JR BORGHETTI & D SOTO. 2008. *Aqüicultura no Brasil. O desafio é crescer*. Brasília. 276 p.
- PAHOR-FILHO, E, KC MIRANDA-FILHO & J PEREIRA JR. 2012. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354–355: 111-116.
- PAVANELLI, G C; JC EIRAS & RM TAKEMOTO. 2008. Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá: Eduem, 3ª ed., 311 p.
- PAVANELLI, GC, JC EIRAS & RM TAKEMOTO. 2002. Doenças de Peixes. Profilaxia,

- Diagnóstico e Tratamento. Universidade Estadual de Maringá. 2. ed. 305 p.
- PIFFERI, G & P RESTANI. 2003. The safety of pharmaceutic excipients. *II Farmaco*, 58: 541-550.
- PIFFERI, G, P SANTORO & M PEDRANI. 1999. Quality and functionality of excipients. *II Farmaco*, 54: 1-14.
- SALEH, MA. 2008. Capture-based aquaculture of mullets in Egypt. *In* A. Lovatelli and P.F. Holthus (eds). Capture-based aquaculture. Global overview. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 508. Rome, FAO. 109–126.
- SCHALCH, SHC, M TAVARES-DIAS & ONAKA, E. M. 2009. Principais métodos terapêuticos para peixes em cultivo. *In*: TAVARES-DIAS, M. (Org). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, 22: 575-601.
- SCHMAHL, G & J BENINI. 1997. Treatment of fish parasites. 11. Effects of different benzimidazole derivatives (Albendazole, Mebendazole, Fenbendazole) on *Glugeaanomala*, Moniez, 1887 (Microsporidia): Ultrastructural aspects and efficacy studies. *Parasitol Res.*, 84:41-49.
- SHARP, NJ, BK DIGGLES, CW POORTENAAR & TJ WILLIS. 2004. Efficacy of Aquis, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture*, 236:67–83.
- SHIRAKASHI, S, M ANDREWS, Y KISHIMOTO, T OKADA & YSK OGAWA. 2012. Oral treatment of praziquantel as an effective control measure against blood fluke infection in pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*). *Aquaculture*, 326-329: 15-19.



- SITJÀ-BOBADILLA, A, CF MAGNOLIA & P ALVAREZ-PELLITERO. 2006. In vivo and in vitro treatments against *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea: Microcotylidae) parasitizing the gills of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 261: 856–864.
- STEPHENS, FJ, JJ CLEARY, G JENKINS, JB JONES, SR RAIDAL & JB THOMAS. 2003. Treatments to control *Haliotrema abaddon* in the West Australian dhufish, *Glaucosoma hebraicum*. *Aquaculture*, 215, 1–10.
- SUDOVÁ, E, V PIACKOVÁ, H KROUPOVÁ, M PIJÁČEK & Z SYOBODOVA, Z. 2009. The effect of praziquantel applied per os on selected haematological and biochemical indices in common carp *Cyprinus carpio* L.. *Fish Physiol. Biochem.*, 35: 599-605.
- SZNITOWSKA, M, EA DABROWSKA & S JANICKI. 2002. Solubilizing potential of submicron emulsions and aqueous. *Int. J. Phar.*, 246: 203-206.
- TARASCHEWSKI, H, C RENNER & H MEHLHORN. 1988. Treatment of fish parasites. 1988, *Parasitol. Res.*, 74: 281-289.
- TOJO, J, MT SANTAMARÍNA, FM UBEÍRA, J ESTEVEZ & ML SANMARTÍN. 1992. Anthelmintic activity of benzimidazoles against *Gyrodactylus* sp. infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. aquat. Org.*, 12: 185-189.
- TSUZUKI, MY. 2006. Cultivo de peixes marinhos. In: SOUZA-SILVA, A. T. (org.) Sanidade de organismos aquáticos no Brasil. Maringá: Abrapoa. 189-210.
- ZAGATTO, PA & E BERTOLETTI. 2006. Ecotoxicologia aquática- Princípios e aplicações. São Carlos: RiMa. 478 p.

## **OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficácia do praziquantel (PZQ) e do mebendazol (MBZ) combinado a lecitina de soja, administrado na forma de banho, em juvenis de tainhas, *Mugil liza*, no controle de parasitos.

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar a concentração letal pelo teste de toxicidade aguda (CL50-24h) do praziquantel (PZQ) e do mebendazol (MBZ) combinados à lecitina de soja (LS) em tainha, *Mugil liza*;

2. Avaliar a eficácia do PZQ diluído em álcool 50%, combinado a LS em banhos terapêuticos, na eliminação de parasitos de tainhas;

3. Avaliar a eficácia do PZQ, sem diluição em álcool 50%, e combinado à lecitina de soja, administrado na forma de banho na eliminação de parasitos de tainhas;

4. Avaliar eficácia do (MBZ) combinado à lecitina de soja administrado na forma de banho no controle de parasitos de tainhas.

## CAPÍTULO I

### **Eficácia do Praziquantel combinado à lecitina de soja via banho, no controle de parasitos metazoários em juvenis de tainha (*Mugil liza*)**

Kamila Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Rogério Tubino Vianna<sup>1</sup>, Joaber Pereira Jr<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos – LABIPOA – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande – ICB –FURG

<sup>2</sup> Professor no curso de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande (EMA ) FURG

**<sup>1</sup>kosengpesca@hotmail.com**

## Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do praziquantel (PZQ) combinados à lecitina de soja (LS), a fim de manter a dispersão estável e assim otimizar a ação antiparasitária desta droga no tratamento através de banhos em juvenis de tainhas *Mugil liza*. Para isso, 40 peixes foram necropsiados para análise prévia da ocorrência de parasitos e calculados os índices parasitológicos. Foram realizados, o teste de  $CL_{50-24h}$ , monitorado a sobrevivência dos peixes, os parâmetros físicos e químicos da água e determinada a eficácia. O experimento I constituiu do teste da  $CL_{50-24h}$ , como as seguintes concentrações: controle, LS, 0,5; 1,5; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 mg/L, em três repetições simultâneas, os peixes foram mantidos em 10L de água, com densidade de 10 peixes por caixa. Foram realizados três experimentos (II, III e IV) de eficácia com o PZQ. Os experimentos II e III foram testados as seguintes concentrações: controle, LSA, 0,5; 1,5; 2,0 mg/L durante 30 minutos e 24 horas, respectivamente, distribuídos em 15 tanques com volume de água de 10,2 L. A densidade foi de 35 peixes/tanque ( $0,7 \text{ g/peixe.L}^{-1}$ ). O experimento IV testou as seguintes concentrações: controle, LS, 0,5; 1,5; 2,0 mg/L, sem a presença do álcool, durante 24 horas de banho. A distribuição dos peixes foi inteiramente casualizada. O tamanho médio e peso médio dos peixes foram  $2,47 \pm 0,27$  (cm) e  $0,25 \pm 0,10$  (g), respectivamente. Houve ocorrência dos monogonoidea *Ligophorus uruguayense*, *Solostamenides platyorchis* e digenéticos não identificados no intestino delgado. Não foi possível determinar a concentração letal média. A taxa de sobrevivência dos peixes foi de 98,1% (grupo controle), 96,2% (LSA), 94,2% (1,5 mg/L) e 100% (0,5 e 2,0 mg/L) após 30 minutos de exposição e eficiência para *S. platyorchis* de 85,7% (0,5 mg/L) e 71,4% (1,5 mg/L), em 0,5 mg/L foi eficaz 83,3% contra digenéticos. Após 24 horas de banhos com o PZQ diluído em álcool e combinado a LS houve sobrevivência dos peixes superior a 50% em todas as concentrações e eficácia de 70,4% em 2,0 mg/L contra *L. uruguayense*. No experimento IV, com PZQ combinado a LS, sem a presença de álcool a sobrevivência dos peixes foi igual ou superior a 90% em todos os grupos e a eficácia para *L. uruguayense* foi 59,0% (1,5 mg/L) e 76,7% (2,0 mg/L). Esses resultados mostram que, banhos com o PZQ e LS durante 24 horas são mais eficazes na remoção de *L. uruguayense*, que independentemente do tratamento utilizado e do tempo de exposição *S. platyorchis* e digenéticos foram mais suscetíveis a ação do PZQ.

**Palavras chaves:** Eficácia, banhos, praziquantel, lecitina de soja.

## Abstract

The aim of this study was to determine the efficacy of praziquantel (PZQ) combined with soy lecithin (SL) in order to maintain stable dispersion and thus optimize antiparasitic action of this drug in treatment by baths in juvenile mullet *Mugil liza*. Therefore, 40 fish were necropsied to examine prior to the occurrence of parasites and parasitological indices calculated. The test LC50-24 h, monitored fish survival, physical and chemical parameters of water and given the effectiveness were performed. The first experiment consisted of test LC50 -24h, as the following concentrations: control, SL , 0.5; 1.5; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0 mg/L in three simultaneous repetition, the fish were kept in 10L of water, with a density of 10 fish per box. Three experiments (II, III and IV) with PZQ efficacy were conducted. Experiments II and III the following concentrations were tested: control, SLA , 0.5; 1.5; 2.0 mg/L for 30 minutes and 24 hours, respectively, over 15 tanks of water to 10.2 L. The density of 35 fish/tank (0.7 g/peixe.L<sup>-1</sup>). Experiment IV tested the following concentrations: control, SL, 0.5; 1.5; 2.0 mg/L, without the presence of alcohol bath for 24 hours. The distribution of fish off completely randomized. The average size and average weight of the fish were  $2.47 \pm 0.27$  (cm) and  $0.25 \pm 0.10$  (g), respectively. Was no occurrence of Monogenoidea *Ligophorus uruguayense*, *Solostamenides platyorchis* and unidentified digeneans in the small intestine. Unable to determine the median lethal concentration. The survival rate of the fish was 98.1% (control group), 96.2 % (LSA), 94.2 % (1.5 mg/L) and 100% (0.5 and 2.0 mg/L) after 30 minutes exposure and *S. platyorchis* efficiency of 85.7 % (0.5 mg / L) and 71.4% (1.5 mg/L), 0.5 mg/L was effective 83.3% against digeneans . After 24 hours of bathing PZQ diluted in ethanol and combined there SL survival of fish greater than 50% at all concentrations and efficacy of 70.4% at 2.0 mg/L to *L. uruguayense*. In experiment IV PZQ combined with SL without the presence of alcohol fish survival was less than 90% in all groups for efficacy and *L. uruguayense* was 59.0 % (1.5 mg/L) 76.7% (2.0 mg/L). These results show that baths with PZQ LS for 24 hours and are more effective in removing *L. uruguayense* that regardless of the treatment used and the exposure time *S. platyorchis* and digeneans were more susceptible to the action of PZQ.

**Key words:** Effectiveness, baths, praziquantel, soy lecithin.

## 1. Introdução

Segundo os dados do Ministério de Pesca e Aquicultura do governo do Brasil (MPA, 2010) espécies de *Mugil* estão entre os peixes marinhos mais capturados no Brasil em 2010. A produção total oriunda da pesca extrativa neste período foi de aproximadamente 18.000 toneladas (MPA, 2010).

Em termos de aquicultura a tainha não tem uma produção estatística representativa no país. Mas há esforços para desenvolver a sua criação no Brasil (Tsuzuki, 2006; Otsubo, 2010). Algumas experiências com cultivo experimental de tainhas no Brasil mostram que esta é uma espécie passível de criação em sistema de policultivo, além de resistente a alguns desafios de confinamento, como tolerância a níveis variáveis de salinidade e temperatura, atualmente já é possível obter alevinos de tainha através da inseminação artificial, além de se desenvolver estudos sobre criopreservação dos sêmens da espécie (Silva, 1975; Nomura, 1980; Tsuzuki, 2006; Otsubo, 2010).

Esses fatores corroboram para o desenvolvimento de técnicas de produção e para o desenvolvimento de um pacote tecnológico para o cultivo da tainha.

Apesar de todos os avanços, ainda existem entraves que têm dificultado a criação de espécies de peixes marinhos em cativeiro como, por exemplo, a falta de oferta de alevinos durante todo o ano, sobrevivência, crescimento, custo de produção de alevinos e variabilidade genética (Planas e Cunhas, 1999; Liao *et al.* 2001). Outro problema enfrentado pelos produtores são as parasitoses causadas por organismos de diversos grupos (Fonsêca *et al.*, 2000; Lester *et al.*, 2009; FAO, 2012; Führ, 2012; Pahor-Filho *et al.*, 2012).

Com a intensificação da produção aquícola, um dos principais problemas inseridos no cenário produtivo é o acometimento dos peixes por parasitoses (Fonsêca *et al.*, 2000; Lester *et al.*, 2009; FAO, 2012). Os sistemas com altas densidades de estocagem tendem a tornarem-se ambientes favoráveis para a ocorrência de surtos epizoóticos. Nestes ambientes, muitas vezes os peixes são submetidos a condições adversas com a redução extrema nos níveis de oxigênio dissolvido, aumento dos metabólitos tóxicos como o gás carbônico (CO<sub>2</sub>), a amônia (NH<sub>3</sub>), o nitrito (NO<sub>2</sub>), alterações bruscas de pH, excesso de material orgânico e o uso de produtos químicos (Paperna, 1991; Thoney e Hargis, 1991; Kubitza e Kubitza, 1999; Pavanelli *et al.*, 2002).

Estes fatores agem como estressores e, nessas condições os patógenos que ocorrem naturalmente nos peixes podem constituir-se em grave ameaça ao sucesso da produção.

Isso porque muitas práticas de manejo realizadas nos sistemas de confinamento de forma inadequada podem desencadear alterações do equilíbrio orgânico que colocam em risco a saúde dos peixes (Pavanelli et al., 2002; Katharios et al., 2006; Huston et al., 2007; Schalch et al., 2009; Onaka, 2009). Alterações no manejo podem minimizar os efeitos da ação dos parasitos no hospedeiro (Roberts e Powell, 2005). Porém, muitas vezes, essas alternativas não são capazes de sanar o problema. Da mesma forma, quando os peixes se encontram imunossuprimidos e debilitados devido a enfermidade causada por parasitos, torna-se necessário o uso de quimioterápicos para reduzir a carga parasitária dos hospedeiros (Buchmann e Bjerregaard, 1990ab; Martins, 2004; Moraes e Martins, 2004; Fugimoto et al., 2006; Schalch et al., 2009).

Neste sentido, para o controle terapêutico das enfermidades parasitárias, vários protocolos têm sido utilizados, como o uso de rações medicadas e a aplicação de banhos terapêuticos (Fajer-Ávila et al., 2003; Martins 2004; Schalch et al., 2009).

Dentre alguns fármacos o praziquantel (PZQ) está inserido nos protocolos para controle de parasitos, tratando-se de um vermífugo já testado em várias espécies de peixes, com eficácia positiva conforme a concentração e método de aplicação (Sharp et al., 2004). É um antiparasitário amplamente utilizado na medicina humana e veterinária. No entanto, é comum na indústria farmacêutica a ocorrência de fármacos pouco solúveis em água, sendo isso uma barreira para o melhor desempenho na eficácia da droga quando aplicado neste meio (Persson et al., 2013). A baixa solubilidade em água é uma característica do praziquantel (Cioli e Pica-Mattocchia, 2003). Diante da característica lipofílica muitas vezes se faz necessário à aplicação de elevadas doses no meio aquático, a fim de atingir níveis de eficácia satisfatórios. Isso levanta questões como fatores de segurança de difícil determinação, efeitos adversos e até a falta de eficácia, além do desperdício da droga (Chaud et al., 2010). Todos estes aspectos contribuem, em maior ou menor escala, para a diminuição do sucesso econômico de empreendimentos na aquicultura (Paperna, 1991; Thoney e Hargis, 1991; Pavanelli et al., 2002).

O uso de aditivo ou excipiente em formulações farmacêuticas e na indústria alimentícia é empregado com frequência, com a finalidade de reduzir a tensão superficial entre as fases sólidas e líquidas de uma mistura e assim, manter uma dispersão estável (Vissotto et al., 2006; Porter et al., 2007). Dentre estes aditivos e excipientes a lecitina de soja é classificada como um fosfolipídio e segundo Fricker et al. (2010) os fosfolipídios

são capazes de melhorar a biodisponibilidade, melhorar ou alterar a absorção e liberação de fármacos com baixa solubilidade em água.

Diante as várias questões relacionadas ao uso de substâncias utilizadas para minimização das doenças e dos fatores estressores nos peixes como o parasitismo, além das poucas informações disponíveis sobre o uso de quimioterápicos, em especial para espécies marinhas com potencial de criação no Brasil.

E, considerando a importância crescente de *Mugil liza* para a piscicultura marinha e a necessidade de estabelecer parâmetros de utilização de quimioterápicos, tendo em vista que *M. liza* é hospedeira de diferentes espécies de parasitos, (E.G.: crustáceos (copépodos) (Knoff & Boeger, 1994), monogenoidea (*Ligophorus uruguayense*, *Solostamenides platyorchis*) (Pahor-Filho et al., 2012), metacercárias de *Ascocotyle (Phagiola) longa* (Simões et al., 2010; Namba et al., 2012) e *Myxobolus platanus* (Eiras et al., 2007).

Este trabalho avaliou a eficácia do antiparasitário PZQ em banhos terapêuticos combinados com o uso do fosfolipídio (lecitina de soja) para manter a dispersão estável e assim otimizar os banhos terapêuticos em *M. liza*.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Coletas dos peixes**

Os juvenis de tainhas, *M. liza*, de aproximadamente  $2,47 \pm 0,27$  cm de comprimento padrão e  $0,25 \pm 0,10$  g, foram coletados no mês de Abril de 2013 (experimentos I,II e III) e no mês de maio (Experimento III), no Arroio do Navio (32° 29' 48" S; 52° 26' 74" O), que deságua na Praia do Cassino, Rio Grande-RS. Foram capturados com rede de arrasto com 3 m x 1,5 m e com malha de 5mm.

### **2.2. Local do experimento e aclimação dos peixes**

Após a coleta no ambiente natural, os peixes foram transportados em baldes contendo água do local da coleta até o Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA) da Universidade Federal de Rio Grande - FURG, onde foram aclimatados em caixas de plástico com capacidade de 15 L por três dias. Os aquários (N= 15) foram abastecidos com água fornecida pela Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN), sem fluxo contínuo, aeração constante e salinidade artificial a 2,5‰, obtida com o uso do sal marinho.

A densidade mantida durante a aclimação foi de 15 peixes/L. Os peixes foram mantidos sob foto período de 12 horas Luz/Escuro, temperatura média da água dos tanques de 18,1 °C. A alimentação oferecida aos peixes consistiu de ração comercial Alcon<sup>®</sup>, com



45% de proteína bruta, ofertada quatro vezes ao dia. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

### **2.3. Análise parasitológica prévia**

Como forma de averiguar a presença e diversidade de parasitos e seus índices parasitológicos um exame prévio foi realizado em 40 peixes. Para os ensaios foram utilizados 30 peixes de cada tratamento.

O exame parasitológico avaliou a parasitose nas brânquias, esôfago, estômago, intestino, baço, fígado, coração, cavidade abdominal e músculos; para contagem inicial de ecto e endoparasitos. Após, medidos e pesados os peixes foram insensibilizados por concussão cerebral e necropsiados para coleta de parasitas. Os parasitos encontrados foram processados conforme protocolo de Amato et al., (1991).

Parasitos das brânquias foram fixados em formol 5%. A identificação dos monogonóidea foi feita segundo Boeger & Vianna (2006), Siquier & Núñez (2009) e Pahor-Filho *et al.* (2012), após montagem dos parasitos em lâminas permanentes com Hoyer, segundo Humason (1979).

Os parasitos coletados dos intestinos foram fixados em AFA por 24 h e mantidos em álcool 70%. Foram corados com carmim de Semichon, clarificados em creosoto de Faia e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Para determinar a eficácia 30 peixes de cada tratamento foram necropsiados e realizadas as análise parasitológica.

### **2.4. Delineamento experimental**

#### **2.4.1. Solução estoque**

O principio ativo do PZQ era de 99,9% de pureza. Foi utilizada a lecitina, denominada comercialmente de lecitina de soja em pó (Solec F<sup>®</sup>), com 96% de pureza. O álcool utilizado para diluição do PZQ foi o Álcool Etílico 99,5% PA.

Foi preparada uma solução estoque com 0,5 g de PZQ em 100 ml de Álcool Etílico 50% e armazenada em um frasco de vidro escuro. Desta solução foram retiradas todas as concentrações testadas nos experimentos contendo álcool.

Também foi preparada uma solução estoque de lecitina de soja (LS), para isto foi adicionado 0,5 g de LS em 100 ml de água destilada. Em cada concentração de PZQ foi adicionado 2,0 mg/L de LS. A concentração de LS utilizada foi estabelecida segundo Vissotto *et al.*, 2006. Cada concentração de PZQ testada foi pipetada em um Becker e em

seguida adicionada 2,0 mg/L de LS a cada Becker com o PZQ.

#### **2.4.2. Experimento I: Determinação da concentração letal média (CL<sub>50</sub>) do Praziquantel (PZQ) combinados à lecitina de soja (LS) em 24h para juvenis de tainhas, *Mugil liza*:**

A determinação da CL<sub>50</sub> foi realizada num período de 24 horas e estimada de acordo com o método Spearman – Karber, segundo Hamilton et al., (1997). Foram testadas 8 concentrações, constituídas de três repetições: Controle (negativo), LSA (controle positivo), 0,5; 1,5; 2,5; 5,0; 7,5; 10 mg/L.

A cada concentração foi adicionado 2,0 mg/L de LS. A quantidade de álcool 50% no grupo LSA foi de 20 ml, igual à concentração deste solvente presente na maior concentração. O sistema sem renovação de água durante as 24 horas de ensaio.

Em seguida foram retiradas as concentrações testes, a partir da solução estoque, e adicionada a LS a cada uma das concentrações. Após a realização dos testes foi verificada a sobrevivência dos peixes em cada unidade experimental.

Com base nos resultados do teste de CL<sub>50</sub>, foram escolhidas as concentrações que asseguraram sobrevivência igual e/ou superior a 50% em cada tratamento. Foram utilizados 240 peixes (10 peixes/aquário) de aproximadamente 2,24 ± 0,20 cm de comprimento padrão e 0,24±0,12 g.

#### **2.4.3. Experimento II e III: Determinação das doses eficazes do Praziquantel (PZQ) diluído em álcool 50% e combinado à lecitina de soja administrado via banho durante 30 minutos e 24 horas, respectivamente, em juvenis de tainhas, *M. liza*:**

Foram utilizadas as concentrações descritas na Tabela 1, cada uma com três repetições simultâneas (Tabela 1).

**Tabela 1**

Delineamento experimental dos testes definitivos com o PZQ diluído em álcool e combinado a LS, em *Mugil liza*.

	Tempo	Concentrações (mg/L)				
		Controle	LSA	0,5	1,5	2
Experimento II	<b>30 min</b>	X	X	X	X	X
Experimento III	<b>24 h</b>	X	X	X	X	X

Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em cada tratamento. No experimento II os peixes foram expostos às soluções durante 30 minutos. O tamanho médio dos peixes foi  $2,42 \pm 0,42$  cm e peso médio de  $0,29 \pm 0,11$  g, distribuídos em 15 tanques com volume de água de 11L, a densidade foi de 35 peixes/tanque ( $0,7 \text{ g/peixe L}^{-1}$ ) (Tabela 1).

No experimento III os peixes foram expostos às soluções durante 24 horas. O tamanho médio dos peixes foi  $2,45 \pm 0,19$  cm e peso médio de  $0,28 \pm 0,09$  g, distribuídos em 15 tanques com volume de água de 10,2 L, a densidade foi de 35 peixes/tanque ( $0,7 \text{ g/peixe L}^{-1}$ ) (Tabela 1).

#### **2.4.3. Experimento IV: Determinação das doses eficazes do Praziquantel (PZQ) combinado à lecitina de soja administrado via banho durante 24 horas, em juvenis de tainhas, *M. liza*:**

No experimento IV os peixes foram expostos durante 24 horas, neste ensaio não houve diluição do PZQ em álcool.

O tamanho médio dos peixes foi  $2,26 \pm 0,13$  cm e peso médio de  $0,22 \pm 0,05$  g, distribuídos em 15 tanques com volume de água de 11,2L, a densidade foi de 35 peixes/tanque ( $0,7 \text{ g/peixe. L}^{-1}$ ) (Tabela 2).

#### **Tabela 2**

Delineamento experimental do teste definitivo com o PZQ sem diluição em álcool e combinado a LS, em *Mugil liza*.

<b>Experimento IV</b>						
		<b>Concentrações (mg/L)</b>				
<b>Tempo do Banho</b>	24 horas	Controle	LS	0,5	1,5	2,0

#### **2.5. Análise dos parâmetros físico-químicos da água**

A qualidade da água foi avaliada através das análises dos parâmetros físicos e químicos monitorados em todos os experimentos.

As variáveis temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido (mg/L) e pH foram determinadas por sondas multiparamétricas digitais, medidas diariamente.

A salinidade foi obtida com adição de sal marinho na caixa de abastecimento dos aquários e verificada com refratômetro, medida duas vezes ao dia (pela manhã e pela tarde). A concentração de amônia-total foi mensurada semanalmente mediante o uso de kit comercial (Labcon Test <sup>®</sup>).

## 2.6. Sobrevivência (%)

A taxa de sobrevivência dos peixes após os tratamentos foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Sobrevivência (TS\%)} = \frac{\text{Nf} \times 100}{\text{Ni}}$$

Onde Nf: Número final de indivíduos, Ni: Número inicial de indivíduos.

## 2.7. Eficácia (%)

A eficácia foi verificada 24 horas após o término dos tratamentos, e estimada segundo Martins et al. (2001) e Onaka et al. (2003), através da seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{MGC} - \text{MGT}}{\text{MGC}} \times 100$$

Onde: MGC: Média do número de parasitos do grupo controle.

MGT: Média do número de parasitos do grupo tratado.

## 2.8. Análises estatísticas

Os resultados de qualidade da água nos experimentos foram comparados através da análise de variância (ANOVA). Quando encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para cada variável, foi aplicado o teste de Tukey para comparação das médias. As análises foram realizadas a 5% de probabilidade

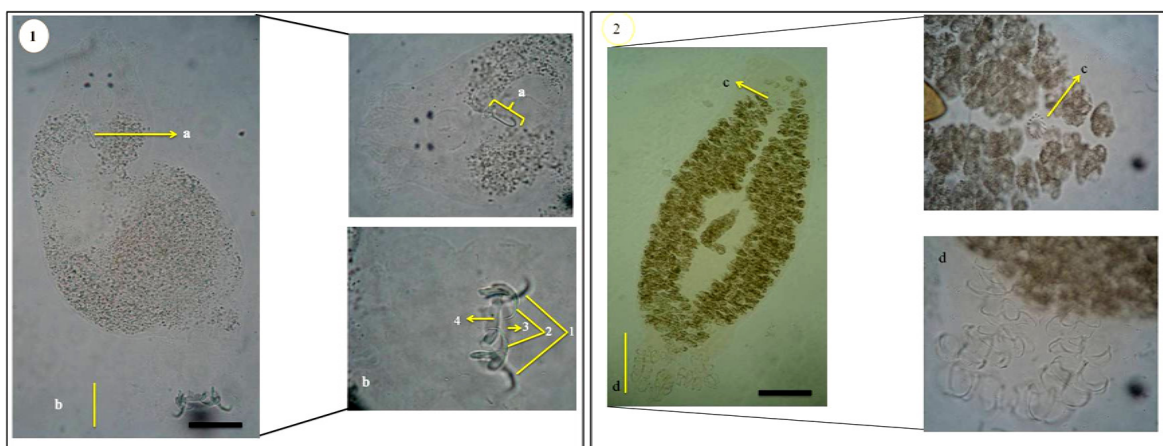
Foram calculados os índices parasitológicos de Prevalência (P%), Intensidade Média de Infecção (IMI) e Abundância Média ( $A\chi$ ), conforme Bush et al., (1997) para cada uma das espécies parasitas encontradas. Para a comparação dos índices parasitológicos foi usado o programa Quantitative Parasitology (Rózsa et al., 2000).

## 3. Resultados

### 3.1. Parasitos e índices parasitológicos dos peixes em ambiente natural

Os metazoários parasitas encontrados foram: monogenoidea nas brânquias *Ligophorus cf. uruguayense* (Ancyrocephalidae) (Figura 1-1), *Solostamenides cf. platyorchis* (Microcotylidae) (Figura 1-2) e Digenea (não identificados) no intestino

delgado (Tabela 3) (o uso da abreviação *cf.* nos nomes específicos de *Ligophorus uruguayense* e *Solostamenides platyorchis*, é utilizado aqui como forma de informar que a identificação destas espécies é ainda preliminar e serão usadas apenas aqui. Assim as próximas citações destas espécies serão feitas sem o “*cf.*”).



**Fig. 1.** (1) *Ligophorus uruguayense* e (2) *Solostamenides platyorchis* nas brânquias de *Mugil liza* coletadas no arroio do navio (32° 29' 48" S; 52° 26' 74" O), (1-a) órgão copulador, (1-b) haptor (b-1= ganchos; b-2= ancora ventral; b-3= barra dorsal e b-4= barra ventral). Aumento 20x, Barra = 58 µm. (2-c) órgão copulador, (2-d) haptor. Aumento= 20x; barra =92,5 µm

**Tabela 3**

Índices parasitológicos, (P) Prevalência (%), (IMI) Intensidade Média de Infecção/Infestação e (MA) Abundância Média de Infecção/Infestação de juvenis de tainha (*Mugil liza*) (N amostrado = 40), em ambiente natural, Arroio do Navio (32° 29' 48" S; 52° 26' 74" O).

Espécies Parasitas	IMI	P(%)	A $\chi$
<i>Ligophorus uruguayense</i>	3,5	42,5	1,5
<i>Solostamenides platyorchis</i>	2	30	0,6
Digenea	2,3	20	0,45

### 3.2. Qualidade de água

Nos experimentos II, III e IV não houve diferenças significativas nos parâmetros de qualidade de água o pH ( potencial hidroeônico), temperatura (°C), oxigênio dissolvido (OD), amônia total (ppm) e salinidade.

**Tabela 4**

Parâmetros da qualidade de água (médias  $\pm$  DP) durante os banhos terapêuticos com juvenis de tainha, *Mugil liza*, expostos a diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ). Experimentos II: 30 minutos e III: 24 horas, PZQ diluído em álcool (50 %) e combinado com lecitina de soja (2 mg/L). Experimento IV PZQ combinado à água e à lecitina de soja (2,0 mg/L), sem álcool, durante 24 horas. (T° C = Temperatura da água em graus centígrados; OD= Oxigênio dissolvido).

Tratamentos		Parâmetros de Qualidade da Água				
Concentrações (mg/L)		pH	T° C	Amônia (ppm)	OD (mg/L <sup>-1</sup> )	Salinidade ‰
<b>Experimento II</b>	<b>Controle</b>	7,6 $\pm$ 0,0 a	20,3 $\pm$ 0,0 a	0,5 $\pm$ 0,9 a	12,2 $\pm$ 1,3 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>LSA</b>	7,5 $\pm$ 0,1 a	20,2 $\pm$ 0,1 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	10,4 $\pm$ 0,2 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>0,5</b>	7,4 $\pm$ 0,1 a	19,6 $\pm$ 0,2 a	0,3 $\pm$ 0,1 a	11,8 $\pm$ 0,4 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>1,5</b>	7,4 $\pm$ 0,2 a	19,7 $\pm$ 0,1 a	0,4 $\pm$ 0,0 a	12,8 $\pm$ 0,9 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>2</b>	7,5 $\pm$ 0,1 a	20,0 $\pm$ 0,2 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	11,2 $\pm$ 0,5 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
<b>Experimento III</b>	<b>Controle</b>	7,8 $\pm$ 0,0 a	20,8 $\pm$ 0,4 a	0,3 $\pm$ 0,1 a	13,1 $\pm$ 2,1 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>LSA</b>	7,5 $\pm$ 0,2 a	20,1 $\pm$ 0,2 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	11,3 $\pm$ 0,4 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>0,5</b>	7,4 $\pm$ 0,2 a	19,9 $\pm$ 0,1 a	0,4 $\pm$ 0,1 a	10,1 $\pm$ 0,4 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>1,5</b>	7,3 $\pm$ 0,0 a	19,9 $\pm$ 0,1 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	10,5 $\pm$ 0,8 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>2</b>	7,4 $\pm$ 0,2 a	20,0 $\pm$ 0,1 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	11,2 $\pm$ 0,4 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
<b>Experimento IV</b>	<b>Controle</b>	7,6 $\pm$ 0,1 a	17,1 $\pm$ 0,1 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	12,1 $\pm$ 0,0 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>LS</b>	7,7 $\pm$ 0,1 a	17,2 $\pm$ 0,0 a	0,5 $\pm$ 0,0 a	12,0 $\pm$ 0,0 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>0,5</b>	7,6 $\pm$ 0,0 a	17,1 $\pm$ 0,0 a	0,5 $\pm$ 0,1 a	12,4 $\pm$ 0,3 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>1,5</b>	7,6 $\pm$ 0,1 a	17,2 $\pm$ 0,1 a	0,5 $\pm$ 0,1 a	12,0 $\pm$ 0,2 a	2,5 $\pm$ 0,0 a
	<b>2</b>	7,8 $\pm$ 0,1 a	17,1 $\pm$ 0,0 a	0,5 $\pm$ 0,1 a	12,3 $\pm$ 0,1 a	2,5 $\pm$ 0,0 a

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de exposição.

### 3.4. Concentração letal média (CL<sub>50</sub>-24h)

No experimento I que determinou a CL<sub>50</sub> (24 h) com o uso de PZQ combinado a lecitina de soja ocorreram mortalidades inferiores a 50% com as doses exploradas. Não foi possível estimar, desta forma, a concentração letal média, que leva a mortalidade metade da população dos peixes. Em 30 minutos de exposição não houve mortalidade dos peixes, nas concentrações de 1,5; 2,5; 5,0 e 10 mg/L (Tabela 5).

Em 24 horas após a exposição ao PZQ houve mortalidade em todos os grupos, porém a foi baixa. Em 10 mg/L houve a menor taxa de sobrevivência registrada 83,3%. Não foi possível estimar a partir destas, as concentrações para o teste definitivo.

Os parâmetros de qualidade de água durante o teste da CL<sub>50</sub> (24 h), não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

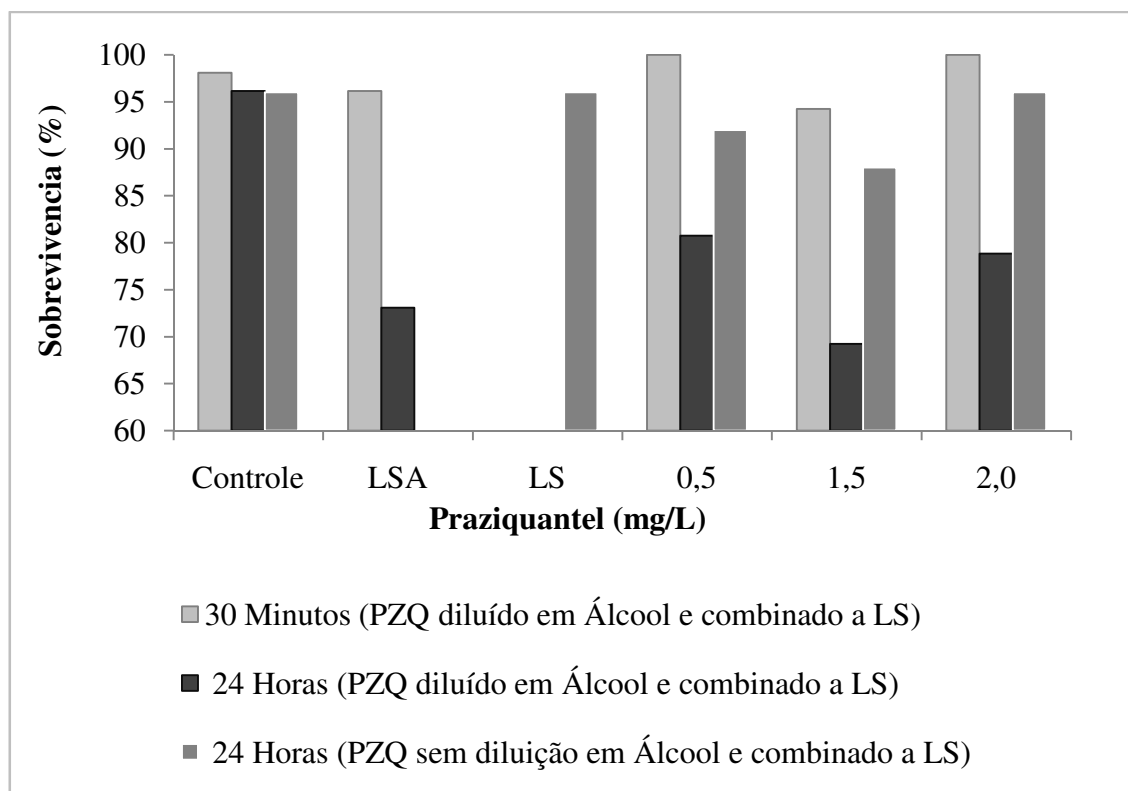
### Tabela 5

Valores de sobrevivência de juvenis de tainhas, *Mugil liza* no teste da CL<sub>50</sub>, durante 24 horas, em exposição a diferentes concentrações de PZQ, diluído em Álcool (50 %) e combinado a lecitina de soja (2,0 mg/L).

Concentração (mg/L)	Sobrevivência (%)	
	30 Minutos	24 horas
Controle	96,7	90,0
LSA	95,4	92,0
0,5	96,7	93,3
1,5	100,0	93,3
2,5	100,0	90,0
5,0	100,0	90,0
7,5	90,0	86,7
10,0	100,0	83,3

### 3.5. Porcentagem de Sobrevivência nos experimentos

No experimento II que consistiu de banhos com PZQ diluído em álcool 50%, e combinado à LS administrado durante 30 minutos a sobrevivência foi 98,1% (grupo controle), 96,2% (lecitina e álcool), 100,0% (0,5 mg/L), 94,2% (1,5 mg/L) e 100% (2,0 mg/L) (Figura 2- A). O índice de mortalidade mais elevado foi no experimento III (26,9%) em 1,5 mg/L, constituído de banhos com PZQ diluído em álcool 50%, combinado à LS administrado durante 24 horas, (Figura 2- A), porém a mortalidade não foi igual ou superior a 50% em nenhuma das concentrações testadas. Neste experimento a taxa de sobrevivência no grupo controle foi 96,2 %, no grupo exposto a LSA 73,1%, em 0,5 mg/L (80,8%), 1,5mg/L (69,2%) e em 2,0 mg/L a sobrevivência foi de 78,8%. O experimento IV, tratamento contendo PZQ combinado a LS a taxa de sobrevivência no controle, no grupo exposto a LS e a 2,0 mg/L de PZQ foi de 96%. Nos grupos expostos a 0,5 e 1,5 mg/L a sobrevivência foi 92% e 88%, respectivamente (Figura 2- B).



**Fig. 2.** Sobrevivência de tainha, *Mugil liza*, após banhos terapêuticos de curta (30 minutos) e longa (24 horas) duração em diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ) combinado à LS (2,0 mg/L) e PZQ adicionado à água e combinado à LS (2,0 mg/L) através de banhos terapêuticos durante 24 horas.

### 3.6. Porcentagem de Eficácia

O número de 30 de peixes para determinar os índices parasitológicos sofreu variação, devido à mortalidade ao longo dos experimentos. *L. uruguayense* apresentou prevalência de 99,9% e intensidade média de infestação (18,5), seguido por *S. platyorchis* em juvenis de tainhas utilizados nos ensaios.

No experimento II houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) na prevalência de parasitos no grupo exposto a 0,5 mg/L, este grupo foi igual ao controle porem diferente do grupo LSA (Tabela 6).

A Intensidade média de infestação para *L. uruguayense* nos grupos 0,5 e 1,5 mg/L apresentaram diferença estatística quando comparados ao grupo tratado com LSA. *S. platyorchis* não apresentou diferença estatística em nenhum índice parasitológico (Tabela 6). Os digenéticos apresentaram prevalência e intensidade média infecção significativa ( $P > 0,05$ ) na concentração de 0,5 mg/L com o grupo controle e entre as demais concentrações LS, 1,5 e 2,0.



**Tabela 6**

Valores médios dos índices parasitológicos de (P) Prevalência (%), (IMI) Intensidade média de Infecção/Infestação e (MA) Abundância média de infecção/Infestação de juvenis de tainha, *M. liza*, expostos a diferentes concentrações de PZQ, diluído em Álcool (50 %) combinado à LS (2,0 mg/L) através de banhos terapêuticos com duração de 30 minutos (Experimento II).

Parasitos	Índices Parasitológicos	Concentrações (mg/L)				
		Controle	LSA	0,5	1,5	2,0
<i>Ligophorus uruguayense</i>	PN	30	30	30	30	22
	PP	21	20	23	27	20
	IMI	11,6 a	18,55 ab	10,00 ac	10,11 a	9,10 a
	P (%)	70,0 a	66,7 ab	76,7 a	90,0 ac	90,9 a
	MA	8,2 a	12,4 ab	7,7 ac	9,1 a	8,3 a
<i>Solostamenides platyorchis</i>	PN	30	30	30	30	22
	PP	4	3	1	1	3
	IMI	1,75a	2,00a	1,00a	2,00a	2,33 <sup>a</sup>
	P (%)	13,3a	10,0a	3,3a	3,3a	13,6 <sup>a</sup>
	MA	0,2	0,2	0,03	0,1	0,3
Digenea	PN	30	30	30	30	22
	PP	10	9	3	4	3
	IMI	1,80 a	3,56 a	1,00 b	3,35 a	2,33 a
	P (%)	33,3 a	30,0 a	10,0 b	13,3 a	13,6 a
	MA	0,6 a	1,1a	0,1 a	0,4 a	0,3 a

(PN) peixes Necropsiados; (PP) Peixes Parasitados. Valores seguidos de letras minúscula diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações de exposição, foram comparados entre o controle e cada concentração entre si.

No experimento III *L. uruguayense* apresentou prevalência de 90,0% no grupo controle e no grupo tratado com LSA, sem a presença do antiparasitário PZQ, a

prevalência foi 93,8%, não houve diferenças estatísticas entre os valores dos índices parasitológicos encontrados (Tabela 7).

Já o grupo tratado com 0,5; 1,5 e 2,0 mg/L de PZQ houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ), apresentando menor prevalência 62,5; 59,1 e 57,1% respectivamente, quando comparado ao controle e LSA (Tabela 7).

Para *S. platyorchis* e digenéticos a prevalência foi baixa e sem diferenças estatísticas no experimento III.

A ocorrência de digenéticos no experimento III se deu apenas no grupo controle e grupo exposto a LSA e sem diferença estatística.

**Tabela 7**

Valores médios dos índices parasitológicos, (P) Prevalência (%), (IMI) Intensidade média de Infestação e (MA) Abundância média de Infecção/Infestação de juvenis de tainha, *Mugil liza*, submetidos aos banhos com PZQ diluído em Álcool e combinado à LS por de 24 horas (Experimento III).

Parasitos	Índices Parasitológicos	Concentrações (mg/L)				
		Controle	LSA	0,5	1,5	2,0
<i>Ligophorus uruguayense</i>	PN	20	16	24	22	28
	PP	18	15	15	13	16
	IMI	9,8 a	13,2 a	15,4 a	17,7 a	4,6 a
	P (%)	90,0 a	93,8 a	62,5 bc	59,1 bc	57,1 bc
	MA	8,8 a	12,4 a	9,6 a	10,5 a	2,6 a
<i>Solostamenides platyorchis</i>	PN	20	16	24	22	28
	PP	4	3	0	1	0
	IMI	0	0	0	1,00	0
	P (%)	0	0	0	4,5	0
	MA	0	0	0	0,04	0

(PN) peixes Necropsiados; (PP) Peixes Parasitados. Valores seguidos de letras minúscula diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações de exposição, foram comparados entre o controle e cada concentração em si.

No experimento IV os índices parasitológicos não apresentaram diferença significativa para *L. uruguayense* (Tabela 8).

Nos peixes expostos a 0,5, 1,5 e 2,0 mg/L não foi possível estimar a prevalência, a intensidade e a abundância média de infestação para *S. platyorchis* pois não foi observada a ocorrência deste parasito nestes grupos.

E, embora tenha sido encontrado *S. platyorchis* parasitando as tainhas nos grupos controle e LS, não houve diferença significativa (Tabela 8).

**Tabela 8**

Valores médios dos índices parasitológicos, (P) prevalência (%), (IMI) intensidade média de infecção/Infestação e (MA) abundância média de infecção/Infestação de juvenis de tainha, *Mugil liza*, expostos a diferentes concentrações de PZQ em água e LS (2,0 mg/L) através de banhos terapêuticos com duração de 24 horas (Experimento IV).

Parasitos	Índices Parasitológicos	Concentrações (mg/L)				
		Controle	LS	0,5	1,5	2,0
<i>Ligophorus uruguayense</i>	PN	19	20	16	22	19
	PP	11	11	9	6	6
	IMI	5,45 a	2,64 a	6,33 a	3,67a	2,33 a
	p(%)	57,9 a	55,0 a	56,3 a	27,3 a	31,6 a
	MA	1,5 a	3,2 a	3,6 a	1,0 a	0,7 a
<i>Solostamenides platyorchis</i>	PN	19	20	16	22	19
	PP	2	2	0	0	0
	IMI	3,00 a	2,00 a	0	0	0
	P (%)	10,5 a	10,0 a	0	0	0
	MA	0,3 a	0,2 a	0	0	0

(PN) peixes Necropsiados; (PP) Peixes Parasitados. Valores seguidos de letras minúscula diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (P<0,05) entre as concentrações de exposição, foram comparados entre o controle e cada concentração entre si.

Os resultados da eficácia nos experimentos II, III e IV estão descritos na tabela 9.

**Tabela 9**

Eficácia (%) de diferentes concentrações de Praziquantel (PZQ), combinado a LS (2,0 mg/L) em banhos terapêuticos de curta e longa duração (30 minutos e 24 horas, respectivamente) contra (*L. uruguayense* e *S. platyorchis*) e digenéticos. Experimentos II e III: PZQ diluído em Álcool (50 %) e combinado a LS através de banhos terapêuticos com duração 30 minutos e 24 horas, respectivamente. Experimento IV: PZQ adicionado à água e a LS através de banhos terapêuticos com duração de 24 horas. \* LS= Lecitina de Soja e LSA= Lecitina de Soja e Álcool.

	Tratamentos mg/L	Eficácia (%)		
		<i>L. uruguayense</i>	<i>S. platyorchis</i>	Digenéticos
<b>Experimento II</b>	LSA	0	14,3	0
	0,5	6,1	85,7	83,3
	1,5	0	71,4	27,8
	2,0	0	40	47
<b>Experimento III</b>	LSA	0	100	79,2
	0,5	0	100	100
	1,5	0	100	100
	2,0	70,4	100	100
<b>Experimento IV</b>	LS	54,1	36,7	
	0,5	0	100	
	1,5	59	100	
	2,0	76,7	100	

#### 4. Discussão

##### 4.1. Parasitos encontrados na natureza

A classe Monogenoidea é formada em sua maioria por ectoparasitos (Boeger & Vianna 2006) e parasitam numerosas espécies de peixes, apresentam um grau

relativamente alto em especificidade de hospedeiros e a maioria das espécies de peixe são infestados por mais de uma espécie (Bush et al., 1997, Rubio-Godoy, 2008). Os monogenóides têm sido responsáveis por importantes surtos epizoóticos com consequências sérias, particularmente na aquicultura (Rubio-Godoy, 2008).

No presente estudo *L. uruguayense* foi o monogenóide mais prevalente nas tainhas examinadas, seguido por *S. platyorchis* e por digenéticos. Estas espécies também foram relatados por Pahor-Filho et al. (2012) e Führ et al. (2012).

Pahor-Filho et al. (2012) verificaram o mesmo padrão de ocorrência em juvenis de tainhas, para *L. uruguayense*, *S. platyorchis* e Digenea. No entanto, a prevalência de *S. platyorchis* observada neste estudo (30%) é superior aos 10% reportados por Pahor-Filho et al. (2012). Além disso, a IMI e MA de *L. uruguayense* encontrada neste estudo foram inferiores ao encontrado por Pahor-Filho et al. (2012) no mesmo hospedeiro e na mesma região de estudo.

A quantidade de espécies também foi inferior. Essas diferenças nos índices parasitários podem está relacionados ao período de amostragem dos trabalhos, feitos em épocas diferentes.

#### **4.2. Qualidade da Água**

A qualidade de água é importante no sucesso produtivo de peixes. É necessário o acompanhamento dos parâmetros físicos e químicos da água antes e durante a administração de químicos, pois qualquer alteração pode interferir na eficácia e toxicidade dos produtos (Gomes, 2001; Schalch et al., 2009).

No modelo experimental aplicado não ocorreram alterações significativas nos parâmetros de qualidade de água. Os parâmetros de qualidade da água analisados permaneceram dentro da faixa estimada como zona de conforto para o cultivo de tainhas (Fonseca Neto & Spach, 1999; Okamoto et al., 2006; Pahdor- Filho et al., 2012).

Estes resultados corroboram com Kim & Cho (2000) e Schalch et al. (2009) que não observaram variação dos parâmetros de qualidade da água na utilização do PZQ como anti-helmíntico em outras espécies de hospedeiros.

#### **4.3. Efeitos do solvente e determinação da CL<sub>50</sub>**

O álcool é o solvente de referência em diversos trabalhos com o PZQ. No presente estudo a diluição ocorreu em álcool 50%, porém outros trabalhos já reportaram a diluição

do PZQ em álcool a 100% e 70% (Stephens et al., 2003; Mitchell, 2004; Sitja-Bobadella et al., 2006; Mitchell e Hobbs, 2007; Mitchell e Darwish, 2009). Stephens et al. (2003) afirmam que o álcool não afetou significativamente a sobrevivência de *Glaukosoma hebraicum*. Neste estudo, a menor taxa de sobrevivência 69,2% observada no experimento III, no grupo exposto a 1,5 mg/L de PZQ combinado a 2,0 mg/L de LS durante 24 horas.

No presente estudo não foi possível determinar a concentração da CL<sub>50-24h</sub> para o PZQ em juvenis de tainhas, a partir das concentrações de 0,5; 1,5; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg de PZQ /L. A ausência de mortalidade iguais ou acima de 50% nas concentrações testadas indica que os organismos foram resistentes ao fármaco no tempo de exposição de 24 horas.

Os valores de CL50 alcançados para outras espécies (Obiekezie e Okafor 1995, Mitchell e Hobbs 2007,) foram superiores aos testados no presente estudo (Tabela 10). Além disso, a ausência de mortalidade nas concentrações utilizadas durante todos os testes sugere que os organismos não foram sensíveis para este fármaco em exposição tanto a curto como a longo prazo.

Para a carpa capim, *Ctenopharyngodon idella* a CL<sub>50-24h</sub> na concentração de 63,4mg/L de PZQ levou a 100% de mortalidade (Mitchell e Hobbs, 2007). Além disso, diferente do observado por Mitchell e Hobbs (2007) que mencionam letargia (movimentação lenta) nos peixes após 2h de exposição a 20-30mg/L, no presente trabalho os peixes não apresentaram respostas comportamentais semelhantes durante o ensaio de CL<sub>50-24h</sub> e também não morreram.

### **Tabela 10**

Valores de CL<sub>50-24h</sub> para o uso de Praziquantel (PZQ) em diferentes espécies de peixes.

Espécie	Concentração	
	CL <sub>50-24h</sub> (mg/L)	Referência
<i>Notemigonus crysoleucas</i>	55,1	Mitchell e Hobbs (2007)
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	63,4	Mitchell e Hobbs (2007)
<i>Clarias gariepinus</i>	13,4	Obiekezie e Okafor (1995)
<i>Mugil liza</i>	Não determinado	Presente Estudo

Os diferentes valores de CL<sub>50</sub> relatados para peixes podem ser relacionados a diversas características ambientais em que os animais estavam expostos como, a qualidade da água, os tamanhos dos espécimes utilizados e a capacidade de resistência biológica a

agentes químicos apresentados por cada espécie (Azevedo e Chasin 2003, Pavanelli et al., 2002).

A literatura mostra ainda que diferentes espécies podem responder de maneira diferente quando expostos ao mesmo produto (Stephens et al., 2003; Sitja-Bobadella et al., 2006; Mitchell e Hobbs 2007; Mitchell e Darwish, 2009), o que torna evidente a necessidade de prudência ao determinar doses e tempos de administração para cada espécie alvo de trabalho.

#### **4.4. Taxa de sobrevivência das tainhas durante os tratamentos**

Os resultados de sobrevivência mostraram que apenas no experimento III que constituiu da presença do PZQ, lecitina e álcool por 24 de exposição, houve as menores taxas de sobrevivência 69,2% no grupo exposto a 1,5 mg/L.

Isso sugere que a presença do álcool combinado PZQ e a LS ou apenas o álcool e a LS podem influenciar a taxa de sobrevivência em 24 horas de exposição, quando comparado ao experimento II que seguiu o mesmo o procedimento de exposição, porém em tempo inferior de 30 minutos e ao experimento IV, sem a presença do álcool em exposição de 24 horas onde a sobrevivência foi superior.

Taxas de sobrevivência semelhantes às observadas no experimento II e IV do presente estudo também foram observadas por Fordwood et al. (2013a) onde 93% de sobrevivência para *Bidyanus bidyanus* (Terapontidae) após banhos de 48 horas com 10 mg/L de PZQ. Isso sugere que o tempo de exposição não influenciou na sobrevivência das tainhas, mas ao mesmo tempo reforça a idéia de que a composição química utilizada no presente estudo foi o principal fator para os resultados obtidos.

Após ministrar altas concentrações de PZQ por um curto período de tempo em *B. bidyanus*, Fordwood et al. (2013b) observaram mortalidades porém sem diferenças estatísticas com relação ao grupo controle.

Já Fajer-Ávila et al. (2007) relatam que não houve mortalidade de Pargos, *Lutjanus guttatus* (Lutjanidae) em banhos com 4,5 e 3,5 mg/L de PZQ durante 14 e 24 horas, respectivamente. A ocorrência da sobrevivência relatada por Fordwood et al. (2013b) e Fajer-Ávila et al. (2007) corroboram os resultados observados nos experimentos II e IV do presente estudo. No experimento IV a taxa de sobrevivência foi de 100% em todos os tratamentos, exceto no controle (95%), o que pode ser considerado um resultado aleatório.

Dessa forma, a utilização do PZQ como descrito no experimento II e IV

proporcionou aos peixes maior capacidade de sobrevivência em resposta aos desafios de ensaio.

#### 4.5. Eficácia dos tratamentos

Segundo Pahor-filho et al. (2012) a intensidade de infecção por *L. uruguayense*, *S. platyorchis* e Digenea variou de 2-110, 1-3 e 1-40, respectivamente, a abundância média na mesma sequência foi de 23,4; 1,5 e 2,67. Já Führ (2012) ao testar o mebendazol (MBZ) em tainhas, verificou redução da abundância média parasitária nos grupos tratados. Os resultados do presente trabalho foram similares aos encontrados por Pahor-filho et al. (2012) e Führ (2012).

Forwood et al. (2013a) reportaram a redução da abundância e prevalência de *Lepidotrema bidyans* (Monogenoidea, Diplectanidae), em fase juvenil e adulta após banhos com o PZQ durante 48 horas. Embora o presente estudo tenha sido realizado em menor tempo de exposição (24 horas), os resultados são semelhantes aos observados por Forwood et al. (2013a). Para endoparasitos Mitchell e Darwish (2009) verificaram prevalência reduzida (3,3%) de *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda, Bothriocephalidae), parasitando a carpa comum, após administrar 1,5 mg/L de PZQ. A prevalência de *Clinostomum complanatum* (Digenea, Clinostomidae) em *Rhamdia quelen* reduziu de 18% para 0%, e a intensidade média reduziu a zero após a repetição do tratamento, após banhos de 20 horas (Silva et al. 2009). No presente estudo também ocorreu redução dos índices parasitológicos, corroborando com os resultados obtidos por Mitchell e Darwish (2009) e Silva et al. (2009).

Para *Microcotyle sebastis* (Monogenoidea, Microcotylidae) tratados com o PZQ (100 mg/L em 4 minutos) houve redução da abundância, com observação 7 dias após o tratamento (Kim e Cho, 2000). Em altas concentrações de PZQ, Forwood et al. (2013b) reportaram que a intensidade média de infestação dos grupos tratados foram  $371,5 \pm 32,7$ ;  $198 \pm 19$ ;  $120,2 \pm 8,8$ ;  $86,2 \pm 8,5$  para o grupo controle, 5,0; 15,0 e 40 mg/L, respectivamente.

Na maior concentração a intensidade média foi menor, porém nenhum tratamento mostrou diferença significativa em relação ao controle. Segundo os autores, após os tratamentos os parasitos (*L. lepidotrema*) encontrados vivos eram predominantemente juvenis.

A relação entre a fase de desenvolvimento dos parasitos como o observado por Forwood et al. (2013b), nas diferentes concentrações e tempos de tratamentos é portanto um importante fator a ser determinado em estudos futuros. Como evidenciado pelas



referências acima, essas diferenças podem estar relacionadas ao estágio de desenvolvimento do parasito, resistência biológica de cada espécie, as condições ambientais em que os peixes estavam expostos e aos diferentes métodos adotados.

Os tratamentos com o PZQ contra parasitos de peixes têm alcançado índices de eficácia variados. Grande parte dos esforços científicos tem demonstrado que o PZQ pode ser eficaz contra monogenóides, trematódeos e cestóides de peixes (Mitchell 2004; Chisholm e Whittington, 2002; Fajer-Ávila et al., 2007; Forwood et al., 2013b). O PZQ é capaz de agir causando rápidas deformações, inchaços e rupturas do tegumento do parasito (Voutilainen et al., 2009).

Chisholm e Whittington (2002) concluíram que independentemente da concentração, os monogenóides adultos de raias *Glaucostegus typus* se mostram mais sensíveis que os juvenis. Estes autores verificaram que, independente da concentração, sempre foram observados parasitos adultos dispersos no tanque após 2 minutos do início de cada tratamento e, após 1 hora sucessiva ao tratamento já ocorriam dispersos nos tanques parasitos adultos e juvenis. Isso pode explicar a maior eficácia do PZQ sobre *S. platyorchis*, que é visualmente maior que *L. uruguayense*. Tendo em vista que os monogenéticos são responsáveis por inúmeras enfermidades na piscicultura (Boeger e Vianna, 2006), a redução dos índices parasitários se torna relevante diante da exposição a quimioterápicos (Tabela 11).

No experimento II o PZQ não foi eficaz contra o *L. uruguayense* evidenciando que curto período de tratamento não deve ser tomado como medida profilática e/ou tratamento para esta espécie. Pahor-Filho et al. (2012) reportam eficácia de 100% em concentrações acima de 135 mg/L de formalina para monogenóide, incluindo *L. uruguayense* de *M. liza* após 1h de exposição.

Diante disso, o tratamento com o PZQ durante 24 horas se torna viável contra *L. uruguayense*, neste hospedeiro, uma vez que as concentrações eficazes (70,4% em 2,0 mg/L de PZQ) foram bem inferiores as de Pahor-Filho et al. (2012) mesmo que este tenha obtido eficácia em apenas 1 hora de exposição. Porém a tomada de decisão quanto ao fármaco a ser utilizado deve ser aliada a um conjunto de informação como os efeitos de ambos os fármacos sobre a fisiologia, morfologia e todos os indicadores da saúde do peixe.

Nos experimentos III e IV houve eficácia superior a 50% na maioria dos tratamentos para todas as espécies de parasitas, porém, as melhores respostas ocorreram para *S. platyorchis* e para espécies de digenéticos.

Forwood et al. (2013a) verificaram eficácia de 99% para *L. bidyana* adultos e eficácia de 84% contra parasitos juvenis, após banho com o PZQ (10 mg/L durante 48 horas) contra parasitos de *Bidyana bidyana*. Onaka et al. (2003) relatam eficácia de 68,3% em 500 mg/L de PZQ contra *Anacanthorus penilabiatus* (Dactylogyridae, Anacanthorinae), em verificações realizadas 7 dias após o tratamentos (Tabela 11).

**Tabela 11**

Valores de eficácia do PZQ em diferentes grupos de parasitos de peixes.

Eficácia (%)	Espécie	Concentração/Tempo	Referência
100	Brânquia: <i>Neoheterocotyle rhinobatidis</i> , <i>N. rhynchobatis</i> e <i>Troglocephalus rhinobatidis</i> Tecido nasal: <i>Merizocotyle icopae</i>  (Monogenoidea)	5 mg L <sup>-1</sup> / 40 h – e banhos com intervalo de 48 banhos	Chisholm & Whittington (2002)
100	Ancyrocephalinae (Monogenoidea)	3,5 3 4,5 mg/L (14 horas)	Fajer-Ávila <i>et al.</i> (2007)
100	<i>Bothriocephalus achelognatu</i> (Cestoda)	2,5 mg/L repetida, após 2 meses	Iles & Archdeacon (2012)
99	<i>Lepidotrema bidyana</i> (Adultos) (Monogenoidea)	10 mg L <sup>-1</sup> / 48 h banhos	Forwood <i>et al.</i> (2013a)
77,6 68,3 47	<i>L. bidyana</i> (Monogenoidea)	40 mg/L (60 minutos) 15 mg/L (60 minutos) 5 mg/L (60 minutos)	Forwood <i>et al.</i> 2013b
76,7 100 83,3	<i>Ligophorus uruguayense</i> <i>Solostamenides platyorchis</i> (Monogenoidea)  Digenea	2,0 mg/L (24 horas) 0,5; 1,5 e 2,0 mg/L (24 horas) 0,5 mg/L (30 minutos)	Presente estudo

Voutilainen et al. (2009) testaram “in vitro” a eficácia de PZQ no combate a cercarias de *Diplostomum* sp. (Digenea, Diplostomidae), *Rhipidocotyle fenneca* e *R.*

*campânula* (Digenea, Bucephalidae), mostrando que cada uma das espécies parasitas são suscetíveis a uma concentração eficaz diferente.

Como no presente trabalho, os resultados de Voutilainen et al. (2009) evidenciam a necessidade métodos, concentrações e tempos de aplicação específicos para o uso de vermífugos no controle das espécies de parasitos .

Sharp et al. (2004) encontraram eficácia de 99% para *Benedenia seriolae* (Monogenea, Capsalidae) e *Zeuxapta seriolae* (Monogenea: Heteraxinidae) após banhos de 2,5 mg/L de PZQ durante 24 ou 48 horas.

Semelhante resposta ocorreu neste estudo onde *S. platyorchis* e digenéticos mostraram elevado percentual de eficácia em apenas 30 minutos de exposição já *L. uruguayense* teve melhor eficiência após 24 horas de banho. Isso evidencia que a eficácia pode ser aumentada com a duração do banho.

Por um período de tempo de 14 horas de exposição, tempo maior do que o testado no experimento II do presente estudo e, em concentrações similares (3,5, 3 4,5 mg/L) Fajer-Ávila et al. (2007) obtiveram eficácia de 100% contra Ancyrocephalinae (Monogenoidea). Para algumas espécies, o tempo de tratamento é determinante na eficácia do produto como ocorreu para *L. uruguayense*.

Forwood et al. (2013b) verificaram o PZQ foi eficaz em 77,6% (40 mg/L), 68,3% (15 mg/L) e 47% (5 mg/L) na eliminação à *L. bidyana* em banhos de 60 minutos. Os autores consideraram ineficazes os tratamentos contra parasitos juvenis presentes na base da lamela branquial primária. Isso evidencia que a eficácia fármaco depende da espécie e estágio de desenvolvimento do parasito a ser combatido, local de fixação do parasito, concentração e tempo de exposição à droga.

O Código Sanitário para os Animais Aquáticos da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), em seu capítulo 4.4 do artigo 4.4.1 atribui à cada país a elaboração de diretrizes específicas sobre como as doenças devem ser tratadas. Desta forma, no Brasil a portaria 48 de 12/05/1997 estabelecida pela Secretaria da Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, determina que para uso veterinário os antiparasitários precisem apresentar 90% de eficácia, tendo como parâmetro os bovinos. No entanto para animais aquáticos não há recomendação prática quanto ao nível de eficácia exigida para legalização e utilização de antiparasitário (Maximiano et al., 2005). Desta forma, considerando a legislação brasileira e, a semelhança de Forwood et al., (2013b), também poderíamos considerar os tratamentos do presente estudo ineficazes. Por outro lado, considerando que a

redução na carga parasitaria contribua para o bem estar e sobrevivência dos peixes em um determinado sistema de criação, então se torna viável o uso do fármaco.

Chisholm e Whittington (2002) observaram que 20 mg/L de PZQ por 2 horas foi suficiente para remover monogenóides. Os mesmo autores ressaltam que banhos em períodos mais longos e até mesmo com repetição são mais eficazes contra monogenóides. Stephens et al. (2003) também verificaram que doses administradas por período de tempo mais longo se mostram mais eficazes. Ao utilizar 2 mg/L de PZQ por 30 horas observaram maior eficácia contra *Haliotrema abaddon*, corroborando assim os achados do presente trabalho, onde a maior porcentagem de eficácia ocorreu nos experimentos com maior tempo de administração (24 horas) e em 2,0 mg/L.

Em relação à eficácia do PZQ administrado via banho contra endoparasitas, alguns trabalhos demonstram eficácia positiva contra trematódeos adultos (Mitchell, 1995; Iles e Archdeacon, 2012).

No experimento II houve eficácia em 0,5 mg/L de 83,3% na eliminação dos Digenea. No experimento III o PZQ foi eficaz 100% em todas as concentrações para Digenea, incluindo o grupo exposto LSA (50%). Mitchell (1995) relata a importância do uso do PZQ no combate de larvas de trematódeos (*Clinostomum complanatum*). Em seu trabalho verificou que tanto baixas concentrações de PZQ administrado por longo período (0,25 mg/L em 24 horas) e elevadas concentrações, durante um período menor (8 mg/L em 8 horas) são eficazes na remoção de larvas de *C. complanatum*. Mitchell e Darwish (2009) relacionam à densidade de estocagem a eficácia de tratamentos. Neste estudo não foram testadas diferentes densidades de estocagem. Desta forma, esta é uma lacuna que deve ser respondida em estudos futuros. Iles e Archdeacon (2012) demonstram a eficácia de banhos com PZQ (2,5 mg/L) em sistema de repetição, após 2 meses contra *Bothriocephalus acheilognathi*, um parasita intestinal comum em ciprinídeos. Silva et al. (2009) também verificaram eficácia de 100% do PZQ contra *C. complanatum* parasitando *Rhandia quelen*, averiguada 18 dias após o tratamento.

Os resultados do presente estudo sugerem que é necessária uma baixa concentração de PZQ para eliminar Digenea. Embora aparentemente expressiva a eficiência do PZQ para Digenea, os resultados são inconclusivos, sendo necessária a realização de estudos mais direcionados e especialmente que demandem um tempo maior de observações.

No presente estudo o tempo foi o principal fator que influenciou na eficácia do PZQ na eliminação *L. uruguayense*. Pois apenas em 24 horas de exposição foram observado as

melhores porcentagens de eficácia. A ausência o álcool na diluição do PZQ como realizado no experimento IV e a utilização do PZQ com a LS favoreceram a eliminação *L. uruguayense* em 24 horas de exposição. Já *S. platyorchis* e digenéticos (não identificados) foram mais suscetíveis à ação do PZQ, pois ao longo de 30 minutos de exposição, ocorreu eficácia superior a 80%. Presume-se então que a resistência biológica de cada espécie, o tempo e a combinação química determina o sucesso no emprego de tratamentos com o PZQ em juvenis de tainhas.

## **5. Conclusão**

O PZQ sem diluição em álcool 50% e combinados à LS foram as formas que apresentaram melhores resultados de eficácia na eliminação de *L. uruguayense* e *S. platyorchis*. E supõe-se que a LS possa ter contribuído para o potencial antiparasitário do praziquantel na eliminação destes parasitos em banhos com 24 horas de duração. Os digenéticos foram eliminados com melhor eficácia também em exposição de 24 horas em PZQ diluído em álcool 50% e combinado a LS. Considerando-se que comumente estes parasitos (*L. uruguayense*, *S. platyorchis* e os Digenea) são co-ocorrentes em juvenis de *M. liza*, que são baixas as taxas de mortalidade pelo uso desta droga, o mais recomendável seria o seu uso em banhos de 24hs.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem o prof. Dr. Marco Vinicius Chaud da Universidade de Sorocaba/SP, pela doação do Praziquantel. Ao curso de pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Rio Grande/RS- Brasil e ao Estado do Amazonas/Brazil, através da Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Amazonas por fomentar a bolsa de estudos de Kamila Oliveira dos Santos. À CAPES (Programa de Parasitologia Básica Proc. 1272/2011) pelo apoio financeiro.

## **Referências**

- Amato, J.F.R., Boeger, W.A, Amato, S.B., 1991. Protocolos para laboratório - Coleta e Processamento de Parasitos de Pescado. Rio de Janeiro: Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 81p.
- Azevedo, F. A., Chasin, A. A. M., 2003. As bases toxicológicas da ecotoxicologia. Ed. Intertox / São Carlos - São Paulo, 340 p.

- Boeger, W.A., Vianna, R.T., 2006. Monogenoidea. In: THATCHER, EV. Thatcher, E. V. (Ed.). Amazon Fish Parasites. Sofia-Moscow: Pensoft, p. 508.
- Buchmann, K., Bjerregaard, J., 1990a. Comparative efficacies of commercially available benzimidazoles against *Pseudodactylogyrus* infestations in eels. Dis.Aquat.Org. Chem., 9: 117-120.
- Buchmann, K., Bjerregaard, J., 1990b. Mebendazole treatment of pseudodactylogyrosis in an intensive eel-culture system. Aquaculture, 86: 139-153.
- Bush, A.O., Lafferty, K. D., Lotz, J.M., Shostak, W.A., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.*, revisited. J. Parasitol., 83(4): 575-583.
- Chaud, M.V., Tamascia, P., Lima, A.C., Paganelli, M.O., Gremião, M.P.D., Freita, O., 2010. Solid dispersions with hydrogenated castor oil increase solubility, dissolution rate and intestinal absorption of praziquantel. Braz. J. Pharm. Sci., 46: 473-481.
- Chisholm, L.A., Whittington, I.D., 2002. Efficacy of Praziquantel Bath Treatments for Monogenean Infections of the *Rhinobatos typus*. J. Aquat. Anim. Health, 14: 230-234.
- Cioli, D., Pica-Mattoccia, L., 2003. Praziquantel. Parasitol. Res., 90: 3-9.
- Eiras, J.C., Abreu, P.C., Robaldo, R., Pereira Jr., J., 2007. *Myxobolus platanus* n. sp. (Myxosporaea, Myxobolidae), a parasite of *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) from Lagoa dos Patos, RS, Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 59: 895-898.
- Fajer-Ávila, E.J., Parra, I.A., Aguilar-Zarate, G., Contreras-Arce, R., Zaldivar-Ramirez, J., Betancourt-Lozano, M., 2003. Oxicity of formalin to bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites. Aquaculture, 223 (1-4): 41-50.
- Fajer-Ávila, E.J., Velásquez-Medina, S.P., Betancourt-Lozano, M., 2007. Effectiveness of treatments against eggs, and adults of *Haliotrema* sp. and *Euryhaliotrema* sp.

- (Monogenea: Ancyrocephalinae) infecting red snapper, *Lutjanus guttatus*. *Aquaculture*, 264: 66–72.
- Fonseca Neto, J.C., Spach, H.L., 1999. Sobrevivência de Juvenis de *Mugil platanus*, Günther, 1880 (Pisces, Mugilidae) em diferentes salinidades. *Bol. Inst. Pesca*, 25: 13-17.
- Fonsêca, F.T.B., Paranaguá, M.N., Amado, M.A.M., 2000. Copepoda parasitas de peixes mugilidae em cultivo estuarino – Itamaracá – Pernambuco – Brasil. *Trab. Oceanograf. Univ. Federal de PE*. 28: 157-172.
- Food And Agriculture Organization of the United Nations (FAO)., 2012. Culture Aquatic Species Information Programme. *Mugil cephalus*. Culture Aquatic Species Information Programme. Text by Saleh, M. A. *In: FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. Rome. Updated 7 April 2006. [Cited 21 June 2012]. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil\\_cephalus/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en). [Cited 21 June 2012]. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil\\_cephalus/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en).
- Forwood, J.M., Harris, J.O., Deveney, M.R., 2013a. Efficacy of bath and orally administered praziquantel and fenbendazole against *Lepidotrema bidyana* Murray, a monogenean parasite of silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). *J. Fish Dis.*, 36: 939–947.
- Forwood, J.M., Harris, J.O., Deveney, M.R., 2013b. Efficacy of current and alternative bath treatments for *Lepidotrema bidyana* infecting silver perch, *Bidyanus bidyanus*, *Aquaculture*, 416–417: 65–71.
- Fricker, G., Kromp, T., Wendel, A., Blume, A., Zirkel, J., Rebmann, H., Ralf-Olaf Quinkert, C.S., Martin. F., Müller-Goymann, C., 2010. Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery. *Pharm. Res.*, 27:1469–1486.
- Führ, F., 2012. Toxicidade e eficácia antiparasitária do Mebendazol em juvenis de tainha *Mugil liza*. Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do

Rio Grande, p. 64.

- Führ, F., Pereira Jr., J., Romano, L.A., Almeida, F., 2012. Gill injury after treatment with mebendazole on mullets *Mugil liza*. *B. Eur. Assoc. Fish Pat.* 32(5): 151-158.
- Fujimoto, R.Y., Vendruscolo, 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). *Bol. Inst. Pesca*, 32: 183-190.
- Gomes, L.C., Chippari-Gomes, N.P.L., Roubach, R., Araújo-Lima, C.A.R.M., 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile Tambaqui, *Colossoma macropomum*. *J. World Aquac. Soc.*, 32: 426-431.
- Hamilton, M.A., Russo, R.C., Thurston, V., 1977. Trimmed spearman-karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 11(7):714-719 correction 12(4) 417 (1978).
- Iles, A.C., Archdeacon, T.P., 2012. Novel Praziquantel Treatment Regime for Controlling Asian Tapeworm Infections in Pond-Reared Fish. *N. Am. J Aquacult.* 74:113–117.
- Katharios, P., Papandroulakis, N., Divanach, P., 2006. Treatment of *Microcotyle* sp. (Monogenea) on the gills of cage-cultured red porgy, *Pagrus pagrus* following baths with formalin and mebendazole. *Aquaculture*, 251: 167– 171.
- Kim, K.H., Cho, J.B., 2000. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Polyopisthocotylea) infestation with praziquantel in an experimental cage simulating commercial rockfish *Sebastes schlegeli* culture conditions. *Dis. Aquat. Org. Chem.*, 40: 229-231.
- Knoff, M., Boeger, W.A., 1994. Expanded description of the female of *Lernaeenicus longiventris* Wilson, 1917, (Copepoda, Siphonostomatoida, Penellidae) based on



- specimens from *Mugil platanus* Günther, 1880 (Perciformes, Mugilidade) of the State of Rio de Janeiro, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 89: 313-317.
- Kubitza, F., Kubitza, L.M.M., 1999. Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados. Panorama da Aquicultura. 3 ed. Jundiaí. 96 pp.
- Lester, R.J.G., Rawlinson, S.E., Weaver, L.C., 2009. Movement of sea mullet *Mugil cephalus* as indicated by a parasite. Fis. Res., 96: 129–132.
- Liao, I. C., Su, H. M., Chang, E. Y., 2001. Techniques in finfish larviculture in Taiwan *Aquaculture*, 200: 1-31.
- Martins, M.L., 2004. Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira. In: Ranzani-Paiva, M.J.T., Takemoto, R.M., Lizama, M.A.P. Sanidade de Organismos Aquáticos, São Paulo: Varela, 357-370 pp.
- Martins, M.L., Onaka, E.M., Fujimoto, R.Y., Moraes, F.R., 2001. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil. Efficacy and haematology. Acta Parasitol., 46:332-336.
- Maximiano, A. A., Fernandes, R.O., Nunes, F.P., Assis, F.P., Matos, R.V., Barbosa, C.G.S., Oliveira Filho, E.C., 2005. Use of veterinary drugs and pesticides in the aquatic environment: demands, regulation and concerns on risks to human and environmental health. Ciência & Saúde Coletiva, 10 (2): 483-491.
- Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). 2010. Produção Pesqueira e Aquícola: Estatísticas 2008 e 2009. Brasília, DF. 30 p.
- Mitchell, A.J., 1995. Importance of treatment duration for praziquantel used against larval digenetic trematodes in sunshine bass. J. Aquat. Anim. Health, 7: 327–330.
- Mitchell, A.J., 2004. Effectiveness of Praziquantel Bath Treatments against *Bothriocephalus acheilognathi* in Grass Carp. J. Aquat. Anim. Health, 16: 130-136.

- Mitchell, A.J., Darwish, A., 2009. Efficacy of 6-, 12-, and 24-h Praziquantel Bath Treatments against Asian Tapeworms *Bothriocephalus acheilognathi* in Grass Carp. N. Am. J. Aquacult., 71: 30-34.
- Mitchell, A.J., Hobbs, M.S., 2007. The Acute Toxicity of Praziquantel to Grass Carp and Golden Shiners. N. Am. J. Aquacult., 69: 203-206.
- Moraes, F.R., Martins, M.L., 2004. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Cyrino *et al.* (Ed.). São Paulo: TecArt. 343-386 pp.
- Namba, T.K., Madi, R.R., Ueta, M.T., 2012. *Ascocotyle* sp. metacercariae (Digenea: Heterophyidae) in tissues of mullets *Mugil liza* and *Mugil curena* (Osteichthyes: Mugilidae) collected in the fish trade of the Iguape city, Sao Paulo, Brazil. Neotrop. Helminthol., 6: 2.
- Nomura, H., 1984. Dicionário dos peixes do Brasil. Brasília: Editerra. 482 p.
- Obiekezie, A., Okafor, N., 1995. Toxicity of four commonly used chemotherapeutic compounds to fry of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). Aquacult. Res., 26: 441-445.
- Okamoto, M.H., Sampaio, L.A., Maçada, A.P., 2006. Efeito da temperatura sobre o crescimento e a sobrevivência de tainha *Mugil platanus* (Günther, 1880). Atlântica, 28: 61-66.
- Onaka, E.M., 2009. Principais parasitoses em peixes de água doce no Brasil. In: Tavares-Dias, M. (Org). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, 536-574 p.
- Onaka, E.M., Martins, M.L., Moraes, F.R., 2003. Eficácia do Albendazol e Praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasitos de

- pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. Bol. Inst. Pes., 29: 101 – 107.
- Otsubo, R.I., 2010. Inseminação artificial da tainha *Mugil liza* com a utilização de sêmen fresco e crioconservado. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós- graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - Secretaria de Agricultura e Abastacimento. São Paulo, 59 p.
- Pahor-Filho, E., Miranda-Filho, K.C., Pereira Jr., J., 2012. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354–355: 111-116.
- Paperna, I., 1991. Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1: 155-194.
- Pavanelli, G.C., Eiras, J.C., Takemoto, R.M. , 2002. Doenças de Peixes. Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento. Universidade Estadual de Maringá. 2. ed. 305 pp.
- Persson, L.C., Porter, C.J.H., Charman, W.N., Bergström, C.A.S., 2013. Computational Prediction of Drug Solubility in Lipid Based Formulation Excipients. *Pharm. Res.*, 30: 0724-8741.
- Planas, M., Cunha,I., 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture*, 177:171-190.
- Porter, J.H.C., Trevaskis, N.L., Charman, W.N., 2007. Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 6: 231-248.
- Rózsa, L., Reiczigel, J., Majoros, G., 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. *J. Parasitol.* 86: 228–232.
- Roberts, S.D., Powell, M.D., 2005. Oral L-cysteine ethyl ester (LCEE) reduces amoebic gill disease (AGD) in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.*, 66: 21-28.
- Rubio-Godoy, M., 2008. Microhabitat of *Discocotyle sagittata* (Monogenea:

- Polyopisthocotylea) in farmed rainbow trout. *Folia Parasitol.*, 55, pp.
- Schalch, S.H.C, Moraes F.R., Soares V.E., 2009. Praziquantel, levamisole and diflubenzuron in the control of *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) and *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Rev Bras. Parasitol. Vet.*, 18: 53-59.
- Sharp N.J., Diggles, B.K., Poortenaar, C.W., Willis, T.J., 2004. Efficacy of Aquil-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture*, 236, 67–83.
- Silva, A.S., Pedron, F.A., Zanette, R.A., Monteiro, S.G., Neto, J.R., 2009. Eficácia do praziquantel no controle ao parasita *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1918 (Digenea, Clinostomidae) em peixes da espécie *Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824 (jundiá). *Pesq. Agrop.*, 15:73-76.
- Silva, J.E., 1975. Cultivo da tainha (*Mugil curema* Valenciennes, 1836) em condições experimentais: estudo da variação da biomassa. Tese Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, 74 p.
- Simões, S.B.E., Barbosa, H.S., Santos, C.P., 2010. The life cycle of *Ascocotyle (Phagicola) longa* (Digenea: Heterophyidae), a causative agent of fish-borne trematodosis. *Acta Tropica*, 113: 226-233, 2010.
- Siquier, G.F., NÚÑEZ, M.O., 2009. *Ligophorus uruguayense* sp. nov. (Monogenea, Ancyrocephalidae), a gill parasite from *Mugil platanus* (Mugiliformes, Mugilidae) in Uruguay. *Acta. Parasitol.*, 54(2): 95–102.
- Sitjà-Bobadilla, A., Magnolia C.F., Alvarez-Pellitero, P., 2006. In vivo and in vitro treatments against *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea: Microcotylidae) parasitizing the gills of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 261: 856–864.

- Stephens, F.J., Cleary, J.J., Jenkins, G., Jones, J.B., Raidal, S.R., Thomas, J.B., 2003. Treatments to control *Haliotrema abaddon* in the West Australian dhufish, *Glaucosoma hebraicum*. *Aquaculture*, 215, 1–10.
- Toney, D.A., Hargis JR, W.J., 1991. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1: 123-153.
- Tsuzuki, M.Y., 2006. Cultivo de peixes marinhos. *In: SOUZA-SILVA, A. T. (org.) Sanidade de organismos aquáticos no Brasil. Maringá: Abrapoa. 189-210.*
- Vissotto, F.Z., Montenegro, F.M., Santos, J.M., Oliveira, S.J.R., 2006. Avaliação da Influência dos processos de lecitinação e de aglomeração nas propriedades físicas de achocolatado em pó. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 26: 666-671.
- Voutilainen, A., Saarine, M., Suonpää, A., Taskinen, J., 2009. *In vitro* efficacy of praziquantel against the cercariae of *Diplostomum* sp., *Rhipidocotyle fennica* and *R. campanula*. *J. Fish Dis.*, 32: 907–909.

## CAPÍTULO II

### **Mebendazol combinado à lecitina de soja no controle de parasitos em juvenis de tainha (*Mugil liza*)**

SANTOS, Kamila<sup>1</sup>; VIANNA, Rogério Tubino<sup>1</sup>; PEREIRA JR, Joaber<sup>2</sup>

Kamila Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Rogério Tubino Vianna<sup>1</sup>, Joaber Pereira Jr<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos – LABIPOA – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande – ICB –FURG

<sup>2</sup> Professor no curso de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande (EMA ) FURG

[kosengpesca@hotmail.com](mailto:kosengpesca@hotmail.com)

## Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do mebendazol combinado a lecitina de soja (LS), em banhos terapêuticos no controle de parasitos em juvenis de tainhas, *Mugil liza*. Seiscentos e setenta e cinco peixes coletados no mês de maio, em ambiente natural, no arroio do navio (32° 29' 48" S; 52° 26' 74" O) foram utilizados nos experimentos. Os peixes foram mantidos em ambiente controlado no Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos da Universidade Federal de Rio Grande. Foi realizado o teste da concentração letal média em 10 concentrações distintas, preparadas em três repetições: Controle, LS, 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0 e 12,0 mg/L. O experimento de eficácia foi constituído de cinco concentrações: controle, LS, 4,0; 8,0 e 12,0 mg/L, em três repetições simultâneas, com banhos de 24 horas. Foram utilizados 375 peixes com tamanho médio dos peixes foi  $2,57 \pm 0,42$  cm e peso de  $0,23 \pm 0,18$  g. Mantidos em tanques com 10,8 L de água, cada aquário continha 25 peixes ( $0,3$  g/peixe.L<sup>-1</sup>). Os peixes foram mantidos em jejum e sob fotoperíodo de 12 horas Luz/Escuro. Em 24 horas após o fim da exposição foram necropsiados 30 peixes de cada tratamento para análises parasitológicas e determinação da eficácia. Foram monitorados os parâmetros físicos e químicos da água e verificada a sobrevivência. Os resultados da CL<sub>50-24 h</sub> nas diferentes concentrações não apresentaram letalidade em 50% da população. Os parâmetros de qualidade da água não apresentaram diferenças significativas. A taxa de sobrevivência foi de 96% (controle), 88% (LS), 92% (4,0 mg/L) e 100% em 8,0 e 12,0 mg/L. O MBZ combinado a LS foi eficaz 74,5% em 4,0 mg/L para *Ligophorus uruguayense* e 100% em todas as concentrações contra *Solostamenides platyorchis*. E foi eficaz 100% na eliminação de Digenea em todas as concentrações. A lecitina de soja influenciou na eficácia do MBZ na eliminação *L. uruguayense*, indicando ser um método positivo diante da utilização de fármacos pouco solúveis em água.

**Palavras chaves:** fármaco, lecitina de soja, mebendazol, parasitose, tratamento.

## Abstract

The objective of this study was to evaluate the efficacy of mebendazole combined soy lecithin (SL), in therapeutic baths for controlling parasites in juvenile mullet, *Mugil liza*. Six hundred and seventy-five fish were used in the experiment after being collected in the month of May in the natural environment, the stream of the vessel (32 ° 29' 48" S, 52 ° 26' 74" W). The fish were kept in a controlled Laboratory of Biology of Parasites of Aquatic Organisms, Federal University of Rio Grande environment. The median lethal concentration test was performed in 10 different concentrations prepared in three replicates: Control, SL, 0.5; 1.0; 2.0; 3.0; 5.0; 7.0; 9.0 and 12.0 mg/L. The effectiveness experiment consisted of five concentrations: control, SL, 4.0; 8.0 and 12.0 mg/L, three simultaneous replicates of baths 24 hours. 375 fish with an average size of fish were used was  $2.57 \pm 0.42$  cm and weight of  $0.23 \pm 0.18$  g. Kept in tanks with 10.8 L of water, each tank contained 25 fish ( $0.3 \text{ g/peixe.L}^{-1}$ ). Fish were fasted and under 12-hour photoperiod Light/Dark. Within 24 hours after the end of exposure 30 fish per treatment for parasitological analysis and determination of efficacy were necropsied. Physical and chemical water parameters were monitored and checked for survival. The results of LC50 - 24 h with different concentrations showed no lethality in 50 % of the population. The water quality parameters do not show significant difference. The survival rate was 96% (control), 88% (SL), 92% (4.0 mg/L) and 100% at 8.0 and 12.0 mg/L. The MBZ combined SL was 74.5 % effective at 4.0 mg/L for *Ligophorus uruguayense* and 100 % at all concentrations against *Solostamenides platyorchis*. And it was 100 % effective in eliminating Digenea at all concentrations. Soy lecithin influence the effectiveness of the elimination MBZ *L. uruguayense*, indicating that a positive method on the use of drugs poorly soluble in water.

**Key words:** drug, soy lecithin, mebendazole, parasitic treatment.



## 1. INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos mais saudáveis e o crescimento populacional tem intensificando a produção de pescado em todo o mundo. A maximização da produção leva a um adensamento excessivo capaz de causar uma situação de estresse, influenciando no bem-estar dos peixes (Thoney & Hargis 1991, Pavanelli *et al.* 2002, Barcellos *et al.* 2004). Os problemas relacionados a esse adensamento incluem a sanidade dos organismos de cultivo, principalmente em muitas regiões com deficiência de infraestrutura básica para criação; baixo nível tecnológico da maioria das pisciculturas, deficiência ou ausência de serviços de assistência técnica, resultando em práticas de manejo prejudiciais a saúde dos peixes (Kubitza & Kubitza, 1999, Ono 2005, Ostrensky *et al.* 2008).

Um dos principais entraves na produção de peixes é a ocorrência de enfermidades que são intensificadas em um sistema deficiente onde não há boas práticas de manejo (Kubitza & Kubitza 1999, Noga 2000, Pavanelli *et al.* 2002). As enfermidades potenciais são caracterizadas pela ocorrência de infestações/infecções parasitárias (Moraes & Martins 2004), principalmente nas fases iniciais de desenvolvimento dos peixes (Noga 2000, Pavanelli *et al.* 2002).

Os agentes patogênicos causam estresse nos peixes e diante do que podem ocorrer alterações do equilíbrio orgânico que colocam em risco a saúde dos animais (Wedemeyer 1996, Tavares-Dias *et al.* 2001, Urbinati & Carneiro 2004). Dessa forma, é importante realizar o diagnóstico correto dos patógenos, para possibilitar tomadas de medidas como alterações no manejo ou fazer uso adequado de medicamentos.

A tainha, *Mugil liza*, tem ampla distribuição geográfica e é importante principalmente na pesca comercial, porém, ao longo dos anos vários esforços tem sido realizados a fim de implementar sua criação em cativeiro (Fonseca Neto & Spach 1999). Assim como outras espécies de peixes pioneiras em sistema de criação, as tainhas também são suscetíveis à presença e ação de parasitos (Knoff & Boeger 1994, Pahor-Filho *et al.* 2012) que podem causar a mortalidade dos peixes gerando perdas econômicas (Onaka *et al.* 2003).

Para evitar prejuízos ao produtor diferentes tipos de quimioterápicos têm sido testados e comparados sua eficácia para o combate a parasitos. O Mebendazol (MBZ) é um quimioterápico com amplo espectro, aplicado na terapia humana e veterinária para o tratamento de parasitoses. Esse fármaco pertence ao grupo dos benzimidazois e atua inibindo a polimerização da tubulina após ligar-se com a  $\beta$ -tubulina, e assim interfere na

captação de glicose e exerce ação inibitória seletiva sobre a função microtubular dos helmintos (Mehlhorn 2001).

O insucesso no tratamento de parasitoses nos peixes deve-se diversos fatores, tais como a falta de conhecimento sobre as patologias, diagnóstico tardio, métodos de aplicação do medicamento inadequados e natureza química do fármaco desconhecida (Pavanelli *et al.* 2002, Schalch *et al.* 2009). No Brasil, o MBZ já foi testado em algumas espécies de peixes e, mais recentemente, Führ (2012) verificou a eficácia anti-helmíntica do mebendazol em juvenis de *M. liza* através de tratamentos com banhos.

O mebendazol se apresenta na forma de um pó branco a ligeiramente amarelado e inodoro, é praticamente insolúvel em inúmeros solvente, dentre eles a água (Swanepoel *et al.* 2003, Froehlich & Gasparotto 2005). Os banhos são restritos a compostos solúveis na água. A baixa solubilidade em água confere aos banhos terapêuticos em peixes dispersão desigual do fármaco nos tanque. Por isso, geralmente são utilizadas doses elevadas para alcançar a eficácia, aumentando assim o risco à resistência ao fármaco e contaminação ambiental (Schmahl & Benini 1997, Zagatto & Bertoletti 2006).

A lecitina de soja é um constituinte químico capaz de melhorar a homogeneização da mistura, permitindo uma maior estabilização do produto. Assim, o objetivo deste capítulo foi determinar a concentração letal média e analisar a eficácia do mebendazol combinado à lecitina de soja em banhos terapêuticos em juvenis de *Mugil liza*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.2. Obtenção e aclimação dos peixes**

Os juvenis de tainhas *M. liza* foram coletados no mês de maio, em ambiente natural, no arroio do Navio (32° 29' 48" S; 52° 26' 74" O), que deságua na Praia do Cassino. O apetrecho de pesca para captura foi uma rede de 3 m x 1,5 m e malha 5 mm. Em seguida foram transportados para o local do experimento. A temperatura média do local de coleta 12,0 °C, a salinidade foi 2,5‰ e o oxigênio dissolvido 15,45 mg/L.

Os peixes com tamanho médio de  $2,57 \pm 0,42$  (cm) e peso médio de  $0,23 \pm 0,18$  (g) foram transportados em baldes plásticos contendo água do ambiente de coleta. Foram mantidos no Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA) da Universidade Federal de Rio Grande - FURG, para aclimação e realização dos experimentos. Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em caixas de plástico com capacidade de até 15L. As caixas (N = 15) foram abastecidas com água fornecida pela

Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN), sem fluxo contínuo, aeração constante e salinidade a 2,5‰, obtida com o uso do sal marinho.

A densidade mantida foi de um peixe/L (15 peixes/15L). Fotoperíodo de 12 horas Luz/Escuro, temperatura média da água dos tanques de 18,1 °C. Os peixes foram pesados (g) e medidos (cm). A alimentação oferecida aos peixes consistiu de ração comercial Alcon<sup>®</sup>, com 45% de proteína bruta, ofertada quatro vezes ao dia. O mebendazol utilizado foi da marca CHEMS<sup>®</sup>. A lecitina de soja (LS) utilizada foi da marca Solec F<sup>®</sup>, com 96% de pureza.

#### **2.4. Delineamento experimental**

Para a realização dos experimentos foi preparada um solução estoque onde foram adicionados 0,5 g de MBZ em 100 ml de água, as concentrações testadas foram retiradas a partir desta solução. A cada concentração foi adicionada a quantidade de 2,0 mg/L de lecitina de soja (LS). Então foi realizado o teste para determinação da Concentração Letal Média (CL50), através de banhos com duração de 24 horas.

Os ensaios consistiram dos seguintes grupos: controle, LS, 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 12,0 mg/L. Cada concentração foi constituída de três repetições simultâneas e de forma aleatória foram distribuídos 10 peixes em cada tanque (n° total = 300 peixes) contendo 10 L de água. O teste definitivo com o mebendazol consistiu de cinco grupos experimentais: 0 (Controle), LS, 4,0; 8,0 e 12,0 mg/L em exposição de 24 horas. Os peixes foram distribuídos em 15 aquários contendo 10,8 L, cada tanque continha 25 peixes (n° total = 375 peixes) (0,3 g/peixe. L<sup>-1</sup>). Decorridas 24h após o tratamento, 30 peixes de cada concentração testada foram fixados em formol 5% com vista as análises parasitológica.

Os índices parasitológicos de Prevalência (P%), Intensidade Média de Infecção (IMI) e Abundância Média (A<sub>γ</sub>) foram calculados segundo Bush *et al.* (1997), para cada uma das espécies parasitas encontradas. A identificação dos monogenóidea foi feita segundo Boeger & Vianna (2006), Siquier & Núñez (2009) e Pahor-Filho *et al.* (2012). após montagem dos parasitos em lâminas permanentes com Hoyer, segundo Humason (1979).

Os parasitos coletados dos intestinos foram fixados em AFA, corados com carmim de Semichon, clarificados em creosoto de Faia e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá.

Após obter o numero de parasitos por peixes de cada tratamento, foram calculadas a eficácia das concentrações testadas, segundo Onaka (2001), com a seguinte formula: a-b/a

\* 100, onde, (a) média do número de parasitos do grupo controle e (b) média do número de parasitos do grupo tratado.

A taxa de sobrevivência foi calculada como a diferença entre o número de animais no início e no fim do experimento, segundo Okamoto *et al.* 2006 (TS%) =  $N_f \times 100/N_i$ , Onde  $N_f$ : Número final de indivíduos,  $N_i$ : Número inicial de indivíduos. A temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg/L) e pH foram determinadas por sondas multiparamétricas digitais e medidas diariamente.

A salinidade foi obtida com adição de sal marinho na caixa de abastecimento dos aquários, verificada com refratômetro (manhã e tarde), a salinidade de 2,5 ‰ foi mantida em cada unidade experimental. A concentração de amônia-total foi mensurada semanalmente mediante o uso de kit comercial (Labcon Test ®).

As diferenças obtidas entre as médias dos diferentes tratamentos foram estabelecidas por análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o software Sigma Stat 3.5 (System Software – Ca, USA).

A comparação dos índices parasitológicos foi realizada com o programa “Quantitative Parasitology” (Rózsa *et al.* 2000) a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS

O mebendazol e a lecitina de soja inclusos nos aquários não alteraram significativamente as variáveis de qualidade de água durante o tratamento (Tabela 1).

**Tabela 1:** Parâmetros da qualidade de água (Médias ± Desvio Padrão) de juvenis de tainha (*Mugil liza*), expostos a diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ) combinado a lecitina de soja (2,0 mg/L) através de banhos terapêuticos com duração de 24 horas.

Parâmetros de Qualidade da Água					
Concentrações	pH	T ° C	Amônia (ppm)	OD (mg/L -1 )	Salinidade ‰
<b>Controle</b>	7,6±0,1 a	17,1±0,1 a	0,7±0,1 a	12,1±0,0 a	2,5±0,0 a
<b>LS</b>	7,7±0,1 a	17,2±0,0 a	0,5±0,0 a	11,0±0,0 a	2,5±0,0 a
<b>4,0</b>	7,7±0,1 a	17,1±0,0 a	0,6±0,1 a	11,6±0,1 a	2,5±0,0 a
<b>8,0</b>	7,5±0,0 a	17,2±0,1 a	0,5±0,0 a	11,6±0,0 a	2,5±0,0 a
<b>12,0</b>	7,8±0,0 a	17,1±0,0 a	0,5±0,0 a	11,5±0,2 a	2,5±0,0 a

Letras minúsculas iguais a mesma linha indicam a ausência de diferença significativa (P<0,05).

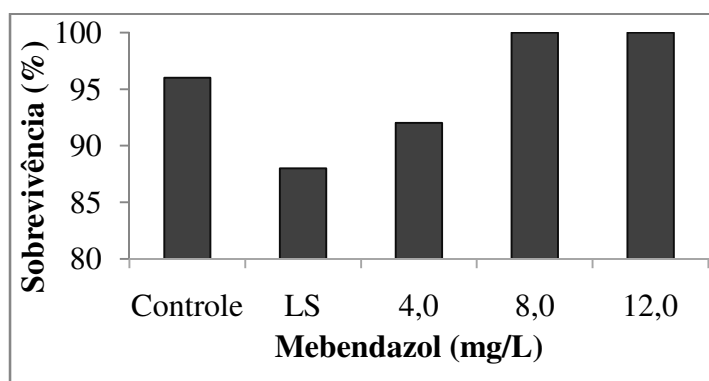
Não foi possível determinar a CL  $CL_{50-24h}$  para tainhas em banhos com o MBZ (Tabela 2). A sobrevivência dos juvenis de tainhas não foi afetada diante da exposição a estes químicos. Com estes resultados não foi possível determinar a concentração letal média e estimar intervalos de doses a serem aplicadas no experimento de eficácia.

**Tabela 2:** Valores de sobrevivência juvenis de tainhas no teste da CL50, durante 24 horas, em exposição a diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ), combinado à lecitina de soja (LS) (2,0 mg/L).

Concentração Letal Média (CL50)										
Concentração (mg/L)	0 controle	LS	0,5	1,0	2,0	3,0	5,0	7,0	9,0	12,0
Sobrevivência (%)	90	91,5	93,3	96,7	93,3	100	90	90	70	90

Tendo em vista a impossibilidade de estimar a CL 50 para o MBZ combinado a LS, então foram escolhidas doses para realização do teste definitivo, tendo como base as doses de Führ (2012), utilizadas em estudo anterior com o MBZ em tainhas.

Nestes ensaios, o grupo controle apresentou sobrevivência de 96%, o grupo exposto a 2,0 mg/L de LS teve sobrevivência de 88%. A sobrevivência do grupo exposto a 4,0 mg/L foi de 92%. As maiores taxas de sobrevivência ocorreram nos grupos expostos com 8,0 e 12,0 mg/L, 100%, respectivamente (Figura 1).



**Figura 1:** Sobrevivência de tainha (*Mugil liza*) após banhos terapêuticos de longa duração (24 horas) em diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ), associado a lecitina de soja (LS) (2,0 mg/L).

Os parasitos identificados a partir dos peixes necropsiados de cada tratamento foram os monogênóides *Ligophorus cf. uruguayense* e *Solostamenides cf. platyorchis*, e

Digenea (espécies não identificadas) parasitando o intestino delgado. O uso da abreviação *cf.* nos nomes específicos de *Ligophorus uruguayense* e *Solostamenides platyorchis*, é utilizado aqui como forma de informar que a identificação destas espécies é ainda preliminar e serão utilizados apenas aqui. Assim as próximas citações destas espécies serão feitas sem o “*cf.*”.

Os resultados dos índices parasitológicos mostraram que houve diferença na prevalência de *L. uruguayense* nas concentrações de 4,0 e 8,0 mg/L, quando comparados entre si, porém foram iguais ao controle (Tabela 3). A intensidade média de infecção/infestação não apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para nenhum parasito encontrado nos diferentes grupos de tratamento. Semelhantemente não houve diferença estatística na abundância média (Tabela 3).

**Tabela 3:** Índices Parasitológicos de Juvenis de Tainha (*Mugil liza*), expostos a diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ) combinado a lecitina de soja (2,0 mg/L) através de banhos terapêuticos com duração de 24 horas.

Parasitos	Índices Parasitológicos	Concentrações (mg/L)				
		Controle	Lecitina	4,0	8,0	12,0
<i>Ligophorus uruguayense</i>	PN	19	20	15	20	20
	PP	11	11	4	13	11
	IMI	5,45 a	2,64 a	3,00 a	6,08 a	8,36 a
	P(%)	57,9 a	55,0 a	26,7 ab	65,0 ac	55,0 a
	MA	3,2 a	1,5 a	0,8 a	4,0 a	4,6 a
<i>Solostamenides platyorchis</i>	PN	19	20	16	22	19
	PP	2	2	0	0	0
	IMI	1,0 a	1,0 a	0	0	0
	p(%)	10,5 a	10,0 a	0	0	0
	MA	0,3 a	0,2 a	0	0	0
Digenéticos	PN	19	20	15	20	20
	PP	2	0	0	0	0
	IMI	1,00	0	0	0	0
	p(%)	10,0	0	0	0	0
	MA	0,1	0	0	0	0

(PN) peixes Necropsiados; (PP) Peixes Parasitados; (IMI) Intensidade média infecção/infestação; (P%) Prevalência, (MA) Abundância média.

\*Valores seguidos de letras minúscula diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações de exposição.

*Solostamenides platyorchis* foi observado apenas no grupo controle e LS, a

prevalência foi 10,5% (controle) e 10,0% (LS), a intensidade média de infestação foi 1,0 em ambos os grupos, a abundância média foi 0,3 (controle) e 0,3 (LS), não houve diferença estatística nestes índices parasitológicos (Tabela 3).

Os parasitos digenéticos foram observados apenas no grupo controle, com prevalência de 10,0%, intensidade média de infecção e abundância média foram 0,1.

Após os banhos de 24 horas utilizando o Mebendazol (4,0; 8,0 e 12,0 mg/L) combinado a lecitina de soja (2,0 mg/L) em juvenis de tainhas, foi observado eficácia de 54,1% (LS) e 74,5% do fármaco na concentração de 4,0 mg/L na eliminação de *L. uruguayense* (Tabela 4).

A eficácia do MBZ na eliminação de *S. platyorchis* foi de 5% no grupo exposto a LS e de 100% em (4,0; 8,0 e 12,0 mg/L, respectivamente. A eliminação de Digenea foi igual a 100% nos grupos LS; 4,0; 8,0 e 12,0 mg/L, respectivamente (Tabela 4).

**Tabela 4:** Eficácia (%) de diferentes concentrações de Mebendazol (MBZ), combinado a lecitina de soja (2,0 mg/L) em banhos terapêuticos de 24 horas contra monogenéticos (*Ligophorus uruguayense* e *Solostamenides platyorchis*) e Digenea.

Tratamentos mg/L	Eficácia (%)		
	<i>L. uruguayense</i>	<i>S. platyorchis</i>	Digenéticos
LS	54,1	5	100
4,0	74,7	100	100
8,0	0	100	100
12,0	0	100	100

#### 4. DISCUSSÃO

A água constitui o elemento principal para a sobrevivência e desenvolvimento dos peixes (Boyd 1990, Boyd & Tucker 1998). Em ambiente natural as condições físicas e químicas geralmente são mantidas em equilíbrio garantindo boa sobrevivência (Kubitza & Kubitza 1999). No entanto quando se trata de ambiente de criação, onde os peixes são mantidos confinados, as variáveis de qualidade da água são mais facilmente alteradas favorecendo o surgimento e desenvolvimento de doenças (Boyd 1982, Kubitza 2000). Portanto, para cada ambiente de criação e ensaios experimentais é indispensável monitorar e manter os parâmetros de qualidade de água dentro da faixa de conforto para a espécie com base em resultados de estudos anteriores (Paperna 1991, Kubitza & Kubitza 1999). A qualidade de água foi mantida estável durante o experimento isso contribuiu para o controle de outros fatores que poderiam interferir nos resultados obtidos. Estes resultados

foram semelhantes ao observados por Schmahl & Benini (1997) onde não houve alteração nas variáveis de qualidade da água após a introdução do MBZ. Já Buchmann & Bjerregaard (1990) observaram alterações nos parâmetros físico-químicos da água, após exposição de *Anguilla* sp., enguia europeia, ao MBZ com um ligeiro aumento na concentração de nitrato de amônia e oxigênio. No presente trabalho o MBZ não alterou as variáveis de qualidade da água nos grupos tratados, estas diferenças entre os estudos comparados podem ser atribuídas a fatores como grau de pureza do MBZ utilizado, densidade de estocagem, biologia da espécie de peixe e local de manutenção dos peixes (Tavares-Dias *et al.* 2001, Swanepoel *et al.* 2003, Urbinati & Carneiro 2004). Além disso, se considerarmos a sua origem orgânica, seria esperado que a adição da LS pudesse promover alguma alteração importante na qualidade da água. No entanto isso também não foi observado, reforçando a viabilidade de sua utilização.

No presente estudo as tentativas de determinar a  $CL_{50-24h}$  para o uso do MBZ em tainhas, não houve mortalidade média maior ou igual a 50% dos peixes submetidos à nenhuma das concentrações testadas. Em testes de tolerância ao MBZ Buchmann & Bjerregaard (1990) verificaram que enguias eram resistentes a concentrações com um amplo espectro (1-100 mg/L<sup>-1</sup> durante 72 h). Mas os mesmos autores constataram que apenas em 500 mg/L houve mortalidade letal. Neste contexto o MBZ combinado a LS não foi uma substância potencialmente tóxica para tainhas, sendo estas então pouco sensíveis aos químicos MBZ e LS.

No experimento de eficácia, a sobrevivência dos peixes expostos à lecitina de soja parece ter sido afetada após 24 horas de banho. Embora tenha ocorrido maior mortalidade nesse grupo (LS), essa mortalidade não foi superior a 50%. Não foi encontrada uma explicação plausível para esta mortalidade, nem sequer se de fato estaria relacionada ao uso desta substância. Essa baixa mortalidade dos peixes expostos a MBZ também foi reportado por Katharios *et al* (2006) onde observaram mortalidade cumulativa dos peixes (*Pagrus pagrus*) de 12,07% e 7,34%, a mortalidade ocorria durante ou no dia seguinte do tratamento. Katharios *et al* (2006) também destacam a rápida recuperação do apetite e vitalidade dos peixes. Schmahl & Benini (1997) reportam que “espinhela” Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) também foi tolerante à ação do MBZ. Resposta semelhante foi observada no presente estudo. As maiores concentrações (8,0 e 12,0 mg/L) de MBZ combinado a LS (2,0 mg/L) não influenciaram na sobrevivência das tainhas.



Os banhos com o MBZ foram eficazes (74,7%) apenas em 4 mg/L contra *L. uruguayense*, dentre as espécies encontradas no presente estudo, esta se mostra mais resistente aos tratamentos. Führ (2012) encontrou eficácia de 56,9 e 65,8% em 3 e 5mg/L, respectivamente, para *L. uruguayense*, após banhos de 24 horas com o MBZ em tainhas. A eficácia um pouco maior para a mesma espécie, no presente estudo, sugere que a lecitina possa contribuir na eliminação de *L. uruguayense*.

Buchmann & Bjerregaard (1990) verificaram que 1 mg/L de MBZ foi suficiente para remover *Pseudodactylogyrus* sp. parasitando *Anguilla anguilla*, dosagem eficaz inferior a concentração (4,0 mg/L) eficaz para eliminação de *L. uruguayense* no presente estudo. A diferença entre a sensibilidade de cada espécie parasita à ação de um mesmo fármaco mostra a importância de estudos direcionados e específicos a fim de criar diretrizes para tratamentos que visem diminuir as perdas por mortalidade causada por esses agentes. Com vistas nestes resultados essas diretrizes não podem ser estipuladas com uma visão generalista, pois não há uma igualdade de respostas entre as diferentes espécies de parasitas. Mellergaard (1990) estudando as mesmas espécies ao testar o MBZ (1mg/L entre 1-24 horas) concluiu que banhos de longa duração foram mais eficazes e Fhür (2012) chegou a mesma conclusão. Mellergaard (1990) realizou a amostragem dos parasitas diariamente, diferenciando-os em pós-larvas e adultos. A eliminação dos parasitas ocorreu em 4 dias após o tratamento. Esses resultados evidenciam que são necessárias diferentes concentrações e métodos de amostragem para alcançar um bom nível de eficácia.

Mellergaard (1990) também elucidou a relação de tempo-dependência, neste caso o tratamento a logo prazo foi recomendado, pois houve uma maior eliminação dos parasitas quando tratados por um tempo maior. Semelhante resposta foi observada por Katharios *et al.* (2006) onde obtiveram prevalência de 100% para *Microcotyle* sp. em pargo (*Pagrus pagrus*) após tratamento com o MBZ (400 mg/L por 1 hora), portanto sem nenhuma eficácia em 1 hora de exposição. Portanto, a exposição durante um período maior de tempo favorece evidentemente a eficácia do MBZ. Buchmann (1993) observaram eficácia na eliminação de *Dactylogyrus minutus* e baixo índice infestação por pós-larvas, ao submeter *Cyprinus carpio* a banhos com o MBZ. O MBZ também foi eficaz na eliminação de microsporídios (*Gluge anomala*) infectando “espinhela” Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) (Schmahl & Benini 1997). No entanto, dependendo da forma polimórfica do MBZ pode ocorrer variação da solubilidade e na função terapêutica (Swanepoel *et al.*

2003). A baixa solubilidade apresentada pelo MBZ pode ser em última instância, a responsável pelas eventuais lesões verificadas em brânquias de juvenis de *M. liza* (Führ et al. 2012) tratados com este anti-helmíntico, sem a combinação com a LS.

No presente estudo foi observada eficácia da LS na eliminação de *S. platyorchis* e Digenea, porem são resultados inconclusivos, mais estudos, portanto são necessários de maneira mais específica em relação à LS.

Führ (2012) verificou a eficácia anti-helmíntica do MBZ de 70 e 100% nas concentrações de 1mg/L e 2mg/L, respectivamente, na eliminação de *S. platyorchis* em *M. liza*. No presente estudo eficácia foi de 100% em 4,0; 8,0 e 12,0 mg/L. Estes resultados indicam que *S. platyorchis* é mas susceptível a ação do MBZ em concentrações acima de 2,0 mg/L e, para poder atingir uma maior porcentagem de eliminação a adição de LS se faz desnecessária, o mesmo não ocorre com *L. uruguayense*.

A sobrevivência de tainhas neste trabalho sugere um baixo potencial tóxico do MBZ e da LS sobre os peixes utilizados nos ensaios. Os resultados do presente trabalho indicam o MBZ combinado a LS como um fármaco potencial para o controle de *L. uruguayense*, em forma de banhos com duração de 24 horas. Contudo é importante frisar que os tratamentos são uma forma de manejo que como qualquer outra pratica na criação de peixes, podem interferir no equilíbrio homeostático, configurando situações de estresse (Katharios et al., 2006; Schalch et al., 2009; Onaka, 2009). Por isso, quando possível, é recomendado o manejo de forma adequada a fim de manter o equilíbrio orgânico e assim diminuir o risco a saúde dos animais (Tavares-Dias et al., 2001).

Taraschewsk et al. (1988) relataram que o MBZ via banho foi ineficaz na eliminação do nematódeo *Anguillicola crassus*, os autores consideram esse método de aplicação inviável devido a insolubilidade do MBZ em água. Em contra partida o presente estudo mostra que banhos com o MBZ foram altamente eficaz na eliminação de Digenea, e embora insolúvel em água a combinação deste fármaco com a lecitina agregou uma eficácia positiva via banho.

Por outro lado a eficácia do MBZ na eliminação do endoparasita *Proteocephalus ambloplitis*, um cestoda, foi reportada por Boonyaratpalin & Rogers (1984), porem neste caso os tratamentos foram administrados através de injeção intraperitoneal e via oral. Os resultados do presente estudo se somam aos de Boonyaratpalin & Rogers (1984), mostrando a eficácia do MBZ na eliminação de endoparasitas, nos diferentes métodos de

administração, contudo tendo a LS como alternativa para viabilizar sua eficácia em administração via banho.

Führ et al. (2012) também demonstraram que 3 mg/L de MBZ foi eficaz 41,4% via banho na eliminação de *Digenea* parasitando tainhas. Os resultados do presente estudo foram superiores aos de Führ (2012), no entanto neste estudo a eficácia alcançada foi superior (100%) em apenas 4 mg/L, indicando mais uma vez o potencial da LS.

Esses resultados também reforçam o pensamento de Schmahl *et al.* (1988) ao qual destacam a necessidade de investigação específica de antiparasitários em decorrência das diferenças biológicas das espécies, tanto parasito como hospedeiro.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARCELLOS, LJG, LC KREUTZ, RM QUEVEDO, I FIOREZE, AB SOSO, L CERICATO, M FAGUNDES, J CONRAD, R BALDISSERA, A BRUSCHI & F. RITTER. 2004. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture*, 232: 383-394.
- BOEGER, WA & RT VIANNA. 2006. Monogenoidea. *In*: THATCHER, EV. (Ed.). Amazon Fish Parasites. Sofia-Moscow: Pensoft, p. 508.
- BOONYARATPALIN, S & WA ROGERS. 1984. Control of the bass tapeworm, *Proteocephalus ambloplitis* (Leidy), with mebendazole. *J. Fish Dis.*, 7: 449-456.
- BOYD, CE. 1982. Water quality management for pond fish culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 9. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. 317p.
- BOYD, CE. 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Alabama: Birmingham Publishing Co. 482 p.

- BOYD, CE & CS TUCKER. 1998. Pond aquaculture water quality management. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers. 700 p.
- BUCHMANN, K. 1993. Epidemiology and control of *Pseudodactylogyros* infections in intensive eel culture systems: recent trends. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 328:66-7.
- BUCHMANN, K & J BJERREGAARD. 1990. Mebendazole treatment of *Pseudodactylogyrosis* in an intensive eel-culture system. *Aquaculture*, 86:139-153.
- BUSH AO, K LAFFERTY D, JM LOTZ & WA SHOSTAK. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.*, revisited. *J. Parasitol.*, 83(4): 575-583.
- FONSECA NETO, JC & HL SPACH. Sobrevivência de juvenis de *Mugil platanus*, Günter, 1880 (Pisces, Mugilidae) em diferentes salinidades. *Bol. Inst. Pesca*, 25: 13-17.
- FROEHLICH, PE & FS GASPAROTTO. 2005. Mebendazol: identificação das formas polimórficas em diferentes matérias-primas e medicamentos (referência e genéricos) disponíveis no mercado nacional. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 26: 205-210.
- FÜHR, F. 2012. Toxicidade e eficácia antiparasitária do Mebendazol em juvenis de tainha *Mugil liza*. Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande, p. 64.
- FÜHR, F, J PEREIRA JR., LA ROMANO & FM ALMEIDA. 2012. Gill injury after treatment with mebendazole on mullets *Mugil liza*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 32(5): 151 -158.
- HUMASONG, L. 1979. Animal tissue techniques, 4<sup>th</sup> ed. W. H. Freeman and Co., San Francisco, 661 p.
- KATHARIOS, P, N PAPANDROULAKIS & P DIVANACH. 2006. Treatment of *Microcotyle* sp. (Monogenea) on the gills of cage-cultured red porgy, *Pagrus pagrus*

- following baths with formalin and mebendazole. *Aquaculture*, 251: 167– 171.
- KNOFF, M & WA BOEGER. 1994. Expanded description of the female of *Lernaeenicus longiventris* Wilson, 1917, (Copepoda, Siphonostomatoida, Penellidae) based on specimens from *Mugil platanus* Günther, 1880 (Perciformes, Mugilidade) of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 89: 313-317.
- KUBITZA, F. 2000. Tilápias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. *Panorama da Aquicultura*, 10: 44-53.
- KUBITZA, F & LMM KUBITZA. 1999. Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados. *Panorama da Aquicultura*. 3 ed. Jundiaí. 96 pp.
- MEHLHORN, H. 2001. Encyclopedic reference of Parasitology: Diseases, treatment and Therapy. Berlin, Heidelberg: Springer. 676 p.
- MELLERGAARD, S. 1990. Mebendazole treatment against *Pseudodactylogyrus* infections in eel (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture*, 91:15-21.
- MORAES, FR & ML MARTINS. 2004. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Cyrino *et al.* (Ed.). São Paulo: TecArt. 343-386 pp.
- NOGA, EJ. 2000. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. Library of Congress Catalogin. Iowa State University edition. 367 pp.
- OKAMOTO, MH, LA SAMPAIO & AP MAÇADA. 2006. Efeito da temperatura sobre o crescimento e a sobrevivência de tainha *Mugil platanus* (Günther, 1880). *Atlântica*, 28: 61-66.
- ONAKA, EM, ML MARTINS & FR MORAES. 2003. Eficácia do Albendazol e

- praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasitos de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. *B. Inst. Pesca*, 29: 101 – 107.
- ONAKA, EM. 2001. Eficácia do mebendazol e do levamisol no controle de parasitos monogenóides e eventuais alterações no hemograma de pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista. Centro de Aqüicultura. Jaboticabal. 104 p.
- ONAKA, EM. 2009. Principais parasitoses em peixes de água doce no Brasil. In: TAVARES-DIAS, M. (Org). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, p. 536-574.
- ONO, EA. 2005. Cultivar Peixes na Amazônia: Possibilidade ou Utopia? *Panorama da Aqüicultura*, 15: 41- 48.
- OSTRENSKY, A, JR BORGHETTI & D SOTO. 2008. Aquicultura no Brasil. O desafio é crescer. Brasília, DF, 276 p.
- PAHOR-FILHO, E, KC MIRANDA-FILHO & JP JÚNIOR. 2012. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354–355: 111-116.
- PAPERNA, I. 1991. Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish *Ann. Rev. Fish Dis.*,1: 155-194.
- PAVANELLI, GC, JC EIRAS & RM TAKEMOTO. 2002. Doenças de Peixes. Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento. Universidade Estadual de Maringá. 2. ed. 305 p.
- RÓZSA, L, J REICZIGEL & G MAJOROS. 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. *J. Parasitol.* 86: 228–232.

- SCHALCH, SHC, FR MORAES & VE SOARES. 2009. Praziquantel, levamisole and diflubenzuron in the control of *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) and *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Rev. bras. Parasitol. Vet.*, 18: 53-59.
- SCHMAHL, G & J BENINI. 1997. Treatment of fish parasites. 11. Effects of different benzimidazole derivatives (Albendazole, Mebendazole, Fenbendazole) on *Glugea anomala*, Moniez, 1887 (Microsporidia): Ultrastructural aspects and efficacy studies. *Parasitol. Res.*, 84:41-49.
- SIGMA STAT [computer program]. Version 3.5: Statistical software. SPSS-INC. 2007.
- SIQUIER, GF & MO NÚÑEZ. 2009. *Ligophorus uruguayense* sp. nov. (Monogenea, Ancyrocephalidae), a gill parasite from *Mugil platanus* (Mugiliformes, Mugilidae) in Uruguay. *Acta. Parasitol.*, 54(2): 95–102.
- SWANEPOEL, E, W LIEBENBERG & MM VILLIERS. 2003. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazole polymorphs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 55:345-49.
- TARASCHEWSKI, H, C RENNER & H MEHLHORN. 1988. Treatment of fish parasites. 1988, *Parasitol. Res.*, 74: 281-289.
- TAVARES-DIAS, M, EFS SANDRIM, FR MORAES & PCF CARNEIRO. 2001. Physiological responses of “tambaqui” *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress. *B. Inst. Pesca*, 27 (1): 43 – 48.
- THONEY, DA & WJ HARGIS. 1991. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Annu. Ver. Fish. Dis.*, 1: 123-153.

URBINATI, EC & PCF CARNEIRO. 2004. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. P. 171-193. *In*: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt. 533 p.

WEDEMEYER, GA. 1996. Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. Chapman & Hall, New York. 232 p.

ZAGATTO, PA & E BERTOLETTI. 2006. Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. Editora Rima, São Carlos, 478p.



## Conclusões Gerais

Levando em consideração a baixa eficiência dos banhos em curta duração, independente da concentração, não se recomenda este método e tempo de tratamento contra *Ligophorus uruguayense*.

Em 30 minutos as concentrações 1,5 e 2,0 mg/L são mais viáveis no controle de *Solostamenides platyorchis*, já 0,5 mg/L é a concentração recomendado para eliminação digenéticos neste tempo de administração.

Melhor eficácia ocorreu no tratamento com o PZQ se diluição em álcool e combinado a LS onde teve a eficácia maior e em mais concentrações na eliminação de *L. uruguayense* e *S. platyorchis*, um indicativo de que a lecitina de soja favoreça o potencial antiparasitário do praziquantel na eliminação deste parasito em banho com duração de 24 horas.

Para o MBZ combinado a LS a única concentração eficaz na eliminação de *L. uruguayense* foi 4 mg/L administrado durante 24 horas. Todas as concentrações foram eficazes na eliminação de *S. platyorchis* e digenéticos.

Conclui-se que o PZQ sem diluição em Álcool e combinado a lecitina soja possa ser um fármaco de escolha para tratamento de *L. uruguayense* e *S. platyorchis* parasitos de tainhas, uma vez que houve melhor eficácia em doses mais baixas do que ao MBZ. E, para atingir 100% de eficácia na eliminação de digenéticos podem-se utilizar banhos de 24 horas com o PZQ diluído em álcool e combinado LS ou MBZ combinado a LS.

## Sugestões

Em estudos futuros outros aspectos devem ser examinados. Seguem sugestões de estudos que podem complementar as lacunas que se evidenciaram com este estudo.

1. Monitorar o período de eventual reinfecção dos parasitos monogenóide após o tratamento.
2. Testar diferentes densidades de estocagem e associá-las a eficácia do tratamento.
3. Testar efeitos e eficiência do praziquantel administrado via oral.
4. Investigar o período de depleção do praziquantel no tecido muscular de tainhas.
5. Testar o praziquantel associado a outros antiparasitários, em tratamento via oral e banhos.
6. Estipular eficácia necessária de antiparasitários, a fim de que estes sejam utilizados em peixes, tendo como parâmetro os teleósteos.
7. Fazer análise residual do mebendazol na musculatura de juvenis de tainhas.
8. Fazer testes *in vitro* apenas com o parasita exposto ao mebendazol, verificando o tempo e concentração exata necessária para paralisar ou matar o parasita.
9. Verificar os efeitos que o PZQ e o MBZ causa sobre o peixe e sobre o parasita.
10. Analisar por período prolongado para verificar a presença ou formação, evolução ou diminuição das alterações histopatológicas.
11. Testar outros veículos utilizados na indústria farmacêutica, em terapêuticas via banho e via oral em peixes.
12. Avaliar os efeitos do PZQ, MBZ e LS sobre a saúde dos peixes.