

## **Benzocaína como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*)**

Luís Antônio Kioshi Aoki INOUE,<sup>1</sup> Cristiano dos SANTOS NETO<sup>2</sup> & Gilberto MORAES<sup>1\*</sup>

### **RESUMO**

A benzocaína é um dos principais anestésicos utilizados para imobilização de peixes durante o manejo, sendo, entretanto, ainda pouco estudados seus efeitos fisiológicos sobre os peixes tropicais. O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica Adaptativa da Universidade Federal de São Carlos com o objetivo de avaliar o tempo de indução à anestesia por doses crescentes de benzocaína em juvenis de matrinxã, *Brycon cephalus*. Foram utilizados 63 juvenis com peso médio e comprimento total médio de 112 g e 20 cm, respectivamente. Foram testadas 7 concentrações de benzocaína (40, 45, 50, 55, 60, 65 e 70 mg/l), avaliando-se o tempo de indução à anestesia em preparação à biometria. Os valores de tempo de indução à anestesia apresentaram decréscimo significativo ( $P < 0,05$ ) em relação às crescentes doses de benzocaína. Observou-se que 60 mg de benzocaína por litro foi suficiente para anestésiar juvenis de matrinxã em aproximadamente 1 minuto.

Palavras-chave: Benzocaína; Anestesia; Peixe; Matrinxã; *Brycon cephalus*.

### **ABSTRACT**

#### **Benzocaine as anesthetic for juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*)**

Benzocaine is one of the most important anesthetics for fish immobilization in the course of handling; however, its physiological effects on the tropical fish are few scarcely studied. The present work was carried out in the Adaptive Biochemistry Laboratory at the Federal University of São Carlos with the purpose of evaluate the induction time of anesthesia by increasing concentrations of benzocaine over juveniles matrinxã (*Brycon cephalus*). A total of 63 juveniles

1. Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, C.P. 676, CEP 13565-905, São Carlos, SP.

2. Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, C.P. 676, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brasil.

\* Autor para correspondência: gil@power.ufscar.br.

with average weight of 112 g and average total length 20 cm respectively were used. Seven concentration of benzocaine were tested (40, 45, 50, 55, 60, 65, and 70 mg/l) and the induction time of anesthesia was evaluated in the course of biometry. The time of anesthesia induction decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in accordance to increasing concentration of benzocaine. It was observed that 60 mg of benzocaine per liter was enough to anesthetize juveniles matrinxã in approximately 1 minute.

Key words: Benzocaine; Anesthesia; Fish; Matrinxã; *Brycon cephalus*.

## INTRODUÇÃO

Dentre as diversas práticas de manejo realizadas nas unidades de produção e pesquisa com peixes, a biometria é certamente uma das mais relevantes, pois a utilização dos dados biométricos permite monitorar o crescimento e, conseqüentemente, o manejo e a produção de biomassa em determinado período. Nesse sentido, durante a biometria de muitas espécies de peixes é necessária a imobilização dos indivíduos devido à sua movimentação excessiva durante o manejo. Espécies como o matrinxã (*Brycon cephalus*) são naturalmente muito ativas e relativamente agressivas. O manuseio dessa espécie em cativeiro gera um nível adicional de estresse com inúmeras conseqüências altamente indesejáveis. O manuseio, sem a devida cautela, de exemplares de matrinxã em cativeiro predispõe a ferimentos na superfície do corpo, à perda de escamas e à posterior agressão entre os espécimes. Esse fato favorece a manifestação de organismos patogênicos, podendo provocar a morte (Durville & Collet, 2001).

O matrinxã, peixe originário da Bacia Amazônica, vem sendo cultivado em todo o País, apresentando excelentes índices zootécnicos com aproveitamento satisfatório sob alimentação artificial, tanto de origem animal quanto vegetal (Cyrino et al., 1986). Além disso, sua aceitação pelos consumidores é bastante favorável nos mercados dos Estados da região amazônica e nas demais regiões do País, onde é grande sua importância nos estabelecimentos de comercialização de peixes vivos pelo sistema pesque-pague.

Vários produtos, como a benzocaína, a triclaína metanosulfonato (MS-222), o 2-fenoxietanol e o eugenol, são descritos como anestésicos para as diversas espécies de peixes tropicais (McCarter, 1992; Gomes et al., 2001; Roubach et al., 2001; Sladky et al., 2001). Para essas espécies as doses devem ser empregadas em concentrações mínimas, a fim de que ocorra adequada anestesia e eficiente recuperação dos animais submetidos ao manejo. Os critérios de escolha de um anestésico têm sido usualmente a disponibilidade e a acessibilidade de preço no mercado (Iwama & Ackerman, 1994). Assim, a benzocaína (etil 4-amino

benzoato), por satisfazer os critérios anteriores e ser de fácil manipulação, é um produto que vem sendo bastante utilizado no Brasil.

Diversos são os estágios de anestesia descritos na literatura (Woody et al., 2001), classificados de acordo com os graus de perda de equilíbrio e alterações na frequência dos batimentos operculares. Dessa forma, a determinação do intervalo de tempo adequado para que os peixes atinjam determinados estágios de anestesia é de fundamental importância para o correto planejamento do manejo de peixes. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração de benzocaína que proporciona efeito anestésico em juvenis de matrinxã no menor intervalo de tempo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes utilizados no presente trabalho foram obtidos a partir de reprodução artificial em unidade de produção comercial de alevinos, Piscicultura Águas Claras, em Mococa, SP. Os animais foram mantidos nas instalações do Laboratório de Bioquímica Adaptativa da Universidade Federal de São Carlos por 5 meses. Os peixes foram estocados em sistema de criação superintensivo, em tanques com capacidade de 2.000 litros, com circulação fechada e aeração constante. Os peixes foram alimentados diariamente com ração comercial contendo 30% de proteína bruta e 3.500 kcal de energia bruta por quilograma de ração.

Foi preparada uma solução alcoólica de benzocaína (solução mãe), de acordo com Roubach & Gomes (2001). Aquários de 4 litros de água foram utilizados em triplicata para testar o efeito da benzocaína empregada nas concentrações finais de 40, 45, 50, 55, 60, 65 e 70 mg/l. Durante a realização dos testes, a água dos aquários estava sob aeração constante.

Os banhos em soluções anestésicas foram conduzidos a partir das concentrações menores, sendo trocada a água dos aquários após o teste de cada concentração. Três peixes foram anestesiados, sendo um indivíduo em cada aquário, de forma a permitir a observação e o registro do tempo (em segundos) no momento exato em que os mesmos atingissem o estágio 3 de anestesia, conforme Woody et al. (2001) (Tabela I). Ao atingir esse estágio, cada peixe foi submetido a biometria e transferido para outro tanque de criação com as mesmas condições iniciais do trabalho, onde permaneceram em observação por mais um mês. Durante os experimentos, foram monitoradas as condições químicas e físicas da água: pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica.

TABELA I Características comportamentais dos peixes de acordo com os diferentes estágios de anestesia.

Estágio	Característica de comportamento
1	Diminuição visível de movimentos operculares.
2	Perda parcial de equilíbrio e dificuldade de manter direção horizontal de nado.
3	Perda total de equilíbrio e incapacidade de recuperar a posição vertical de nado (“barriga para cima”).
4	Ausência de reação a qualquer estímulo.
Recuperado	Posição vertical de nado e capacidade de nadar normalmente.

Fonte: Woody et al. (2001).

Por meio do emprego dos programas Graphpad/Instat e Minitab, os dados foram analisados com teste de médias e ajuste de regressão exponencial, tendo sido adotado o nível de significância  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

O tempo de anestesia foi visivelmente decrescente, de acordo com as doses progressivas de benzocaína, mostrando também que as variações (desvio-padrão da média) desse parâmetro decresceram nas concentrações mais altas dessa substância (Tabela II).

A expressão matemática que descreve o tempo de indução à anestesia em função da concentração de benzocaína (Fig. 1) foi:  $T = 10^8 B^{-3,431}$ , sendo que T corresponde ao tempo de indução à anestesia (s), e B, à concentração de benzocaína (mg/l) no banho anestésico.

Nenhum exemplar anestesiado ofereceu resistência ao manuseio, sendo todos os peixes facilmente pesados e medidos, indicando que o estágio de anestesia utilizado no presente estudo foi suficiente para a execução da biometria. Todos os peixes recuperaram-se bem da anestesia e da biometria, não sendo observados peixes mortos mesmo decorrido um mês do experimento.

As variáveis químicas e físicas de qualidade da água (pH = 6,8; temperatura =  $25,7^\circ\text{C} \pm 0,9^\circ\text{C}$ ; oxigênio dissolvido =  $5,66 \text{ mg/l} \pm 0,07 \text{ mg/l}$ ; e condutividade elétrica =  $74,3 \mu\text{S/cm} \pm 4,8 \mu\text{S/cm}$ ) permaneceram dentro das condições ideais para a cultura de organismos aquáticos (Arana, 1997). Todos os peixes utilizados no presente estudo atingiram satisfatoriamente o estágio 3 de anestesia em menos de 10 minutos (Tabela II).

TABELA II Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) de tempo de indução à anestesia (s), peso (g) e comprimento (cm) em banhos anestésicos com benzocaína para juvenis de matrinxã.

Concentração de benzocaína (mg/l)	Tempo de indução (s)	Peso (g)	Comprimento (cm)
40	396,3 $\pm$ 138,9 <sup>a</sup>	104,5 $\pm$ 22	19,3 $\pm$ 1,3
45	327,4 $\pm$ 104,6 <sup>a</sup>	97,8 $\pm$ 19	18,7 $\pm$ 1,1
50	124,4 $\pm$ 65,0 <sup>b</sup>	117,2 $\pm$ 31	20,2 $\pm$ 1,3
55	83,8 $\pm$ 22,3 <sup>b</sup>	112,8 $\pm$ 20	20,3 $\pm$ 0,8
60	66,0 $\pm$ 16,7 <sup>c</sup>	117,2 $\pm$ 18	20,4 $\pm$ 0,9
65	56,4 $\pm$ 11,2 <sup>c</sup>	126,7 $\pm$ 22	21,1 $\pm$ 1,3
70	47,3 $\pm$ 5,0 <sup>c</sup>	108,3 $\pm$ 30	20,3 $\pm$ 1,5

Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

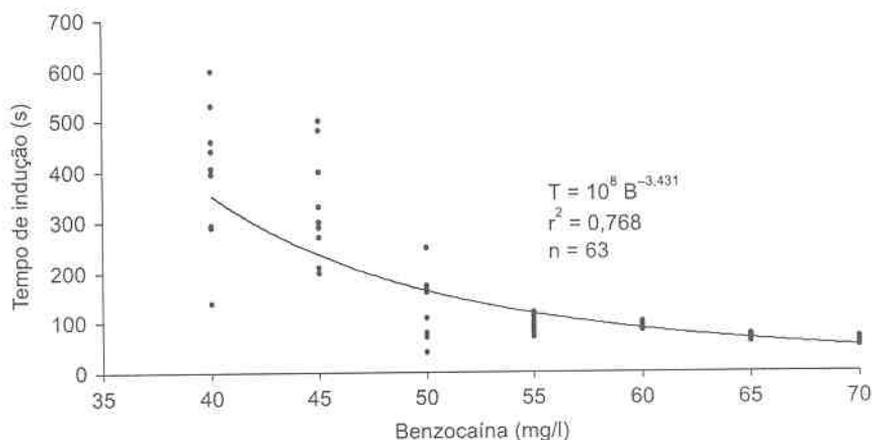


Fig. 1 – Relação entre o tempo de indução anestésica (T) em juvenis de matrinxã e a concentração de benzocaína (B).

## DISCUSSÃO

A benzocaína é um anestésico de grande importância no País, sendo bastante utilizada por piscicultores em razão do custo acessível no mercado, apresentando

também risco mínimo de intoxicação aos operadores (Gomes et al., 2001). Roubach & Gomes (2001) recomendam o uso de luvas durante o manuseio de peixes anestesiados em banhos de benzocaína.

No presente trabalho comprovou-se a eficiência da benzocaína como anestésico para juvenis de matrinxã, os quais necessitaram de 6,6 a 0,7 minutos para atingir o estágio 3 de anestesia, no intervalo de concentração entre 40 e 70 mg/l, respectivamente.

O intervalo de tempo em relação às concentrações de benzocaína denota a ação anestésica e a resposta comportamental dos peixes, possibilitando o uso desse anestésico de acordo com o tempo necessário para realizar determinado manejo.

É possível que a eliminação da benzocaína da corrente sanguínea do matrinxã ocorra rapidamente nos primeiros instantes, pois os peixes retornaram ao equilíbrio na água sem anestésico em aproximadamente 1 minuto, em todas as concentrações testadas. Observações semelhantes foram feitas por Ross & Ross (1999) em salmonídeos. Meinertz et al. (1996) relatam que em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) a eliminação da benzocaína foi relativamente rápida nos primeiros 20 minutos após injeções intra-arterial desse produto químico. Também foi observado que em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e bass (*Micropterus salmoides*) a eliminação da benzocaína foi rápida no tecido muscular após exposições de até 15 minutos a esse produto químico (Allen, 1988).

Diferentes anestésicos, entre eles a benzocaína, são utilizados em várias espécies de peixes, porém observa-se escassez de protocolos de utilização e legislação sobre a toxicidade e a conduta de uso de anestésicos na produção de peixes para fins de consumo humano (Iwama & Ackerman, 1994).

O MS-222 ou tricaína-metano-sulfonato é o único anestésico para peixes aprovado pelo FDA (US – Food and Drug Administration), embora seja necessário adotar um período de carência de no mínimo 21 dias para o consumo dos peixes (Meinertz et al., 1996; Woody et al., 2001). Somado a esse fato, o MS-222 apresenta elevado preço no mercado nacional, sendo ainda necessária uma concentração aproximadamente três vezes superior à benzocaína para que ocorra a eficiente anestesia de juvenis de matrinxã (Roubach et al., 2001). O uso de benzocaína é uma alternativa para anestésiar peixes em unidades de piscicultura e laboratórios de biologia de peixes, devendo, ainda, ser realizados estudos para avaliar variáveis fisiológicas, como hematócrito e glicose plasmática, no sentido de ampliar os dados concernentes às respostas fisiológicas da espécie em estudo.

## CONCLUSÃO

A benzocaína apresenta em juvenis de matrinxã efeito anestésico eficiente em aproximadamente 1 minuto, quando utilizada na concentração mínima de 60 mg/l.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Piscicultura Águas Claras (Mococa, SP, Brasil), pela doação dos alevinos de matrinxã, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 141595/01-9), pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- ALLEN, J. Residues of benzocaine in rainbow trout, largemouth bass, and fish meal. *Prog. Fish Cult.*, v. 50, p. 59-60, 1988.
- ARANA, L. *Princípios químicos e físicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões*. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1997. 166 p.
- CYRINO, J.E.P.; CASTAGNOLLI, N.; PEREIRA-FILHO, M. Digestibilidade da proteína de origem animal e vegetal pelo matrinxã (*Brycon cephalus* Günther, 1869) (Eusteiostei, Characiformes, Characidae). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 4., 1986, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso; Funep, 1986. p. 49-62.
- DURVILLE, P.; COLLET, A. Clove oil used as anaesthetic with juvenile tropical marine fish. *SPC Live Reef Fish Inf. Bull.*, v. 9, p. 17-19, 2001.
- GOMES, L.; CHIPPARI GOMES, A.; LOPES, N.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. World Aquacult. Soc.*, v. 32, n. 4, p. 426-431, 2001.
- IWAMA, G.K.; ACKERMAN, P.A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Eds.). *Analytical techniques*. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. p. 1-15 (Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, v. 3).
- MCCARTER, N. Sedation of grass carp and silver carp with 2-phenoxyethanol during spawning. *Prog. Fish Cult.*, v. 54, p. 263-265, 1992.
- MEINERTZ, J.; STEHLY, G.; GINGERRICH, W. Pharmacokinetic of benzocaine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intraarterial dosing. *Aquaculture*, v. 148, p. 39-48, 1996.
- ROSS, L.; ROSS, B. *Anesthetic & sedative techniques for aquatic animals*. London: Blackwell Science, 1999. 157 p.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Panor. Aquicult.*, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.; VAL, A.L. Safest level of tricaine methanesulfonate (MS222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus*. *Acta Amazon.*, v. 31, n. 1, p. 159-163, 2001.

SLADKY, K.; SWANSON, C.; STOSKOPF, M.; LOOMIS, M.; LEWBART, G. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetic in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *Am. J. Vet. Res.*, v. 62, n. 3, p. 337-342, 2001.

WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails. *J. Fish Biol.*, v. 60, n. 2, p. 340-347, 2001.