

**AVALIAÇÃO DOS ANESTÉSICOS 2-PHENOXYETHANOL  
E BENZOCAÍNA NO MANEJO DO MATRINXÃ  
*Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869)**

***Luís Antônio Kioshi Aoki INOUE<sup>1</sup>, Araceli HACKBARTH<sup>1</sup> & Gilberto MORAES<sup>1\*</sup>***

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Genética e Evolução - CNPq (141595/01-9), Capes (BEX 1154/03-6), CP 676 – 13565905 - São Carlos – SP – Brasil.

\* Autor para correspondências: Fax 16 3351 8377; e-mail: gil@power.ufscar.br

**ABSTRACT** – ASSESSMENT OF 2-PHENOXYETHANOL AND BENZOCAINE AS ANESTHETICS FOR FIELD PROCEDURES IN MATRINXÃ *Brycon cephalus* (Günther, 1869). Matrinxã *Brycon cephalus* is a Characidae species from Brazil that has been reared in our fish farms with excellent growth and feed conversion ratios. Furthermore, matrinxã has good characteristics for sport fishing industry that requires aggressive and fierce fish to attack fish baits. However, matrinxã management has been complicated by the intensive movements that fish does during handling and other field procedures as biometry, tags and surgeries. 2-phenoxyethanol and benzocaine have been indicated in matrinxã handling, but little information is available about matrinxã responses to such anesthetics. The present work evaluated the biochemical and physiological responses of matrinxã exposed to 2-phenoxyethanol and benzocaine through the values of blood hematocrit, and plasma values of glucose, lactate, total ammonia, ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ) and protein. Both, 2-phenoxyethanol and benzocaine, were suitable to induce anesthesia in matrinxã (Benzocaine – 20 mg/L, 2-phenoxyethanol – 250 mg/L), but only benzocaine could be indicated to induce deep anesthesia (Benzocaine – 60 mg/L, 2-phenoxyethanol – 600 mg/L) in matrinxã.

**Key words** : matrinxã *Brycon cephalus*, 2-phenoxyethanol, benzocaine, anesthetics.

**RESUMO** - O matrinxã *Brycon cephalus* vem ganhando espaço na piscicultura nacional como ótimo produto para a pesca esportiva nos estabelecimentos de pesque-pague, além de apresentar excelentes características zootécnicas de crescimento e conversão alimentar. Entretanto, o matrinxã, devido à sua super movimentação durante o manejo, pode seriamente se machucar, propiciando a manifestação de patógenos e/ou posterior morte. O 2-phenoxyethanol e a benzocaína vêm sendo amplamente empregados no Brasil com bons resultados na imobilização do matrinxã, entretanto, o uso desses anestésicos requer maiores esclarecimentos. Dessa forma, o presente trabalho visa descrever as principais respostas fisiológicas e metabólicas do matrinxã ao 2-phenoxyethanol e a benzocaína. Juvenis de matrinxã foram submetidos a banhos anestésicos de 2-phenoxyethanol e benzocaína para a indução de anestesia leve (Benzocaina – 20 mg/L, 2-phenoxyethanol – 250 mg/L) e anestesia profunda (Benzocaina – 60 mg/L, 2-phenoxyethanol – 600 mg/L), sendo examinados os valores sanguíneos de hematócrito, bem como os plasmáticos de glicose, lactato, amônia total, sódio, cloreto, potássio e proteína. Nossos resultados indicam boas perspectivas no uso desses anestésicos para o matrinxã na indução à anestesia leve. Para a indução a anestesia profunda, no entanto, somente a benzocaína apresentou-se satisfatória.

**Palavras-chave**: matrinxã *Brycon cephalus*, 2-phenoxyethanol, benzocaína, anestésicos.

## INTRODUÇÃO

O matrinxã é um peixe da bacia amazônica de extrema importância no Brasil, devido ao grande valor econômico e social na sua região de origem, bem como notável produto nos estabelecimentos de pesca esportiva, localizadas nas diferentes regiões do país (CARNEIRO & URBINATI, 2001).

Entretanto, de maneira contrária a suas excelentes características para a pesca esportiva, o matrinxã por ser um peixe extremamente agitado e voraz tem apresentado seu manejo bastante complicado, pois a movimentação excessiva dos peixes pode propiciar que os animais se machuquem durante as diferentes práticas de campo, como a biometria e a transferência de tanques. É comum também o relato de significativa perda de escamas, propiciando a manifestação de patógenos e/ou posterior morte.

O uso de anestésicos no manejo do matrinxã tem sido assunto de bastante interesse entre os profissionais das áreas de aquicultura e biologia de peixes, que sempre buscam novas alternativas e esclarecimentos no que tange às restrições ao uso, a segurança aos operadores e os efeitos colaterais dos anestésicos (CARNEIRO & URBINATI, 2001; ROUBACH & GOMES, 2001).

Nesse sentido, o 2-phenoxyethanol e a benzocaína são de extrema importância, pois o primeiro, apesar de sua baixa disponibilidade no mercado e alto custo, tem características seguras para o operador e anti-sépticas para os peixes, já a benzocaína é bastante utilizada, pois tem baixo custo no mercado nacional, boa disponibilidade e baixo risco aparente de intoxicação aos operadores (ROUBACH & GOMES, 2001; GOMES *et.*, 2001).

Segundo diversos autores (WAMA & ACKERMAN, 1994; HATTINGH, 1976), os efeitos das práticas de campo podem ser avaliados através de diversos parâmetros metabólicos e iônicos que indicam a severidade de determinado manejo. Assim os valores plasmáticos de glicose, lactato, amônia e íons (sódio, potássio e cloreto) são boas ferramentas na avaliação do manejo realizado em diversos locais, que rotineiramente manuseiam peixes vivos.

O presente trabalho visa avaliar o uso do 2-phenoxyethanol e da benzocaína no manejo do matrinxã, quantificando-se algumas das suas principais respostas fisiológicas e bioquímicas à anestesia leve e profunda. Nossos dados também têm a finalidade de contribuir para o aperfeiçoamento das técnicas de manuseio do matrinxã, rotineiramente empregadas em condições de campo e de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos, primeiramente para a benzocaína e posteriormente para o 2-phenoxyethanol.

A estocagem e a aclimação dos peixes foram realizadas em 4 caixas de 200 litros de água em sistema de circulação fechada nas instalações do Laboratório de Bioquímica Adaptativa da Universidade Federal de São Carlos. A aclimação dos peixes ocorreu por 15 dias, sendo monitorada a qualidade da água (temperatura  $25.7 \pm 0.9$  °C, oxigênio dissolvido  $5.66 \pm 0.07$  mg/L, condutividade  $74.3 \pm 4.8$   $\mu$ S.cm e pH 7.0), e os peixes alimentados duas vezes ao dia.

As doses de 2-phenoxyethanol e de benzocaína utilizadas no presente estudo foram anteriormente testadas com relação aos tempos de indução a anestesia, correspondendo aos intervalos de 250 e 600 mg/L, e 40 e 70 mg/L, respectivamente (INOUE; SANTOS NETO; & MORAES, 2004; INOUE; SANTOS NETO & MORAES, 2002).

Os procedimentos experimentais foram conduzidos como se segue:

- Controle – os peixes foram somente amostrados.
- T<sub>1</sub> - anteriormente à amostragem, os peixes foram retirados das caixas, colocados em aquários de 30 L por 10 min e retornados para as caixas de origem por mais 10 minutos.
- T<sub>2</sub> - anteriormente a amostragem, os peixes receberam o mesmo manejo conduzido em T<sub>1</sub>, sendo, entretanto, adicionados nos aquários de 30 L os anestésicos benzocaína (1º experimento) e 2-phenoxyethanol (2º experimento), respectivamente nas

doses de 20 mg/L e 250 mg/L, a fim de se obter anestesia leve do matrinxã (INOUE; SANTOS NETO & MORAES, 2004; INOUE; SANTOS NETO & MORAES, 2002).

- T<sub>3</sub> - anteriormente à amostragem, os peixes receberam o mesmo manejo conduzido em T<sub>1</sub>, sendo, entretanto, adicionados nos aquários de 30 L os anestésicos benzocaína (1º experimento) e 2-phenoxyethanol (2º experimento), respectivamente nas doses de 60 mg/L e 600 mg/L, a fim de se obter anestesia profunda do matrinxã (INOUE; SANTOS NETO & MORAES, 2004; INOUE; SANTOS NETO & MORAES, 2002).

Cada grupo tinha 10 peixes ( $46.1 \pm 6.2$  g e  $15.3 \pm 0.8$  cm), sendo todos coletados para retirada de sangue através de seringas previamente heparinizadas. O sangue foi logo em seguida centrifugado em microcapilares a 14400 g por 3 minutos para determinação dos valores de hematócrito (GOLDENFARB *et al.*, 1971). Alíquotas de sangue foram também centrifugadas em tubos a 14400 g por 3 min para obtenção de plasma para os ensaios de glicose (DUBOIS, 1956), lactato (HARROWER & BROWN, 1972), amônia total (GENTZKOW & MASEN, 1942), proteína (LOWRY *et al.*, 1951), e cloreto (APHA, 1980) através de métodos colorimétricos. Os valores plasmáticos de sódio (Na<sup>+</sup>) e potássio (K<sup>+</sup>) plasmáticos foram determinados através de fotômetro de chama (Digimed- DM61).

As análises estatísticas foram realizadas em cada experimento através do método não paramétrico de Kruskal Wallis, com significância  $P < 0.05$ , seguido por teste de médias de Dunn ( $P < 0.05$ ).

## RESULTADOS

Não foi observada mortalidade de peixes no desenvolvimento dos protocolos experimentais. O matrinxã apresentou valores de hematócrito significativamente mais elevados quando submetido à anestesia profunda através do 2-phenoxyethanol e da benzocaína (Fig. 1). Os valores de glicose plasmática foram

significativamente mais elevados devido ao uso do 2-phenoxyethanol para anestesia profunda em T<sub>3</sub> (Fig. 2).

Os valores de lactato plasmático aumentaram significativamente em T<sub>1</sub>. Entretanto, o 2-phenoxyethanol proporcionou menor produção de lactato em T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, enquanto a benzocaína diminuiu a produção de lactato apenas em T<sub>3</sub> (Fig. 2). A excreção nitrogenada foi prejudicada em T<sub>3</sub>, somente quando utilizado o 2-phenoxyethanol (Fig. 2).

As respostas iônicas foram distintas para os dois anestésicos. O balanço eletrolítico do matrinxã apresentou-se constante no que se refere ao sódio plasmático. O 2-phenoxyethanol promoveu decréscimo na concentração de cloreto em T<sub>2</sub> e de potássio em T<sub>3</sub>. A proteína plasmática aumentou em T<sub>3</sub>. A benzocaína proporcionou somente menores perdas de íons cloreto em T<sub>3</sub>.

## DISCUSSÃO

Ambos os anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína vêm sendo bastante empregados no Brasil com bons resultados na imobilização de peixes, garantindo condições seguras para o manuseio dos peixes durante a biometria, injeções, marcação, cirurgias e outras operações, rotineiramente realizadas nas unidades de pesquisas e piscicultura.

Os estágios de anestesia de peixes descritos na literatura sempre levam em consideração as alterações na frequência dos batimentos operculares e da capacidade de equilíbrio do animal na coluna de água (Tab. II). Assim, o matrinxã em T<sub>2</sub> esteve em estágio 3 de anestesia, caracterizado por apresentar perda de algum batimento opercular com perda de equilíbrio. Já os peixes de T<sub>3</sub> estiveram em estágio 4 de anestesia, apresentando perda total de equilíbrio e batimentos operculares, não respondendo a qualquer estímulo externo (WOODY, NELSON & RAMSTAD, 2001).

Foi possível observar através do aumento nos valores de hematócrito que o 2-phenoxyethanol e a benzocaína provavelmente induziram uma contração esplênica no matrinxã, quando submetido à anestesia profunda. O aumento dos valores de hematócrito no matrinxã submetido à anestesia profunda pode ter sido causado também pelo aumento do volume das

hemáceas da espécie em questão (TORT *et al.*, 2002). Outros estudos de CARNEIRO & URBINATI (2001), URBINATI & CARNEIRO (2001) e TORT *et al.*, (2002) indicam que o matrinxã e a truta não têm aumento dos valores de hematócrito em baixas concentrações de 2-phenoxyethanol (500 mg/L) e de benzocaína (20 mg/L), respectivamente.

O aumento da glicose plasmática é conhecido como um bom indicador de estresse de peixes em condições de campo, similares àquelas em que o matrinxã foi submetido no presente estudo (HATTINGH, 1976). Os peixes em situação de estresse geralmente fazem uso de suas reservas hepáticas de glicogênio através da glicogenólise, disponibilizando energia para o organismo fugir ou se adaptar as novas condições ambientais (IWAMA, MCGEER & PAWLUK, 1989; IWAMA *et al.*, 2004). Esta alteração metabólica foi evidenciada nos peixes submetidos a anestesia profunda através do 2-phenoxyethanol, apresentando valores de glicose plasmática aumentados. Logo, a anestesia profunda através do 2-phenoxyethanol foi aparentemente mais severa ao matrinxã do que a mesma induzida pela benzocaína.

O 2-phenoxyethanol diminuiu os valores de lactato plasmático em T<sub>2</sub> e em T<sub>3</sub>, sugerindo que esse anestésico foi eficiente na imobilização da espécie em questão, sem prejudicar a respiração durante os procedimentos experimentais. Já a benzocaína apresentou essa característica somente em T<sub>2</sub>, enquanto que em T<sub>3</sub>, provocou aumento nos valores de lactato plasmático, podendo indicar uma situação prejudicial à respiração do matrinxã (IWAMA, MCGEER & PAWLUK, 1989).

Como os peixes anestesiados sofreram uma grande redução nas funções nervosas e cardio-respiratórias (SUMMERFELT & SMITH, 1990), ocorreu sensível diminuição dos batimentos operculares e do fluxo sanguíneo, dificultando a excreção nitrogenada e as trocas iônicas através das brânquias. Isso pode explicar o aumento da amônia e da proteína plasmática em T<sub>3</sub> do 2-phenoxyethanol, já que o peixe profundamente anestesiado não consegue transportar adequadamente os metabólitos para os tecidos, nem retirar as excretas das células. As mesmas afirmações são válidas para as alterações iônicas do matrinxã observadas em T<sub>3</sub>

do 2-phenoxyethanol, pois os peixes não puderam regular suas trocas iônicas com o meio de maneira apropriada (SLADKY *et al.*, 2001).

O 2-phenoxyethanol e a benzocaína trazem benefícios para a indução de anestesia leve no matrinxã, enquanto que somente a benzocaína apresenta alterações fisiológicas brandas na indução de anestesia profunda nessa espécie. A benzocaína trouxe menos efeitos colaterais na anestesia profunda do matrinxã, além de ser um anestésico mais potente, necessitando de menores concentrações para se anestésiar peixes.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nossos amigos do Laboratório de Bioquímica Adaptativa do Departamento de Genética e Evolução – DGE/UFSCar - pela assistência durante o presente trabalho. Recebemos apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (161595/01-9) e Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior CAPES (BEX 1154/03-6).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. **Standard methods for determinations of water and wastes**. 12 ed. Washington, DC: Join Editorial board. 1980.
- CARNEIRO, P. & URBINATI, E. Plasma Electrolyte Disturbance in Matrinxã *Brycon cephalus* transported under influence of benzocaine. **Journal of Applied Aquaculture**. v. 11. n. 4. 2001. p. 1-13.
- DUBOIS, M. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.** v. 28. 1956. p. 350-358.
- GENTZKOW, C.J.; MASEN, J.M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **Journal of Biological Chemistry**, v. 143. 1942. p. 531-544.
- GOLDENFARB, P.B., BOWYER, F.P., HALL, E., BROSIOUS, E. (1971). Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **Am. J. Clin. Path.** v. 56. 1971. p. 35-39.
- GOMES, L.; CHIPARI – GOMES, A.; LOPES, N.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C. Efficacy of benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**. v. 32. n. 4. 2001. p. 426-431.

- HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. Blood lactic acid. A micromethod adaptes to field collection of microliter samples. **Journal of Applied Physiology**. v. 32. 1972. n. 5. p. 224-228.
- HATTINGH, J. Blood sugar as an indicator of stress in the freshwater Labeo capensis. **Journal of Fish Biology**. V. 10. 1976. p. 191-195.
- INOUE, L.A.K.A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Standardization of 2-phenoxyethanol as anesthetic for juvenile matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869): the use in field procedures. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 34, n. 2, 2004. p. 563-565.
- INOUE, L.A.K.A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Benzocaina como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Boletim Técnico do Cepta**. Pirassununga, v. 15, 2002. p. 23-30.
- IWAMA, G.; MCGEER, J.; PAWLUK, M. The effects of five fish anesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. **Canadian journal of zoology**. v. 67. 1989. p. 2065-2073.
- IWAMA, G.; ACKERMAN, A. Anaesthetics In. HOCHACHKA, P.; MOMMSEN. **Analytical Techniques in Biochemistry and molecular biology of fishes**, v. 3. Amsterdam: Elsevier Science, 1994, Cap. 1. p. 1-15.
- IWAMA, G.; AFONSO, L.; TODGHAM, A.; ACKERMAN, P.; NAKANO, K. Are hsp suitable for indicating stressed states in fish? **The journal of experimental biology**. v. 207. 2004. p. 15-19.
- LOWRY, D.H., ROSENBROUGH, N.J., FAR, A.L., RANDAL, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. **J. Biol. Chem**. v. 193. 1951. p. 265.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aqüicultura**. v. 11. n. 66, 2001. p. 37-40.
- 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*). **American journal of veterinarian research**. v. 62. n. 3. 2001. p. 337-342.
- SUMMERFELT, R.; SMITH, L. Anesthesia, surgery, and related techniques. p. 213-272 in **Methods for fish biology**. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 1990. 684 p.
- TORT, L.; PUIGSERVER, M.; CRESPO, S.; PADRÓS, F. Cortisol and haematological response in sea bream and trout subjected to the anesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. **Aquaculture Research**. v. 33. 2002. p. 907-910.
- URBINATI, E.; CARNEIRO, P. Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleost: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine. **Journal of Aquaculture in the Tropics**. v. 16. n. 1. 2001. p. 75-85.
- WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails. **Journal of Fish Biology**, v. 60, n. 2, 2001. p. 340-347.

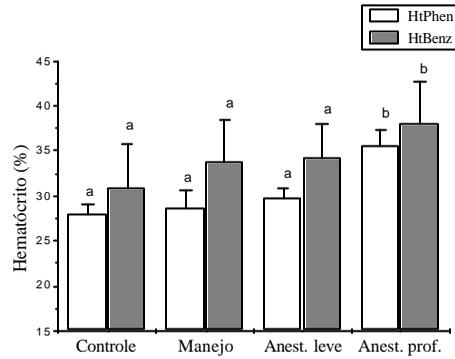
**Tabela I** - Valores plasmáticos de sódio, cloreto, potássio e proteína do matrinxã exposto ao 2-phenoxyethanol e à benzocaina (média ± se). Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> e K<sup>+</sup> estão expressos em mEq/L, e proteína em mg/ml. Grupos Controle – peixes somente amostrados; T<sub>1</sub> peixes manuseados; T<sub>2</sub> peixes manuseados para anestesia leve; T<sub>3</sub> peixes manuseados para anestesia profunda.

2- Phenoxyethanol	Parâmetros plasmáticos				
	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	Proteína	
Controle	150.8 ± 3.4	121.0 ± 2.4 <sup>a</sup>	4.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.01 <sup>a</sup>	
T <sub>1</sub>	147.7 ± 2.7	108.9 ± 4.1 <sup>a</sup>	4.2 ± 2.7 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.02 <sup>a</sup>	
T <sub>2</sub>	139.2 ± 4.2	103.1 ± 2.8 <sup>b</sup>	4.3 ± 4.2 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.01 <sup>a</sup>	
T <sub>3</sub>	157.1 ± 3.8	117.7 ± 3.8 <sup>a</sup>	2.7 ± 3.8 <sup>b</sup>	0.50 ± 0.02 <sup>b</sup>	
Benzocaina					
Controle	161.8 ± 4.0	95.2 ± 4.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.3	0.83 ± 0.13	
T <sub>1</sub>	171.0 ± 6.7	115.3 ± 3 <sup>b</sup>	2.8 ± 0.8	0.72 ± 0.10	
T <sub>2</sub>	164.8 ± 4.1	110.6 ± 0.9 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.1	0.63 ± 0.02	
T <sub>3</sub>	165.2 ± 9.5	91.1 ± 3 <sup>ac</sup>	1.5 ± 0.1	0.73 ± 0.12	

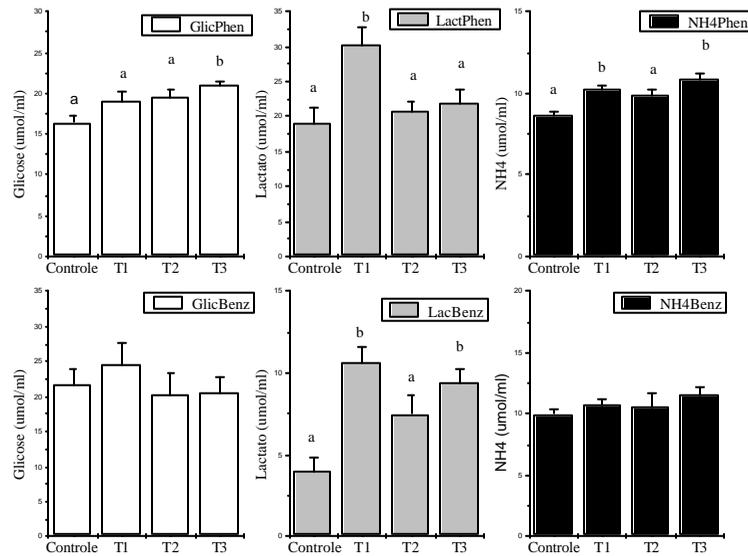
**Tabela II** - Características comportamentais dos peixes de acordo com os diferentes estágios de anestesia.

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; NELSON; RAMSTAD (2001).



**Figura 1** - Valores de hematócrito (%) do matrinxã, quando submetido ao manejo de banhos anestésicos com 2-phenoxyethanol e benzocaína.



**Figura 2.** Valores plasmáticos (média ± s.e.) de glicose, lactato e amônia no matrinxã submetido ao manejo de anestesia com 2-phenoxyethanol e benzocaína. Controle - peixes somente amostrados, T<sub>1</sub> peixes submetidos somente ao manuseio, T<sub>2</sub> peixes manuseados para anestesia leve, T<sub>3</sub> peixes manuseados para anestesia profunda.

Recebido: 15/06/2004.

Aceito: 29/11/2004.