



# NORMA TÉCNICA

L5.319

Jan/1980  
12 PÁGINAS

Determinação de causa mortis em peixes: atividades de laboratório

**Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**  
Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345  
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP  
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

<http://www.cetesb.sp.gov.br>

C E T E S B

DETERMINAÇÃO DE "CAUSA-MORTIS" EM PEIXES:

L5.319

ATIVIDADES DE LABORATÓRIO

SUMÁRIO

	Página
Introdução.....	1
1 Objetivo.....	1
2 Definições.....	1
3 Aparelhagem.....	3
4 Execução do ensaio.....	4
5 Resultados.....	5
Anexo A.....	7
Anexo B.....	11
Anexo C.....	13
Anexo D.....	15

INTRODUÇÃO

Mortandades de peixes podem ocorrer devido a uma variedade de causas, algumas de origem natural e outras provocadas pelo homem. As mortandades naturais são aquelas causadas por fenômenos tais como variações bruscas de temperatura, tempestades, decomposição de matéria orgânica natural, variações na salinidade, por desova e por doenças causadas por bactérias, vírus e parasitas. As mortandades provocadas pelo homem podem ser atribuídas aos resíduos industriais e municipais, atividades agrícolas e uso da água.

A Tabela I (Anexo B) apresenta um quadro dos tipos mais comuns de efluentes municipais e industriais e possíveis efeitos tóxicos nos peixes, que poderá fornecer subsídios para uma avaliação do potencial tóxico desses efluentes sobre os peixes.

1 OBJETIVO

Esta Norma aplica-se à obtenção e análise de dados para determinação de "causa-mortis" em peixes.

2 DEFINIÇÕES

2.1 Derme

Camada mais interna da pele dos peixes, de estrutura fibrosa, com poucas células, porém, bem mais espessa que a epiderme; contém vasos sanguíneos, nervos, órgãos sensoriais cutâneos, etc. As escamas formam-se a partir de material fornecido pela derme.

2.2 Epitélio

Tecido de revestimento da pele e das mucosas.

### 2.3 Escama

Anexo da pele, de origem dérmica.

### 2.4 Nadadeiras

Apêndices utilizados na locomoção dos peixes; podem ser pares e ímpares. As nadadeiras pares são a peitoral e a ventral e as ímpares são a anal, dorsal e caudal.

### 2.5 Brânquias

Unidades que constituem o órgão respiratório dos peixes, localizado na cavidade branquial, a qual é recoberta pelo opérculo nos peixes ósseos. Possuem uma estrutura lamelar e ricamente vascularizada que lhes permite efetuar as trocas gasosas com o meio.

### 2.6 Arco branquial

Estrutura de sustentação das brânquias.

### 2.7 Opérculo

Estrutura que recobre externamente os arcos branquiais.

### 2.8 Pedúnculo caudal

Porção terminal do peixe, anterior à nadadeira caudal.

### 2.9 Estômago

Órgão do aparelho digestivo que se localiza na 1ª porção da cavidade visceral e apresenta formas variadas, dependendo do tipo de alimentação.

### 2.10 Intestino

Órgão do aparelho digestivo de aspecto tubular e comprimento variável, onde ocorrem os processos químicos da digestão e absorção do alimento.

### 2.11 Fígado

Órgão de função glandular, anexo do aparelho digestivo, geralmente de forma lobular e coloração avermelhada.

### 2.12 Vesícula biliar

Órgão de forma geralmente esférica, ovoíde ou alongada, preenchida com bilis, uma secreção que, em condições normais, apresenta uma coloração amarela-esverdeada.

### 2.13 Gônadas

Glândulas genitais masculinas e femininas (testículos e ovários).

### 2.14 Bexiga natatória

Vesícula gasosa localizada na parte dorsal da cavidade abdominal que auxilia o movimento dos peixes.

### 2.15 Cristalino

Corpo redondo, firme e transparente, localizado na parte interna do olho.

### 2.16 Área necrótica

Parte morta num organismo vivo.

### 2.17 Cisto

Tumor formado por uma cápsula cujo conteúdo é líquido ou semi-líquido.

### 2.18 Furúnculo

Inflamação com pus.

### 2.19 Parasitas

Animais ou vegetais que se nutrem às custas de outros organismos.

### 2.20 Ictiômetro

Aparelho usado para medir o comprimento do peixe. Consiste de uma escala no sistema métrico fixada a uma estrutura de madeira ou plástico rígido.

### 2.21 Comprimento total

Medida horizontal desde a ponta do focinho até a extremidade da nadadeira caudal ligeiramente distendida.

### 2.22 Histologia

Estudo dos tecidos.

### 2.23 Estádios de maturidade sexual

Fase de desenvolvimento das gônadas masculinas e femininas. Estão definidos 7 estádios cujas caracterizações constam da norma técnica L5.305.

## 3 APARELHAGEM

### 3.1 Para preparação e execução de análises

#### 3.1.1 Balança.

#### 3.1.2 Ictiômetro.

#### 3.1.3 Material cirúrgico (ex.: tesouras, pinças, bisturis, estiletos e costômo).

#### 3.1.4 Bandejas de alumínio ou plástico.

3.1.5 Papel de alumínio,

3.1.6 Espátula.

3.1.7 Placas de Petri,

3.1.8 Microscópio binocular,

3.1.9 Estereomicroscópio,

3.1.10 Etiquetas autoadesivas,

3.1.11 Pipetas Pasteur.

3.1.12 Luvas cirúrgicas.

3.1.13 Sacos plásticos reforçados de diversos tamanhos.

### 3.2 Reagentes e soluções

3.2.1 Alcool 70%.

3.2.2 Formaldeído 40% (formol comercial), soluções a 5, 8 e 10% da solução original.

3.2.3 Ácido pícrico ou trinitrofenol p.a. solução saturada.

3.2.4 Ácido acético 10%.

3.2.5 Líquido de Bouin.

3.2.5.1 O Bouin ou picro-formol é um fixador muito penetrante, considerado como fixador universal. A sua preparação deve ser feita no momento do uso, com os seguintes componentes:

- ácido pícrico, solução aquosa saturada.....15 partes
- formaldeído 40% p.a..... 5 partes
- ácido acético glacial..... 1 parte

Fixar o material durante 24 horas. Pode-se conservar o material nesse fixador indefinidamente.

## 4 EXECUÇÃO DO ENSAIO

### 4.1 Procedimento

Os itens abaixo serão realizados no total ou em partes, adaptando-se ao tipo de investigação a ser realizada e deverão ser determinados pelo biólogo coordenador.

#### 4.1.1 Peixes mortos

4.1.1.1 Separar e identificar as espécies capturadas.

4.1.1.2 Retirar dados biológicos de cada exemplar, tais como, comprimento total (cm), peso total (g), sexo e estágio de maturidade.

4.1.1.3 Observar o peixe externa e internamente, seguindo o roteiro apresentado no Anexo A.

Nos Anexos B e C são apresentadas Tabelas que fornecem indicações quanto aos sinais e informações dos parâmetros que deverão ser analisados.

Dependendo das análises a serem efetuadas, deverão ser retirados órgãos ou partes da musculatura para detectar a presença de substâncias tóxicas e/ou estudos histológicos.

4.1.1.4 Quando para a determinação de infecção microbiana, acondicionar em papel de alumínio com os devidos cuidados de assepsia podendo ser conservado em refrigeração a 4 - 8°C por um período não superior a 24 horas. Enviar o mais rápido possível ao laboratório de análises microbiológicas.

4.1.1.5 Quando para a determinação de pesticidas e/ou metais pesados, após a extração de órgãos e/ou retirada de filés da musculatura, os mesmos deverão ser acondicionados em papel alumínio, etiquetados e enviados ao laboratório de análises químicas, em refrigeração.

#### 4.1.2 Peixes vivos

4.1.2.1 Efetuar observações no comportamento dos peixes vivos mantidos em aquários no laboratório.

#### 4.1.3 Água

4.1.3.1 Efetuar análises físico-químicas, microbiológicas, hidrobiológicas e bioensaios de toxidez (segundo APHA, 1975 e normas técnicas CETESB).

#### 4.1.4 Sedimento

4.1.4.1 Efetuar análises químicas para determinação de pesticidas e/ou metais pesados.

4.1.4.2 Efetuar determinação de bentos (segundo norma técnica CETESB).

### 5 RESULTADOS

Deverá ser realizado um relatório contendo basicamente os seguintes itens:

- a) histórico da ocorrência;
- b) descrição do local;
- c) atividades de campo;
- d) atividades de laboratório;
- e) resultados de:
  - observações dos peixes mortos;
  - observações dos peixes vivos;
  - bioensaios;

- exames hidrobiológicos;
  - análises físico-químicas (água, sedimento e peixes);
- f) conclusões;
- g) recomendações (quando possível).

.....  
.....  
\_\_\_\_\_

/Anexo A

REVOGADA

**ANEXO A - OBSERVAÇÕES A SEREM EFETUADAS NOS PEIXES**

Superfície do corpo

normal	<input type="checkbox"/>	pontos em azul escuro	<input type="checkbox"/>
o corpo em azul escuro	<input type="checkbox"/>	cinzento esbranquiçado	<input type="checkbox"/>
em manchas	<input type="checkbox"/>	em pontos (tufos)	<input type="checkbox"/>
áreas inchadas como furúnculos	<input type="checkbox"/>	lesões profundas com pus e sangue	<input type="checkbox"/>
áreas necróticas	separadas <input type="checkbox"/>	úlceras vermelhas e rosas	<input type="checkbox"/>
	contínuas <input type="checkbox"/>	necrose	cabeça <input type="checkbox"/>
	corpo (região) <input type="checkbox"/>		
	lábios <input type="checkbox"/>		

Granulações:

aparência vítrea	<input type="checkbox"/>	nas nadadeiras	<input type="checkbox"/>
aparência em pérolas	<input type="checkbox"/>	no corpo	<input type="checkbox"/>
tamanhos variáveis	<input type="checkbox"/>	cistos	<input type="checkbox"/>
localização dos cistos.....			

Parasitas:

pequenos	<input type="checkbox"/>	grandes	<input type="checkbox"/>
em que parte do corpo.....			

Nadadeiras:

normal	<input type="checkbox"/>	inchada	<input type="checkbox"/>
esfiapada	<input type="checkbox"/>	azul esbranquiçado	<input type="checkbox"/>
corroída	<input type="checkbox"/>	torcida	<input type="checkbox"/>
			necrótica <input type="checkbox"/>

Pedúnculo caudal:

inchado	<input type="checkbox"/>	necrótico	<input type="checkbox"/>	inflamado	<input type="checkbox"/>
azul esbranquiçado	<input type="checkbox"/>	presença de fungos em forma de tufos		<input type="checkbox"/>	

Opérculo - Arcos branquiais:

abertura maior que a normal	<input type="checkbox"/>	com manchas	inchados	<input type="checkbox"/>
hemorrágicos	<input type="checkbox"/>		branca	<input type="checkbox"/>
fundidos	<input type="checkbox"/>		marron	<input type="checkbox"/>
			cinza	<input type="checkbox"/>
			vermelho escuro	<input type="checkbox"/>
		vermelho pálido	<input type="checkbox"/>	



Exame microscópico (Microscópio Estereoscópico):

Arcos branquiais:

		grudados	<input type="checkbox"/>	formato de bastão	<input type="checkbox"/>
inchados	<input type="checkbox"/>	tufos em forma de algodão	<input type="checkbox"/>	vermelho pálido	<input type="checkbox"/>
formato de botão	<input type="checkbox"/>	esbranquiçados	<input type="checkbox"/>	hemorrágicos	<input type="checkbox"/>
cinzentos	<input type="checkbox"/>	rosa pálido	<input type="checkbox"/>		
vermelho escuro	<input type="checkbox"/>				

Olhos:

normal	<input type="checkbox"/>	opaco	<input type="checkbox"/>
manchas vermelhas na córnea	<input type="checkbox"/>	pequenas manchas no cristalino	<input type="checkbox"/>
falta de um olho	<input type="checkbox"/>	olhos esbugalhados	<input type="checkbox"/>
		ambos os olhos faltando	<input type="checkbox"/>

OBS: Anotar o olho anormal.

Musculatura:

lesões	<input type="checkbox"/>	furúnculo	<input type="checkbox"/>
muco	<input type="checkbox"/>	muco coagulado	<input type="checkbox"/>
		manchas vermelhas	<input type="checkbox"/>
quistos	}	duro (em grão de areia)	<input type="checkbox"/>
		preto	<input type="checkbox"/>
		amarelo	<input type="checkbox"/>

Cavidade corpórea:

aparência normal	<input type="checkbox"/>	presença excessiva de fluido	<input type="checkbox"/>
fluido	}	descolorado	<input type="checkbox"/>
		opaco	<input type="checkbox"/>
		sangrento	<input type="checkbox"/>

Membrana de revestimento interno:

manchas  vermes  cistos  hemorragia

**Trato intestinal:**

normal	<input type="checkbox"/>	vazio	<input type="checkbox"/>	cheio de comida	<input type="checkbox"/>
cheio de muco	<input type="checkbox"/>	incolor	<input type="checkbox"/>	avermelhado	<input type="checkbox"/>
pontos hemorrágicos	<input type="checkbox"/>	intestino posterior sanguinolento	<input type="checkbox"/>	amarelo	<input type="checkbox"/>
vermes no estômago	<input type="checkbox"/>	sangue na abertura anal	<input type="checkbox"/>		

**Fígado:**

normal	<input type="checkbox"/>	amarelo	<input type="checkbox"/>	cistos	<input type="checkbox"/>	outros.....
vermelho	<input type="checkbox"/>	marron	<input type="checkbox"/>	pálido	<input type="checkbox"/>	

**Vesícula biliar:**

amarelo esverdeado	<input type="checkbox"/>	preto azulado	<input type="checkbox"/>	clara como água	<input type="checkbox"/>
--------------------	--------------------------	---------------	--------------------------	-----------------	--------------------------

**Baço:**

vermelho	{	normal	<input type="checkbox"/>	pálido	<input type="checkbox"/>	enrugado	<input type="checkbox"/>
		escuro	<input type="checkbox"/>	inchado	<input type="checkbox"/>	com nódulos	<input type="checkbox"/>

/Anexo B

REVENO

## ANEXO B

TABELA 1 - Tipos mais comuns de efluentes municipais e industriais e ação tóxica nos peixes

Tipos de efluentes	Mudança na água que afetam os peixes							ação tóxica específica s/ peixes
	redução do O.D.	pH		aumento na condutância específica	aumento na turbidez	aumento na amônia	poluição na camada de fundo	
		aumento na acidez	aumento na alcalinidade					
<b>RESÍDUOS MINERAIS, POUCA AÇÃO BACTERIANA</b>								
1. silte de erosão	não	não	não	não	crítico	não	crítico	não
2. britagem de pedras calcáreas	sim	sim	possível	moderado	sim	sim	sim	sim
3. trabalhos com amianto	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	possível
4. minas	possível	possível	sim	sim	sim	sim	sim	possível crítico
5. drenagem de mina de carvão e ferro	sim	crítico	não	sim	não	sim	possível	possível
6. óleo cru	sim	não	sim	não	sim	sim	possível crítico	possível crítico
7. água salgada de poços de petróleo	não	sim	possível	crítico	sim	sim	não	sim
<b>RESÍDUOS ORGÂNICOS, AÇÃO BACTERIANA</b>								
8. esgoto municipal	crítico	possível	sim	possível	possível	crítico	possível crítico	sim
9. indústria de laticínios	sim	crítico	não	moderado	moderado	moderado	sim	possível
10. indústria de embalagem	sim	moderado	sim	sim	sim	crítico	crítico	sim
11. indústria de enlatados	sim	crítico	possível	sim	sim	sim	possível crítico	sim
12. cervejarias e destilarias	sim	não a moderado	não a moderado	sim	possível	possível	sim	sim
13. indústria de papel	possível crítico	possível	possível	possível	sim	sim	crítico	possível
14. serraria	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim
<b>PROCESSOS QUÍMICOS</b>								
15. resíduos de gases de carvão	possível	sim	sim	moderado	não	crítico	sim	crítico
16. lubrificantes usados	sim	sim	não	possível	sim	não	sim	possível crítico
17. refinarias de metal	não	sim	possível	sim	possível	possível	possível crítico	crítico
18. lavanderias	moderado	não	moderado crítico	moderado	moderado	moderado crítico	possível	possível
19. esgoto doméstico	sim	sim	crítico	crítico	sim	não	sim	crítico
20. pasta de sulfite	moderado crítico	possível	moderado crítico	moderado	sim	possível	possível crítico	sim
21. indústria química (a)	não	sim	sim	sim	possível	sim	não	sim
22. indústria química (b)	possível	crítico	não	sim	não	não	sim	sim
23. curtumes	moderado	possível crítico	possível crítico	sim	possível	possível crítico	crítico	sim
24. indústrias de corantes	possível	não a moderado	não a moderado	sim	não	não	possível	sim
25. indústrias de folhas de flandres e arames	não a possível	sim	sim	moderado	não a possível	sim	possível crítico	sim
26. indústrias de amido	possível crítico	sim	sim	sim	possível	possível	sim	sim
27. indústrias de tecidos	sim	possível crítico	sim	possível	moderado	sim	sim	possível

(Retirado de Lagler, K.F., 1977, 5ª ed.)

/Anc

**ANEXO C - TABELA 2 - ALGUNS SINTOMAS E SEUS AGENTES CAUSADORES**

SINTOMAS	PARÂMETROS A SEREM ANALISADOS
Filme sobre lamelas, pele e boca	Ácidos, metais pesados, trinitrofenol.
Branquias sem coloração, destruição do tecido epitelial das mesmas	Cloro.
Tecido das lamelas fundidas	Cobre, zinco, chumbo, detergentes, amoníaco, quinino.
Oclusão nos arcos branquiais	Turbidez, hidróxido de ferro precipitado.
Lamelas branquiais vermelho vivo	Cianeto.
Lamelas escuras	Fenóis, p.cresol, naftaleno, O.D.
Lamelas mais espessas	Gás sulfídrico.
Cobertura das lamelas distendidas	Fenol, cresol, amônia, cianetos.
Abdomen inchado	Inseticidas, parasitas internos.
Estômago azulado	Molibdênio
Destruição do epitélio intestinal	Cromo hexavalente, resíduos de fábrica de papel
Lesões no fígado	DDT, lindano, BHC, clordano, arsênio (As).
Vesícula distendida	Resíduos de fábrica de papel
Convulsões - peixe vivo	Produtos químicos diversos.

ANEXO D - BIBLIOGRAFIA

- D-1 AMLACHER, E.- Enfermedades de los peces. Ed. Acribia, Zaragoza, 319 pp. (1964).
- D-2 APHA - 1975. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 14 ed., N.Y.: 626 pp.
- D-3 COMISSÃO INTERNACIONAL DA BACIA PARANÁ-URUGUAI - Poluição e Piscicultura. Faculdade de Saúde Pública da USP/Instituto de Pesca/CPRM S.A., São Paulo, 216 pp. (1972).
- D-4 DOGIEL, V.A., PETRUSHEVSKI, G.K. & POLYANSKI; Yu. I. Parasitology of fishes. T.F.H. publication, Inc. U.S.A., 384 pp. (1970).
- D-5 FEDERAL WATER POLLUTION CONTROL ADMINISTRATION, DIVISION OF TECHNICAL SUPPORT. "Investigating Fish Mortalities" - FWPCA, USA (1970).
- D-6 HELLAWELL, J.M. - Biological Surveillance of Rivers. Water Research Centre. Stevenage Labor., England. 332 pp. (1978).
- D-7 LAEVASTU, T. - Manual de Métodos de Biología Pesquera. Ed. Acribia, Zaragoza, 243 pp. (1970).
- D-8 LAGLER, K.F. - Freshwater fishery biology. W.M.C. Brown Company Publishers, 421 pp. (1977).
- D-9 MUIRHEAD-THOMSON, R.C. - Pesticides and freshwater fauna. Academic Press, London and New York; 248 pp. (1971).
- D-10 NIKOLSKII, G.V. - Theory of fish population dynamics. Oliver & Boyd. Edinburg, 323 pp. (1969).
- D-11 Norma Técnica CETESB 15.310 - Determinação de "causa-mortis" em peixes. Atividades de campo.
- D-12 NORMAN, J.R. - A history of fishes. Greenwood, P.H. ed., Ernest Benn Limited, 3rd ed. London. 467 pp. (1975).
- D-13 Normas Técnicas CETESB - Determinações biológicas. Normalização Técnica Saneamento ambiental NT-06.
- D-14 STORER, T.I. & USINGER, R.I. - General Zoology. Mc Graw-Hill, New York, 741 pp. (1965).
- D-15 U.S.E.P.A. - Quality criteria for water. Pre-publication copy. U.S. Environmental Protection Agency. Washington. DC. 20460 (1976).
-