

## GATILHOS AMBIENTAIS IDENTIFICADO NA MANIFESTAÇÃO DA EMS/AHPNS Identificado em viveiros de produção da Fazenda Agrobest Sdn. Bhd./Malásia.

Matéria extraída da *Revista The Advocate Global Aquaculture*, Julho/Agosto de 2012 – pág. 16 a 17.  
Traduzido pelo Biólogo Marcelo Lima – Consultor Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC.



**Noriaki Akazawa**

Agrobest Malaysia Sdn. Bhd.  
Batu 20, Jalan Pekan-Nenasí  
26680 Pekan, Pahang, Malaysia  
agbna@yahoo.co.jp

**Mitsuru Eguchi**

Kinki University  
Naru, Japan'

### SUMÁRIO

Em pesquisas conduzidas para melhor entender a dinâmica biológica da EMS (Síndrome da Mortalidade Precoce), ou AHPNS (Síndrome da Necrose Aguda do Hepatopâncreas), na maior fazenda com sistema produtivo integrado da Malásia peninsular, os resultados indicaram que a doença oriunda de pós-larvas infectadas espalhou-se rapidamente por toda a fazenda. Análises de dados subsequentes e pesquisas conduzidas em aquários indicaram que a enfermidade se manifestou somente quando um determinado parâmetro ambiental, o pH, estava dentro de uma específica faixa de leitura. A taxa de sobrevivência melhorou significativamente quando o manejo deste parâmetro foi mantido fora da zona de susceptibilidade à EMS/AHPNS.

**Agrobest Sdn. Bhd.** é uma um grande sistema de produção integrada de camarão localizado no Estado de Pahang, na Malásia. A fazenda consiste de 461 viveiros revestidos com lonas plásticas, os quais possui tamanho médio de 0,75 hectares (7.500m<sup>2</sup>). No ano de 2010 a fazenda produziu aproximadamente 11.000 toneladas métricas do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei*, e 500 toneladas métricas do camarão tigre asiático *Penaeus monodon*.

A Síndrome da Mortalidade Precoce, também conhecida como Síndrome da Necrose Aguda do Hepatopâncreas (AHPNS), surgiu na Agrobest no início do mês de janeiro do ano de 2011 em cinco viveiros que foram estocados com larvas do mesmo laboratório a cerca de um mês anterior ao início do brote.

Enquanto a doença aparentava ter a origem nas larvas do referido laboratório, nem todos os viveiros estocados com larvas deste foram afetados. O "Bloom" de plâncton, nestes 5 viveiros afetados, apresentava-se com uma cor incomum (verde escuro) quase negro, cuja situação é comumente observada em

viveiros no estágio final de produção. Fatores ambientais pareciam ter apresentado um papel relevante na manifestação da enfermidade.

### **Disseminação horizontal**

No espaço de uma semana, depois do surgimento do brote nos primeiros cinco viveiros, muitos viveiros vizinhos foram afetados com a doença. Assim, no espaço de dois meses a enfermidade já tinha se disseminado por toda a fazenda. A mortalidade típica observada nos viveiros afetados foi de 70 a 80%, e todas as idades e tamanho de camarões cultivados foram afetados.

Baseado na expansão horizontal a partir do epicentro inicial, a enfermidade parecia ter sido causada por um patógeno virulento, mas os repetidos testes realizados para todas as viroses conhecidas se apresentaram negativos. A produção de camarão na Agrobrest declinou dramaticamente como aconteceu ao longo da Malásia. Pesquisas para entender melhor o comportamento AHPNS foi rapidamente incrementada.

### **Interação ambiental**

Nas pesquisas iniciais, alguns camarões estressados de viveiro afetado foram transferidos para um aquário com água limpa. Durante o período da manhã do dia da transferência os camarões estavam severamente estressados, exibindo coloração opaca do tecido da musculatura e ficaram imóveis no fundo do aquário. Esta situação observada neste primeiro experimento indicava que alta mortalidade poderia ser esperada. Entretanto pela parte da tarde os camarões deste aquário haviam recuperado a atividade e a coloração havia voltado ao normal. Eles continuaram a se comportar normalmente na semana seguinte, quando o experimento foi então finalizado.

No segundo experimento, alguns camarões não infectados foram transferidos para um aquário com água de um viveiro experimental que apresentava mortalidade decorrente da AHPNS. Os camarões colocados neste aquário permaneceram



inafetados, indicando que a água do viveiro infectado não foi necessariamente capaz de fazer brotar a enfermidade neste experimento.

No terceiro experimento, alguns camarões mortos recentemente (frescos) coletados em um viveiro infectado foram colocados em um aquário com camarões não infectados. Em alguns destes aquários os cadáveres de camarões frescos contaminados foram colocados dentro de caixas

imersas no aquário, a qual mantinha estes animais mortos fora do alcance dos animais vivos. Nenhuma mortalidade foi verificada neste ultimo experimento, mas a mortalidade iniciou em um ou dois dias no aquário que recebeu os cadáveres frescos de camarões mortos diretamente sem a proteção da caixa. Isto indicou que o

patógeno poderia ser transmitido por meio da exposição direta de camarões mortos infectados.

Apesar do surto generalizado na Agrobrest, alguns viveiros permaneceram inafetados, o que apoiou a hipótese da interação ambiental com o surgimento da enfermidade. Para melhor entender e manejar a AHPNS, a equipe técnica da Agrobrest intensificou as coletas de amostras de cada viveiro e uniram-se nas pesquisas com cientistas da Universidade de Kinki/Japão, para isolar, purificar e sequenciar o DNA do possível patógeno.

Uma revisão de dados de qualidade da água de aproximadamente 80 viveiros afetados e não afetados dentro de um mesmo mês indicaram muitas diferenças na qualidade da água, as quais foram correlacionadas com os brotes da enfermidade. Para determinar o período que algumas destas condições correlacionadas podem influenciar na expressão da AHPNS, aquários adicionais foram acrescentados ao experimento.

### **Gatilho ambiental**

A suspeita de possíveis gatilhos relacionados com a qualidade da água dentro dos viveiros afetados foi investigada pela manutenção dos parâmetros dentro de algumas faixas específicas. Nestes experimentos o pH foi sucessivamente identificado como a chave para o gatilho ambiental. Em pH baixo (ao redor de 7), a enfermidade repetidamente regredia, enquanto em faixas mais altas (8.5 a 8.8), a enfermidade repetidamente se manifestava.



Na futura validação deste achado, alguns camarões infectados foram colocados em aquário preenchido com água do viveiro que teve uma excelente despesca. Neste experimento assumimos que a qualidade da água deste viveiro era considerada adequada para evitar a expressão da AHPNS. No aquário onde o pH foi manipulado na zona suspeita de vulnerabilidade à AHPNS, a mortalidade foi induzida. Entretanto, no aquário onde a

qualidade da água foi mantida fora da zona de vulnerabilidade os sintomas da enfermidade não foram observados.

### **Histopatologia, microbiologia e transmissão.**

A habilidade da equipe da Agrobrest para controlar a expressão da AHPNS permitiu futuras pesquisas colaborativas na histopatologia, sequenciamento do DNA e formas de transmissão da enfermidade. A histopatologia de camarões infectados, feitos pelo Instituto Nacional de Pesquisa em Aquicultura (NRIA), no Japão, indicou uma disfunção do hepatopâncreas e descamação das células epiteliais dos túbulos. Durante as investigações foi observado que microsporídios (protozoa) também se multiplicavam no hepatopâncreas dos camarões infectados. O tecido do hepatopâncreas de camarões não infectados, e àqueles mantidos dentro da zona de

tolerância nos aquários mantidos na pesquisa, permaneceram normais e sem a multiplicação de bactérias e microsporídios.

Para determinar a sequência do DNA de patógenos bacterianos, a equipe da Agrobrest isolou bactérias do tecido do hepatopâncreas de camarões infectados e enviou para isolamento das colônias no Japão, onde pesquisadores da Universidade de Kinki, e do Instituto de Pesquisa em Aquacultura, amplificaram e sequenciaram o DNA usando a Cadeia de Reação da Polimerasa (PCR) que tiveram como alvo a sequência 16S do rDNA das bactérias alvos da pesquisa. Em caminho paralelo, pesquisadores da Universidade de Kinki e NRIA examinaram a qualidade da água e do sedimento de viveiros infectados e não infectados pela amplificação do DNA com primers 16S rDNA seguido pela diferenciação usando gel com gradiente de desnaturação.

Muitos tipos de bactérias foram identificados nos camarões, na água e nos sedimento dos viveiros infectados e não infectados. O gênero *Vibrio* foi o mais comum dentre os demais gêneros bacterianos encontrados, e uma das espécies pareciam corresponder ao *Vibrio pahaemolyticus*, mas esta identificação ainda não foi finalizada. Nenhuma diferença significativa na prevalência de bactérias, ou distribuição, foi encontrada entre os viveiros infectados e não infectados. Isto reforçou a hipótese de que a bactéria da AHPNS estava presente por toda a fazenda, mas somente os camarões presentes nos viveiros exposto para a susceptibilidade ambiental da AHPNS manifestaram a enfermidade.

Em pesquisas conduzidas em aquários, observou-se que os camarões infectados exibiam um comportamento anormal o que levou ao canibalismo por camarões não infectados mesmo diante da oferta de ração peletizada. Uma vez que o canibalismo foi iniciado a mortalidade de camarões não infectados rapidamente aumentou. Desta forma o canibalismo foi considerado ser o maior mecanismo de transmissão horizontal da AHPNS em viveiros de cultivo. Uma vez estabelecida na fazenda, a AHPNS reaparece nos subseqüentes ciclos de produção, sem importar a fonte do fornecimento de pós-larvas, redução da densidade estocada de 120 para 85cam/m<sup>2</sup>, tratamento químico da água por meio da cloração, e zero de renovação no recambio de água.

Em 2012, os esforços no manejo de viveiros visando manter a qualidade da água foram direcionados no sentido de mantê-la fora da zona de suscetibilidade à AHPNS. Resultados encorajadores foram encontrados, e as mortalidades típicas da enfermidade, que antes era de 70 a 80%, declinou para 20 a 30%. Entretanto, durante o outono de 2012, algumas recaídas na taxa de sobrevivência ocorreram devido a um conjunto de problemas com a qualidade da ração e da estabilidade da água. Depois das devidas correções dos mencionados problemas a produtividade foi retomada.

Natal, 29 de agosto de 2013.