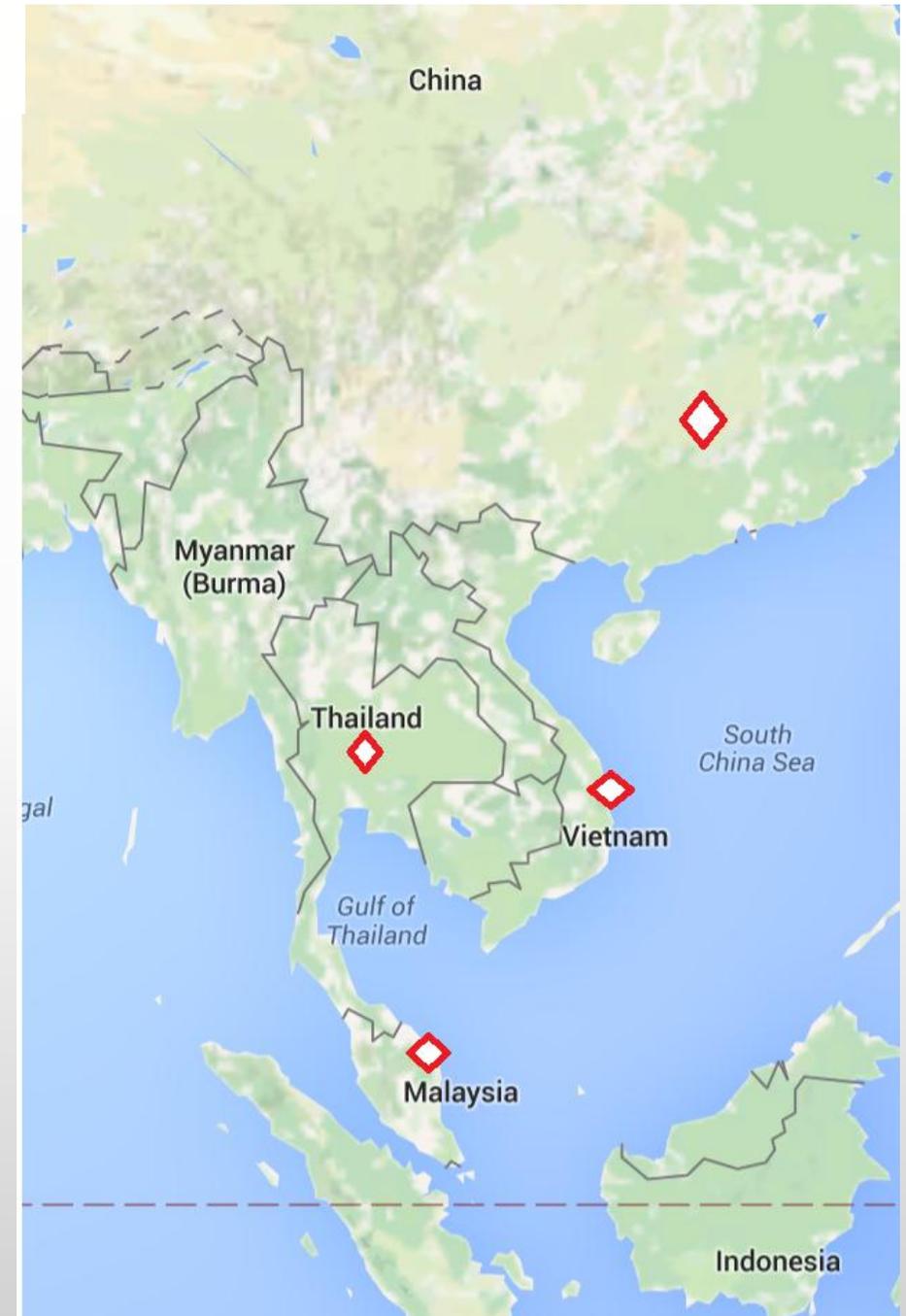


Situação atual e desafios para conviver com a EMS/AHPND

Leonardo Galli
Fish Vet Group Brazil

Historia e distribuição

- China (2009)
- Vietnam (2010)
- Malásia (2011)
- Tailândia (2012)
- México (2013)

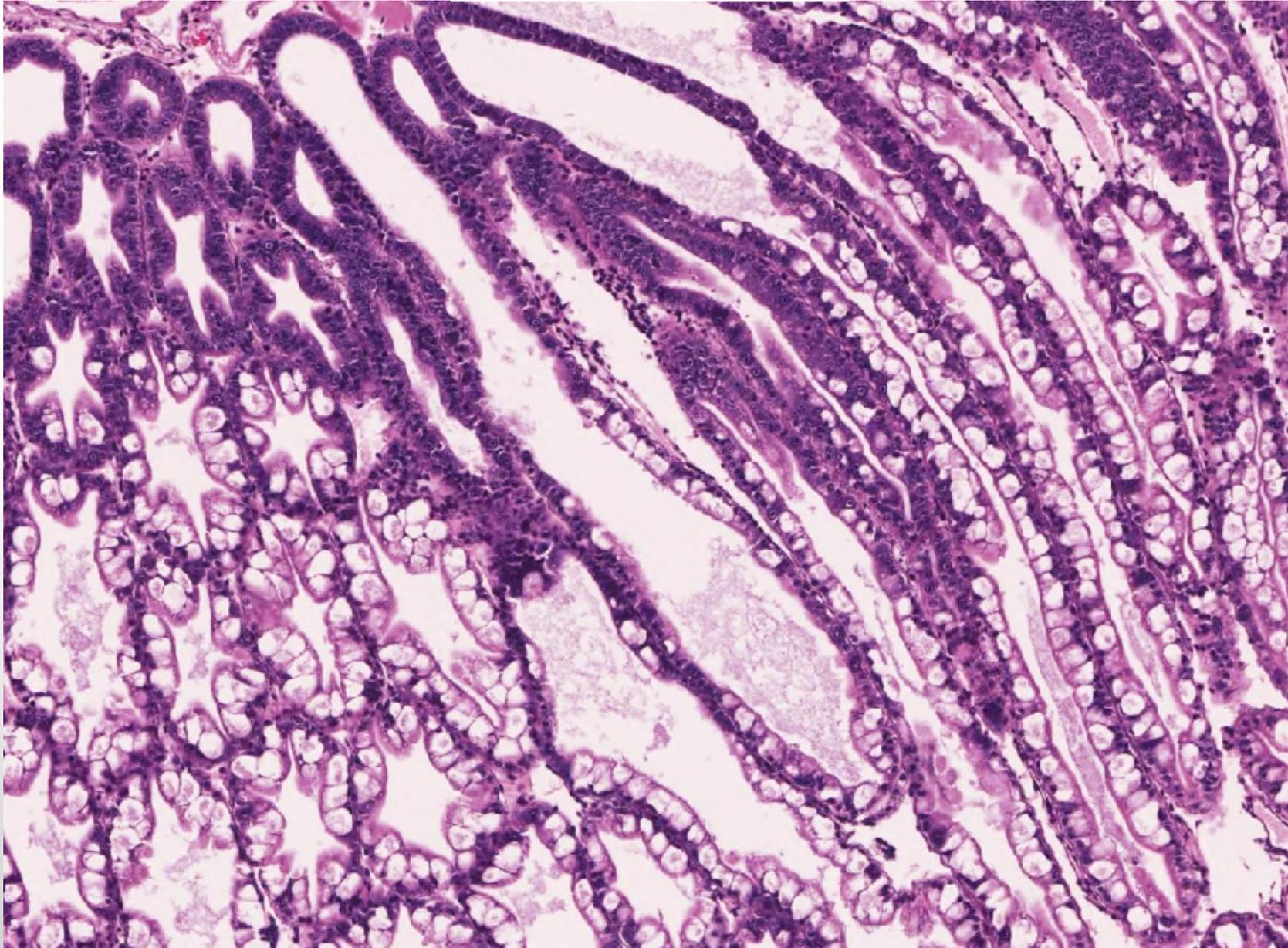


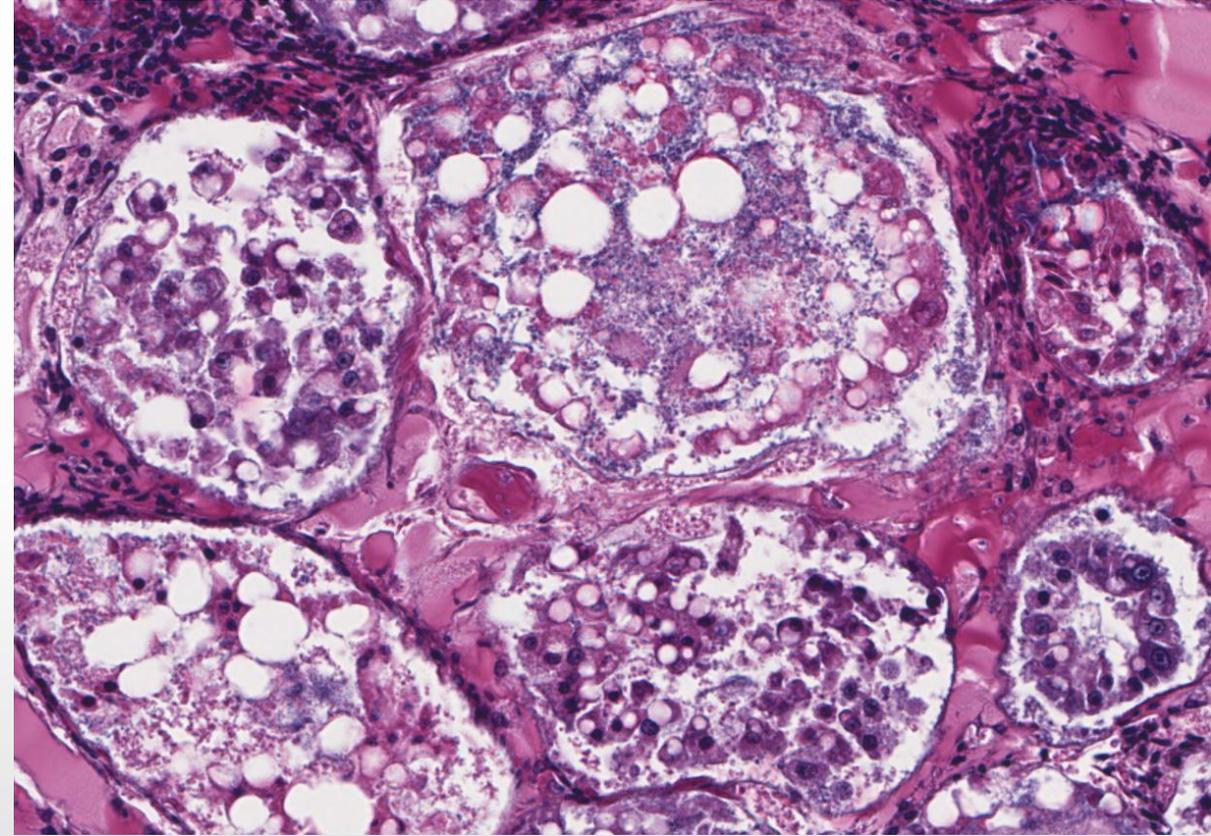
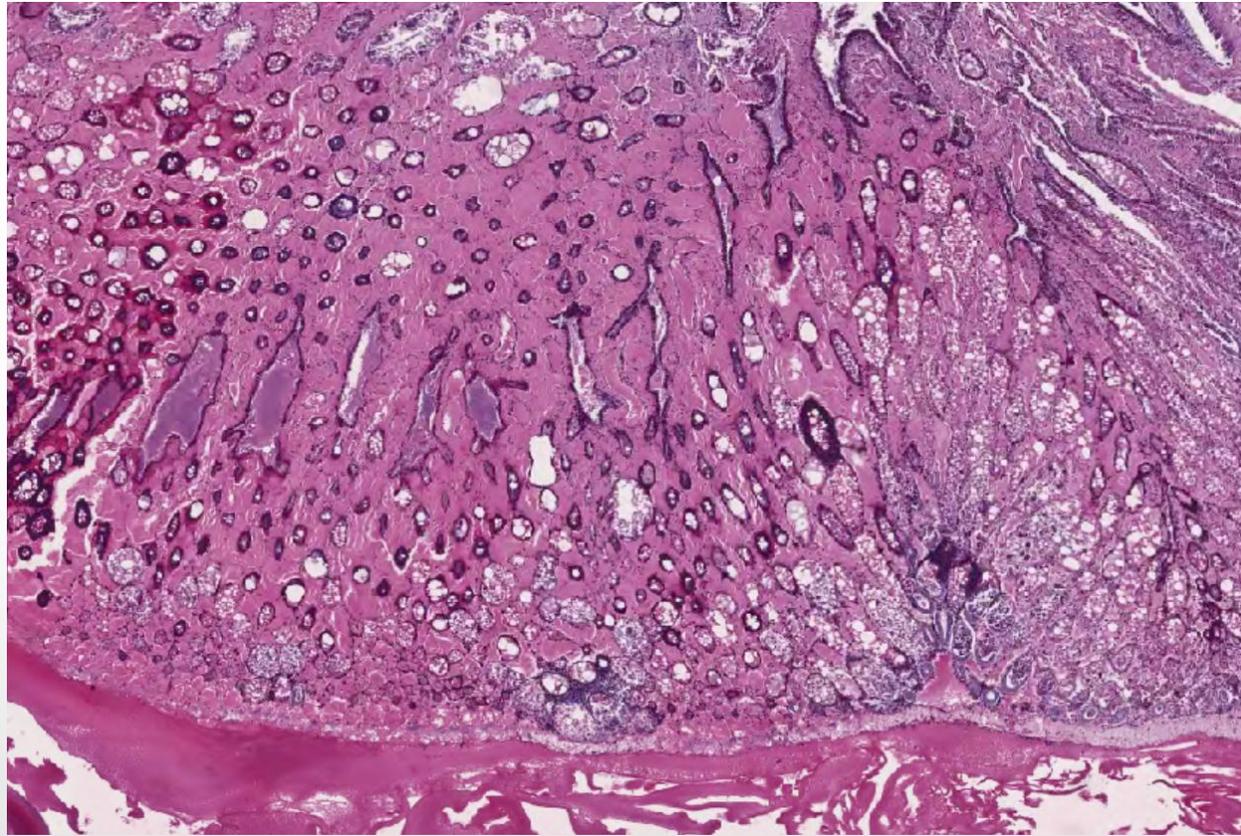
Características da doença

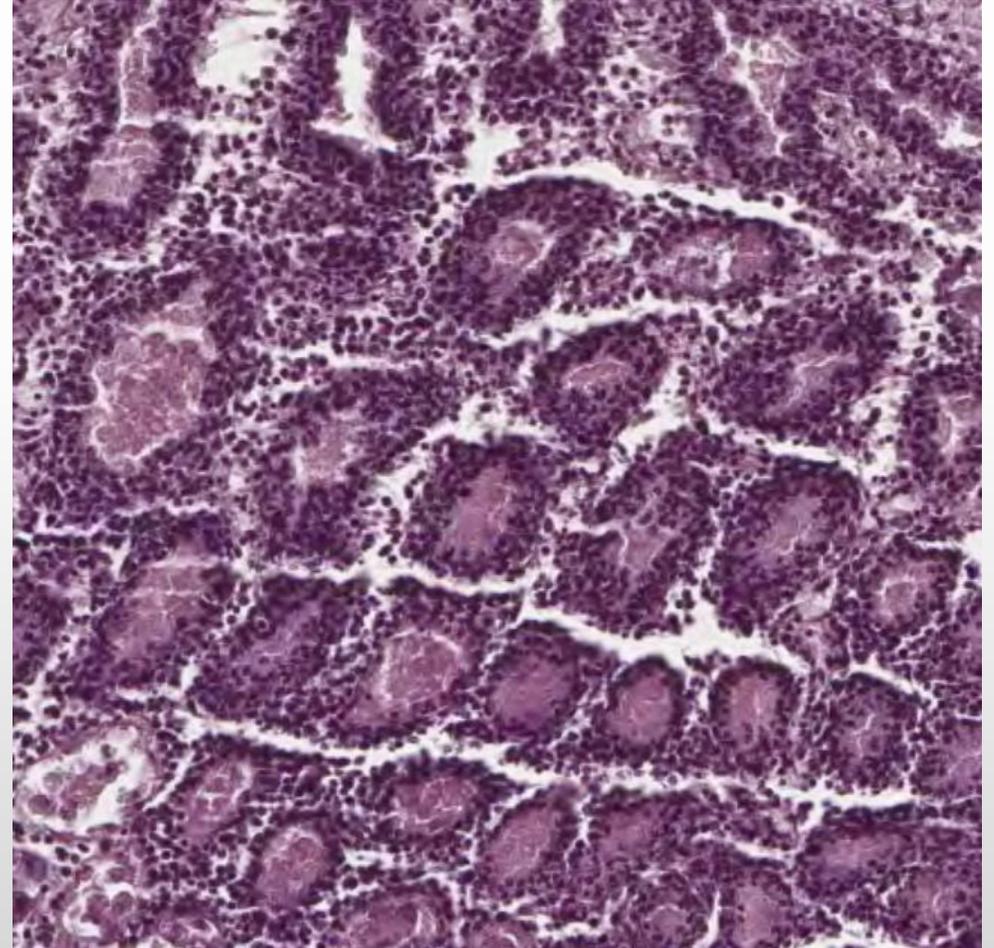
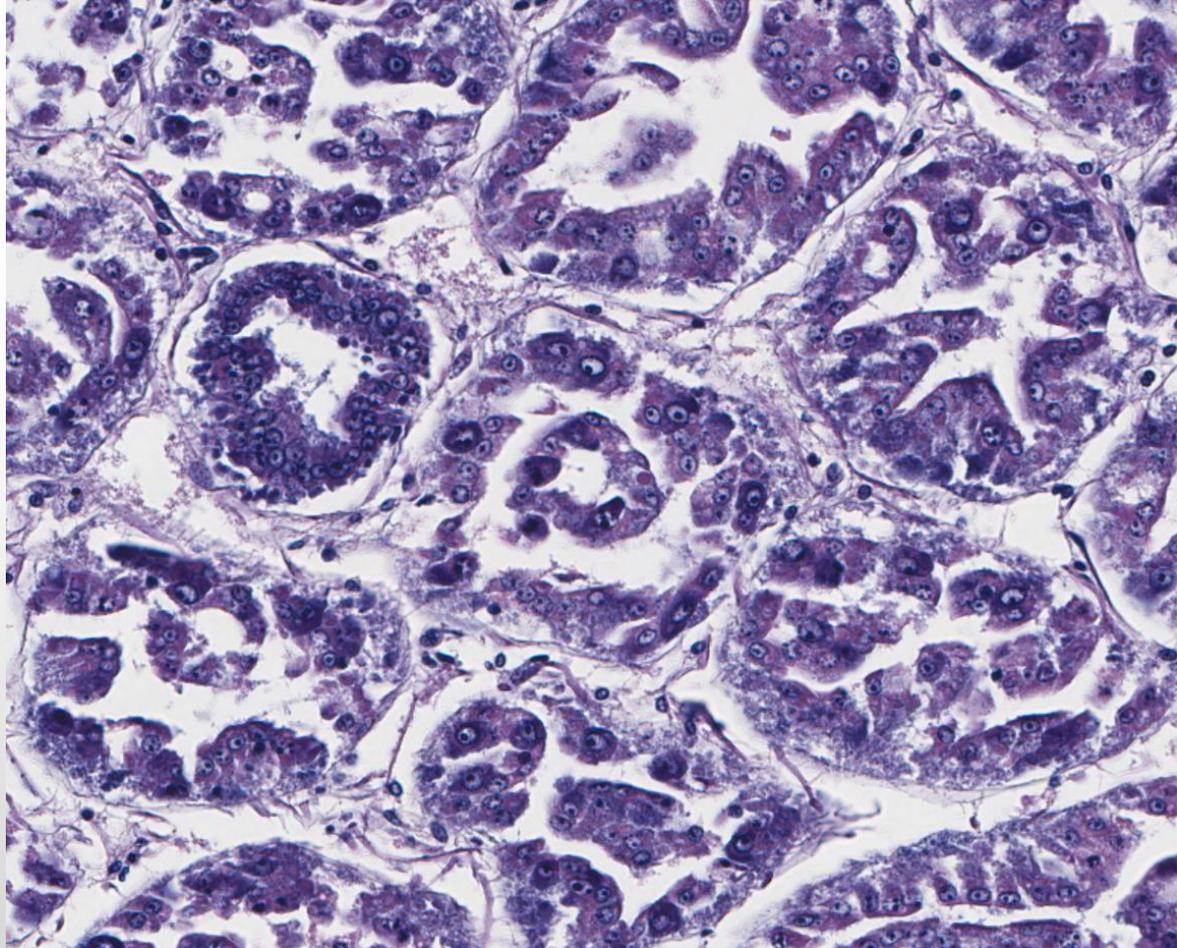
- Afeita ao vannamei e monodon
- Mortalidade massiva em viveiros depois de 10 a 30 dias da estocagem
- Hepatopâncreas atrofiado e de cor amarelado
- Carapaça mole
- Movimentos lentos e nado errático

Alterações Histológicas

- Progressão degenerativa aguda do hepatopâncreas
- Desprendimento das células do epitélio tubular
- Infiltração de hemocitos no espaço intertubular
- Infecção bacteriana secundária







Causas da doença ?

- Genética
- Agente infeccioso

Causa genética

- Limitado número de importações de reprodutores
- Elevado custo dos reprodutores (custo alto das pós-larvas)
- Surgimento das chamadas “copy PL” – Problemas de consanguinidade
- Inbreeding - diminuição da variabilidade genética e aumento da susceptibilidade a doenças ante mudanças ambientais bruscas.

Agente infeccioso

- No ano 2013 Loc Tran et al. (Universidade de Arizona) consegue desenvolver um protocolo experimental para induzir a doença.
- A cepa de bactéria isolada (*Vibrio parahaemolyticus*) induze a doença quando e cultivada em meio de cultura liquido (TSB).
- As alterações histológicas iniciais são causadas por uma toxina
- Infecções bacterianas secundarias são comuns depois de estabelecida a enfermidade.

Identificação do patógeno

- O agente causal da doença foi identificado como o *Vibrio parahaemolyticus*.
- A bactéria tem um plasmídeo conjugativo que é onde se localiza os genes que codificam para as toxinas responsável pela destruição das células do hepatopâncreas

Toxina PirAB

- No plasmídeo foi identificada uma sequência com alta homologia ao gene da toxina PirAB.
- Os genes da toxina PirAB se encontra naturalmente numa bactéria chamada *Photorabdus*. A bactéria é simbiótica dum nematódeo entomopatogénico. A toxina é usada pela bactéria para matar insetos.
- São necessárias as duas toxinas (A e B) para causar a doença.
- O plasmídeo é portador do gene pndA associado com o sistema PSK.

Identificação por PCR

- O Centex Shrimp (universidade Mahidol) tem desenvolvido uma serie de testes usando diferentes primers.
- Primeiramente foram desenhados os primers AP1 e AP2 mas davam alguns resultados falsos.
- O protocolo foi melhorado com a aparição dos primers AP3, mas a sensibilidade não é muito alta e é necessário o enriquecimento bacteriano antes de fazer a PCR.
- Atualmente se usa o AP4, e uma nested-PCR que é 100 vezes mais sensível que o AP3. Não é necessário o enriquecimento.

Vibrio harveyi

- Num surto de AHPND no Vietnam, foi isolado um *Vibrio* identificado como *Vibrio harveyi*
- *Aparentemente o V. harveyi possui um plasmídeo que codifica para os genes da toxina.*
- *Os pesquisadores suspeitam da transmissão horizontal do plasmídeo.*

Tratamentos

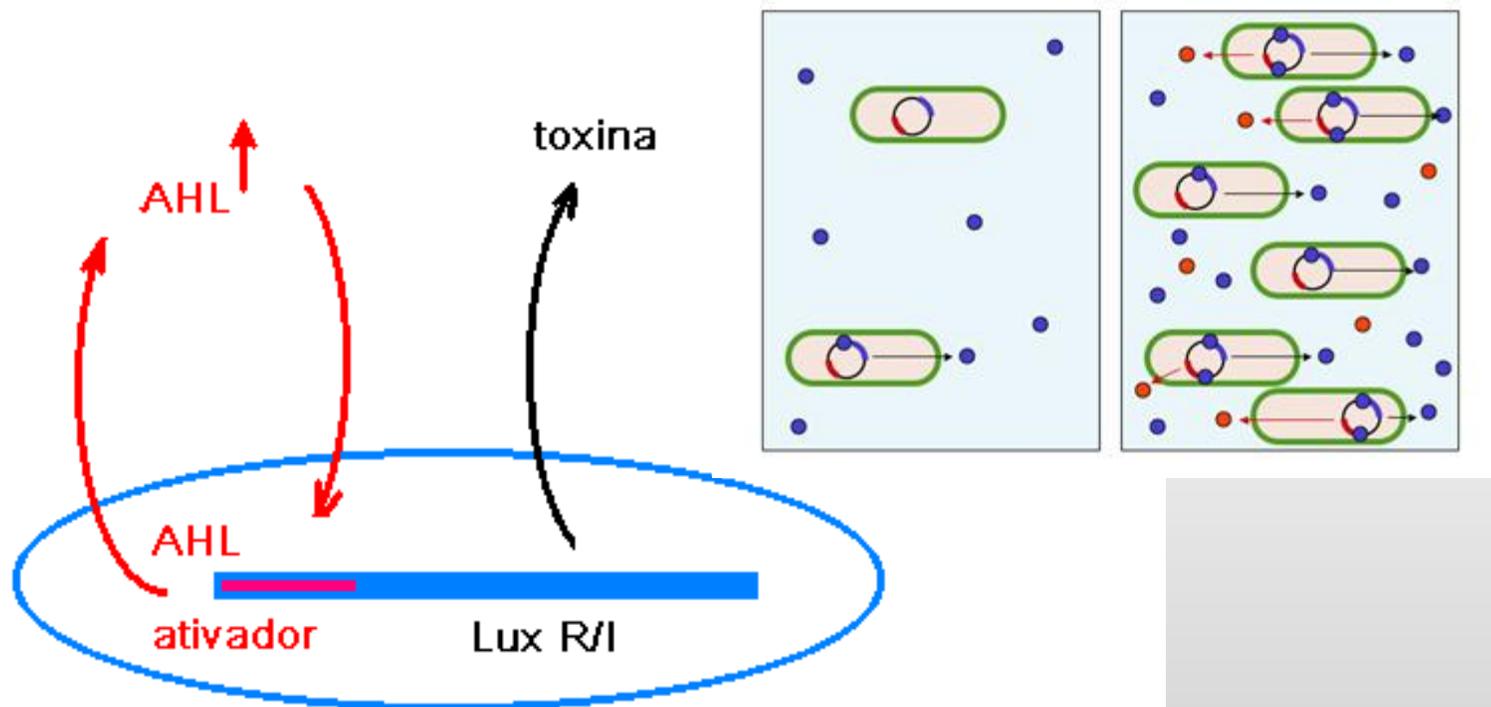
- Antibióticos
- Quorum quenching
- Fagos
- Produtos para eliminar as bactérias
- Probióticos
- Suplementos nutricionais

Antibióticos

- São efetivos a curto prazo
- A bactéria desenvolve resistência (No México já tem se isolado uma cepa de Vp portadora dum plasmídeo que confere resistência para oxitetraciclina)
- Depois da aplicação de antibióticos é necessário um período de tempo para a eliminação do produto do musculo do camarão. Durante este tempo o animal fica exposto a novas infecções bacterianas.

Quorum sensing

- As bactérias comunicassem usando um sistema chamado *quorum sensing* para coordenar a produção de toxinas



Quorum quenching

- A interrupção do quórum sensing e chamado quorum quenching
- A interrupção da comunicação entre bactérias evita a produção de toxinas
- O quorum quenching pode ser feito de diferentes formas: pela ação de enzimas que desnaturaram a molécula de comunicação ou pela ação competitiva do receptor.

Terapia com fagos

- Os fagos são vírus que afetam as bactérias
- São muito específicos
- As bactérias tem diferentes mecanismos para estabelecer resistência e fazer o tratamento ineficiente.

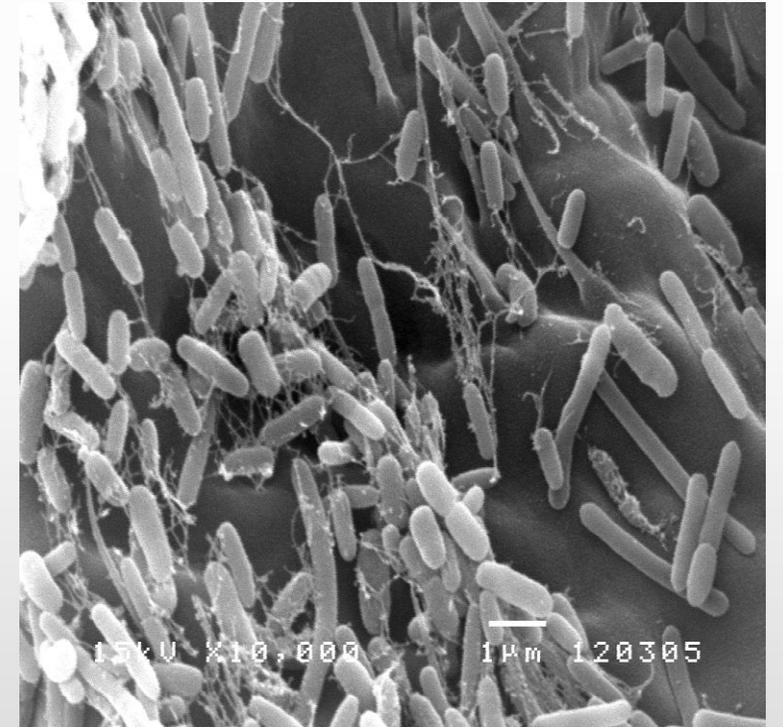
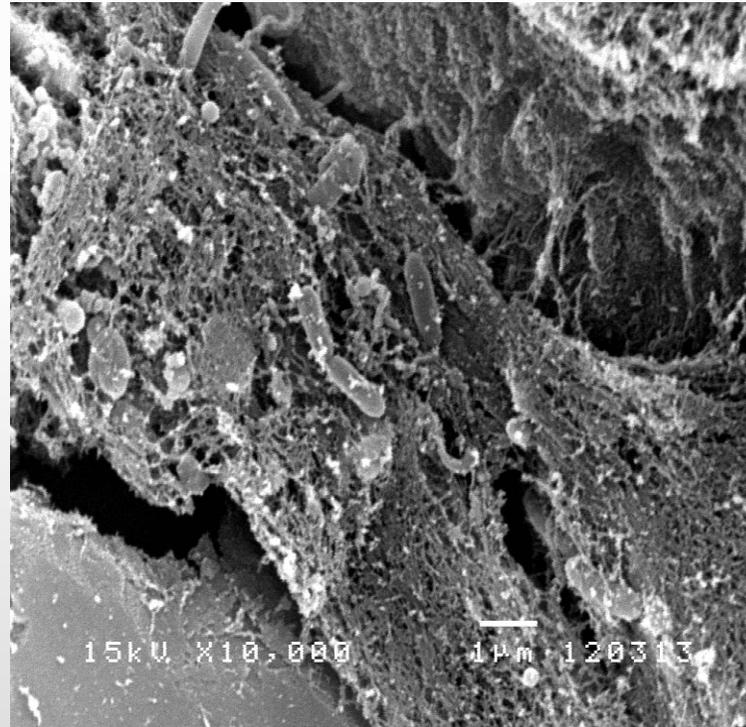
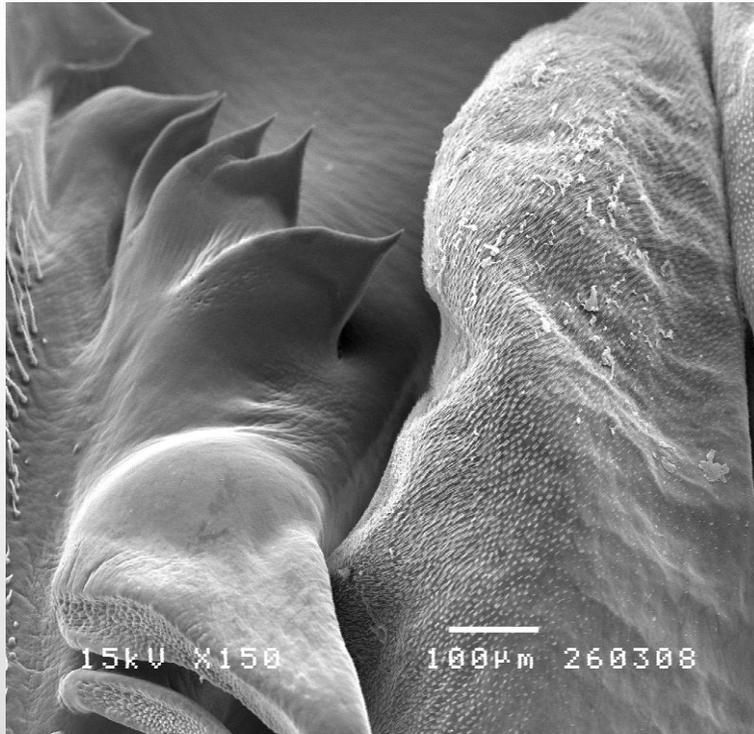
Produtos para eliminar bactérias

- Desinfetantes
- Específicos (?)
- Usados em sistemas super-intensivos

Probióticos

- Probióticos – Micro-organismos adicionados no alimento com a intenção de colonizar o trato intestinal.
- Considerações
 - A maior parte do trato digestivo está coberto por cutícula. Algumas bactérias podem se fixar na cutícula do intestino posterior mas são eliminadas no momento da muda.
 - O intestino meio produz a membrana peritrofica
 - O trânsito intestinal é muito rápido

Probióticos



Fotos: Dr. P. Jiranavanichpaisal

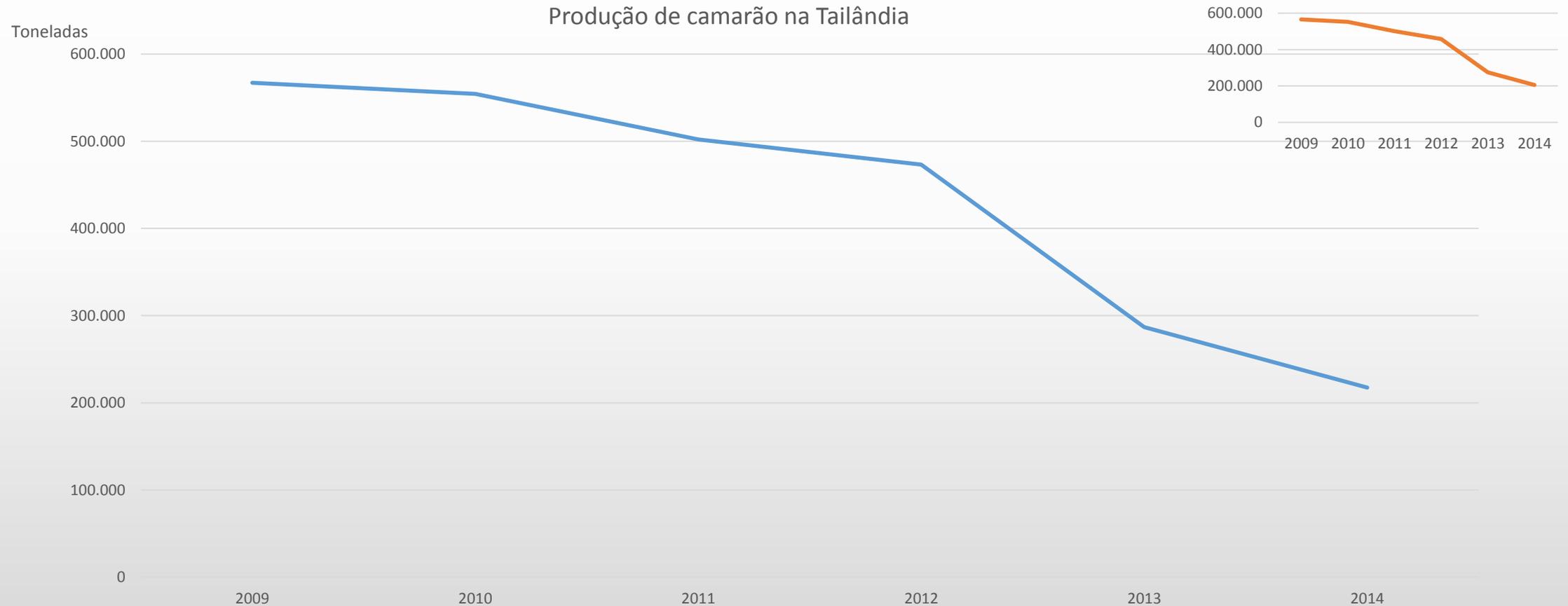
Probióticos

- Biorremediação
 - Micro-organismos aplicados no ambiente para melhorar a qualidade da água e do solo

Suplementos nutricionais

- Estão sendo testados diferentes produtos com resultados variáveis
 - Ácidos orgânicos
 - Derivados de ervas
 - Derivados de biofloc

Situação atual da produção de camarão na Tailândia



Causas da queda de produção

- No ano 2013 o Departamento da Pesca informou a distribuição porcentual das doenças que afetam o camarão:
 - 26.3% doenças virais
 - 26.3% doenças bacterianas
 - 44% outras causas
 - **3.4% AHPND**

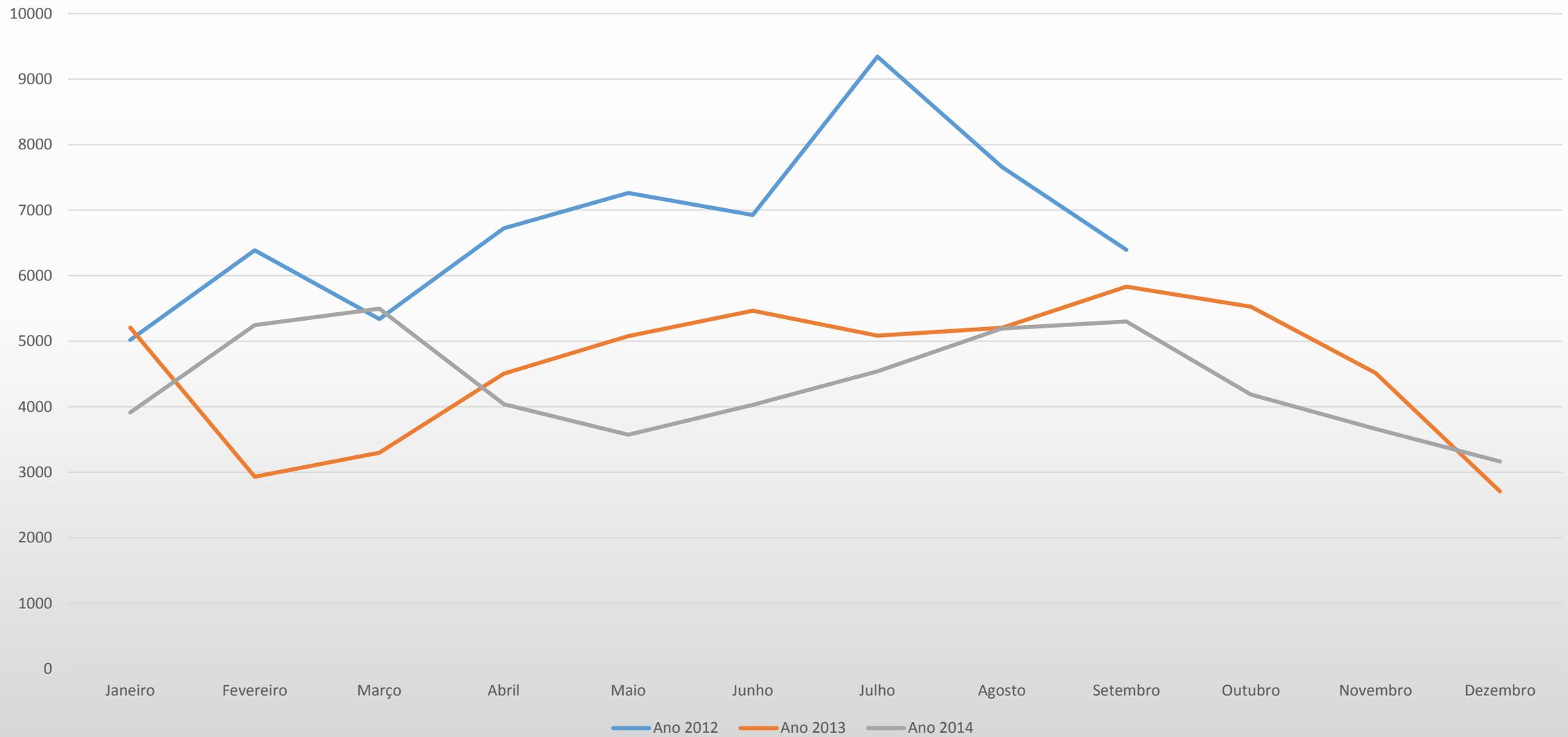
Estudo realizado em 200 viveiros 2014 (Universidade Mahidol)

- Microsporidia 58%
- AHPND (Histologia) 24%
- WSSV 13%
- Covert Mortality Nodavirus (CMNV) 43%
- Prevalência do ATM 85%

Causas da queda de produção

- Altas mortalidades no início do ciclo.
- Os produtores deixaram de estocar os viveiros
 - Estocagem de pós-larvas no 2012 (Janeiro- Setembro)- 60.000 milhões
 - Estocagem de pós-larvas no 2013 (Janeiro- Setembro) - 45.500 milhões

Produção de pós-larvas 2012 - 2014

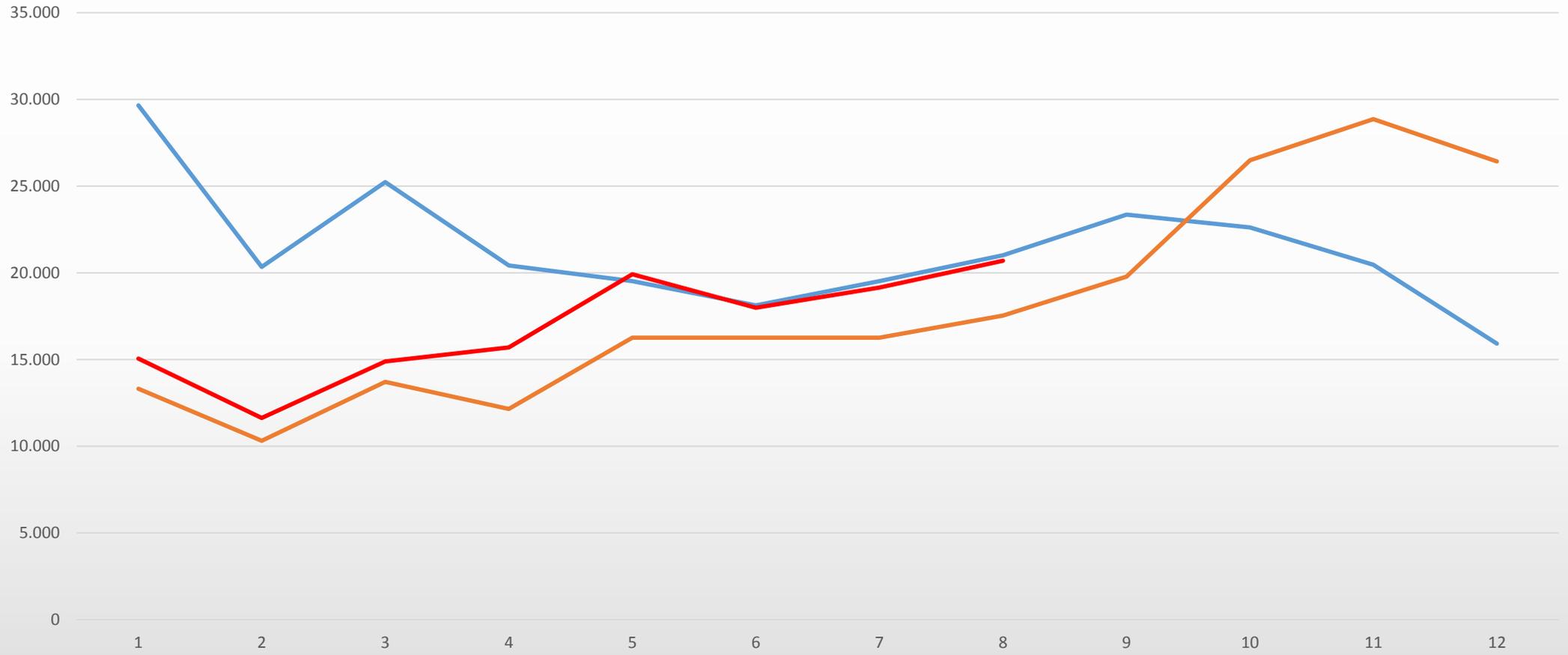


Produção de camarão no 2015

	Produção Ton.		Total Ton. mês	Ano 2014 ton. Mês	% diferença
	vannamei	monodon			
Janeiro	14,230	834	15,064	13,324	13.06%
Fevereiro	11,041	592	11,633	10,324	12.68%
Março	14,416	480	14,896	13,714	8.62%
Abril	15,090	606	15,696	12,157	29.11%
Maio	19,440	478	19,918	16,547	20.37%
Junho	17,535	452	17,987	16,269	10.56%
Julho	18,608	552	19,160	16,270	17.76%
	Total		114,354	98,605	15.97%

Produção de camarão nos anos 2013, 2014 e 2015

Tons



Meses

— Ano 2013 — Ano 2014 — Ano 2015

Medidas adotadas pelo Departamento da Pesca- Tailândia (J. Polchana, 2013)

- Ações a nível de:
 - Vigilância sanitária
 - Laboratórios de produção de pós-larvas
 - Manejo de viveiros
 - Importação de reprodutores

Vigilância sanitária

- No 2013, 26 Centros de Pesquisas governamentais em 25 províncias foram designados pelo DoF para tomar conta da vigilância sanitária.
- O DoF estabelece um web site onde os usuários podem registrar a ocorrência de surtos

2013	Total de casos	Positivos	%
Jan-Março	647	23	3.55%
Abril-Jun	1.259	23	1.83%

Laboratórios de produção de pós-larvas

- Inspeção dos estabelecimentos para manter boas condições sanitárias.
- Implementação de medidas de controlo do Vp no processo de produção de nauplius.
- Controlo dos reprodutores para a presença de WSV, TSV, IMNV, YHV e IHHNV.
- Implementar melhoras nos sistemas de desinfeção

Manejo dos viveiros

- Organização de seminários em diferentes províncias
- Visita de inspetores do DoF provinciais nas fazendas produtoras de camarões para fazer:
 - Monitoramento da qualidade da água nos viveiros
 - Monitoramento da condições sanitárias dos camarões
- O DoF produz e promove o uso de probióticos para o melhoramento das condições da água e do solo dos viveiros
- Os produtores tem que informar ao DoF quando tiver viveiros com mortalidades de origem desconhecido dentro dos primeiros 35 dias do cultivo.

Importação de reprodutores

- A produção de pós-larvas de vannamei depende por poucas empresas (geralmente grandes grupos internacionais) com capacidade de importação de reprodutores SPF.
- O DoF vai estabelecer um centro para a produção local de reprodutores a partir de stocks importados pela instituição.
- Os reprodutores produzidos serão vendidos para os laboratórios locais que fazem maturação

Iniciativas privadas

- Melhoramentos em sistemas de cultivo
 - Biossegurança
 - Sistemas zero troca de água
 - Sistemas de recirculação
 - Seguimento dos parâmetros indicadores da qualidade da água.
- Uso de linhas genéticas de crescimento rápido

Muito obrigado