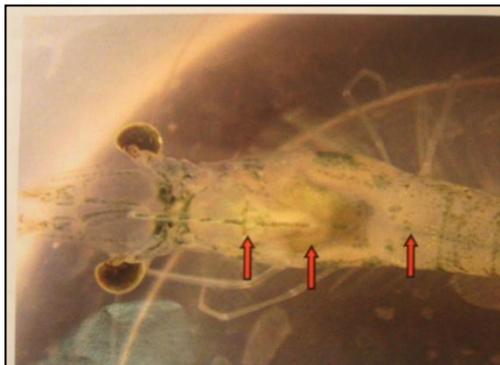


EMS / AHPNS: Enfermidade Infecciosa Causada por Bactéria.

Matéria extraída da *Revista The Advocate Global Aquaculture*, Julho/Agosto de 2012 – pág. 18 a 20.
Traduzido pelo Biólogo Marcelo Lima – Consultor Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC.



Sinais macroscópicos da AHPNS em camarão positivo onde é possível observar o estômago vazio (à esquerda), hepatopancreas pálido e atrofiado (no centro) e intestino médio vazio (a direita).

Loc Tran

Aquaculture Pathology Laboratory
School of Animal and Comparative Biomedical
Sciences.

University of Arizona
Tucson, Arizona 85721 USA
hwuloc@email.arizona.edu

Linda Nunan

Rita M. Redman

Donald V. Lightner, Ph.D.

Aquaculture Pathology Laboratory
School of Animal and Comparative Biomedical
Sciences.

University of Arizona

Kevin Fitzsimmons, Ph.D.

Department of Soil, WATER AND Environmental
Science

University of Arizona

Tucson, Arizona, USA

SUMÁRIO

A indústria do cultivo de camarão da Ásia tem sido fortemente afetada pela Síndrome da Mortalidade Precoce (EMS), também conhecida como Síndrome da Necrose Aguda do Hepatopancreas (AHPNS). Pesquisas conduzidas pelo Laboratório de Patologia em Aquacultura, da Universidade do Arizona, identificou o agente etiológico causador da EMS como sendo uma única linhagem de *Vibrio parahaemolyticus* que pode produzir uma toxina responsável pela patologia primária nos camarões afetados. Camarões vivos infectados, bem como seus tecidos frescos, podem transmitir a enfermidade para camarões “limpos”, mas o agente etiológico pode ser inativado pelo congelamento e posterior descongelamento.

A indústria de camarão da Ásia, a maior e mais produtiva região do mundo, foi afetada no ano de 2009 por uma enfermidade emergente chamada *Síndrome da Mortalidade Precoce* (EMS) ou tecnicamente conhecida como *Síndrome da Necrose Aguda do Hepatopâncreas* (AHPNS).

AHPNS começou a causar significativas perdas na produção de camarões nas fazendas do sudeste da China, e no ano de 2012 já tinha se disseminado pelas fazendas do Vietnã, Malásia e Tailândia.

AHPNS não tem somente causado enormes perdas nos termos da produção e receitas nas áreas afetadas, mas tem também sido responsável por impactos secundários na geração de empregos, bem estar social e no mercado internacional de camarões de cultivo. A enfermidade tem também causado significativa escassez de camarões no mercado internacional, cujo efeito repercutiu no aumento global dos preços praticados.

Patologia

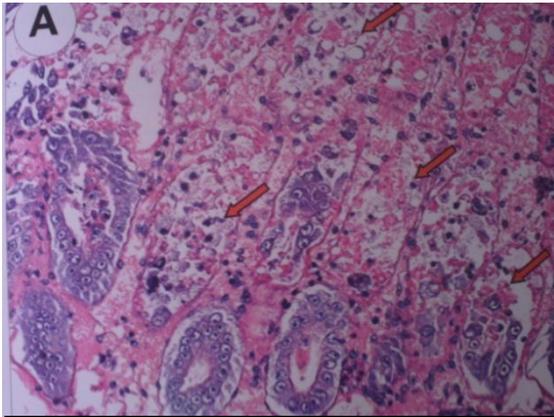
AHPNS geralmente ocorre dentro dos primeiros 45 dias de cultivo em viveiros recentemente estocados com pós-larvas de ambas as espécies do camarão tigre asiático *P. monodon*, e do camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei*. Os sinais macroscópicos da AHPNS são bastante evidentes na observação de camarões afetados nos viveiros de engorda, acompanhado pela dissecação e exame do hepatopâncreas.

Camarões com AHPNS apresenta coloração pálida e esbranquiçada do hepatopâncreas, bem como uma marcada atrofia que poderá reduzir o tamanho do órgão em mais de 50%. Na fase aguda terminal da enfermidade é possível observar estrias ou pontos escuros no hepatopâncreas devido à presença de melanina depositada pela atividade de defesa orgânica dos hemócitos. As mortalidades nos viveiros afetados podem alcançar 100% dentro de poucos dias depois de iniciado o surto da enfermidade.

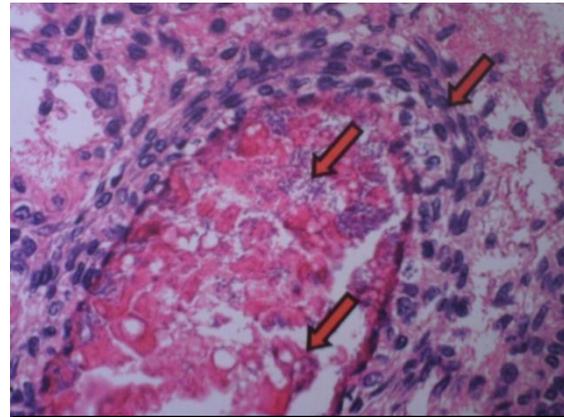
A histopatologia da AHPNS se apresenta como uma degeneração aguda progressiva proximal para distal do hepatopâncreas, com disfunção das células epiteliais tubulares. As células que se descamam da parede interna dos túbulos afetados posteriormente entram em estado de necrose dentro dos túbulos, ou no lúmen do intestino. Na fase terminal da AHPNS o hepatopâncreas evidencia uma marcada infiltração hemocítica e desenvolvimento de colonização secundária e massiva de bactérias que ocorre em associação com a descamação e posterior necrose das células epiteliais. Esta singular patologia sugere que as lesões primárias do hepatopâncreas são mediadas por uma toxina.

Estudos preliminares

Duas abordagens foram inicialmente tomadas pela Universidade do Arizona – Laboratório de Patologia Aquática (UAZ - APL) para determinar a etiologia da AHPNS. As pesquisas foram dirigidas para a identificação da presença de uma possível toxina na água, sedimentos, algas do viveiro afetado, amostras de ração ou pesticidas como uma possível causa da enfermidade. Pesquisas foram também dirigidas para a identificação de um agente infeccioso potencial usando para tais alguns camarões frescos coletados em fazendas nos anos de 2011 e 2012. Nenhum dos tratamentos realizados resultou na indução consistente da patologia relacionada à AHPNS.



Secção histológica do hepatopâncreas de camarão desafiado com uso da sonda esofágica de introdução reversa por meio da rota anal para o hepatopâncreas, mostra as lesões de uma fase aguda da AHPNS caracterizada pela descamação massiva e necrose das células epiteliais do túbulo.
Scale bar = 100 μ



Esta secção histológica de um hepatopâncreas de camarão retirado de um teste de desafio mostra o avançado estágio da AHPNS, o qual está caracterizado pela inflamação hemocítica, infecção bacteriana, descamação massiva e necrose do túbulo (setas de cima para baixo)
Scale bar = 50 μ

O fato dos estudos iniciais não terem transmitido a enfermidades aos animais utilizados no experimento, muitas pesquisas locais em áreas endêmicas a AHPNS no Vietnã foram conduzidas a partir do segundo semestre do ano de 2012. Os resultados das teses formalizados por estes estudos mostraram que as lesões da AHPNS poderiam ser induzidas em experimentos com camarões saudáveis sendo alimentados com carcaças frescas, e não congeladas, de camarões infectados, coabitação de camarões infectados em experimentos, e imersão de em uma mistura de bactérias isoladas do estomago de camarões infectados. O mix destas amostras de bactérias retiradas do estomago dos camarões infectados, as quais foram capazes de induzir a AHPNS nos experimentos realizados, foi enviado ao UAZ – APL para a futura caracterização e determinação da natureza da infecção e o possível agente etiológico da AHPNS.

Estudos sobre a dinâmica da infecção

Desafios usando o procedimento da imersão ou a introdução reversa usando sonda esofágica por meio da rota anal para o hepatopâncreas foram empregados usando o mix de bactérias isoladas de camarões infectados com AHPNS do Vietnam. O Experimento 01 foi um desafio por imersão com uso do mix de bactérias, enquanto que o Experimento 02 foi feito com uso do procedimento de imersão com uso individual de bactérias isoladas do mix enviado do Vietnam. O Experimento 03 foi um bioensaio de imersão conduzido com uso de colônias de bactérias do tratamento positivo para a AHPNS do Experimento 02 e introdução reversa usando sonda esofágica por meio da rota anal para o hepatopâncreas com fluido filtrado e inoculado com cultura pura feito com colônias isoladas de bactérias patogênicas.

A imersão no meio contendo a mistura de bactérias induziu à mortalidade em massa com características idênticas aos sintomas patológicos observados em amostras de campo de viveiros infectados. A colônia mais dominante isolada da cultura do mix de bactérias foi também capaz de causar mortalidade em massa com as lesões características da AHPNS nos desafios experimentais de imersão de camarões do Experimento 02. O mesmo tipo de colônias de bactérias recuperado dos animais do desafio feito no Experimento 02 foi capaz também de causar a mesma patologia nos

camarões dos subseqüentes experimentos, desta forma confirmando que a AHPNS é causada por um agente infeccioso.

Curiosamente, o fluido sobrenadante, e isento de células, de ambos os meios inoculados com as culturas puras dos patógenos isolados induziu a mesma sintomatologia de AHPNS em camarões pela introdução reversa usando sonda esofágica por meio da rota anal para o hepatopâncreas. Esta evidencia reforçou o assunto inicial de que as lesões primárias da AHPNS são mediadas por toxinas ou toxina. Usando testes bioquímicos e testes de biologia molecular, a cultura de bactérias isoladas, as quais foram capazes de induzir a manifestação da AHPNS, foi identificada como sendo uma linhagem da espécie *Vibrio parahaemolyticus*.

Saúde humana, implicações na biosseguridade.

Algumas raras linhagens de bactérias da espécie *Vibrio parahaemolyticus* produzem as toxinas relacionadas com gastroenterite em seres humanos que consomem frutos do mar crus ou mal cozidos. Afortunadamente, a única linhagem de *Vibrio parahaemolyticus* que causa a AHPNS não é capaz de gerar estas ditas toxinas. Desta forma, as implicações na saúde relacionadas ao consumo de camarões produzidos em países com a presença da AHPNS não é maior do que os camarões produzidos nos países livres desta enfermidade.

Desde que AHPNS é uma enfermidade infecciosa, o maior cuidado que a indústria deve ter é evitar a disseminação da enfermidade. Muitos experimentos realizados pela UAZ-APL indicaram que camarões vivos infectados e tecidos frescos de camarões positivos (nunca congelado) pode efetivamente transmitir a enfermidade para camarões limpos. Isto implica que camarões vivos, como também camarões frescos, originados de áreas afetadas pode representar um risco de disseminação da epidemia até que um teste rápido e confiável para a detecção da AHPNS esteja disponível. O fato de que a AHPNS esteja localizada no trato gastrointestinal do camarão infectado, a comercialização de filé de camarão sem vísceras diminui o risco de disseminação do que a comercialização de camarões com cabeça e vísceras.

Com relação a viabilidade e sobrevivência do agente etiológico da AHPNS em produtos de camarões congelados, muitos experimentos conduzidos pela UAZ-APL demonstraram que camarões congelados oriundos de áreas afetadas do Vietnam não foi capaz de transmitir a patologia AHPNS para camarões limpos da enfermidade, indicando que não houve a transmissão da bactéria.

Todas as provas até o momento indicaram que o agente é inativado pelo congelamento e descongelamento. Isto implica que produtos de camarões congelados provavelmente são incapazes de transmitir o agente da AHPNS. Por isso os riscos de transmissão da AHPNS em commodities de importação de camarões congelados de fazendas de cultivo, ou da indústria extrativista, parecem ser mínimos.

Futuras pesquisas

Futuras pesquisas elucidarão o envolvimento de um fago em qualquer produção de toxina ou qualquer fato que esteja vinculado à presença deste com a patogenicidade da bactéria. Toxina(s) e genes capazes de produzir toxinas presentes nas linhagens de bactérias causadoras da AHPNS serão analisadas como potenciais

alvos para o desenvolvimento de ensaios imunoenzimáticos e desenvolvimento de Diagnósticos de PCR (Polymerase Chain reaction Diagnostics). Muitas abordagens estão sob investigação para o desenvolvimento viável de soluções para a detecção e controle da AHPNS.

Afortunadamente, a única linhagem de bactéria que é capaz de causar a AHPNS não gera toxinas envolvidas com gastroenterites transmitidas pela ingestão de alimentos em seres humanos. Todas as evidências apontam que o agente etiológico é inativado pelo congelamento e descongelamento de camarões positivos.