PRODUCCION MUNDIAL Y ACTUALIZACION DE ENFERMEDADES EMERGENTES: EMS/AHPND – EHP – ATM – RUNNING MORTALITY

XIII FENACAM

Fortaleza, Noviembre 2016

Epicore BioNetworks Inc.

Epicore BioNetworks Inc.

Fernando Garcia Abad, Fabrizzio Vanoni, Geraldo Borba.

Southeast Asia
EVOLUCION EMS/AHPND
EPICORE
Epicore BioNetworks Inc.
1(2009)
2(2010)
3(2011)
3'(2011)
4(2012)
4'(2013)
5(2013)
CHINA
INDIA
BURMA
LAOS
THAILAND
VIETNAM
CAMBODIA
MALAYSIA
SINGAPORE
BRUNEI
Sumatra
Java
Java Sea
Indian Ocean
South China Sea
East China Sea
Yellow Sea
Philippine Sea
Andaman Sea
Gulf of Thailand
Gulf of Tonkin
Taiwan
SOUTH KOREA
Okinawa
Luzon
Mindoro
Babuyan Islands
Hainan Dao
Paracel Islands
Spratly Islands
Christmas Island (AUSTRALIA)
Cocos (Keeling) Islands (AUSTRALIA)
Tropic of Cancer
Scale 1:36,000,000 at Equator
Mercator Projection
500 Kilometers
500 Nautical Miles
Boundary representation is not necessarily authoritative.
Names in Vietnam are shown without diacritical marks.
ESTADOS UNIDOS
MEXICO
BAJA CALIFORNIA NORTE
SONORA
CHIHUAHUA
COAHUILA
BAJA CALIFORNIA SUR
DURANGO
NUEVO LEON
TAMAULIPAS
SINALOA
ZACATECAS
NAYARIT
AGUASCALIENTES
SAN LUIS POTOSI
VERACRUZ
JALISCO
QUERETARO
HIDALGO
COLIMA
MICHOACAN
GUERRERO
MEXICO
TLAXCALA
PUEBLA
MORELOS
TABASCO
CAMPECHE
YUCATAN
QUINTANA ROO
OAXACA
CHIAPAS
GUATEMALA
BELIZE
HONDURAS
EL SALVADOR
NICARAGUA
COSTA RICA
PANAMA
CUBA
Golfo de México
Golfo de California
TROPICO DE CANCER
OCEANO PACIFICO
CARIBBEAN SEA
ATLANTIC OCEAN
802016 (B00779) 7-92

Epicore BioNetworks Inc.

PRODUCCION MUNDIAL AREA EPICORE

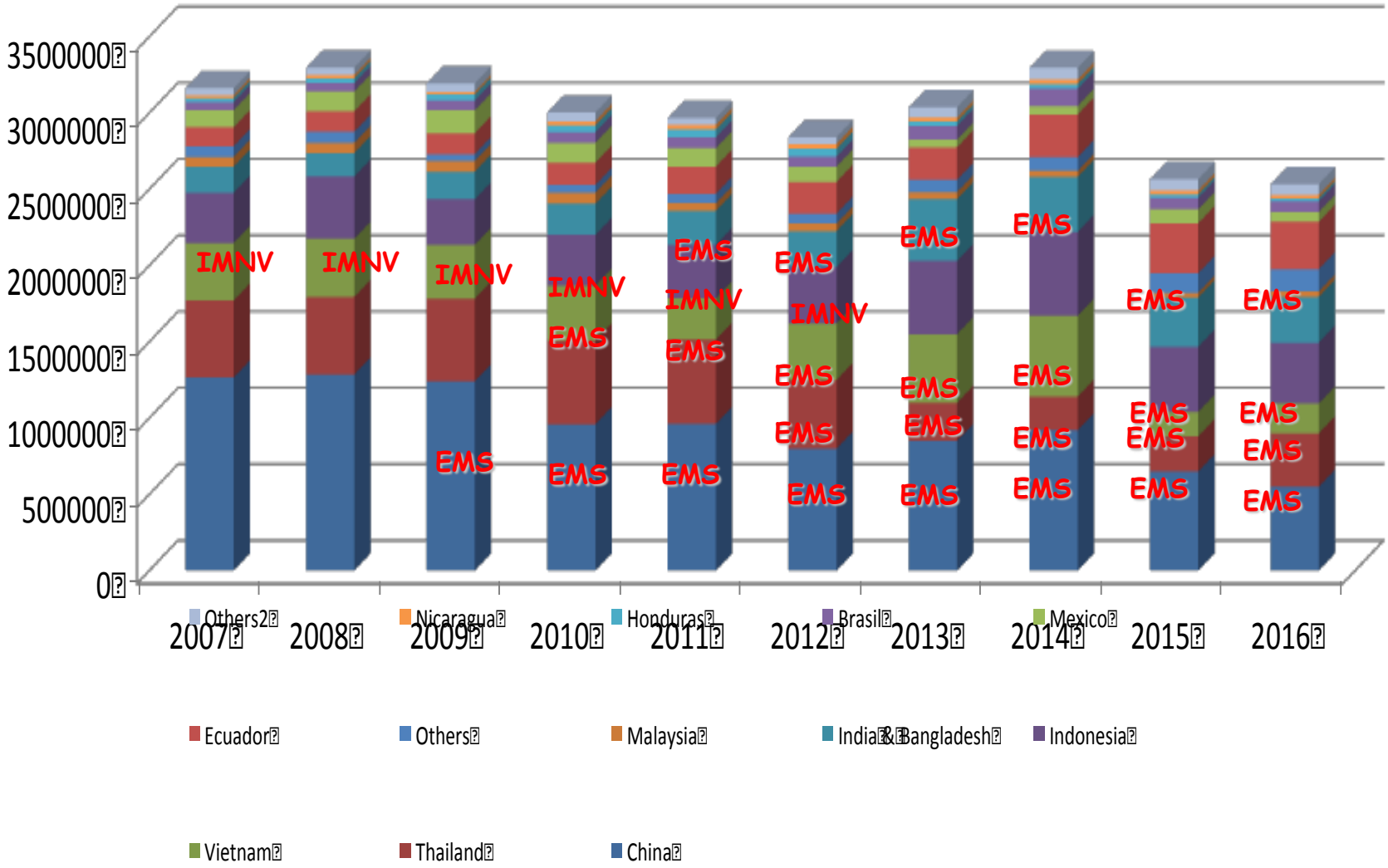
PRODUCCION y TENDENCIAS

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016*
China	1,286,074	1,241,340	960,000	962,000	800,000	850,000	782,000	650000	550,000
Tailandia	507,500	541,994	548,800	553,200	450,000	250,000	220,000	230,000	350,000
Vietnam	381,300	352,000	357,700	270,000	180,000	280,000	440,000	160,000	195,000
Indonesia	408,346	299,050	333,860	350,631	370,000	380,000	450,000	427,000	400.000
India-Bang.	153,797	181,261	204,190	222,737	236,103	405,000	360,000	324,000	300.000
Malaysia	67,197	69,277	73,000	50,000	48,991	46473	40,000	30,000	35.000
Others	72,000	46,000	50,000	62,000	65,000	80,000	90,000	128,000	146,000
Total Asia	**2,876,214**	**2,730,922**	**2,527,550**	**2,470,568**	**2,150,094**	**2,291,473**	**2,520,000**	**1,949,000**	**1,976,000**
Americas	**2008**	**2009**	**2010**	**2011**	**2012**	**2013**	**2014**	**2015**	**2016***
Ecuador	133,969	136,060	146,511	178,392	208,181	213,555	277,749	327,272	310.000
Mexico	130,201	150,000	130,000	120,000	100,000	50,000	68,000	90,600	65,000
Brazil	55,000	65,000	70,000	72,000	65,000	90,000	90,000	76,000	70,000
Honduras	14,811	17,727	20,454	21,345	21,987	29424	32,072	23,272	20,000
Nicaragua	9,227	10,879	12,272	13,636	14,545	24500	28,175	25,000	22,000
Others	48,600	56,000	56,500	45,000	44,000	68,904	77,172	74,000	70,000
Total America	**391,808**	**435,666**	**435,737**	**450,373**	**453,713**	**476,383**	**573,168**	**616,144**	**557,000**
Grand Total	**3,268,022**	**3,166,588**	**2,963,287**	**2,920,941**	**2,603,807**	**2,767,856**	**3,093,168**	**2,565,144**	**2,533,000**

EN EL AREA DE INFLUENCIA DE EPICORE, EL ANO PASADO LA PRODUCCION CAYO 17.1 % Y EN EL 2016 PROYECTAMOS UNA CAIDA DEL 1.25%.

Epicore BioNetworks Inc.

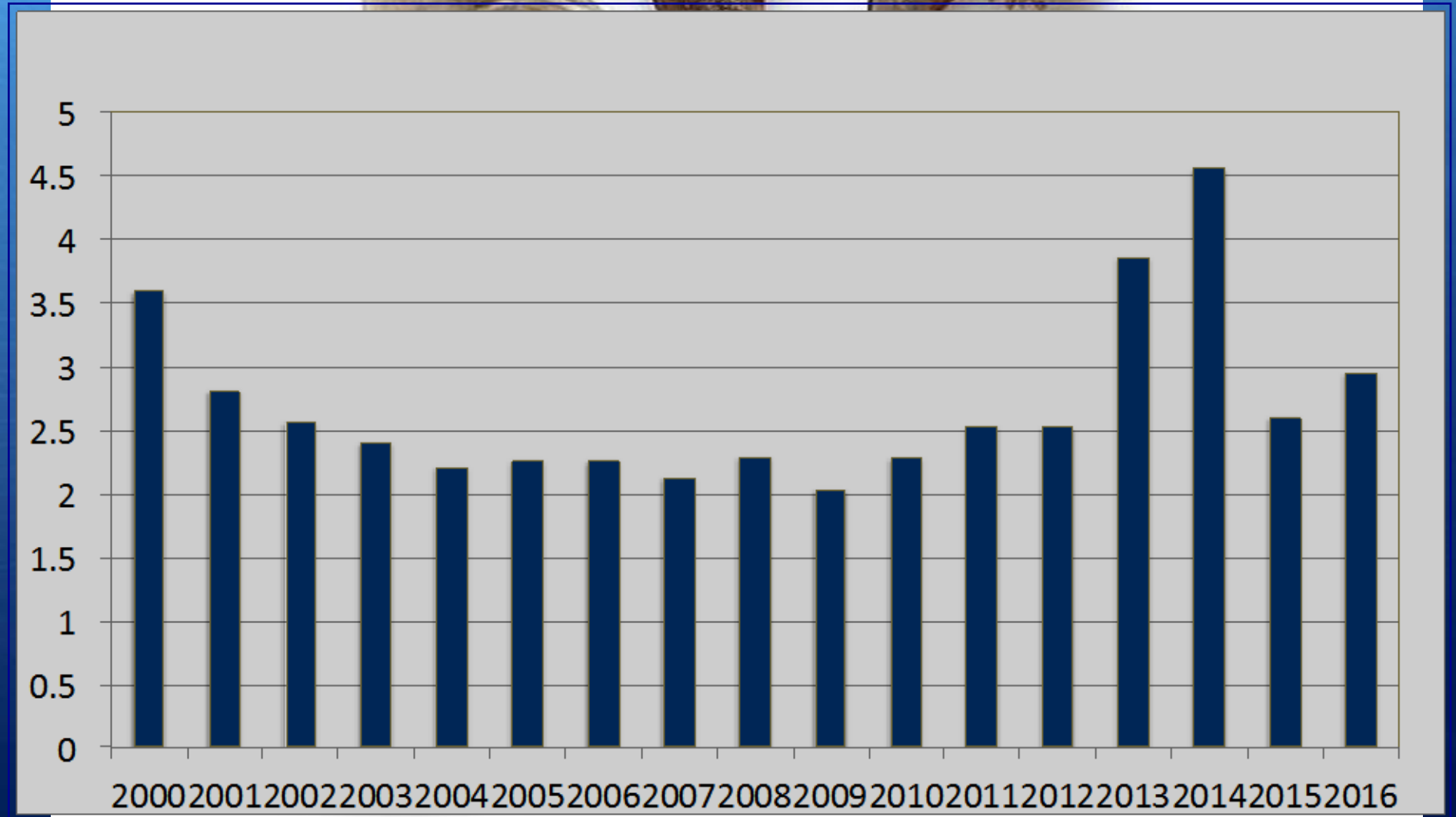
PRODUCCION MUNDIAL POR REGION ACTUAL (IMPACTO EMS/AHPND) 2007 - 2016



EVOLUCION PRECIO DE CAMARON

Precio promedio finca 41/50

2000 – 2016 Fuente: CNA Ecuador



FACTORES INFLUENCIANDO LA PRODUCCION Y PRECIO

- La caída severa de la bolsa de valores China. Se evaporaron trillones de dólares, gran parte de la pudiente clase media. Esto afecto a vecinos y otros exportadores en las Américas. Además de la desaceleración de la economía China.
- El impacto de la inseguridad en países Europeos por los atentados terroristas afectando áreas turísticas y forma de vida.
- Con la caída brusca, no esperada del precio y el riesgo de producir en presencia de EMS/AHPND mas otras enfermedades emergentes, el riesgo de sembrar no se justifica y gran parte de los camaroneros dejaron de sembrar.
- Con la expectativa de precios que veníamos, stocks suficientes y baja en la demanda han empujado mas precios locales a fincas.

ACTUALIZACIACION DE ENFERMEDADES EMERGENTES: EMS/AHPND – EHP – ATM – RUNNING MORTALITY SYNDROME

Epicore BioNetworks Inc.

Viviendo con las enfermedades que amenazan el cultivo de camarón en Asia

- Trabajo realizado en National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Centex Shrimp, Shrimp-pathogen interaction laboratory (SPI) y el Gobierno de Tailandia
- Datos presentados por la Dra. Kallaya Srutunyalucsana, Ph.D.. TARS 2016
- Con colaboración de SGIC, Yellow sea fishieries research institute, Cefas, Uppsala Universitet, Department of Fisheries Thailand, Mahidol University, Kesetsart University, Burapha University, Chulalongkorn University, CPF, SyAqua and Suratthani shrimp farmers club.

Mayores amenazas para ambos: P. *vannamei* y P*. monodon*

FUENTE: Kallaya Sritunyalucsana, PhD, TARS 2016

- El nivel de la amenaza depende de la especie cultivada y el país de cultivo.
- La mayor amenaza viral para ambas especies es WSSV
- La mayor amenaza bacteriana es “Enfermedad de la necrosis hepatopancreatica aguda (AHPND) también conocida como EMS/AHPND.
- La mayor amenaza parasítica es un nuevo microsporideo *Enterocytozoon hepatopenaei* EHP.

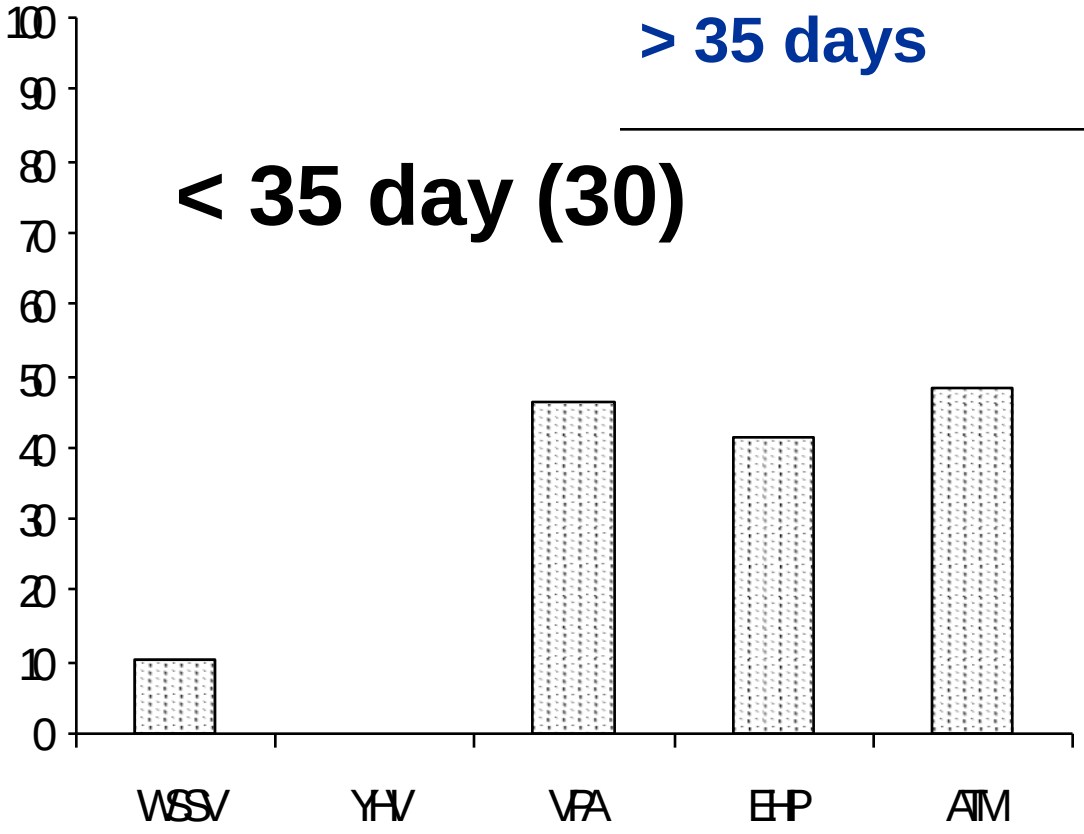
Estudio Epidemiológico en Tailandia

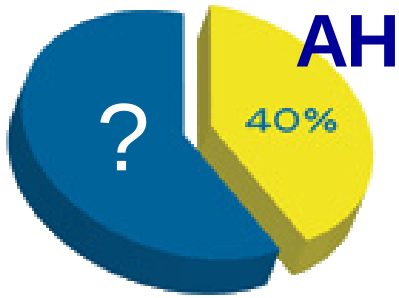
FUENTE: Kallaya Sritunyalucsana, PhD, TARS 2016

- Un estudio epidemiológico básico en 200 piscinas pre-seleccionadas de áreas afectadas por EMS/AHPND.
- Consideraciones de diferencias en manejo y socio-económicas.
- Piscinas con mortalidad temprana (<35 días) inmediatamente muestreadas y enviadas para análisis múltiple de enfermedades.
- Todo el resto de piscinas muestreadas a los 35 días y enviadas para el mismo análisis múltiple de enfermedades.
- Los resultados a continuación.

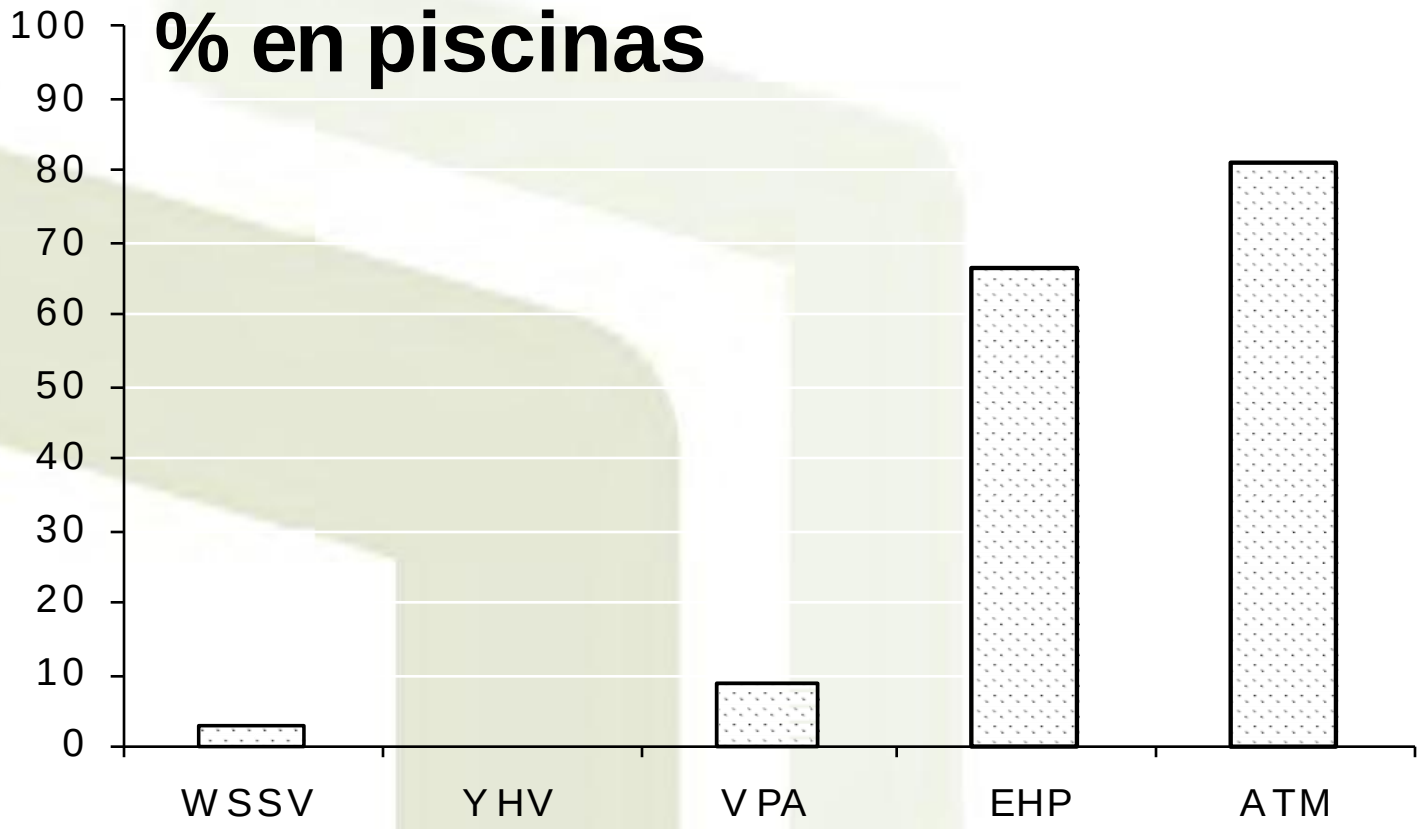
% en piscinas

Muestreo	Número
< 35 days	30
> 35 days	170



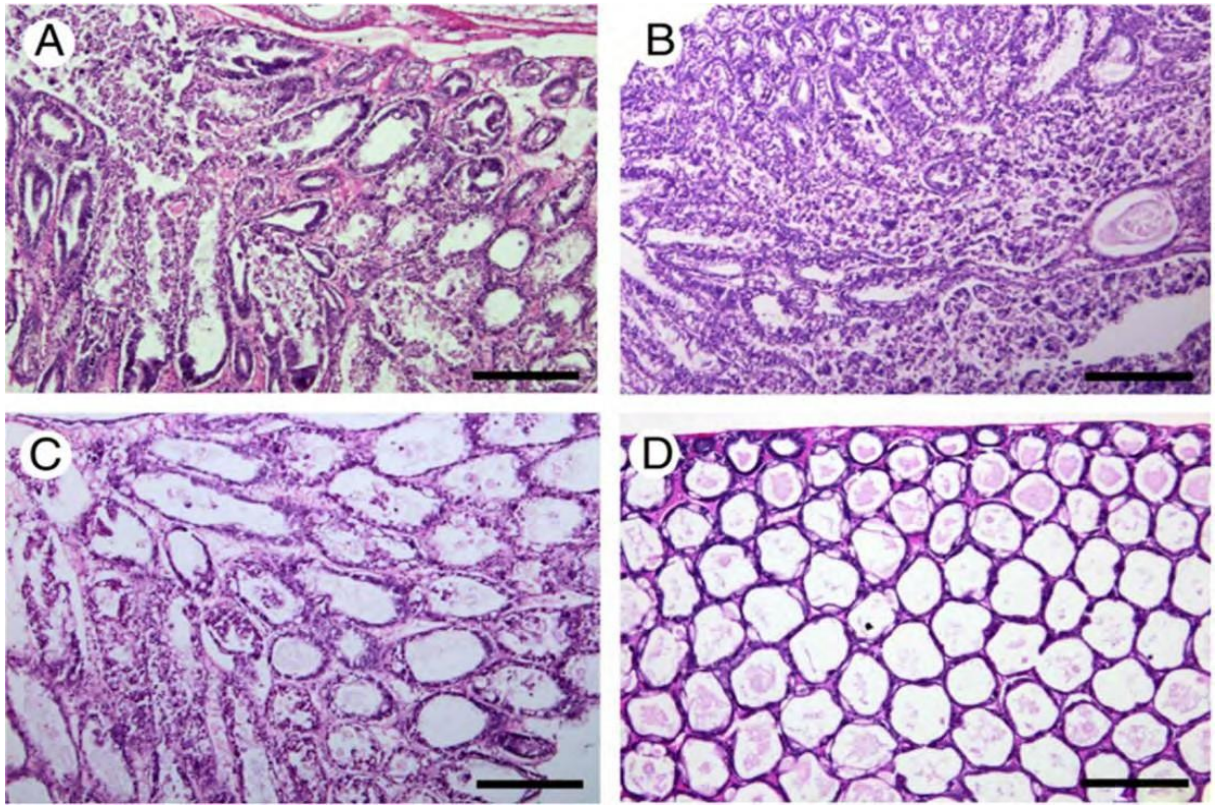


> 35 dias (170)



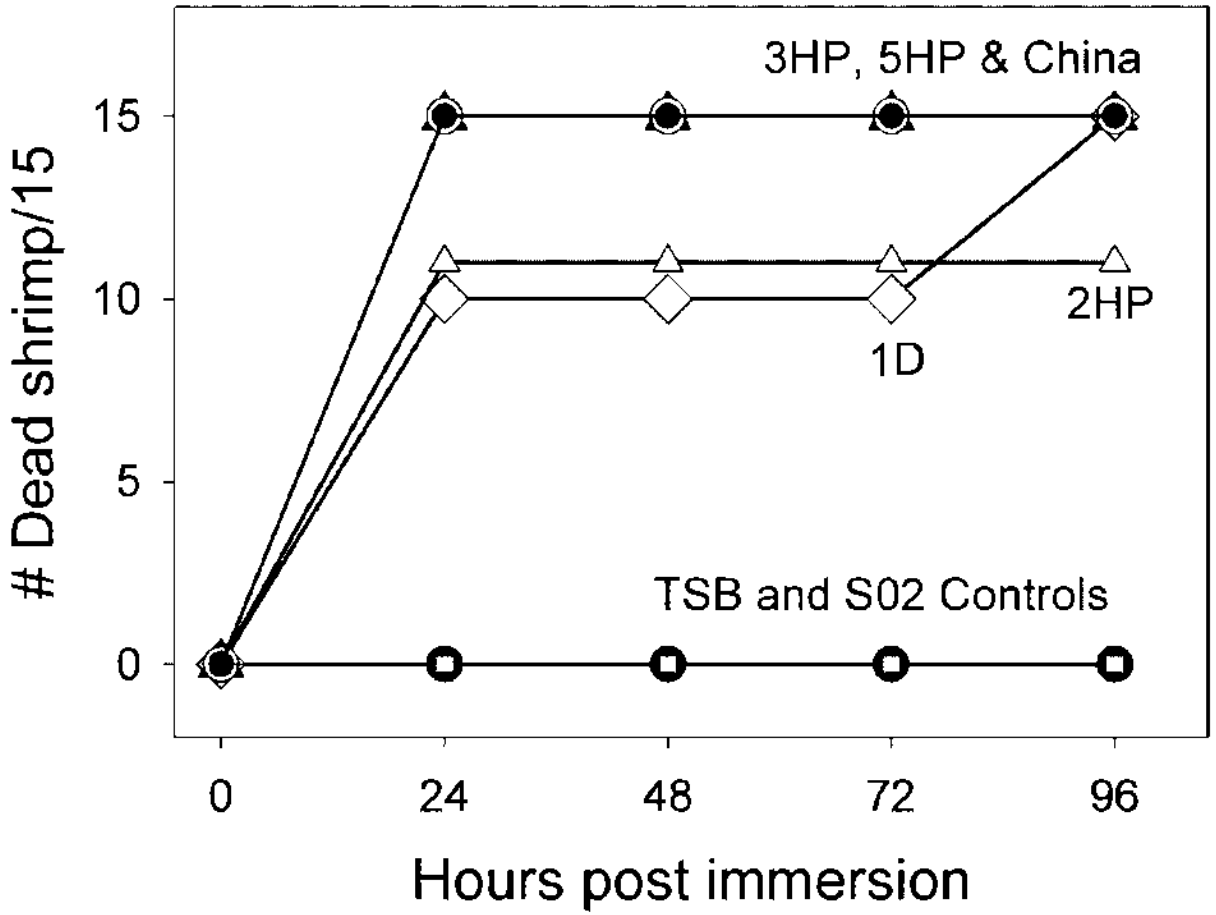
AHPND es solo parte de EMS, no = EMS
Aspectos importantes de AHPND
FUENTE: Kallaya Sritunyalucsana, PhD, TARS 2016

- Epitelio colapsado es caracteristico de VP(AHPND). Sintomatología se da en bioensayos por inmersion en (10^6, 10^5, 10^4 10^3/ml). (Joshi et al. 2014 Aquaculture 428-429.297-302)



Variación en la virulencia de VP en una misma finca

FUENTE: Kallaya Sritunyalucsana, PhD, TARS 2016



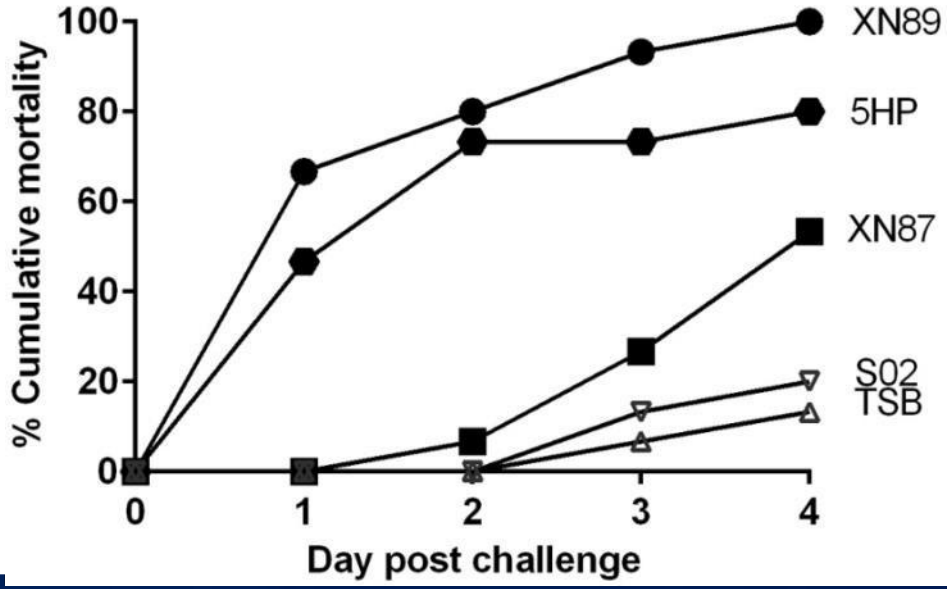
Joshi et al. 2014. Aquaculture 428–429: 297-302

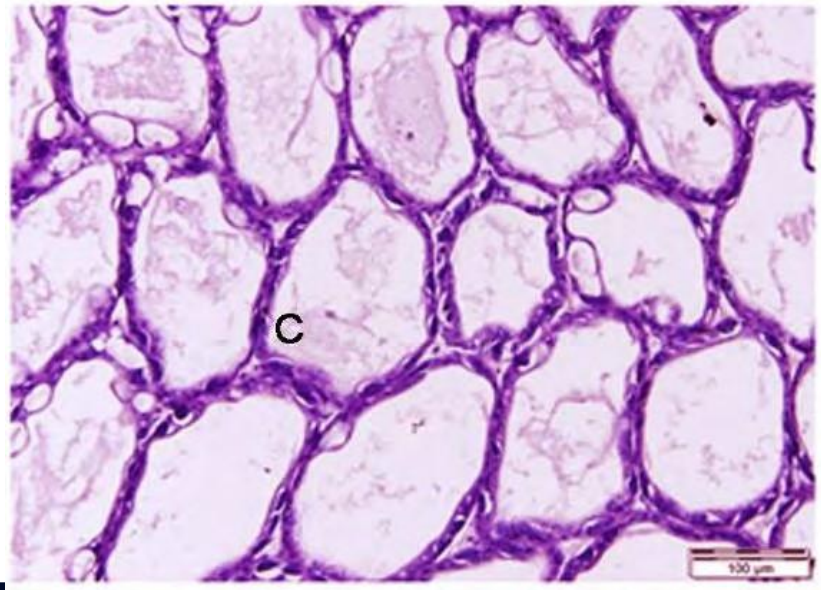
Variación en la virulencia de VP

FUENTE: Kallaya Sritunyalucsana, PhD, TARS 2016

- En bioensayos con XN87, solo algunas regiones del HP muestran epitelio colapsado. Esto sugiere producción de otras toxinas.

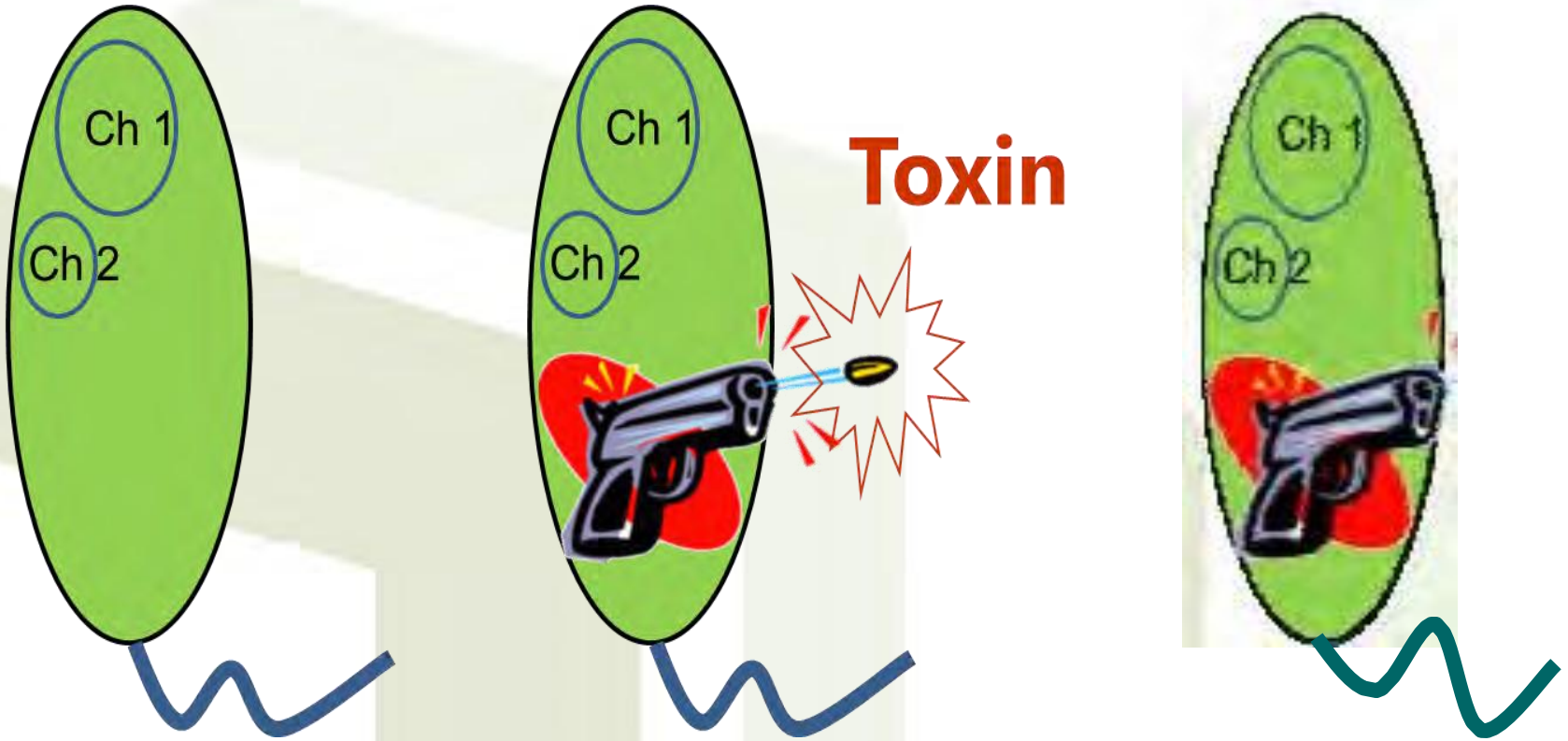
- La patología y mortalidad es similar al ahislado Thai 2HP, esto indicaría que su plasmido pAP1 haya mutado similar al ahistado mutado Vietnamita XN87. Se encuentra el gene de la toxina B pero no de la A. Sin embargo no Pir^{vp} A o B toxinas en cultivos XN87.





Non-AHPND

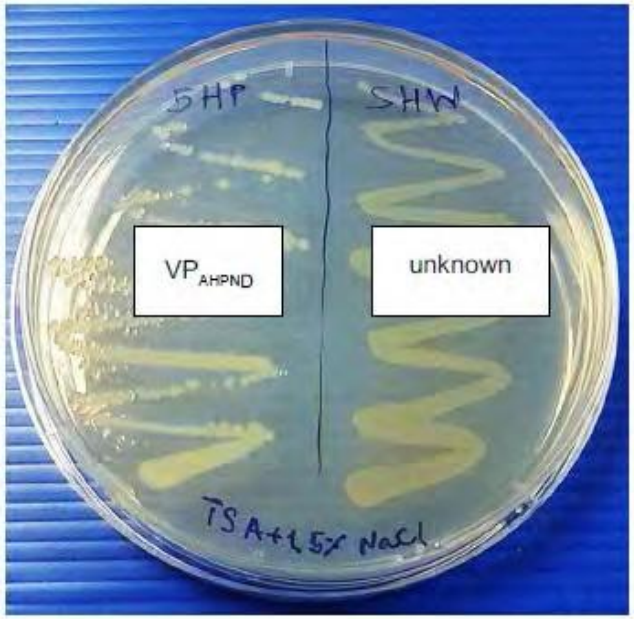
AHPND

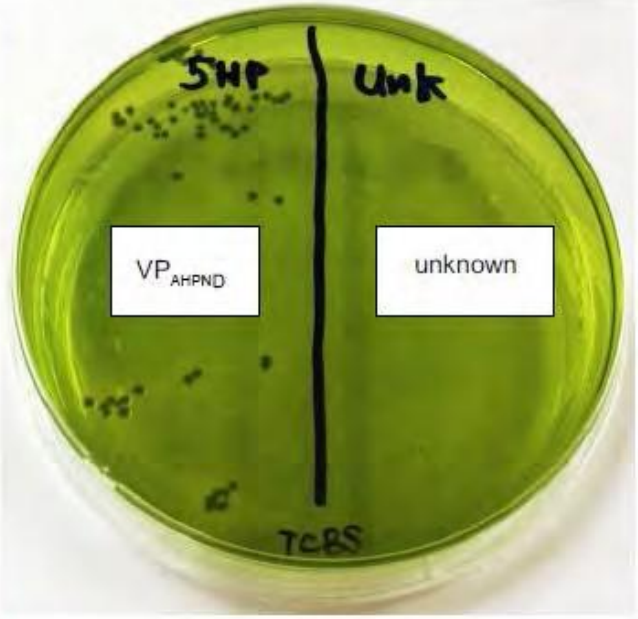


Nuevo aislado: *Shewanella* sp.

FUENTE: Kallaya,PhD. TARS 2016

- Ahislado de camaron infectado con **VP_{AHPND}.**
- No crece en TCBS
- Identificación bioquimica y sequensamiento Shewanella.

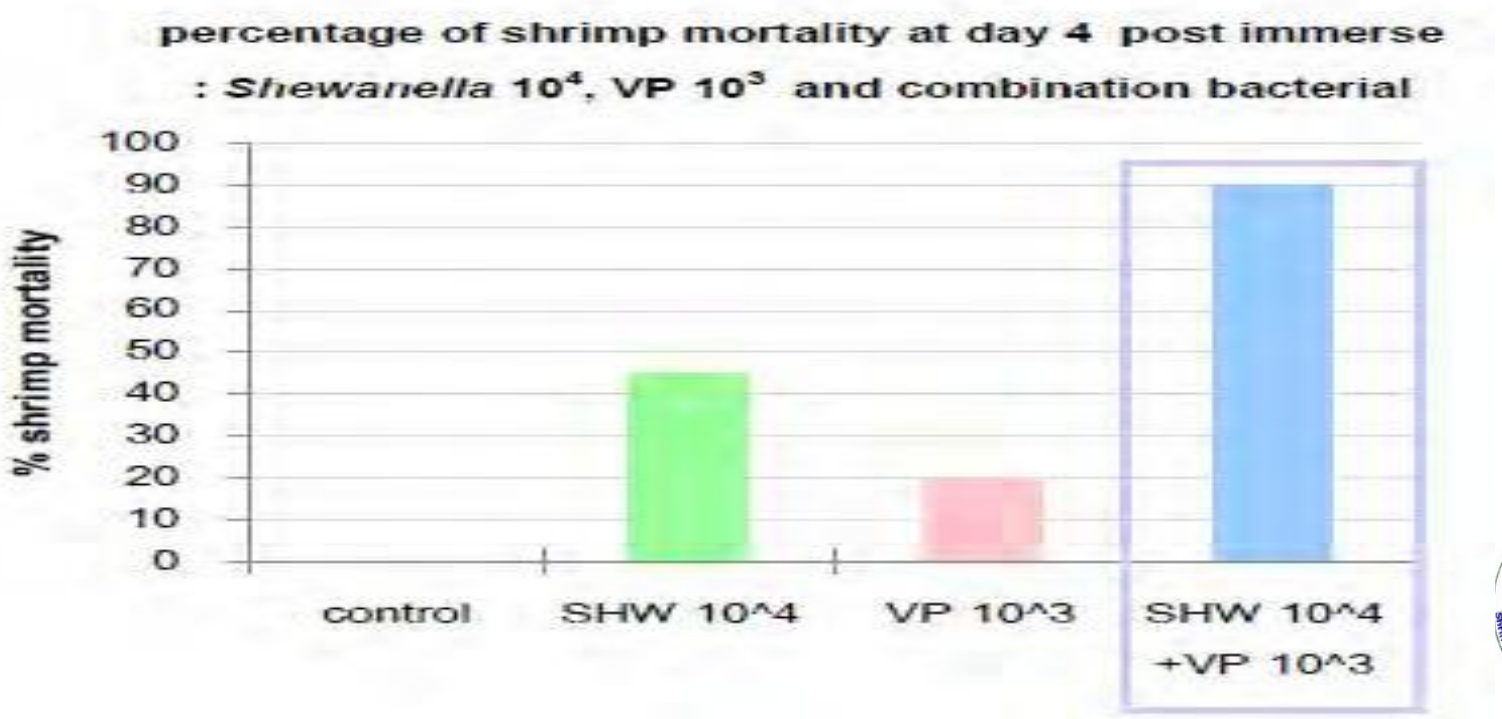




Nuevo aislado: *Shewanella* sp. Bioensayo

FUENTE: Kallaya,PhD. TARS 2016

- LD_{50} de Shewanella: **1x10⁶ cfu/ml**
- Efecto sinérgico con **VP_{AHPND}**



Conclusiones para AHPND

FUENTE: Kallaya,PhD. TARS 2016

- VP es el patógeno más común de camarón y en medio marino.
- Se ha identificado un rango de aislados bacterianos de virulencia variable
- Algunos producen toxinas **Pir^{vp}** pero varían en virulencia lo que necesita ser explicado.
- Algunos no producen toxinas **Pir^{vp}** ni causan patología de AHPND pero causan mortalidades significativas.
- En cualquier caso, lo primordial es mantener las poblaciones de Vibrio bajo control.

Conclusiones para AHPND
Manejos y estrategias con resultados

Epicore BioNetworks Inc.

- Inicialmente limitar el uso de dietas frescas en maduraciones solo a opciones que garanticen que estén libres de VP. Disminuir uso de dietas frescas con alimentos terminados. Productividad / bioseguridad.
- Desinfección de unidades de producción y monitoreo para **VP_{AHPND}**
- Implementación de uso de raceways/nurseries en fincas, incrementando bioseguridad y modificando manejo para garantizar animales libres de **VP_{AHPND}**. El objetivo es transferir animales de 1 gramo a engorde.
- Disminuir días de cultivo en engorde, 55 a 65 días, disminuyendo riesgo de infección en área de mayor riesgo.
- Mantener densidades de siembra, el objetivo es alcanzar misma biomasa en menor tiempo y sin mayor presión de carga sobre el medio. en menor tiempo y sin mayor presion de carga sobre el medio.

Conclusiones para AHPND
Manejos y estrategias con resultados

Epicore BioNetworks Inc.

- Es contraproducente incrementar densidades de siembra para compensar mortalidad usando el sistema tradicional de siembra directa. Esto solo incrementa la prevalencia de patógeno en el medio.
- Modificar el manejo en engorde con énfasis en controlar vibrios en general. Un ambiente estabilizado es mejor que uno variable.
- Probióticos en agua, en alimento, pero sobre todo foco en orgánicos.
- Vibrios crecen en detritos en fondo en donde se alimenta el camarón, limitar el alimento para el Vibrio en áreas de acumulación de materia orgánica. Indicativo jaulas Tailandia.
- Está bien documentada la posibilidad de transferencia de material genético entre bacterias gram negativas. Todo lo expuesto sugiere que esto está sucediendo ha alto grado.

Conclusiones para AHPND
Manejos y estrategias con resultados

Epicore BioNetworks Inc.

- Con este manejo integral y transfiriendo animales de 1 gr, se logran las mismas biomasas en menos tiempo con factores de conversión hasta un 30% menores lo que cambia la estructura de costos y utilidad.
- Incluso en caso de tener problemas en el engorde, en 30 días los animales están entre 8 y 12 gr. Que ya tienen precio y por lo menos se recupera algo de la inversión en larva y alimentos.
- Se logran 4 a 5 ciclos con lo que no solo mejora la presión sobre la demanda de larva sino demanda más larva, pero sin incrementar densidades.
- El cultivo de camarón tiene que evolucionar como el del pollo, a controlar mejores riesgos y disminuir la duración de los ciclos de cultivo.

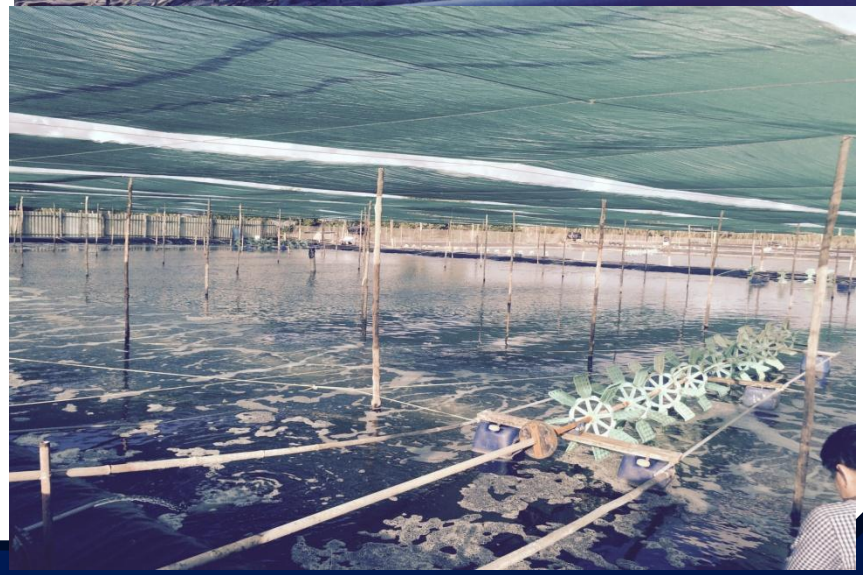
Conclusiones para AHPND
Manejos y estrategias con resultados

Epicore BioNetworks Inc.

- Los principales países asiáticos están ya moviéndose en esta dirección, son muy rápidos en adaptarse a cambios, cambiaron de especie entre el 2001 y el 2003.
- La recuperación de producción en Tailandia se debe en gran parte al uso de pre-crías. Los resultados que están obteniendo por las características de su animal son impresionantes.
- Transfiriendo animales de 1 gr y sembrando a 100 animales por metro, están cosechando en 60 días camarones de 25 gr con FCR de 1.15 y 85% de sobrevivencia.

Conclusiones para AHPND
Manejos y estrategias con resultados

Epicore BioNetworks Inc.



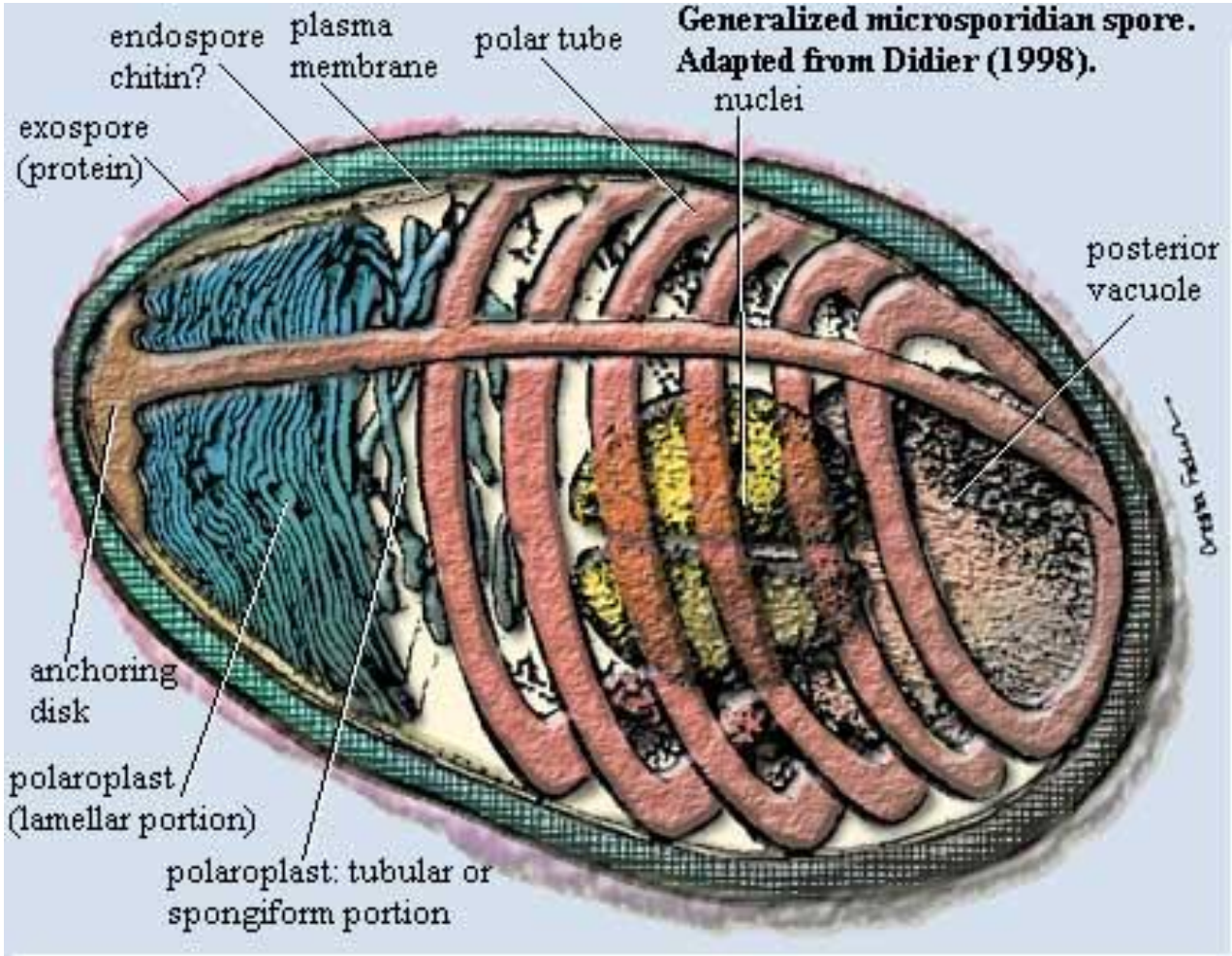
Microporidiosis Hepatopancreatica (HPM) *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP)

FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016

- Es un hongo que puede infectar tanto P. *monodon* como P. *vannamei*.
- Es el agente causal de la enfermedad de camarón algodón (cola blanca en el tejido muscular)
- Dos tipos son conocidos en Tailandia: *Agmasoma penaei* (Flegel et al. 1992, Diseases in Asían Aquaculture I. 181-197) y *Enterocytozoon Hepatopenaei* (EHP) (Tourtip et al. 2009. J. Invertebr. Pathol. 102, 21-29), agente causal de la microporidiosis hepatopancreatica (HPM)
- El tamaño de la espora depende del numero de núcleos y es alrededor de 1.1 micras.

Diagrama de espora de Microsporideo

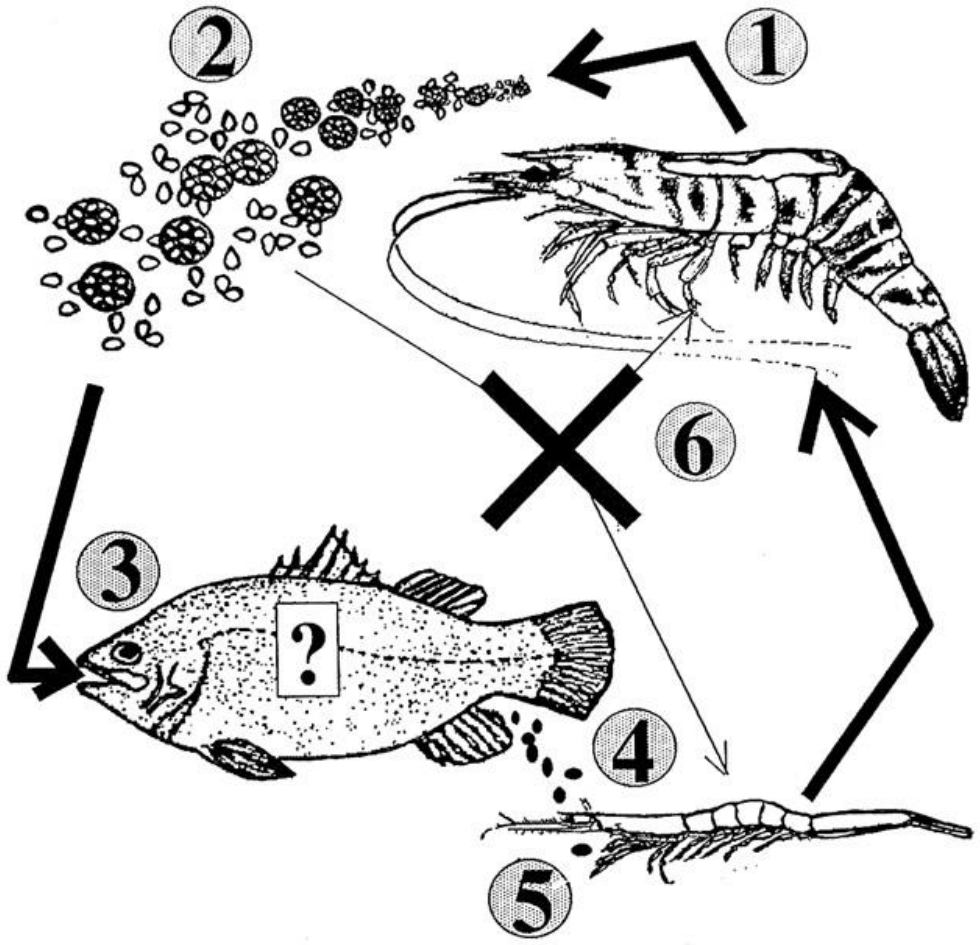
FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016



Enfermedad de la cola blanca causada por *Agmasoma penaei* Ciclo de vida.

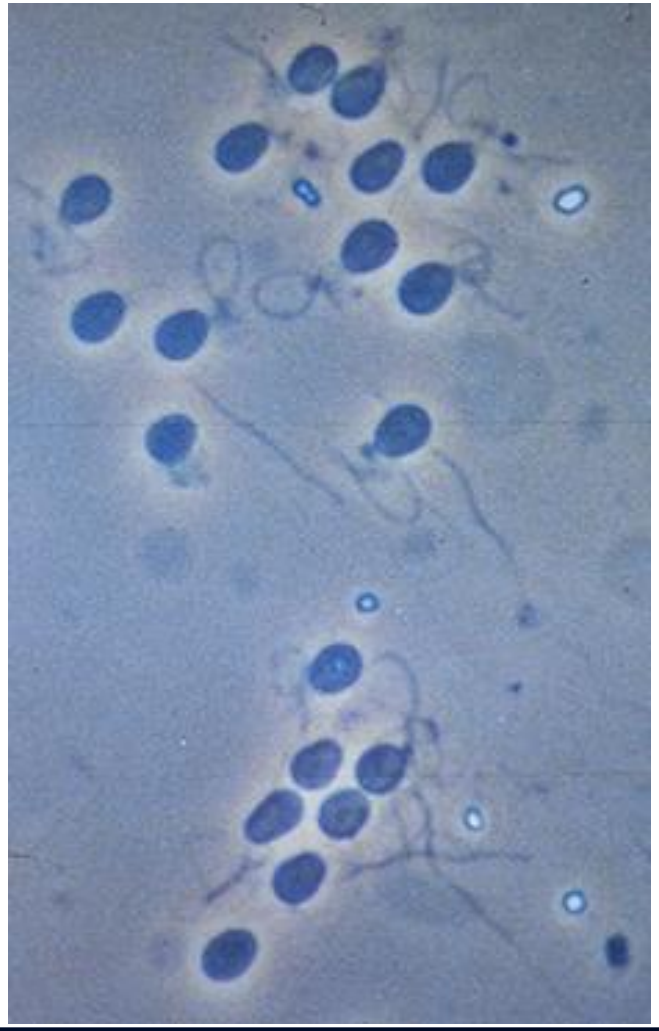
FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016

Este parasito no infecta directamente al camarón, necesita un pez intermediario.
Trasmisión puede ser controlada eliminado los peces de la piscina de cultivo.



Enfermedad de la cola blanca causada por *Agmasoma penaei*

FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016



Microporidiosis Hepatopancreatica (HPM)
Enterocytozoon hepatopenaei (EHP)

FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016

- No presenta síntomas aparentes claros que faciliten el diagnostico. Se sospecha el momento que el camarón presenta un retardo de crecimiento severo.
- Para confirmar infección, histopatología o métodos moleculares son requeridos. Se requiere lente de inmersión 100x y suficientes esporas.
- Diagnosis también puede hacerse por montaje en freso del tejido muscular afectado con tinción con Phloxine B y lente de 100x.
- Infección hasta 10^3 copias/µg no tiene efecto negativo. Grado de retardo en crecimiento proporcional a severidad de infección medida por qPCR.
- Niveles de infección mayores a $10^{7/}$µg DNA puede dar mortalidad baja. Evidencia que puede predisponer a patógenos bacterianos pero puede proteger contra AHPND.

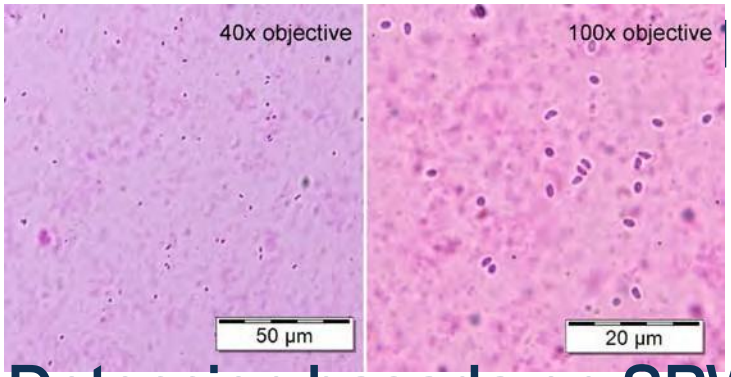
Métodos de diagnostico de EHP

FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016

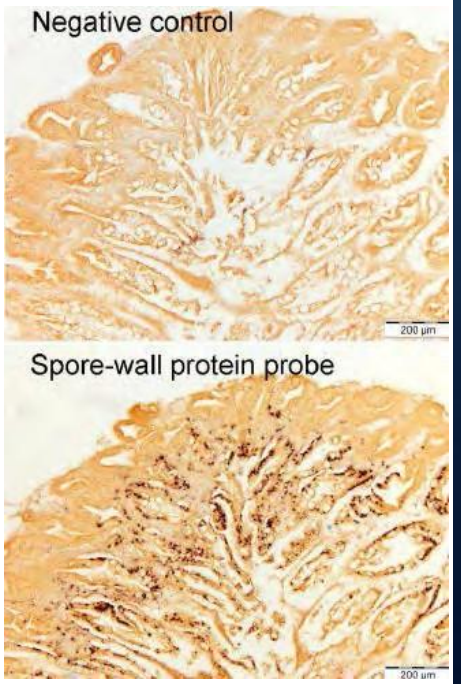
Epicore BioNetworks Inc.

- 4 métodos de detección desarrollados

Phloxine

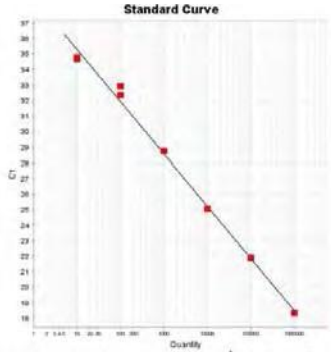


n situ hybridization



Deteccion basada en SPW-PCR

ชื่อเชื้อไมโคร	สัตว์	ความเหมือนของ 18S
Enterospora nucleophila	ปลากระพง	93%
Enterospora canceri	ปู	90%
Nuclespora salmonis	ปลาแซลมอน	89%
Hepatospora eriocheir	ปู	80%



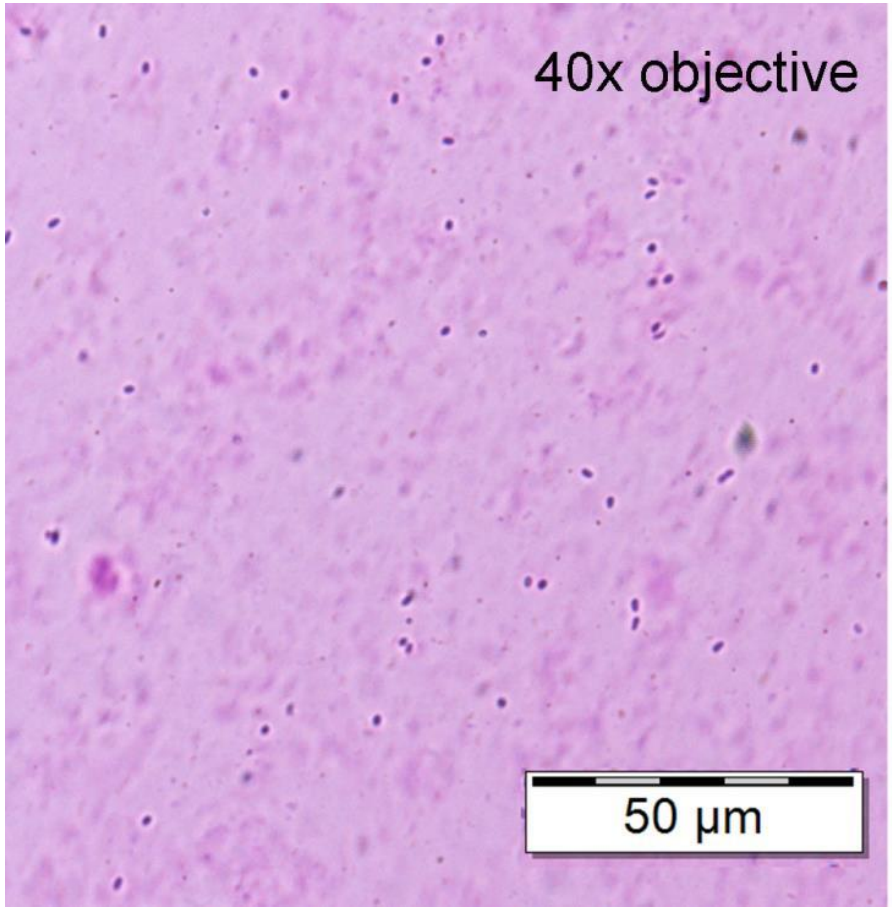
รูปที่ 26: กราฟมาตรฐานแสดงค่า Ct กับค่าปริมาณ EHP ที่ตรวจได้โดยใช้เทคนิค Quantitative real time PCR

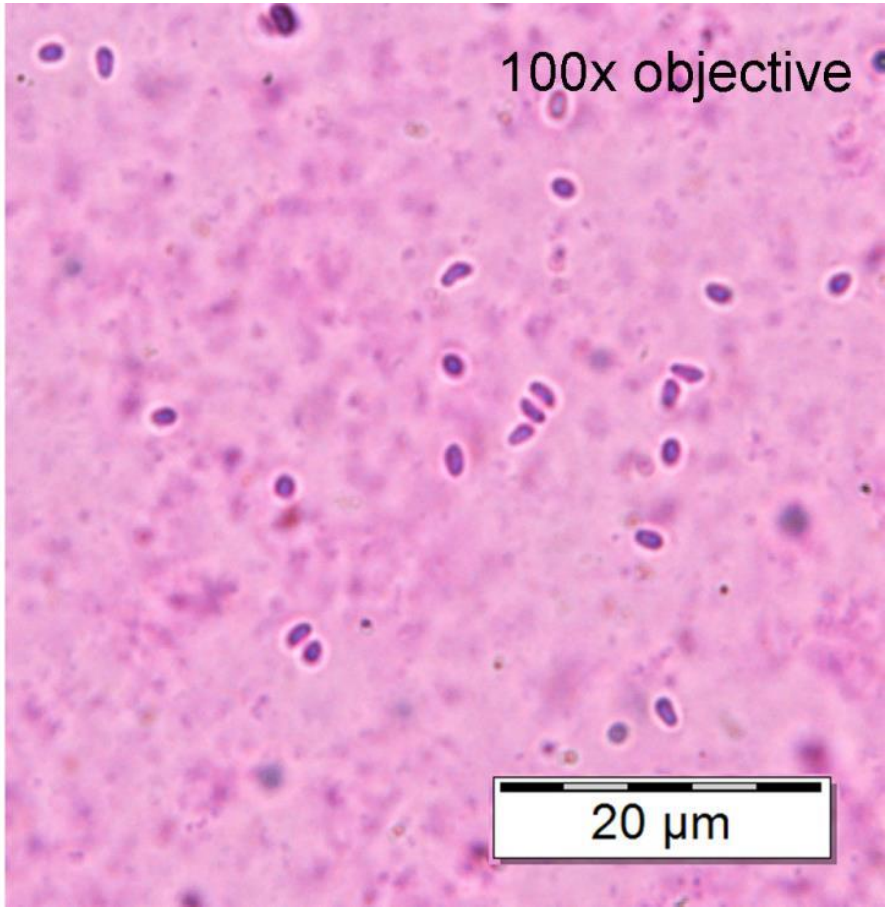
Quantitative PCR

Epicore BioNetworks Inc.

Esporas de EHP en montaje en fresco
Tinción con solución acuosa al 2% de Phloxine B

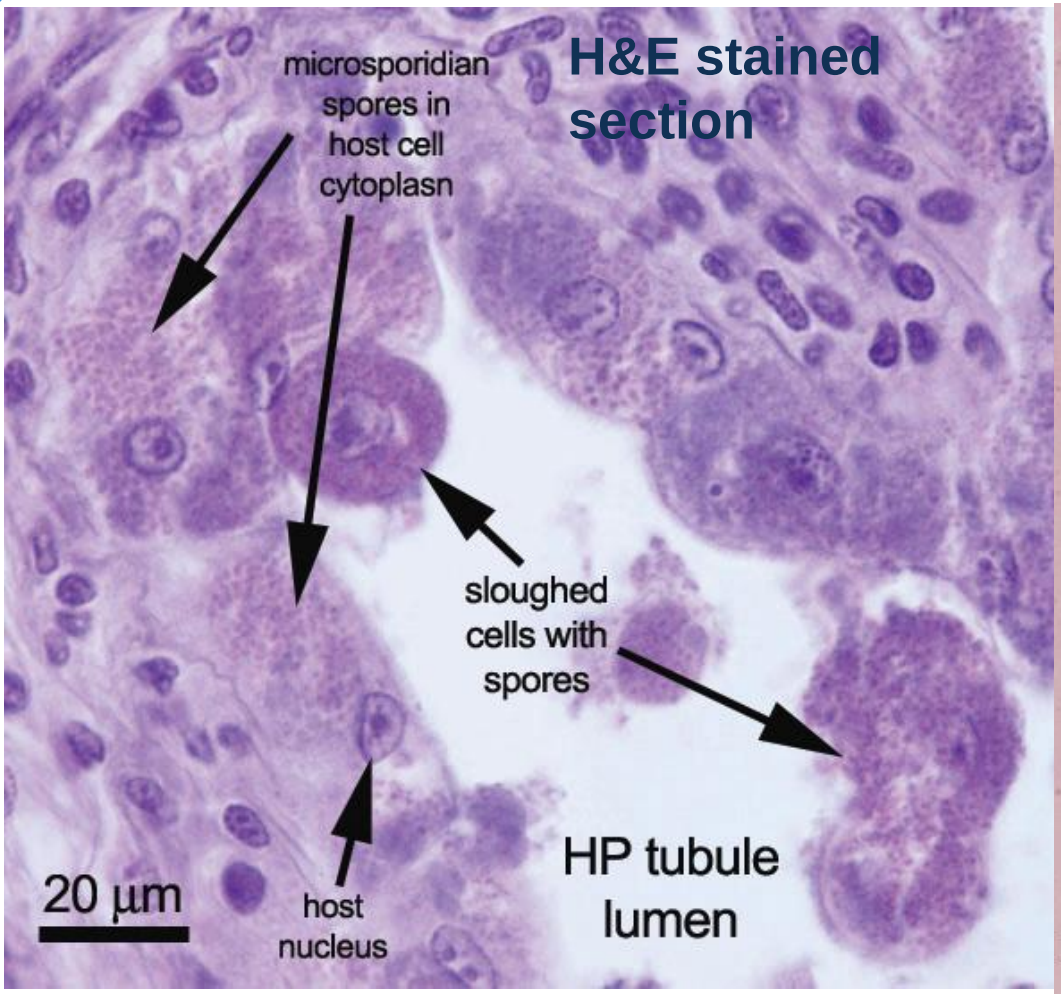
FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016

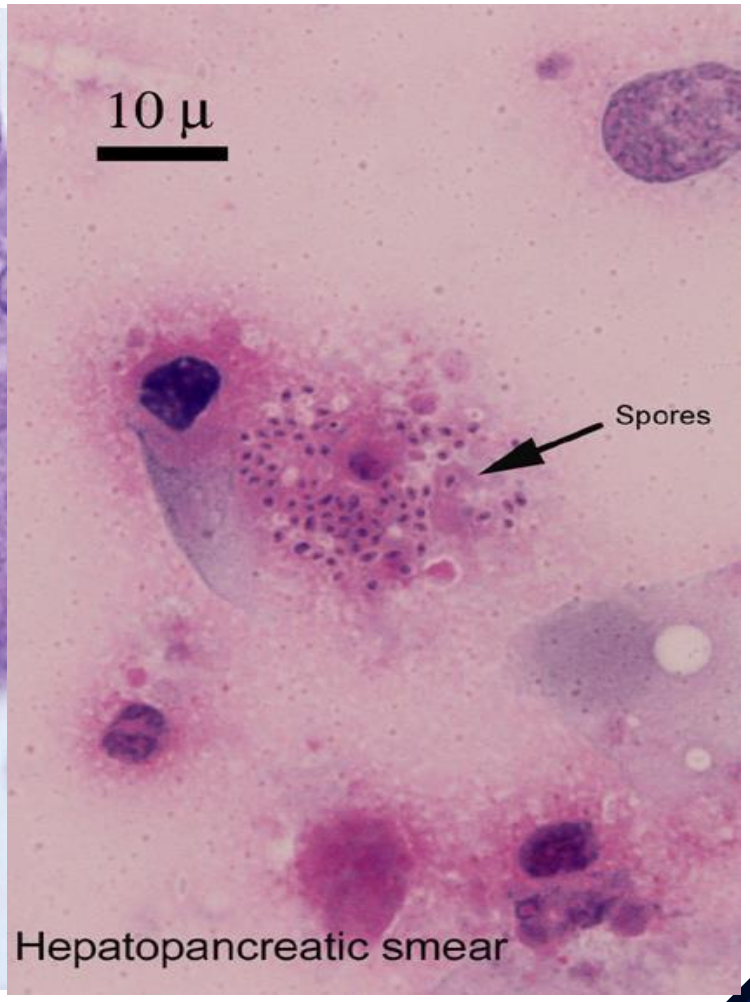




Histopatología de camarón con HPM
Tinción con Hematoxilina Eosina H&E

FUENTE: Kallaya,Ph.D. KUHome Smart Shrimp, Enero 2016





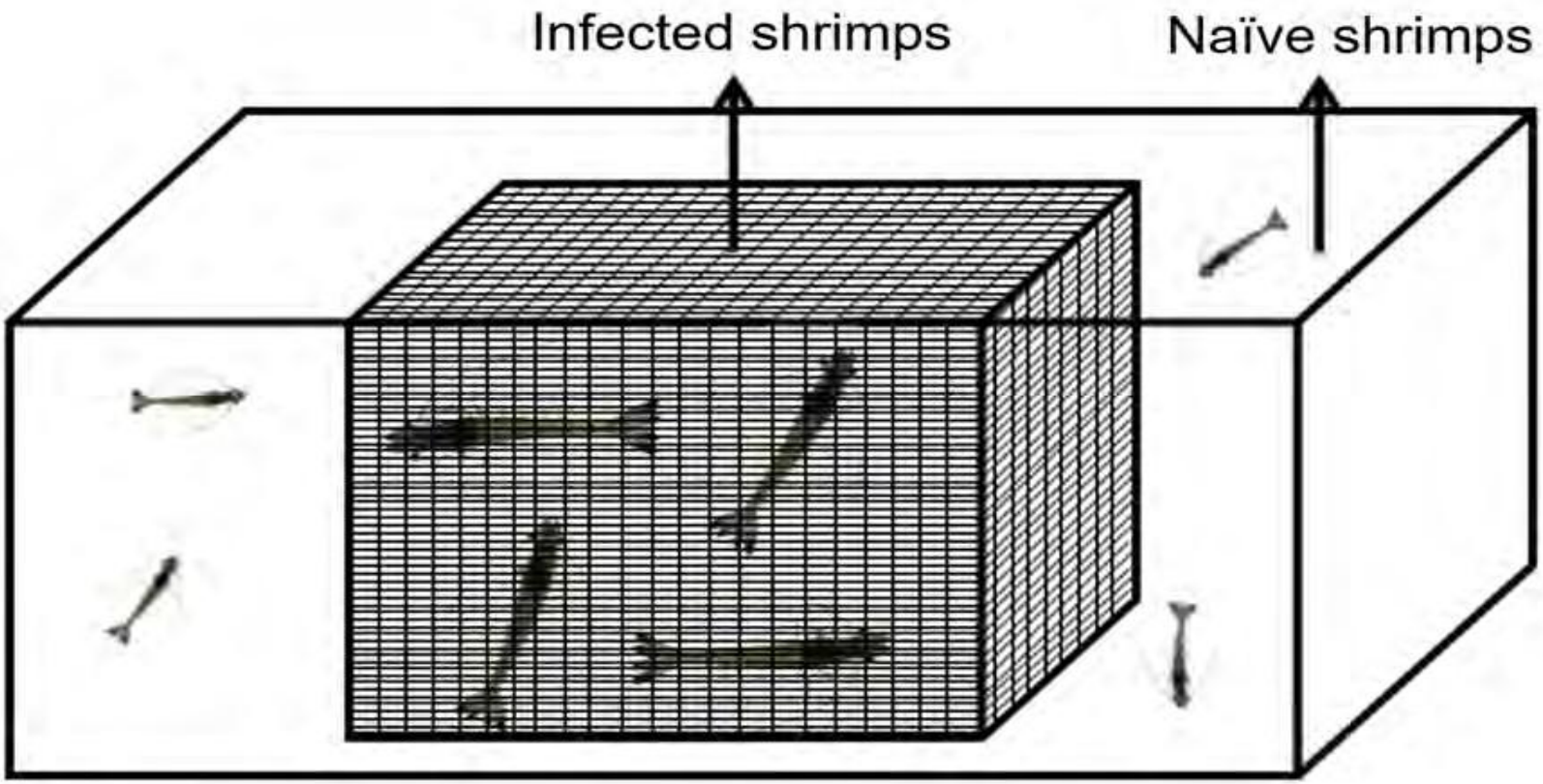
Transmisión de HPM
Modelos de infección en laboratorio

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

- EHP puede ser transmitido alimentando tejido infectado de HP a camarones sanos.
- Puede también ser transmitido por convivencia de camarones sanos separados de camarones infectados. Este método talvez el más indicado para probar tratamientos preventivos.
- Después de 14 días de convivencia con camarones infectados, todos los camarones sanos se infectaron.
- Transmisión vía oral de esporas purificadas de tejido de HP infectado no ha sido exitosa.

Modelos de infección en laboratorio de HPM, confirma transmisión horizontal

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.



Efecto de EHP en el crecimiento del camarón

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

	Non-infected pond	EHP-infected pond
Number of ponds	6	7
Age (days)	86-99	77-99
EHP detected (day post culture)	-	36-65
Survival rate (%)	91.42±11.66	76.67±17.85
Average weight (g)	22.55±2.59	14.15±4.37
ADG (g/d)	0.25±0.04	0.16±0.05
FCR	1.26±0.17	1.69±0.31
%CV	17.79±4.25	22.25±2.39

Aspectos desconicidos de EHP y Concluciones y recomendaciones

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

- Existen etapas en el ciclo de vida en otras especies hospederas?
- Cuáles son todos los modelos de trasmisión en camarón?
- Cómo se puede inactivar las esporas?
- Es posible alternativas de tratamientos terapéuticos?
- EHP no es la causa de White feces síndrome (WFS) pero puede estar presente en camarón con WFS.
- Deberíamos incluir esta enfermedad en el monitoreo por PCR, monitorear otras especies del sistema de cultivo (identificar huéspedes).
- Reproductores no deberían ser alimentados con alimentos frescos que no sean SPF o verificados libres de EHP.

Conclusiones para EHP
Como controlarlo?

FUENTE: Center of excellence for shrimp. Timothy Flegel

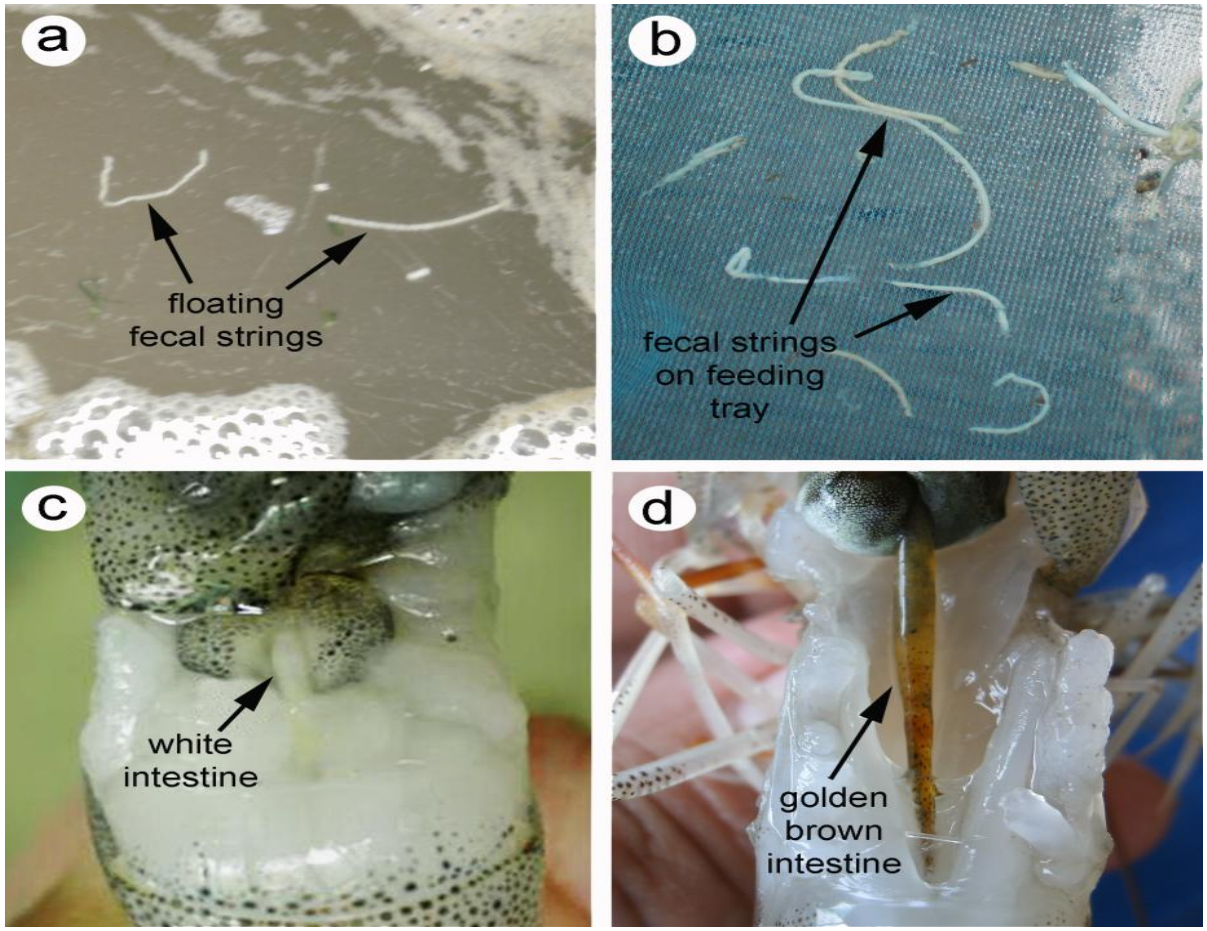
- En laboratorios: sospechar si hay crecimiento retardado. Incluir monitoreo. Si positivo, parar y desinfectar completamente la maduración y la larvicultura (todo equipo, filtros, reservorios y tuberías) usando una solución de hidróxido de sodio al 2.5% (25gr NaOH/L agua dulce) dejar la solución por 3 horas y enjuagar después de 3 horas. Secar por 7 días y enjuagar con una solución acidificada de cloro (200 ppm solución de cloro a pH <4.5)

- En fincas: primero asegurarse que la PI no está infectada con EHP. Preparar piscinas adecuadamente entre ciclos, si se detectó EHP en el ciclo previo, desinfección con niveles de hasta 300 ppm de cloro no son efectivas. Use cal viva para desinfectar las piscinas de tierra (6ton/ha). Incorporar la cal en la piscina seca y luego humedecer el fondo para activar la cal. Deje por 1 semana antes de volver a secar y llenar.

Aggregated Transformed Microvilli (ATM)

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

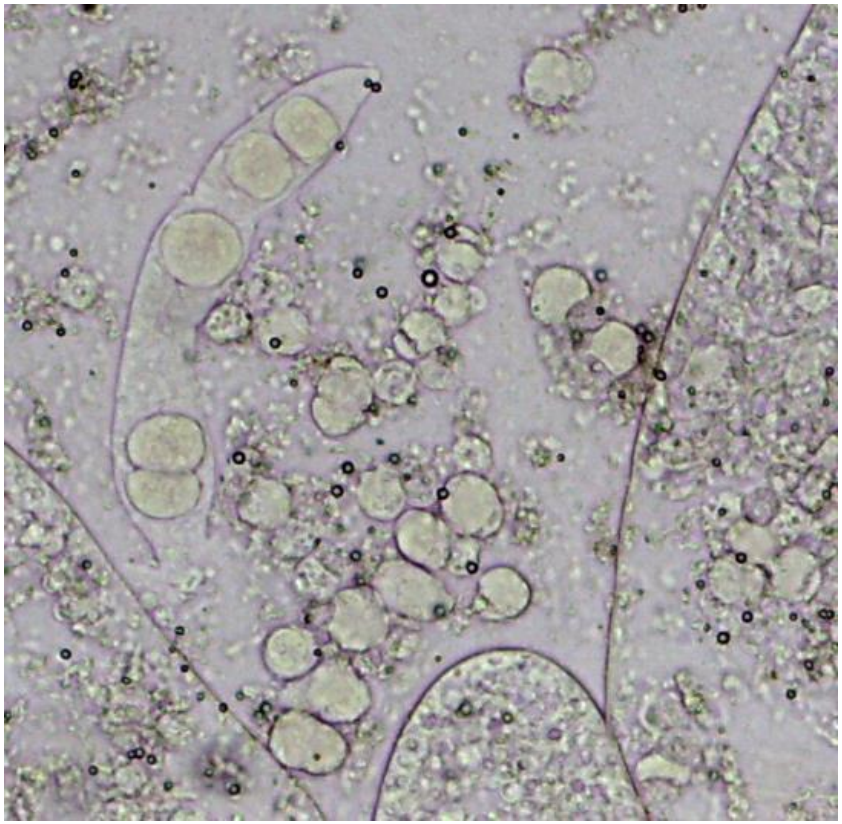
- Es abundante en camaron con WFS.



Aggregated Transformed Microvilli (ATM)

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

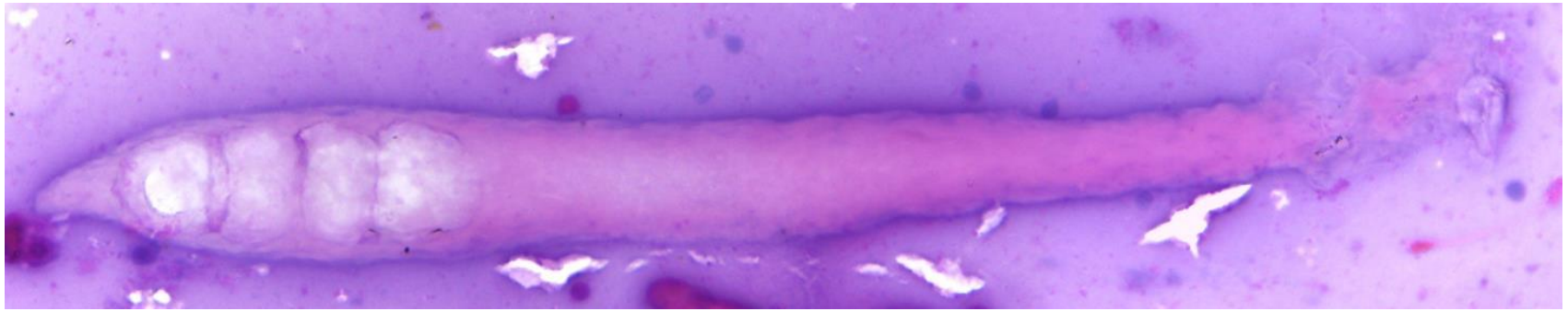
- Montages en fresco con cubre objetos.

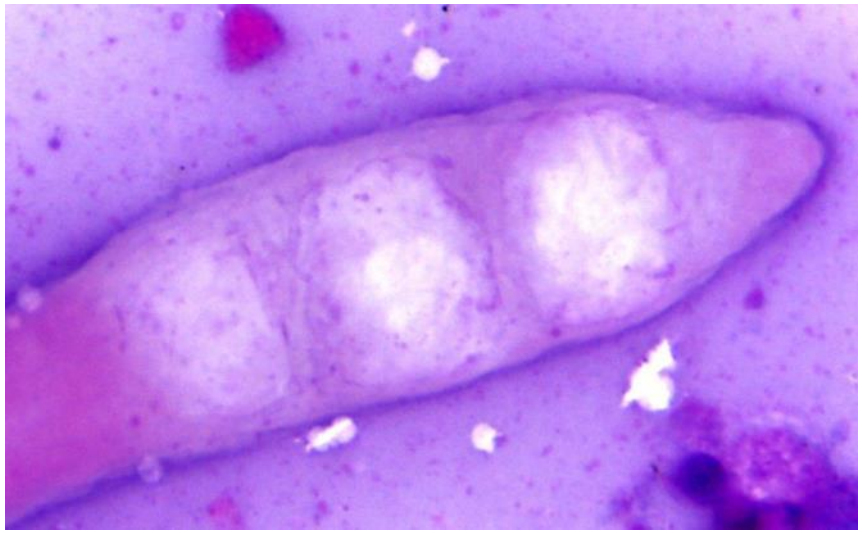


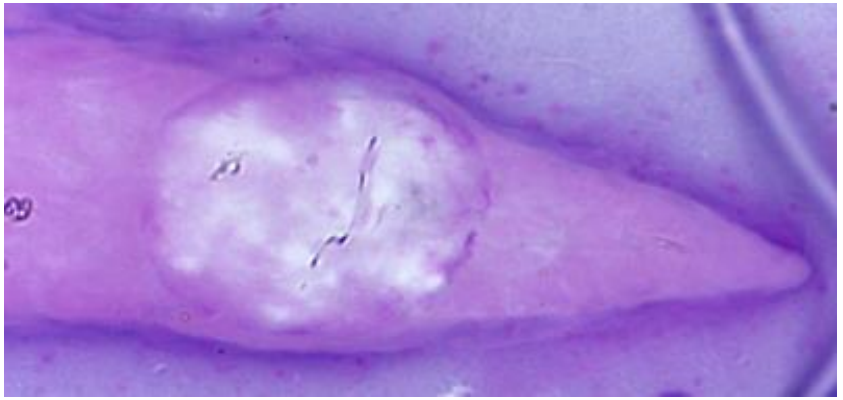
Aggregated Transformed Microvilli (ATM)

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

- ATM en frotis tenidos.







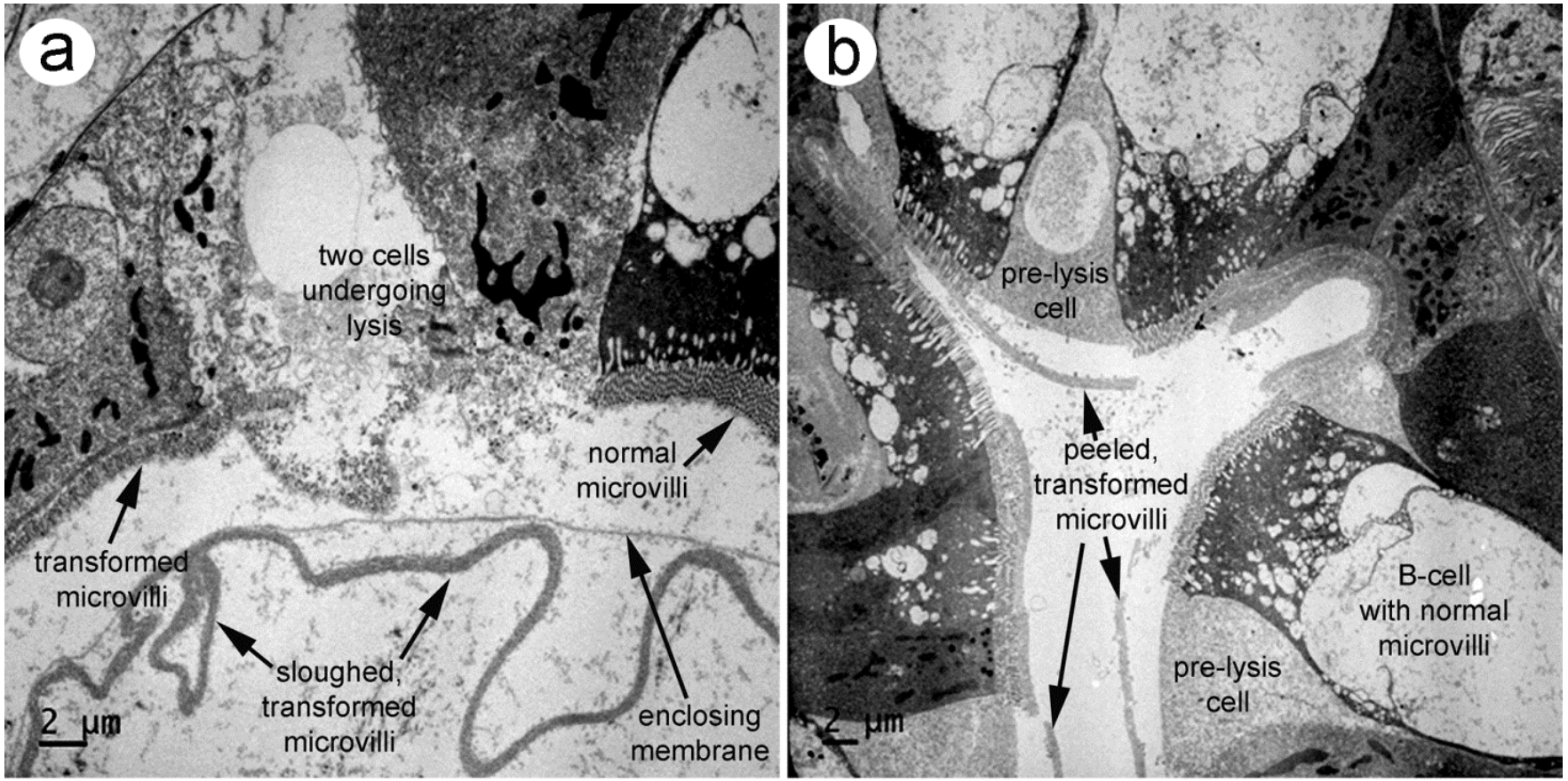
Aggregated Transformed Microvilli (ATM) Origen

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

- Trabajo de Siriporn Sriurairatana.
- Nace de agregación de microvellosidades modificadas descamadas de células de tejido epitelial del HP.
- Luego de la descamación, las células afectadas sufren una lisis.
- Esta es una condición patológica de causa desconocida.
- Colaboración de Biotec con Dr. Lo en la Universidad Nacional de Taiwán.
- Se han preparado especímenes de camarón con y sin ATM para comparación de ácidos nucleicos in Taiwán.

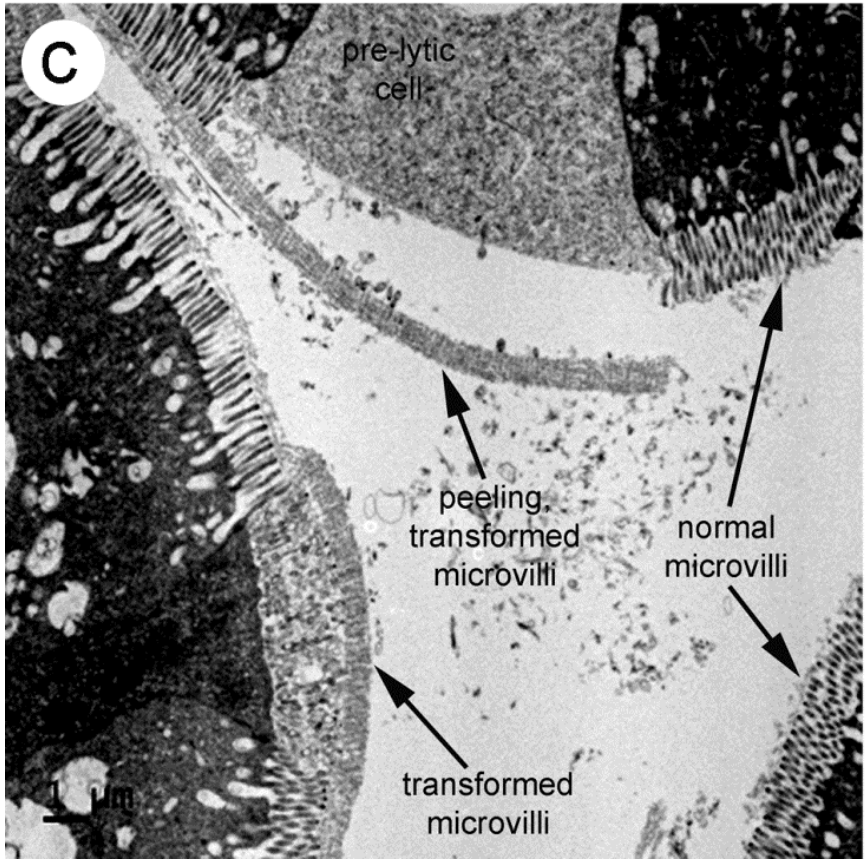
Aggregated Transformed Microvilli (ATM)
Proceso de transformación y pelado 1

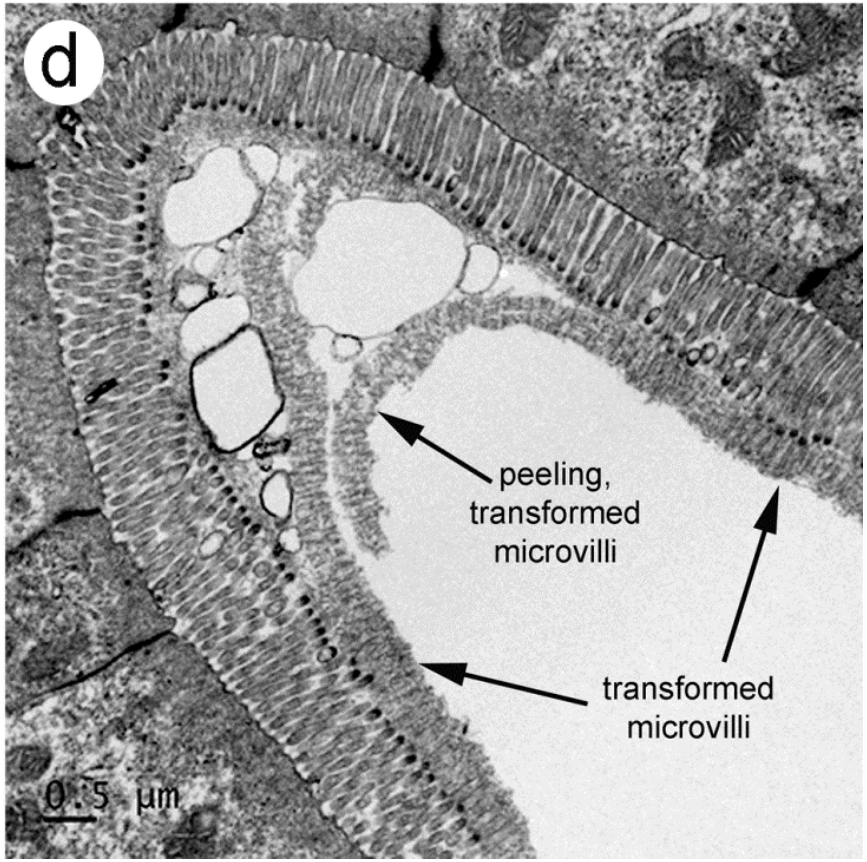
FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.



Aggregated Transformed Microvilli (ATM)
Proceso de transformación y pelado 1

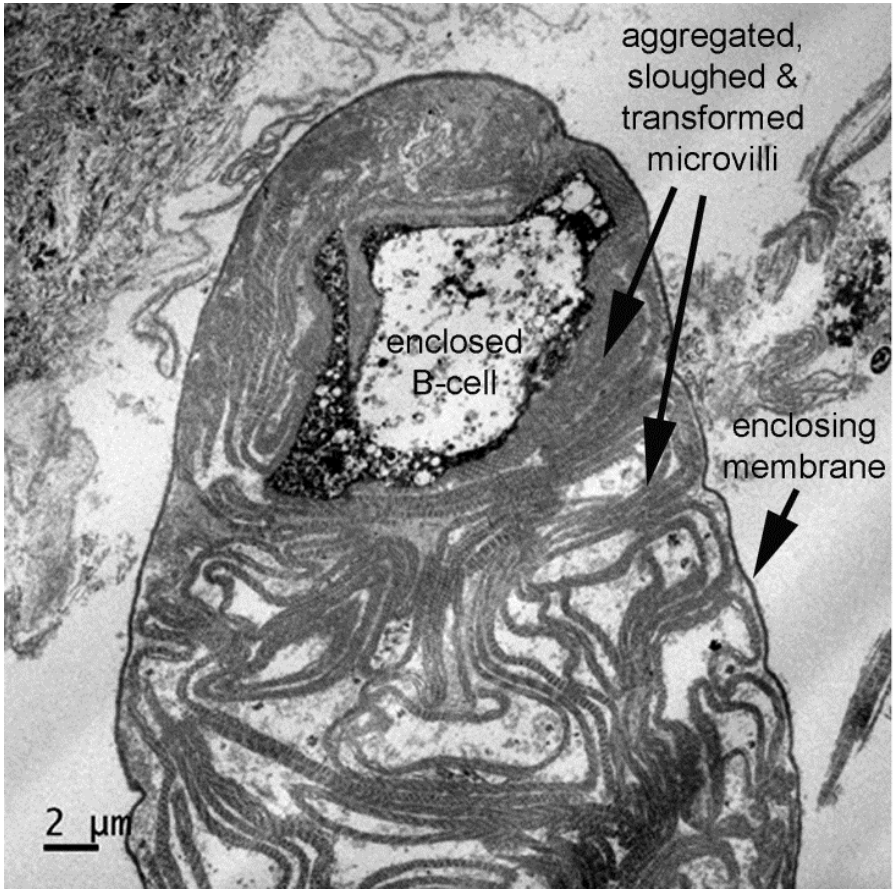
FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

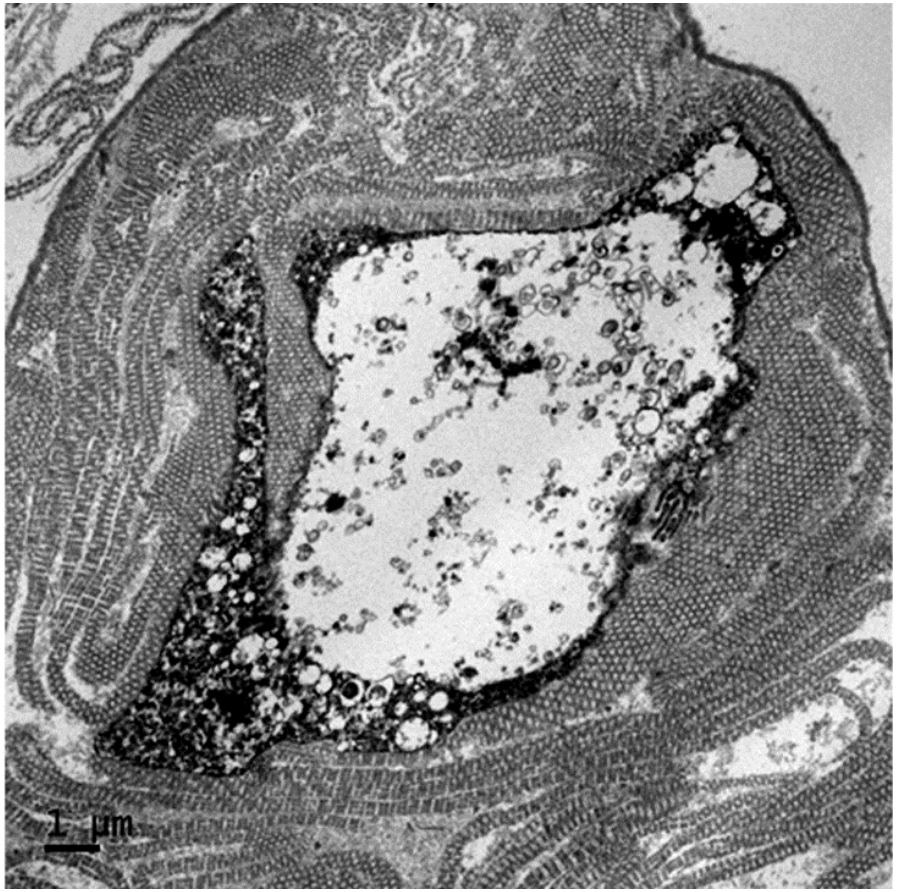




Aggregated Transformed Microvilli (ATM)
Agregación final y Condensación

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

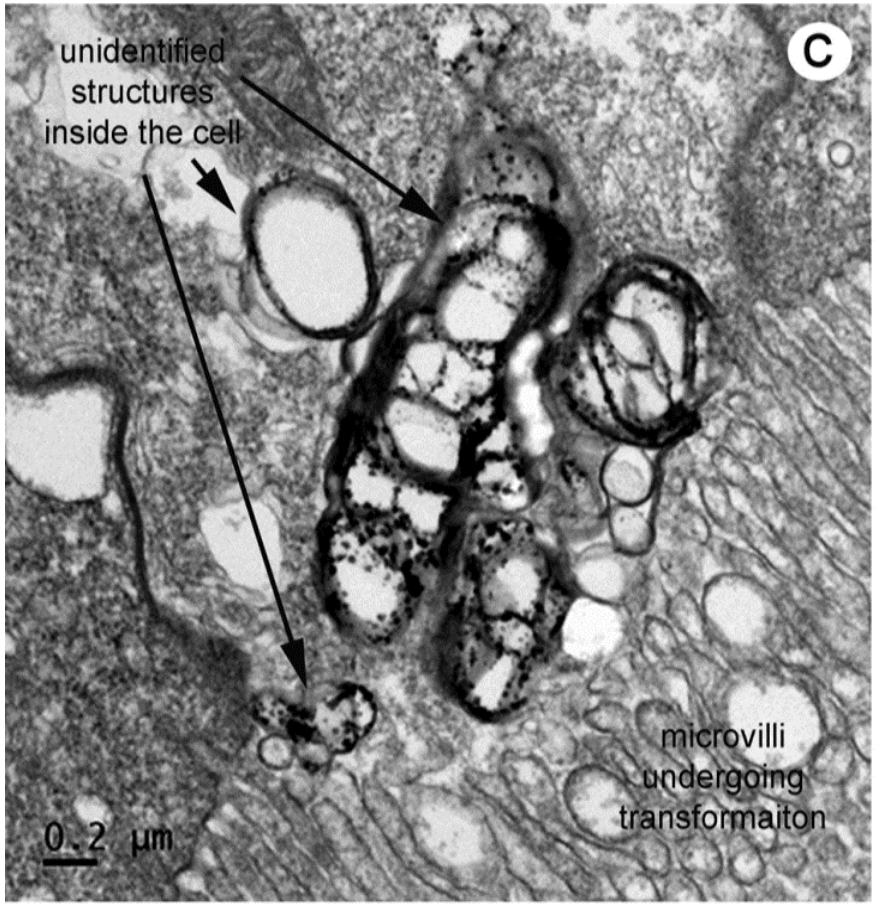


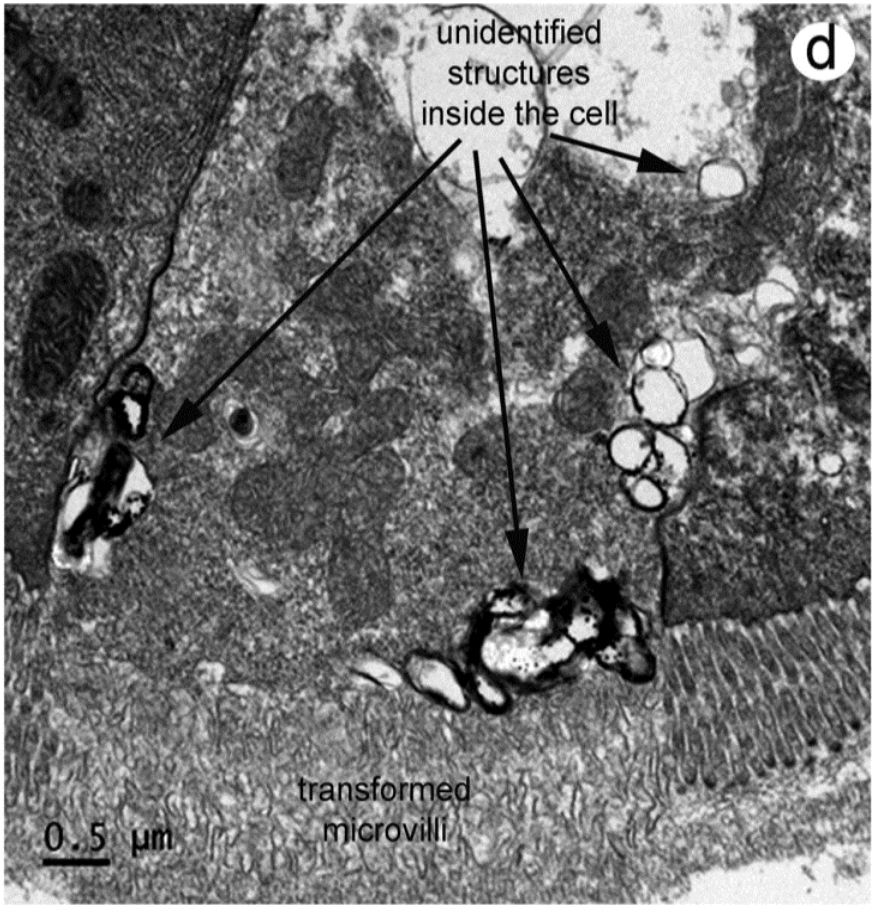


Aggregated Transformed Microvilli (ATM)
Causa de pelado un agente desconocido?

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

Epicore BioNetworks Inc.

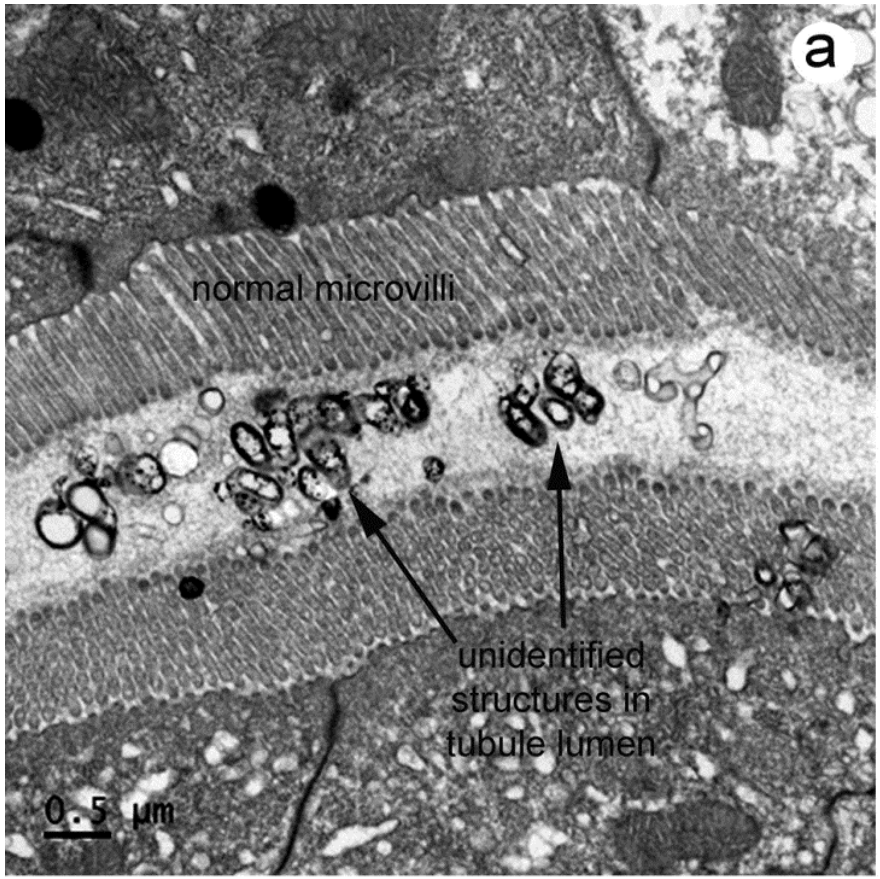


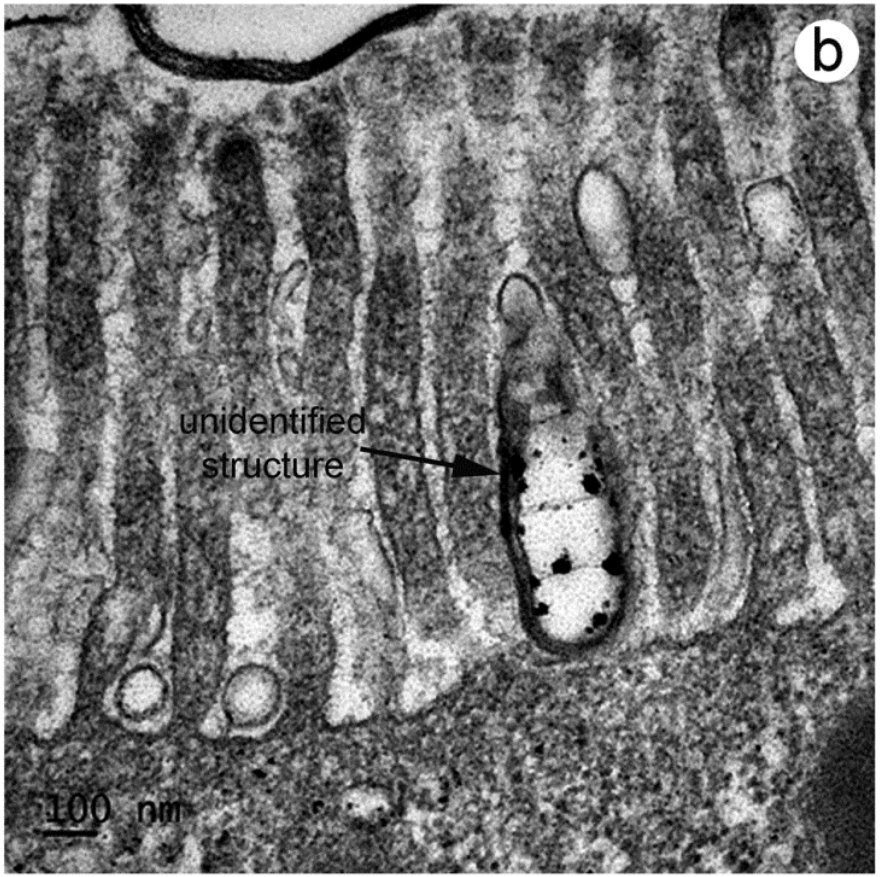


Aggregated Transformed Microvilli (ATM) Causa de pelado un agente desconocido?

FUENTE: Kallaya,Ph.D. TARS 2016.

Epicore BioNetworks Inc.





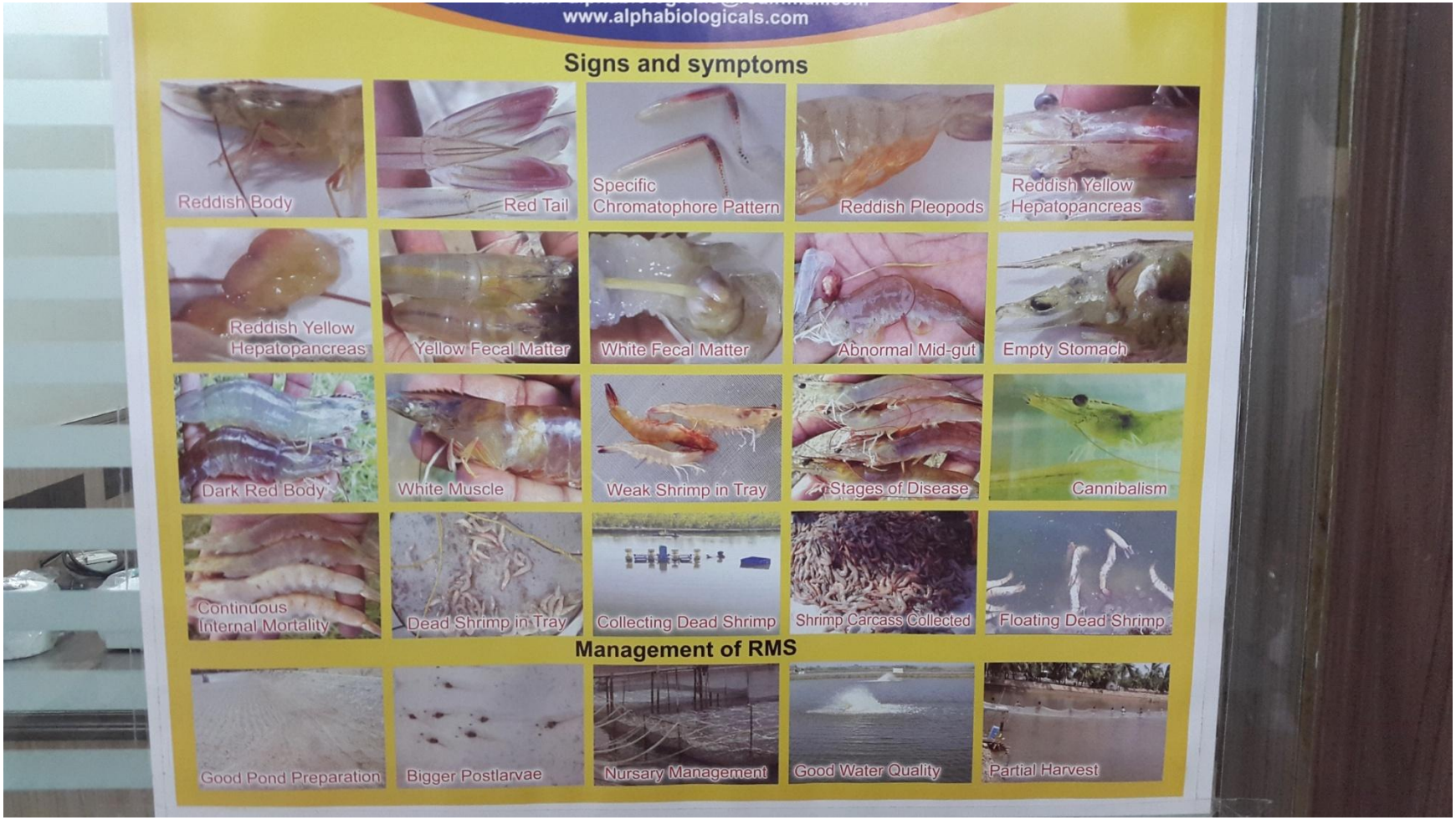
Running Mortality Syndrome
Agente desconocido
INDIA

- Se caracteriza por mortalidad continua en las piscinas desde los 50 a 60 dias de cultivo.
- Parece estar relacionada y su impacto es mayor con problemas de acumulacion de materia organica en fondo y asociado con bajos niveles de oxigeno por la misma condición.
- El impacto es mas severo en la época caliente.
- Cuando junto con EHP, ya viene con crecimiento retardado desde la siembra y este camarón ya con problemas empieza una mortalidad cronica a partir de los 50 dias de cultivo.
- La sintomatologia es multiple y semeja muchas otras enfermedades conocidas pero cuando se chequea para ellas da negativo. Por esta razon se presume un nuevo agente patogeno o una mutacion.

Running Mortality Syndrome (RMS)

Signos, síntomas y manejo

FUENTE: Ravi Kumar Ph.D. Alphabiologicals.



Produciendo con en presencia de Enfermedades - CONCLUSIONES

- Necesitamos dejar de manejar el cultivo de camarón a un nivel artesanal, y convertirlo en una industria. Cortar tiempo de ciclos.
- Hay que modificar manejos orientados a controlar vibrios en general.
- Hay que mejorar el nivel de bioseguridad en maduraciones y fincas.
- Incrementar densidades manteniendo el sistema de producción actual no es la mejor solución y puede incrementar prevalencia del patógeno.
- Hay que insistir en desarrollar tecnologías y modificar manejos que nos permitan tener mas control sobre todos estos factores, minimizando riesgos y mejorando la estructura de costos. Es el camino hacia un futuro sustentable en la industria del camarón.

Epicore BioNetworks Inc.

Muchas Gracias

Brasil!

ISO 9001:2008 REGISTERED

Environmental Friendly

GLOBALG.A.P.