

# O RISCO DA IMPORTAÇÃO DE VÍRUS POR MEIO DO CAMARÃO CONGELADO: UMA REVISÃO ABRANGENDO OS PRINCIPAIS TRABALHOS PUBLICADOS SOBRE O TEMA

Prof. Dr. Daniel Carlos Ferreira Lanza

Laboratório de Biologia Molecular Aplicada - LAPLIC  
Departamento de Bioquímica - UFRN



Laboratório de Biologia Molecular Aplicada

Departamento de Bioquímica  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Campus central  
Natal, RN, Brasil CEP 59072 - 970 / www.laplic.com.br

## RESUMO

A importação de camarão congelado tem sido considerada uma janela para a entrada de novos vírus e variantes virais em diferentes regiões do mundo. Nesta revisão estão apresentados os principais resultados publicados pela comunidade científica internacional sobre o tema, com o objetivo de demonstrar que determinados vírus se mantêm viáveis após o congelamento, em diferentes tecidos do camarão. Os resultados apresentados aqui enfatizam os riscos da introdução de novos vírus e variantes virais em ecossistemas livres desses patógenos por meio da importação de camarão congelado.

## 1 - INTRODUÇÃO

A importação de camarões congelados para consumo humano tem sido considerada um caminho para introdução de novos vírus e variantes virais em diferentes regiões do mundo. Ao desembarcar no país, o camarão importado será submetido a diferentes formas de transporte e condicionamento e a diversos processos de preparo, até o seu destino final. No Brasil e na maioria das regiões produtoras de camarão mundiais não existem mecanismos de controle rigorosos para a destinação dos resíduos sólidos e efluentes gerados a partir do processamento do camarão. A título de exemplo, se esses efluentes forem lançados no mar ou em regiões estuarinas próximas poderá ocorrer a contaminação direta da fauna local. Ademais, se as aves entrarem em contato com resíduos ou efluentes contaminados elas poderão perpetuar a epizootia, transportando o vírus para instalações de aquicultura próximas e para o oceano.

O risco potencial da introdução de patógenos por meio do camarão congelado tem sido reportado por pesquisadores que são referências internacionais no estudo de doenças que afetam a carcinicultura (Jones, 2012; Lightner et al, 2011; Stentiford et al, 2010). Nos últimos 20 anos, esses pesquisadores e seus grupos de pesquisa têm apresentado evidências sólidas de que as partículas virais provenientes do camarão congelado importado preservam a sua infectividade, sendo capazes de se propagar em animais em cativeiro e, potencialmente, em animais de criação e em seus respectivos ecossistemas. Esta revisão resume os principais resultados sobre o tema publicados pela comunidade científica internacional, com o objetivo de demonstrar que determinados vírus se mantêm viáveis após o congelamento, enfatizando os riscos potenciais da introdução

de novos vírus e variantes virais em ecossistemas livres desses patógenos por meio da importação de camarão congelado.

## 2 - PRINCIPAIS TRABALHOS PUBLICADOS SOBRE O TEMA

Foram levantadas informações dos 9 principais artigos produzidos pela comunidade científica internacional sobre o tema. As informações de cada artigo estão iniciadas pelo nome do primeiro autor, acompanhado da data de publicação. As informações estão apresentadas em ordem cronológica, de acordo com a data de publicação dos respectivos artigos.

**Nunan et al, 1998** - Trata-se de um dos primeiros trabalhos publicados sobre o tema, realizado no Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade do Arizona, EUA. Para realização desse trabalho, amostras de camarão congelado de diferentes espécies foram adquiridas em 10 estabelecimentos comerciais distribuídos nos estados do Arizona, Califórnia, Washington e Texas. Amostras de tecido desses animais foram retiradas e analisadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase (*Polymerase chain reaction* - PCR) para determinação do material genético viral com alta sensibilidade. Foi confirmada a presença do vírus causador da síndrome da mancha branca (*white spot syndrome virus* - WSSV) nas amostras de 5 dos 10 estabelecimentos investigados, e do vírus causador da doença da cabeça amarela (*yellowhead virus* - YHV) em uma amostra de um dos estabelecimentos. A infectividade dos vírus foi confirmada por bioensaio. Para isso, um lisado produzido a partir de um dos camarões congelados foi injetado em 15 juvenis sadios da espécie *Penaeus stylirostris*. O bioensaio revelou mortalidade de 100% dentro de 8 dias após a injeção do lisado. O diagnóstico de infecção viral foi confirmado também por meio de análises histopatológicas e por microscopia eletrônica de transmissão.

**Durand et al, 2000** - Esse estudo também foi conduzido pela equipe do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade do Arizona, EUA e consistiu na análise de 10 diferentes lotes de músculo abdominal de camarões da espécie *Penaeus monodon*, importados da Ásia e da Tailândia, para verificação da existência de material genético dos vírus WSSV e YHV. A análise por meio das técnicas de PCR e *Reverse transcriptase* PCR (RT-PCR) revelaram a presença do material genético do WSSV em 8 amostras e a do YHV em 3, dentre as 10 amostras testadas. As amostras com resultados forte positivos foram selecionadas

para utilização em bioensaios. Amostras obtidas dos camarões infectados com WSSV foram injetadas em camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* livres de patógenos, resultando em 100% de mortalidade em 4 dos 9 bioensaios realizados. Um dos 3 bioensaios nos quais foi utilizada a amostra positiva para YHV resultou na presença desse vírus no tecido do camarão indicador. Foram também realizados bioensaios oferecendo o camarão infectado como alimento, dentre estes, um dos testes resultou em 100% de mortalidade. Todas as infecções observadas no bioensaio foram confirmadas por histologia, PCR ou RT-PCR, ou por hibridização *in situ*. Os resultados desse trabalho demonstraram que o WSSV e o YHV estavam presentes nos diferentes lotes de *P. monodon* congelados importados, e que esses vírus apresentavam potencial infeccioso por exposição ou por injeção.

**Soto et al, 2001** - Esse trabalho foi realizado pela equipe do Departamento de Ciências Costeiras da Universidade do Sul do Mississippi, EUA. Uma vez que os camarões importados geralmente são disponibilizados sem o cefalotórax (cabeça), os autores deste trabalho demonstraram que o vírus pode ser transmitido de um camarão para outro também por meio da ingestão do músculo abdominal ("filé do camarão") infectado. Para isso, camarões sadios de 1 a 3 g da espécie *L. vannamei* foram alimentados com cefalotórax, abdômen ou camarão inteiro infectados por um isolado do WSSV oriundo da China. Os resultados desse trabalho indicaram que o cefalotórax pode ser mais infeccioso, por ser mais palatável. Entretanto, nesse mesmo trabalho foi demonstrado que nas condições avaliadas não existia diferença significativa entre a carga viral do cefalotórax e do abdômen do camarão infectado por WSSV, sendo possível a transmissão do vírus por meio de ambos.

**McColl et al, 2004** - Nesse trabalho desenvolvido por uma equipe do Laboratório Australiano de Saúde Animal, os autores analisaram amostras de 14 camarões crus oriundas de uma remessa importada do sudeste da Ásia. Cada um dos camarões foi examinado para verificação do material genético do WSSV por PCR. Posteriormente, foram conduzidos bioensaios a partir da inoculação de um homogeneizado do epitélio cuticular dos camarões importados em camarões sadios da espécie *P. monodon*. Foi observado que vários camarões submetidos ao bioensaio apresentaram sinais clínicos da doença (insatisfação e letargia) dentro de 24 h após a inoculação, e morreram 1 a 4 dias após a inoculação. Amostras de tecidos dos camarões moribundos demonstraram lesões típicas da infecção pelo WSSV e a presença do vírus foi confirmada por microscopia eletrônica, hibridização *in situ* e também por PCR. A presença do YHV também foi confirmada por PCR em dois camarões desafiados. Os autores concluíram que partículas virais viáveis do WSSV e do YHV estavam presentes nos produtos congelados importados para a Austrália para consumo humano, e que a importação de produtos infectados congelados pode apresentar um risco de transferência de vírus para populações selvagens e cultivadas do país.

**Reville et al, 2005** - Esse trabalho foi realizado por uma equipe da Escola de Medicina da Universidade Tufts, localizada no estado de Massachusetts, EUA. O objetivo principal foi determinar a prevalência do WSSV em camarões congelados vendidos em

quatro lojas pertencentes a diferentes cadeias de supermercados, localizadas na cidade de Boston. A presença do material genético do WSSV foi determinada por PCR, e os resultados positivos foram confirmados por análises de sequenciamento de DNA e comparação de sequências. Foram observadas taxas de prevalência de 0% a 38,7% dentro das populações de camarão congelado testadas, com prevalência geral de 4,7%. Os autores mencionam que esses resultados evidenciam que uma parcela significativa dos camarões vendidos nos supermercados de Massachusetts estão transportando WSSV, o que constitui um risco substancial de introdução desse vírus no ambiente local.

**Hasson et al, 2006** - Neste trabalho realizado por uma equipe do Laboratório de Diagnóstico Médico Veterinário do estado do Texas, EUA, os autores analisaram amostras de 20 caixas de camarões congelados importados da China (animais dos gêneros *Parapenaeopsis* sp. e *Metapenaeopsis* sp.) e 8 caixas de camarões congelados nativos do Golfo do México (animais das espécies *Litopenaeus setiferus* e *Farfantepenaeus duorarum*). Foram realizadas análises de RT-PCR ou PCR para detecção do YHV, WSSV, vírus causador da síndrome de Taura (*Taura syndrome virus* - TSV) e do vírus causador da necrose infecciosa hipotérmica e hematopoiética (*Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus* - IHHNV). As 28 caixas de camarão foram negativas para TSV, YHV e IHHNV; e duas foram positivas para WSSV por 3 ensaios de PCR diferentes. O bioensaio utilizando-se injeção intramuscular de homogeneizados de tecidos dos animais positivos para WSSV em grupos de juvenis da espécie *L. vannamei* livres de patógenos resultaram em 100% de mortalidade no intervalo de 48 a 72 h pós-injeção. Análises de hibridização *in situ* confirmaram infecções graves por WSSV em cada animal infectado. A exposição oral do tecido infectado em pós-larvas de *L. vannamei* (PL 25-30 ~ 0,02 g) não induziu infecção detectável, possivelmente devido a uma insuficiência de dose infecciosa e/ou a inativação do vírus durante o experimento por motivo não confirmado. Os autores do trabalho discutem que a venda de camarões originários da China, para fins de pesca esportiva, representa uma ameaça potencial para os crustáceos dos ambientes dulcícola e marinho, bem como para as fazendas produtoras de camarão localizadas na costa dos EUA.

**Reyes-López, 2009** - Esse artigo produzido por uma equipe do Instituto Politécnico Nacional Mexicano, apresenta o diagnóstico da síndrome da mancha branca em 50 pacotes (2kg) de camarão congelado importados dos EUA para o México. Os estoques congelados avaliados contemplavam várias espécies de camarão de diferentes origens. Um dos pacotes de camarão congelado oriundo dos EUA, contendo apenas exemplares da espécie *Penaeus aztecus*, apresentou amostras com resultado positivo na PCR para WSSV. A partir desses resultados os autores discutem as possibilidades de dispersão do vírus por meio de material congelado infectado.

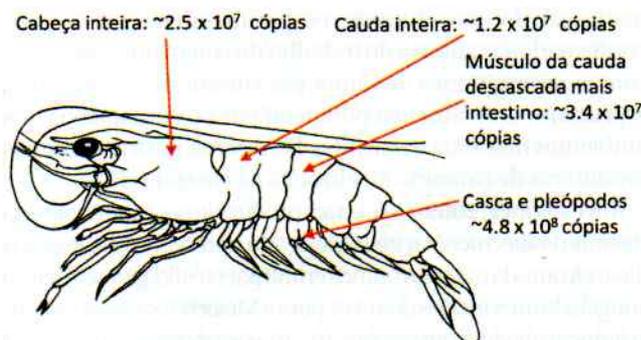
**Lightner, 2011** - Nesse artigo de revisão, o pesquisador Donald Lightner da Universidade do Arizona, EUA, descreve que existem evidências de que o vírus causador da síndrome de Taura foi encontrado em camarões congelados (*L. vannamei*) oriundos de países da América Latina e do sudeste asiático. O autor discute ainda

que a eliminação inadequada de resíduos de camarões infectados (líquidos e sólidos incluindo cascas, cabeças, trato intestinal, etc) em locais costeiros poderia contaminar estoques de animais selvagens ou camarões cultivados em locais próximos ao ponto de descarte.

**Bateman et al, 2012** - O trabalho foi realizado pela equipe do Laboratório de Referência da União Europeia para Doenças dos Crustáceos, UK, e teve como objetivo verificar se o WSSV oriundo de camarão congelado importado de diversos países seria capaz de infectar lagostas de regiões temperadas. A presença do WSSV em amostras de camarão congelado oriundas do Equador, Honduras e Vietnã, adquiridas no mercado de alimentos do Reino Unido foi confirmada pela técnica de nested-PCR. Os bioensaios realizados a partir da injeção do inoculo produzido a partir das amostras dos camarões congelados levaram a mortalidade rápida e sinais típicos da síndrome da mancha branca em camarões *L. vannamei* livres da doença, demonstrando que o WSSV presente no camarão congelado era viável. Em outro experimento nesse mesmo trabalho, lagostas da fauna Europeia (*Homsea gammarus*) que se alimentaram do camarão congelado infectado apresentaram infecção baixa ou latente, detectada pela técnica de PCR. Este estudo confirmou a susceptibilidade de lagostas da espécie *H. gammarus* à infecção pelo WSSV veiculado por camarão cru previamente congelado obtido diretamente dos supermercados europeus.

### 3 - CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS

Um único camarão infectado pode carrear dezenas de milhões de partículas virais. Conforme apresentado na FIGURA 1, o músculo da cauda, também conhecido como "filé do camarão", pode apresentar ~34.000.000 de cópias do material genético do WSSV por micrograma de DNA extraído, considerando um camarão severamente infectado (revisado em Oidtmann e Stentiford, 2011).



**Figura 1. Principais partes do camarão e respectivas cargas virais considerando uma infecção severa pelo vírus causador da síndrome da mancha branca (WSSV).** Os números correspondem ao número de cópias do DNA viral em um micrograma de DNA total extraído de cada uma das partes do camarão (adaptado dos dados revisados por Oidtmann e Stentiford 2011).

O "filé de camarão" muitas vezes é o produto de importação. Os dados sobre a alta carga viral presente nas diferentes partes do camarão infectado deixam claro que a importação do camarão sem a cabeça ou descascado não eliminam o risco da importação de partículas virais. Cabe salientar aqui que essa quantificação

apresentada na FIGURA 1 está relacionada a uma única espécie de vírus, entretanto, a ocorrência de diferentes vírus e a possibilidade de co-infecções onde diferentes patógenos infectam um mesmo camarão devem ser também consideradas. Nesse caso, um único camarão poderia carrear mais de um tipo de patógeno. Dessa forma, o risco de introdução de partículas virais infectivas se configura em um cenário de importação de camarão congelado para o Brasil, situação em que toneladas de camarão seriam trazidas com certa regularidade oriundas de uma região onde diferentes patógenos ocorrem.

Outra questão importante diz respeito ao risco da introdução de novas variantes virais por meio da importação de camarões onde essas espécies já ocorrem. Grande parte das espécies de vírus que infectam camarão já descritas apresentam considerável variabilidade genética. Dessa forma, a título de exemplo, a ocorrência dos vírus WSSV, IMNV e IHHNV no território brasileiro não elimina o risco da importação de camarões oriundos de outras regiões onde esses vírus também ocorram, uma vez que nessas regiões produtoras (Ex: China, Tailândia, Vietnã e Equador) existem variantes genéticas diferentes daquelas que ocorrem no Brasil, que podem apresentar características de virulência mais agressivas. A existência de diferentes variantes já é conhecida a algumas décadas para alguns vírus e novas variantes dos principais vírus que acometem a carcinicultura, incluindo os vírus WSSV, IHHNV, YHV e TSV são reportadas continuamente (Ramos Paredes et al, 2017; Silva et al, 2014; Wijegoonawardane et al, 2008; Tang & Lightner 2005).

### 4 - CONCLUSÃO

Os dados levantados nessa revisão demonstram que:

- O material genético dos vírus WSSV, YHV e TSV foi identificado em amostras de camarões congelados oriundas de diferentes regiões do mundo;
- Partículas virais viáveis de diferentes espécies de vírus puderam ser obtidas a partir dos tecidos infectados provenientes de camarões congelados importados, e sua infectividade e capacidade de desenvolver a doença foram comprovadas;
- A retirada da cabeça e/ou da casca de um camarão infectado não elimina o risco da introdução de vírus, uma vez que o músculo da cauda também pode conter partículas virais;
- Um único camarão congelado infectado pode ser carreador de dezenas de milhões de partículas virais;
- Dentro de uma mesma espécie de vírus existem variantes genéticas que podem desencadear fenótipos (sintomas) diferentes quando infectam o camarão;
- Esses dados, associados à conhecida deficiência no controle do descarte de rejeitos e ao fato de que patógenos que ocorrem em outras regiões produtoras não ocorrem no Brasil, são fortes indicadores de que a importação de camarão congelado pelo Brasil representa risco para o ecossistema e para a carcinicultura Brasileiros.

Referências bibliográficas disponíveis na ABCC