



# Patógenos Emergentes na Indústria de Camarão na América Latina

**Thales Passos de Andrade**<sup>1</sup>, **Alexia Leticia Lindoso**<sup>1</sup>, **Luis Fernando Aranguren Caro**<sup>2</sup>, **Arun K. Dhar**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Diagnósticos de Enfermidades de Crustáceos – LAQUA (Universidade Estadual do Maranhão – UEMA /Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), Cidade Universitária Paulo VI, s/n, Jardim São Cristóvão - São Luís/MA, Brasil, 65.055-970. Convênio UEMA/MAPA n. 54/2011, SIAFI 763568/2011. [thalespda@hotmail.com](mailto:thalespda@hotmail.com)

<sup>2</sup> Laboratório de Patologia na Aquicultura, Escola de Ciência Comparativa Animal e Biomédica, Universidade do Arizona, 1117 E. Lowell Street. Blg 90 Tucson, Arizona, EUA, 85721-0001. Laboratório de referência da OIE. USDA-APHIS Aprovado & ISO 17025 certificado. [adhar@email.arizona.edu](mailto:adhar@email.arizona.edu)





## **Tópicos a serem abordados:**

- 1. A carcinicultura mundial e sua produção (FAO/GOAL).**
- 2. Principais desafios dos países produtores (GOAL, 2019).**
- 3. Principais enfermidades emergentes para América Latina.**
- 4. Países produtores e consumidores > publicação de medidas reguladoras que previnam a importação de camarões infectados de países endêmicos.**
- 5. Esforço na utilização de diagnóstico altamente especializado.**
- 6. Estudos avaliando infectividade para camarões congelados e cozidos.**
- 7. Considerações finais**



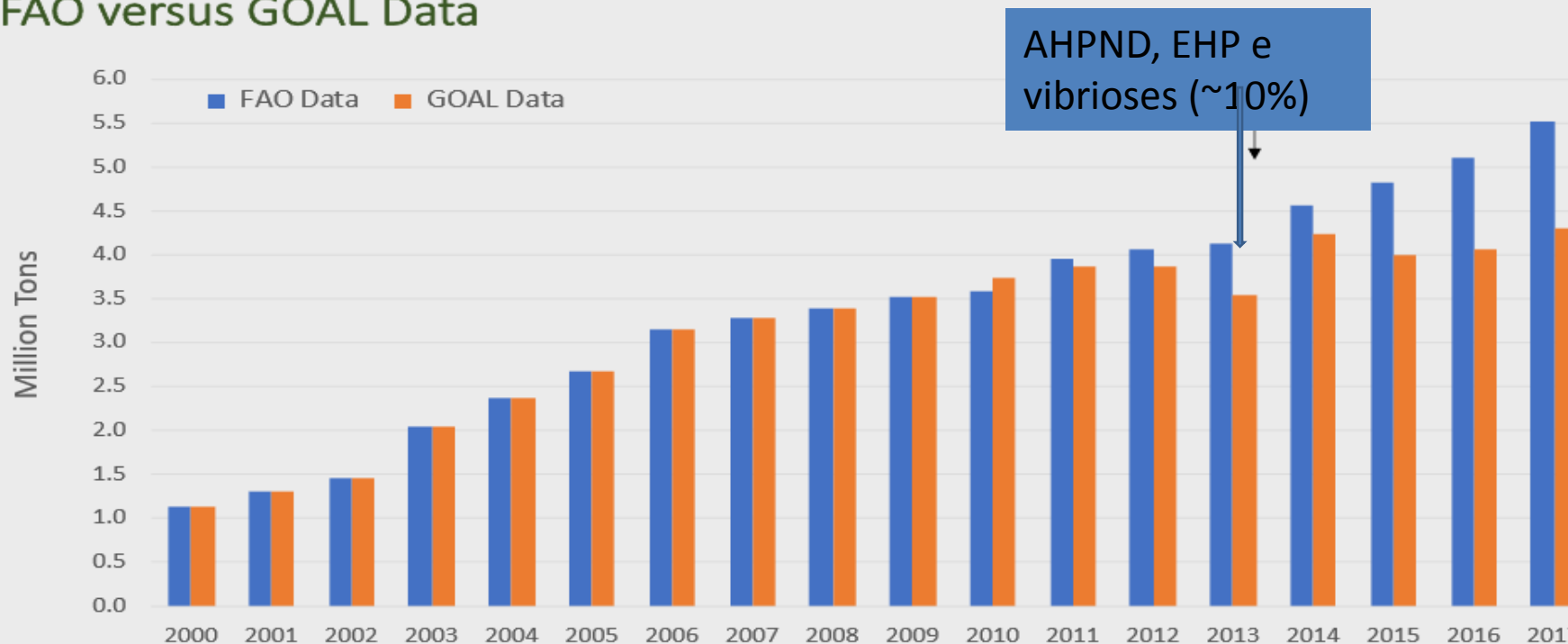
# A carcinicultura mundial e sua produção (FAO/GOAL)

Apesar de contínuo crescimento na produção, os preços tem sido os mais baixos dos últimos 30 anos.

**GOAL** CHENNAI, INDIA  
OCTOBER 22, 2019



## World Shrimp Aquaculture Production FAO versus GOAL Data



Sources: FAO (2019) and GOAL (2011-2019).

Species included are *L. vannamei*, *P. monodon* and Other. *M. rosenbergii* is excluded.

Anderson, J. et al 2019

CONNECT.

COLLABORATE.

COMMIT.

#GOALCONF19

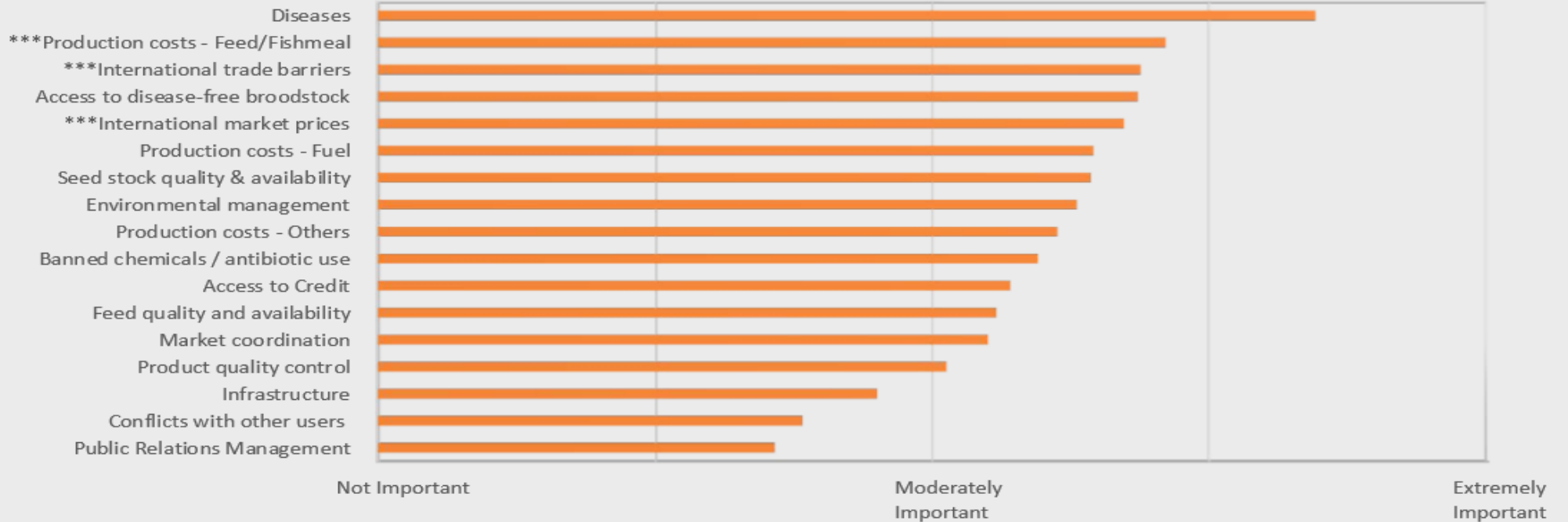


## 2. Principais desafios para os produtores (GOAL , 2019)

Apesar deste significativo crescimento, o impacto negativo ocasionado pela presença de enfermidades e a necessidade da utilização de medidas de prevenção tem se apresentado como **maior desafio e prioridade para investimentos** em todos países produtores

### Issues and Challenges in Shrimp Aquaculture

GOAL 2019 Survey – All Countries



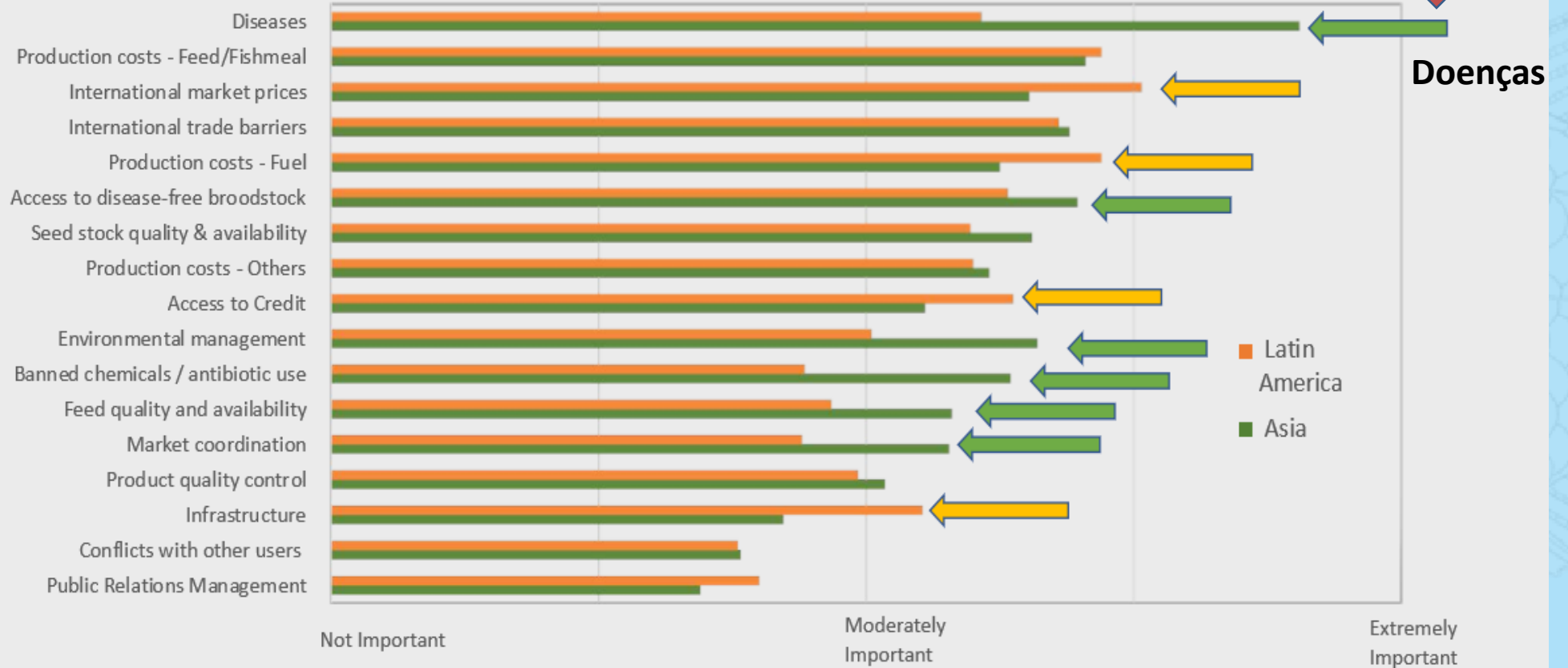
Asterisks indicate a Top 3 issue in GOAL 2007 Survey

Anderson , J. et al 2019



# Top Issues and Challenges in Shrimp Aquaculture – GOAL 2019 Survey

Asia vs. Latin America





### 3. Principais enfermidades emergentes para América Latina

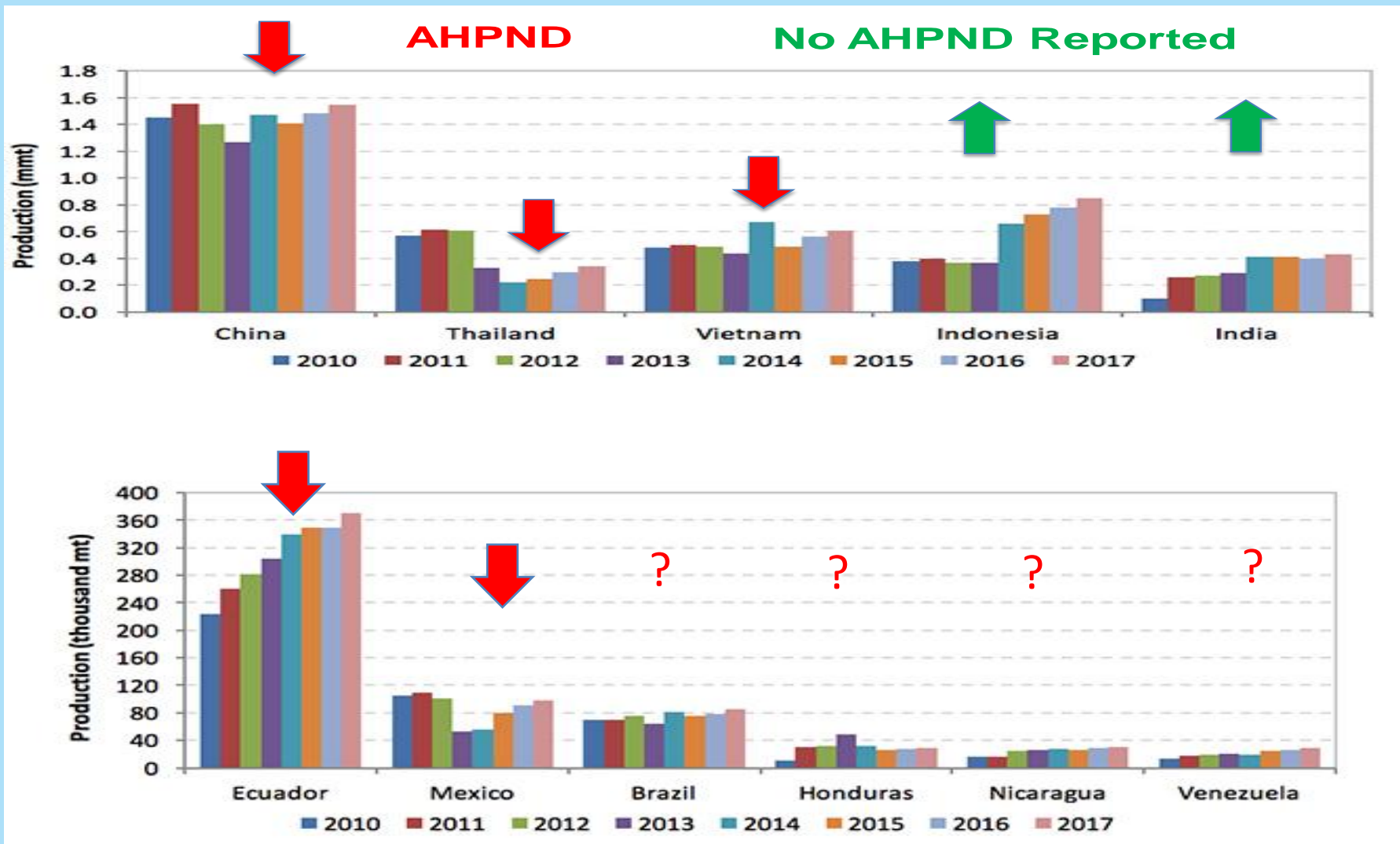
- Apesar de um significativo avanço tecnológico disponível ao setor produtivo e a existência de regulamentos internacionais, a ausência de barreiras sanitárias, efetivas, **no transito de camarões vivos e/ou congelados**, tem sido observada como principal rota para que enfermidades infecciosas, emergentes, se tornem, endêmicas, em países ou regiões livres.

- **Maiores desafios:**

- <sup>vp</sup>AHPND ( necrose hepatopancreática aguda, *V. parahaemolyticus* [*pir A pir B*])
- EHP (Microsporidiose hepatopancreática , *Enterocytozoon hepatopenaei*)
- WFD (Doença das fezes brancas)
- WSD (Mancha branca, WSSV)
- IMND (Mionecrose infecciosa, IMNV)\*
- Outros ?



# Produção de camarão & Emergência de AHPND : Ásia & Américas



- Nunan et al., 2014
- Restrepo et al., 2016
- Jun et al., 2016
- Han et al., 2017
- Ahn et al., 2017
- Cuellar & Brock et al., 2018
- Restrepo et al., 2018
- Kanrar & Dhar 2018

Sources: FAO (2013); GOAL (2016)





# Evolução da doença da necrose hepatopancreática aguda “AHPND”

Mortalidades incomuns

2009

EMS

Lightner, 2011

AHPNS

NACA, 2012

AHPND

Tran et al., 2013

plasmideo de *V. parahaemolyticus*

Han et al., 2015

Toxina de plasmideo em VP (*pir A pir B*)

Han et al., 2015  
Lee et al., 2015

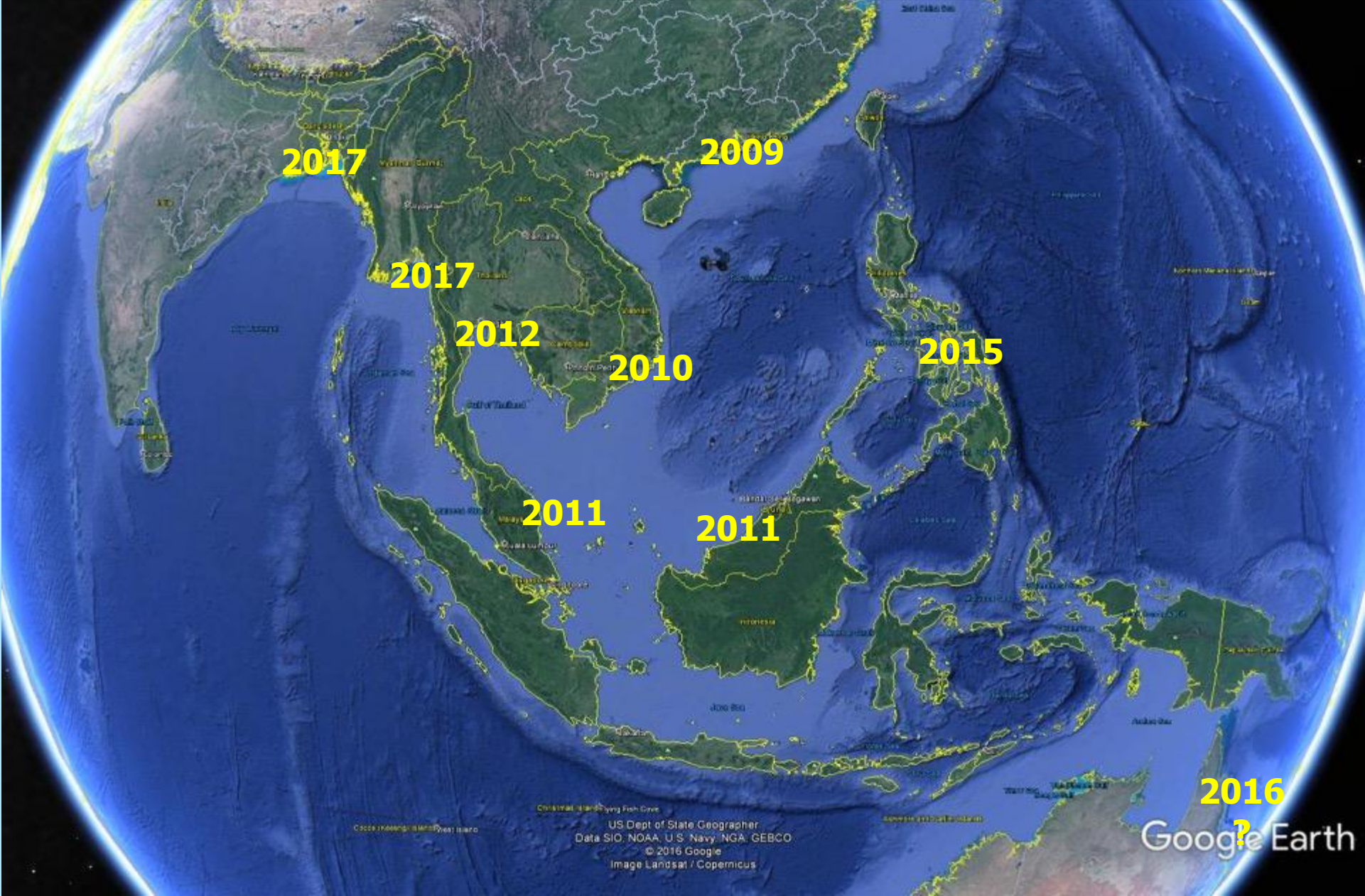
Lieu et al., 2015; Dong et al., 2017  
Liu et al., 2018, Restrepo et al., 2018

Toxina dos plasmideos de  
*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. campbelli*, *V. owensii*  
and *V. punensis*, *Vibrio* spp.





# Dispersão de EMS/AHPND no leste e SE Asiático





<sup>v</sup>P AHPND ( Necrose hepatopancreática aguda, *V. parahaemolyticus* [pir A pir B])



Juvenil de  
*Penaeus*  
*vannamei*.  
direita com  
AHPND;  
esquerdo  
aparentemente  
normal.

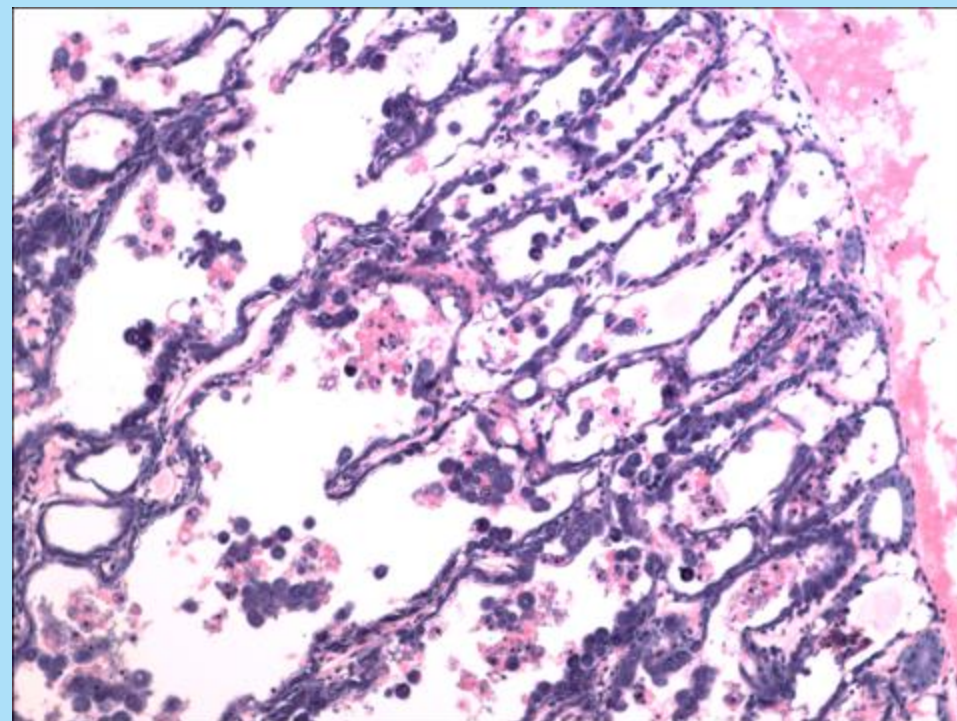
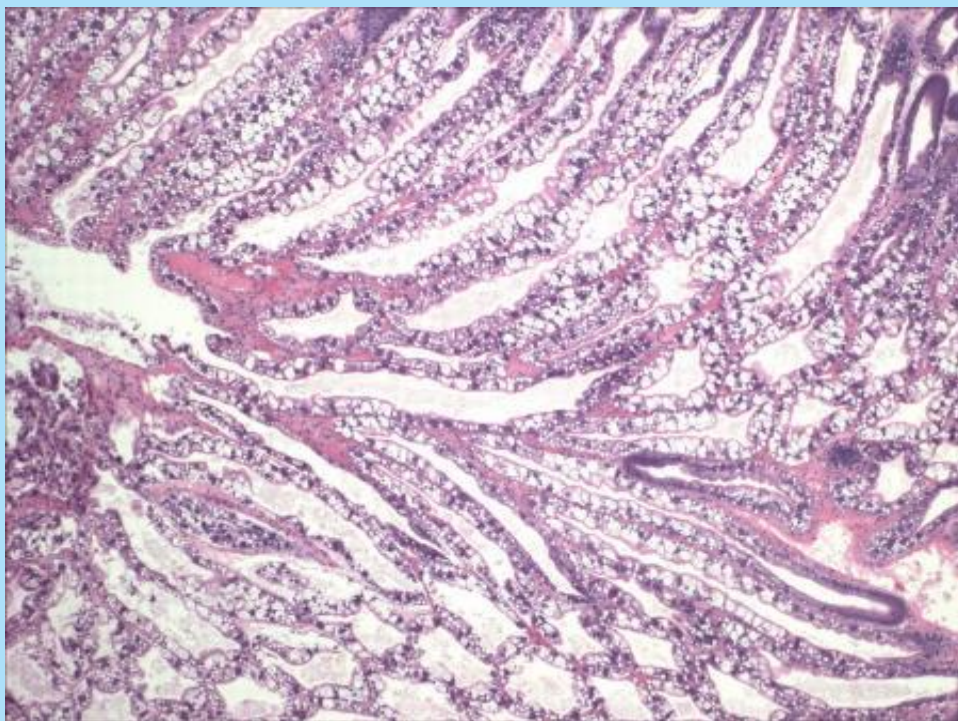
Foto: SPSC ,2018



# AHPND

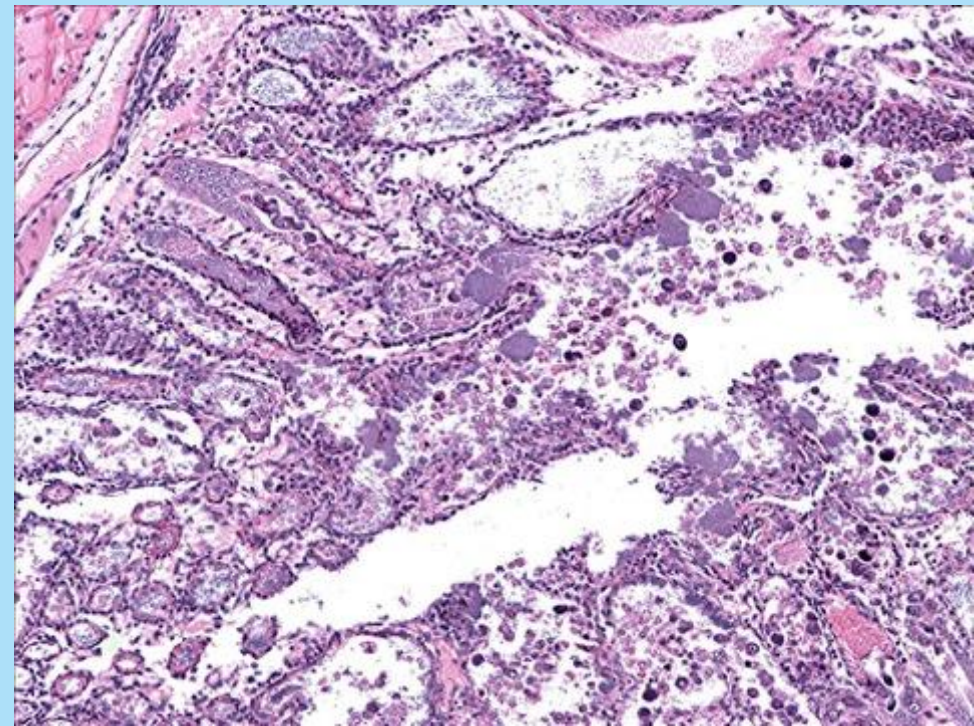
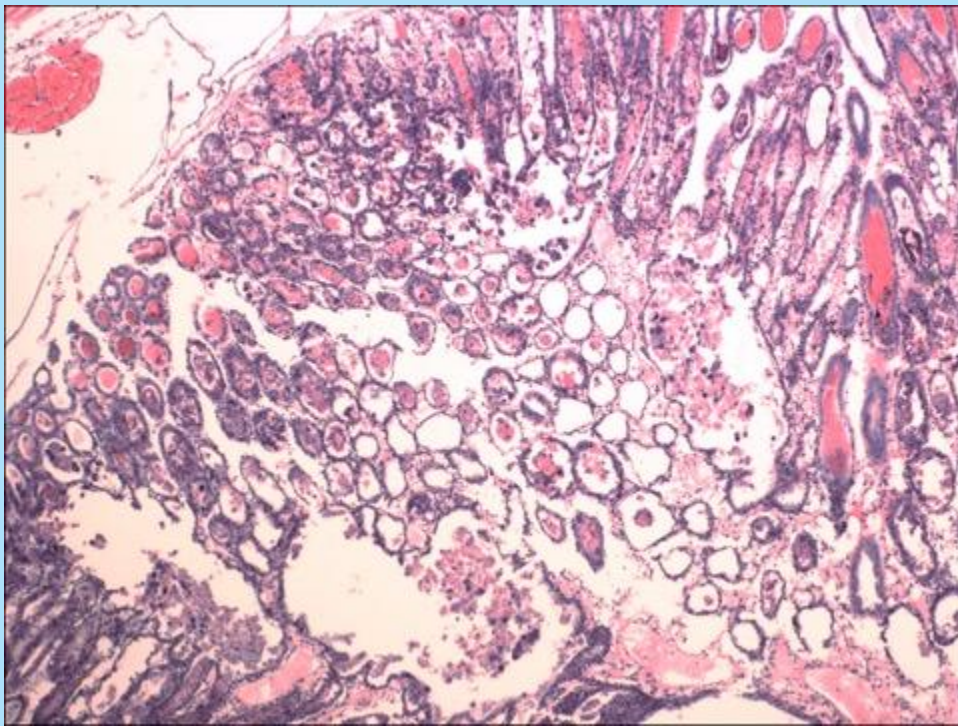
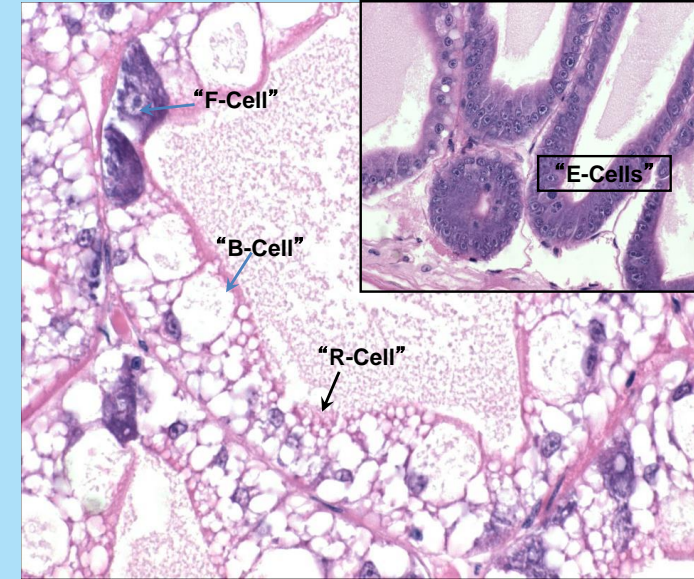
## • Na fase aguda

- Células dos túbulos do HP (R, B, F & depois células E) mostram perda de função.
- Bacteria (qualquer tipo) não são facilmente demonstradas por *in situ* hybridization com uso de uma sonda universal em 16S rRNA.
- Aguda Degeneração progressiva degeneração do hepatopancreas (HP) da região medial a distal com disfunção de todas as células do HP, necrose proeminente & despreendimento das células epiteliais do túbulos do HP.



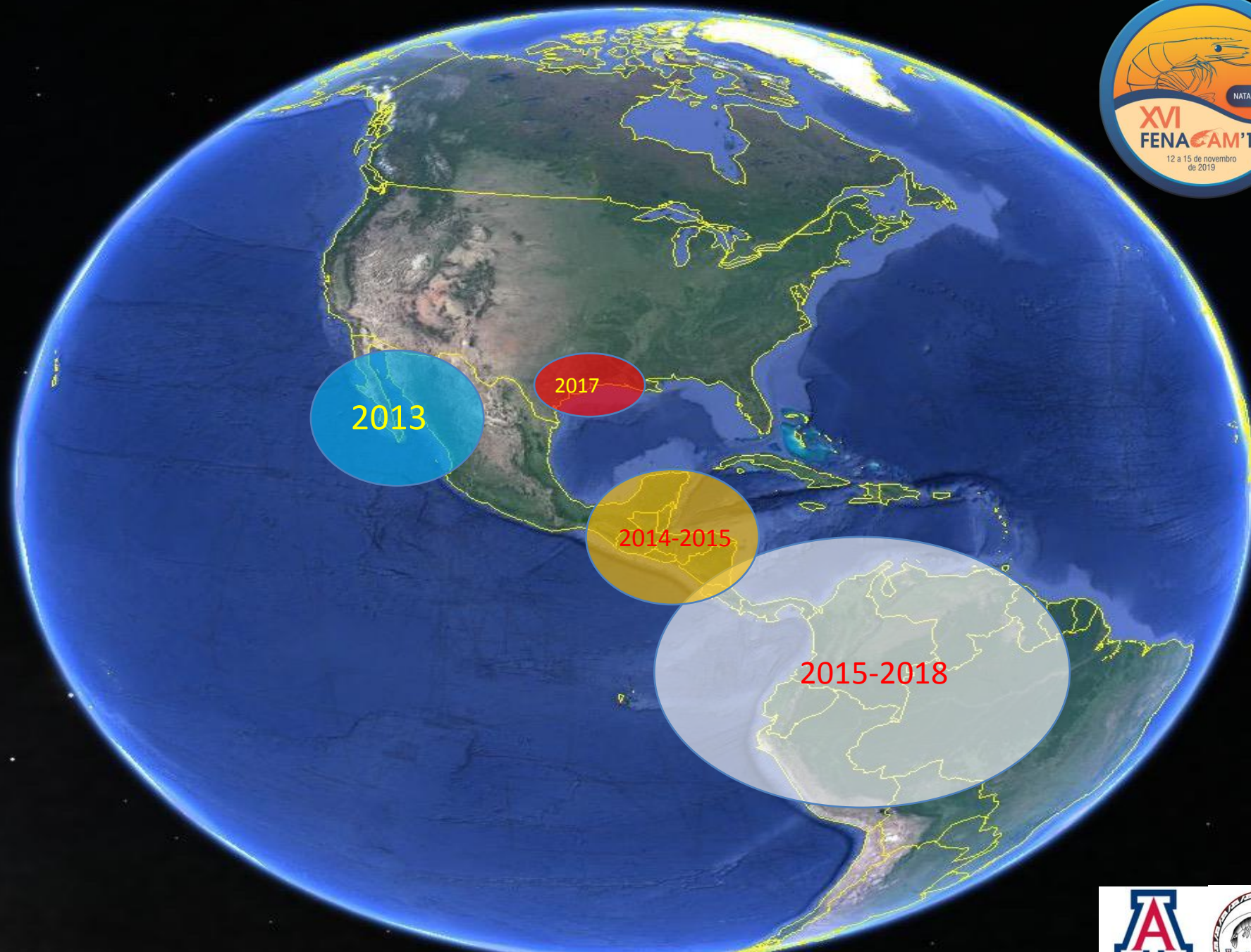
- **Fase terminal**

- Apresentam marcada inflamação hemocítica inter-intra tubular.
- Desenvolvimento de infecção bacteriana secundária severa
- Necrose nas células (desprendidas) dos túbulos do HP



# status de AHPND nas Américas

- Nunan et al., 2014
- Restrepo et al., 2016
- Jun et al., 2016
- Han et al., 2017
- Ahn et al., 2017
- Cuellar & Brock et al., 2018
- Restrepo et al., 2018
- Kanrar & Dhar 2018



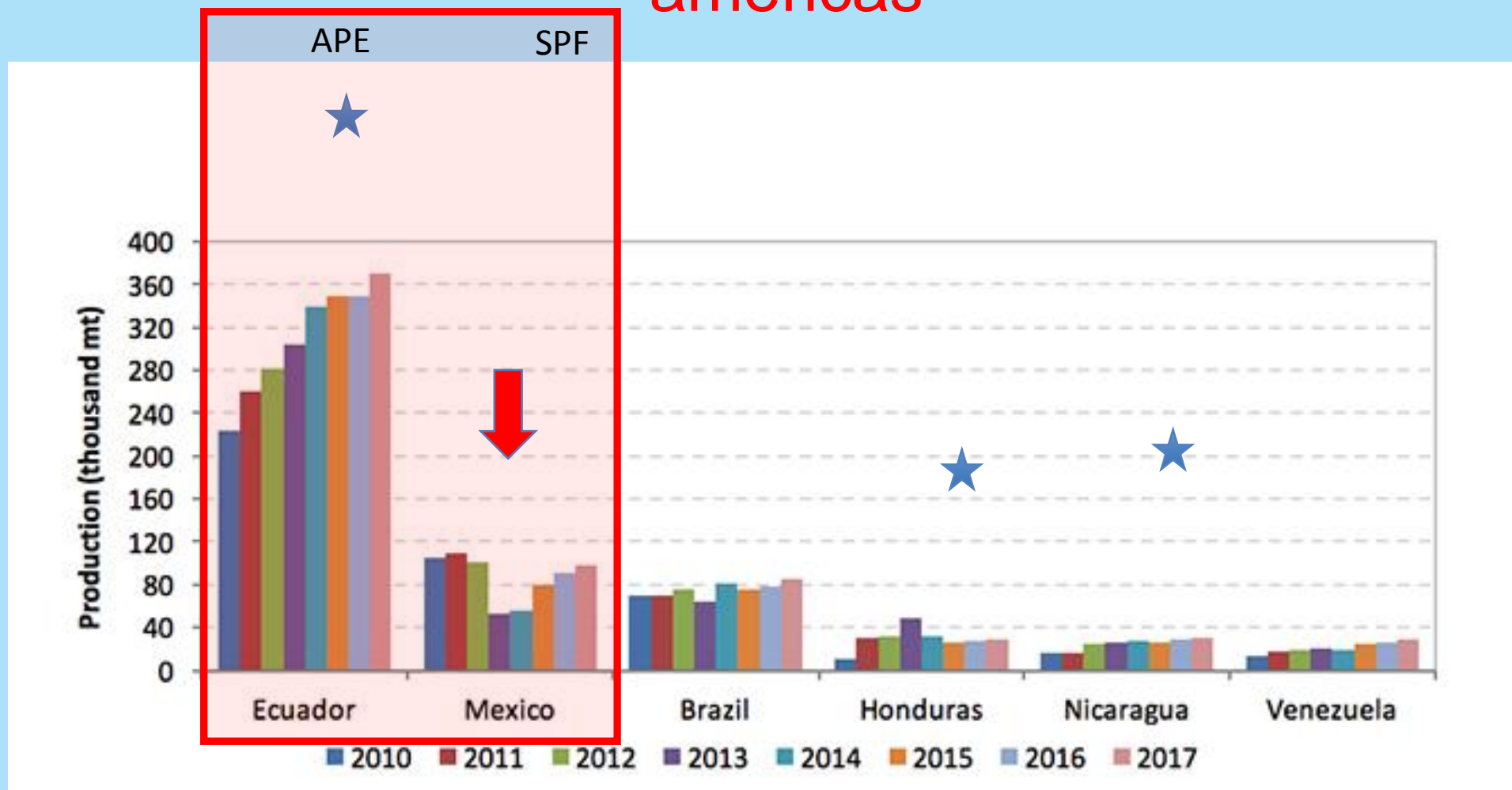


# Corrente status de AHPND na América Latina

- Muitos países afetados não emitiram relatórios oficiais
- Populações de SPF tem se mostrado altamente susceptíveis
- Linhagem Equatoriana : Mais tolerante/resistente
- Interage com outras doenças entéricas
- Altas temperaturas favorecem sua patogenicidade
- Esta presente em diferentes países da América Latina
- Afeta reprodutores e pós-larvas



# Produção de camarão em alguns países das americas



Sources: FAO (2013); GOAL (2016)



# Evolution of Acute hepatopancreatic necrosis disease “AHPND” IN SHRIMP Farming

Acute mortalities during the first 30 days of culture

Acute mortalities during the cycle

SPF stocks

Chronic mortalities in grow-out ponds

Chronic mortalities in maturation labs/broodstock

SPR/APE stocks

Acute mortalities in hatcheries /nurseries





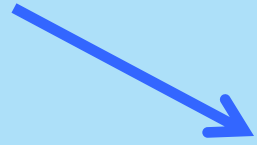
# AHPND in SE Asian shrimp culture

Imported stocks

Breeding Centers  
with  $F_N$   
SPF/SPR stocks

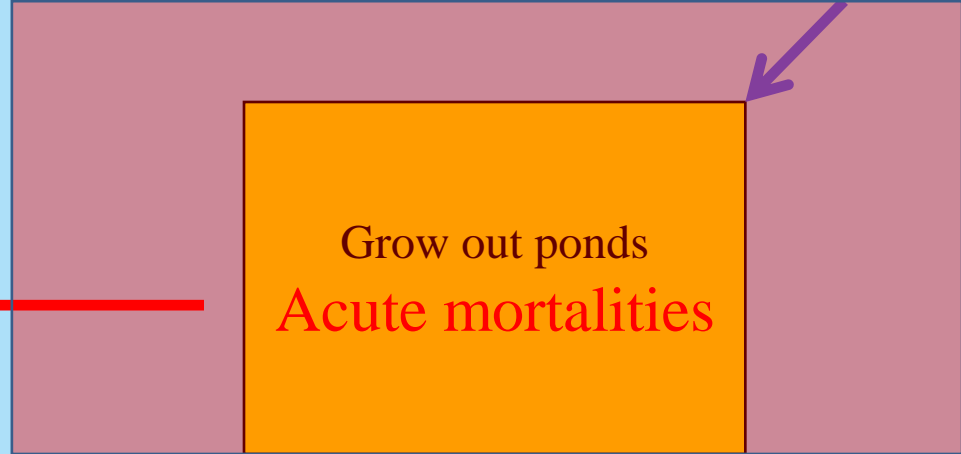


Maturation / Nauplii  
production units



Hatcheries  
& nursery

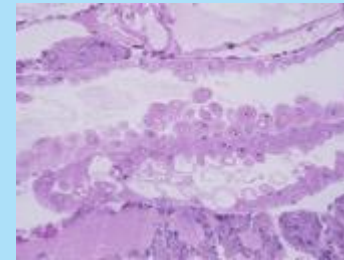
Pond management: High stocking  
density, DOC 90 days



# AHPND: Latin-American shrimp culture

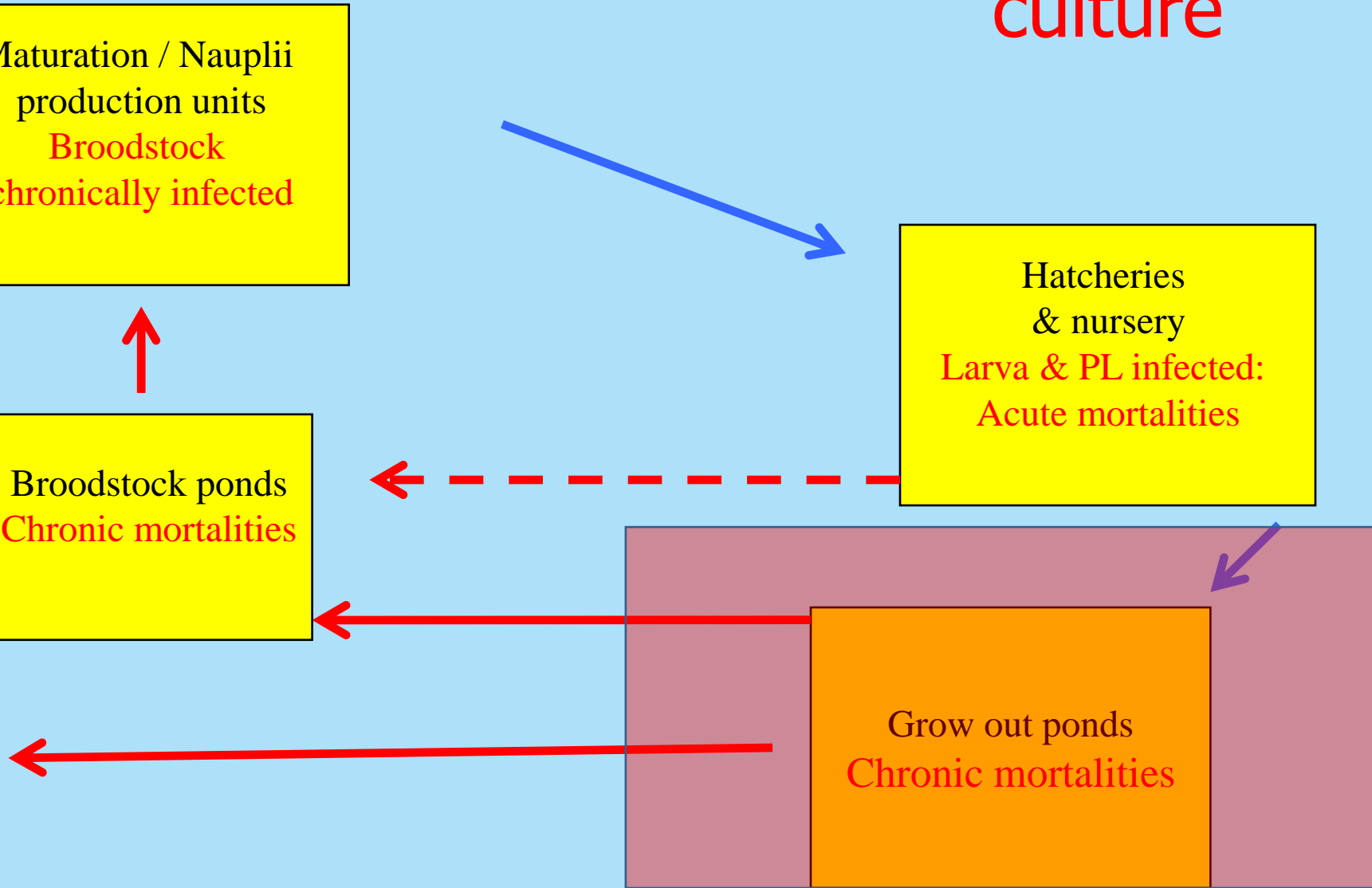
Maturation / Nauplii  
production units  
Broodstock  
chronically infected

Hatcheries  
& nursery  
Larva & PL infected:  
Acute mortalities



Broodstock ponds  
Chronic mortalities

Grow out ponds  
Chronic mortalities

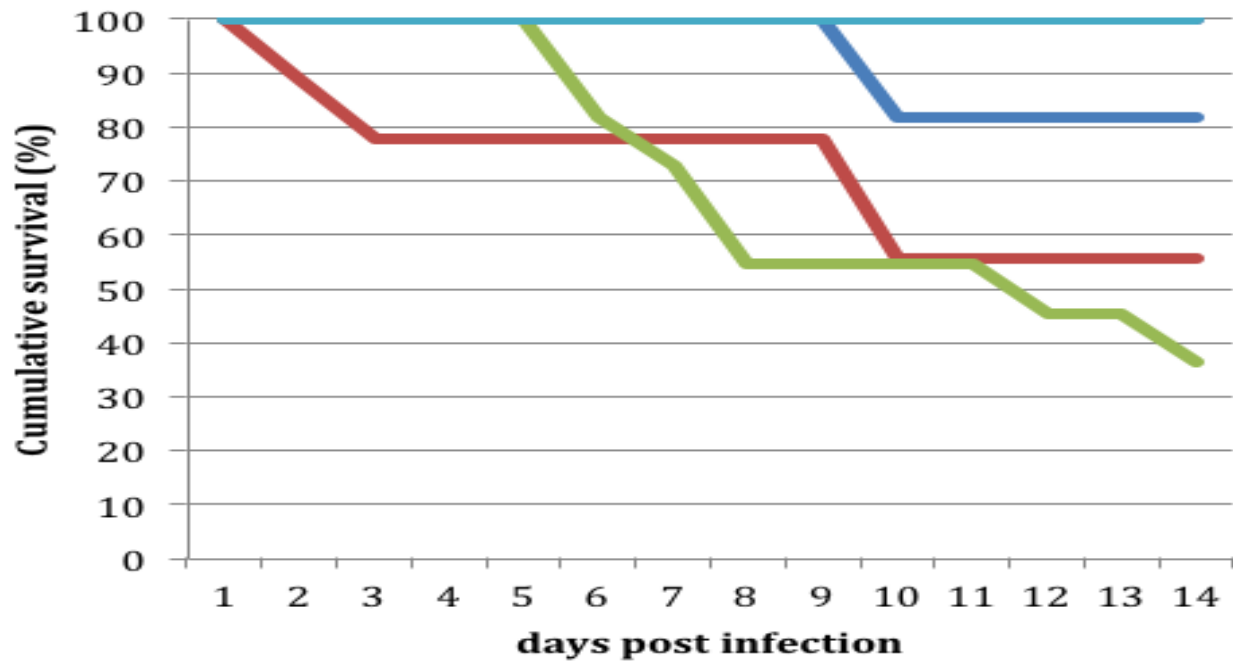


# Interação de EHP e AHPND

Muitos países do SE asiático antes de serem afetados por AHPND, já haviam enfrentado surtos com EHP.

País	EHP (primeiro)	AHPND/EMS
Thailândia	sim	sim
Vietnam	sim	sim
China	sim	sim
Malasia	sim	sim
Indonésia	sim	
índia	sim	
Filipinas		sim
Brunei	sim	

Chayaburakul et al., 2004,  
Tourtip et al 2009,  
Ha et al 2010



Only AHPND: 80%

Negative control

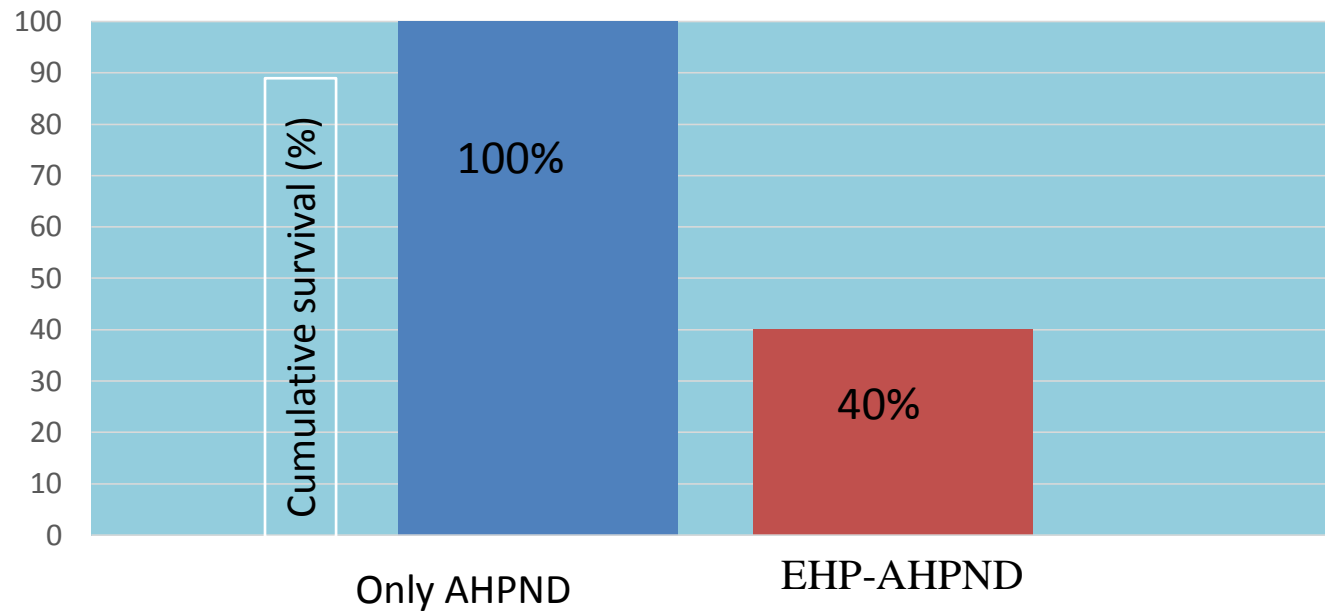
Low doses AHPND

80%

First trial

EHP + AHPND: 56%

Positive control



Second trial

Aranguren et al., 2017



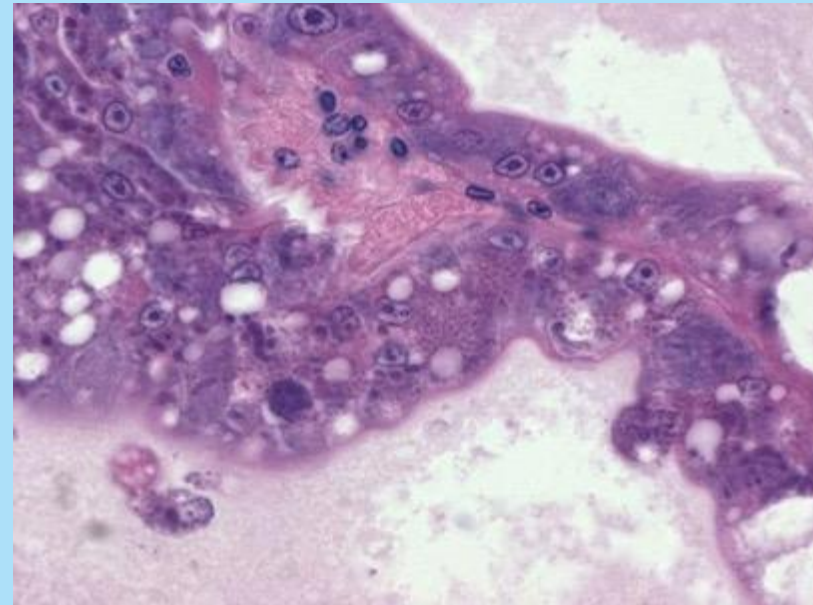


Microsporidiose hepatopancreática  
*Enterocytozoon hepatopenaei*  
causa microsporidioses em  
cultivado *Penaeus monodon* &  
*Penaeus vannamei* na  
Asia, Madagascar e Latin  
America



# *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP)

- Descrito em *Penaeus monodon* Tailândia. (2003-2004)
- Infecta os tubulos do hepatopancreas, impedindo absorção do alimento.
- Crescimento lento, flacidez e FCR alto.
- Desuniformidade nos tamanhos.
- Vibriose secundaria é comum.
- Em casos severos apresenta mortalidade crônica.
- Associado com WFD.





# Distribuição geográfica de EHP no SE Asia



# EHP: distribuição geográfica nas Américas



US Dept of State Geographer  
Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO  
© 2016 Google

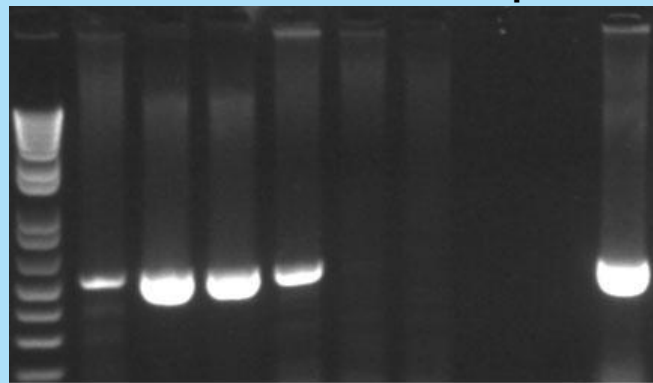




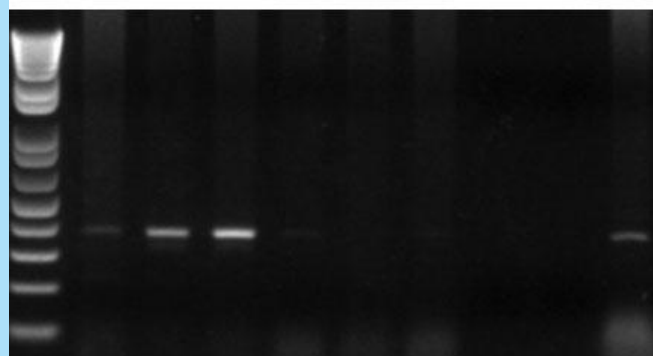


# EHP PCR do caso de camarões cultivados na América Latina

M A B1 B2 B3 C D spf ntc +C



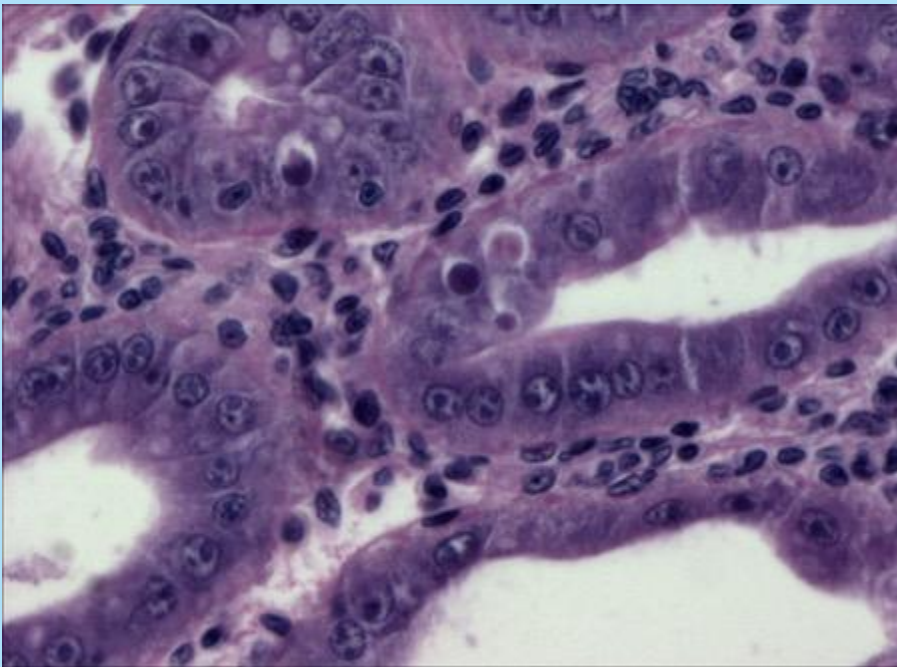
18S rRNA primers



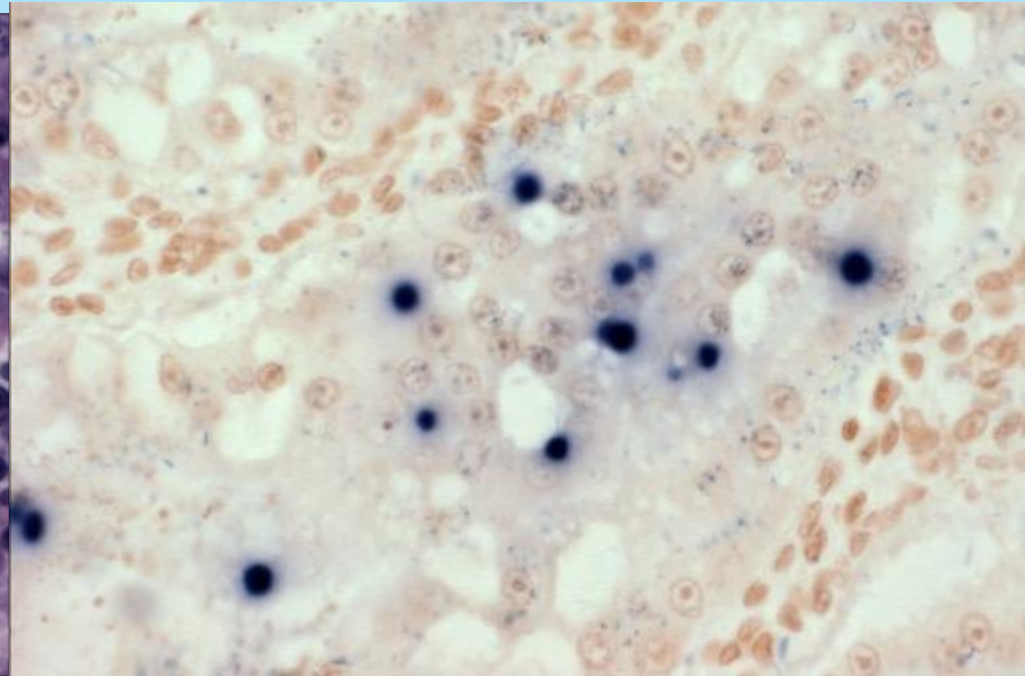
Proteína da esporo, primers

**EHP positivo em 4 de 6 amostras analisadas**

## Histologia do hepatopancreas: inclusões citoplasmáticas



## Hybridization In situ com Digoxigenin-labeled 18S rDNA probe





## Comparação do nucleotídeos das sequencias de EHP isoladas na America Latina com EHP isolado no SE-Ásia.

<b>Gene</b>	<b>Identidade da sequencia de Nucleotídeo (%)</b>	<b>Identidade da sequencia de Amino ácido (%)</b>
<b>18S rRNA</b>	<b>99</b>	<b>n/a</b>
<b><math>\beta</math>-tubulin</b>	<b>93</b>	<b>100</b>
<b>Spore wall protein</b>	<b>91</b>	<b>97</b>

# EHP & doenças das fezes brancas (WFD)



ANIMAL HEALTH & WELFARE

## White Feces Syndrome in shrimp: Predictor of EHP?

Monday, 29 April 2019

By Luis Fernando Anargues, Ph.D., Hung Mai, Ph.D., Orlando Pichardo, B.Sc., Bambang Hanggono and Arun K. Dhar, Ph.D.

Crucial to minimize risk spread of EHP/EHP-like pathogens



Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) from a Latin American country and displaying WFS symptoms.



# White Feces

*The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, IJA\_67.2015.1212, 11 pages*

## ***Vibrio cholerae*: a causal agent for the white feces syndrome in freshwater cultured whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*)**



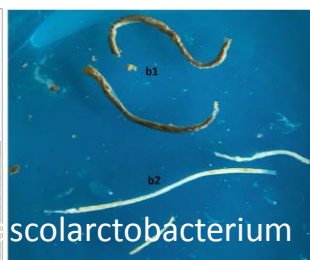
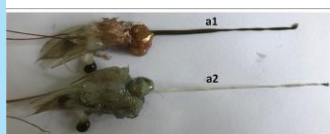
Applied Microbiology and Biotechnology (2018) 102:3701–3709  
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-8855-2>

APPLIED GENETICS AND MOLECULAR BIOTECHNOLOGY



## Intestinal bacterial signatures of white feces syndrome in shrimp

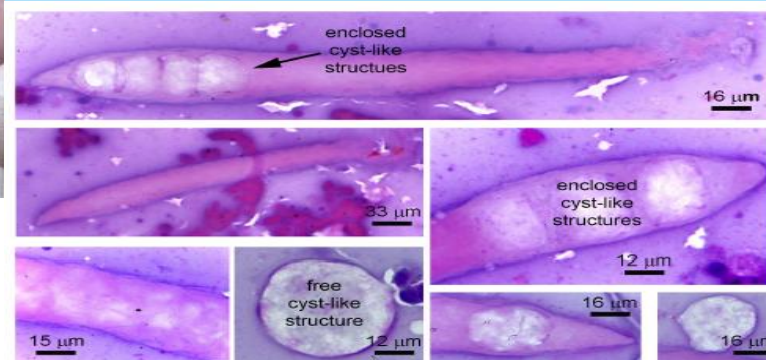
Dongwei Hou<sup>1</sup> · Zhijian Huang<sup>1</sup> · Shenzheng Zeng<sup>1</sup> · Jian Liu<sup>1</sup> · Dongdong Wei<sup>1</sup> · Xisha Deng<sup>1</sup> · Shaoping Weng<sup>2</sup> · Qingyun Yan<sup>3</sup> · Jianguo He<sup>1,2</sup>



Bacilloplasma and Phascolarctobacterium

## White Feces Syndrome of Shrimp Arises from Transformation, Sloughing and Aggregation of Hepatopancreatic Microvilli into Vermiform Bodies Superficially Resembling Gregarines

Siriporn Sriurairatana<sup>1</sup>, Visanu Boonyawiwat<sup>2</sup>, Warachin Gangnonngiw<sup>3</sup>, Chaowanee Laosutthipong<sup>1,4</sup>, Jindanan Hiranchan<sup>1,4</sup>, Timothy W. Flegel<sup>1,3,\*</sup>



Tangprasittipap et al. BMC Veterinary Research 2013, 9:139  
<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/139>

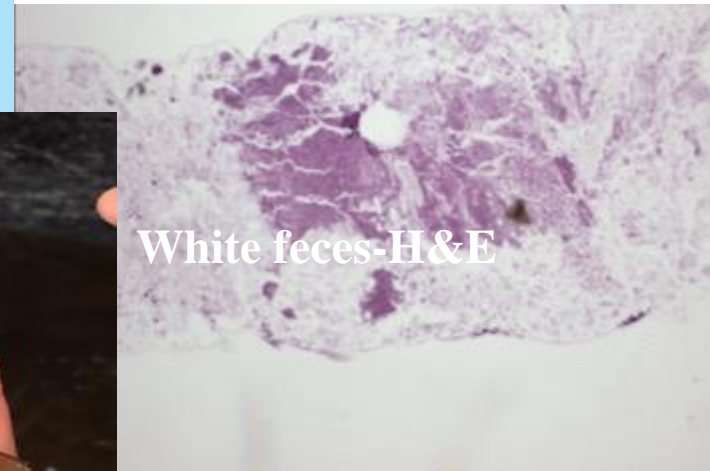
## The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*

Amornrat Tangprasittipap<sup>1,2†</sup>, Jiraporn Srisala<sup>2†</sup>, Saisunee Chowdee<sup>1,2</sup>, Montagan Somboon<sup>4</sup>, Niti Chuchird<sup>4</sup>, Chalor Limsuwan<sup>4</sup>, Thinnarat Srisuvan<sup>6</sup>, Timothy W Flegel<sup>1,3,5</sup> and Kallaya Sritunyalucksana<sup>1,2,5\*</sup>

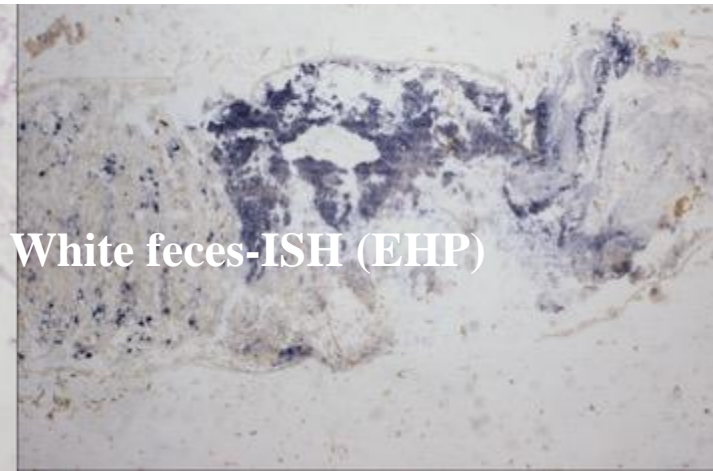


## Dense populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in feces of *Penaeus vannamei* exhibiting white feces syndrome and pathways of their transmission to healthy shrimp

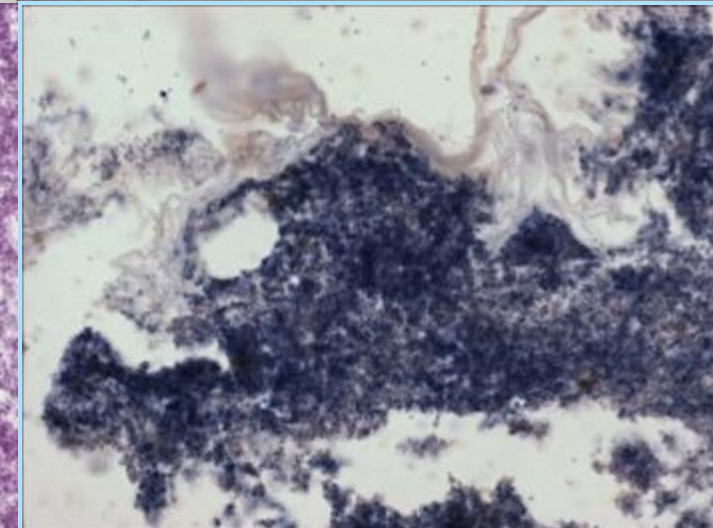
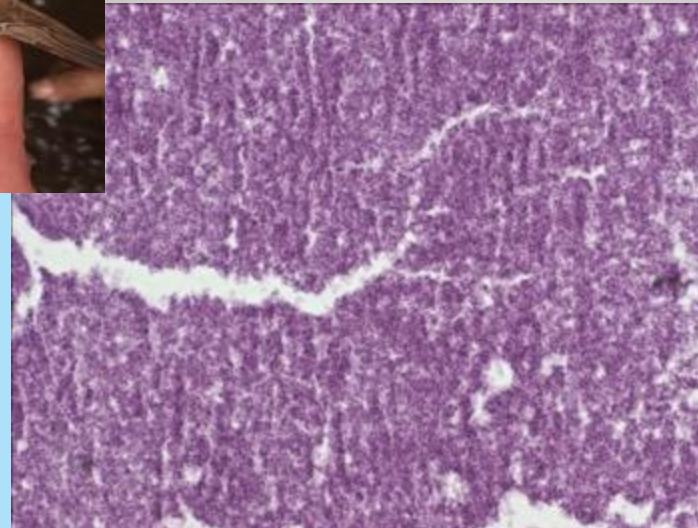
Kathy F.J. Tang<sup>a,\*</sup>, Jee Eun Han<sup>a</sup>, Luis Fernando Aranguren<sup>a</sup>, Brenda White-Noble<sup>a</sup>, Margeaux M. Schmidt<sup>a</sup>, Patharapol Piamsomboon<sup>b</sup>, Eris Risdiana<sup>c</sup>, Bambang Hanggono<sup>d</sup>



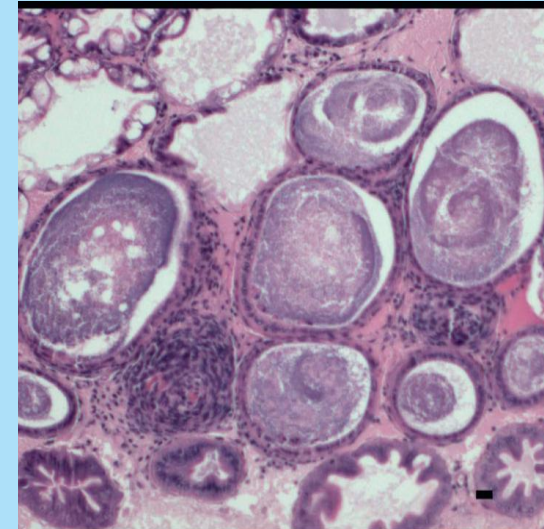
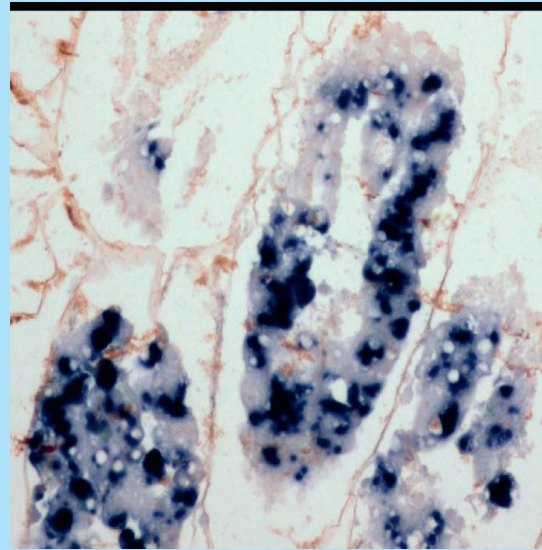
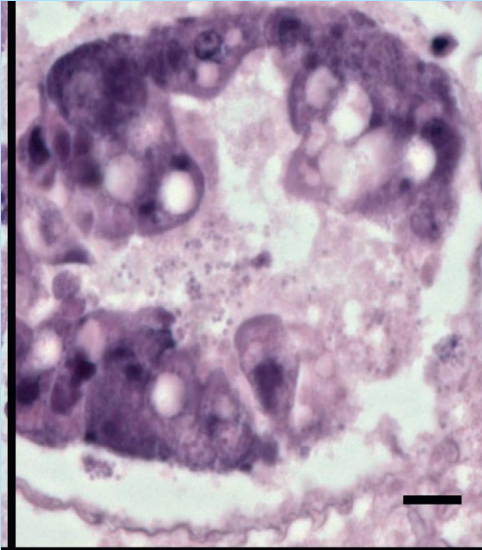
White feces-H&E



White feces-ISH (EHP)



# Shrimp displaying white feces present EHP and SHPN



Aquaculture 471 (2017) 37–42



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/aquaculture](http://www.elsevier.com/locate/aquaculture)



*Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) is a risk factor for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and septic hepatopancreatic necrosis (SHPN) in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*

Luis Fernando Aranguren\*, Jee Eun Han, Kathy F.J. Tang

School of Animal and Comparative Biomedical Sciences, University of Arizona, 1117 E. Lowell Street, Tucson, AZ 85721, USA





# Doença das fezes brancas nas Américas

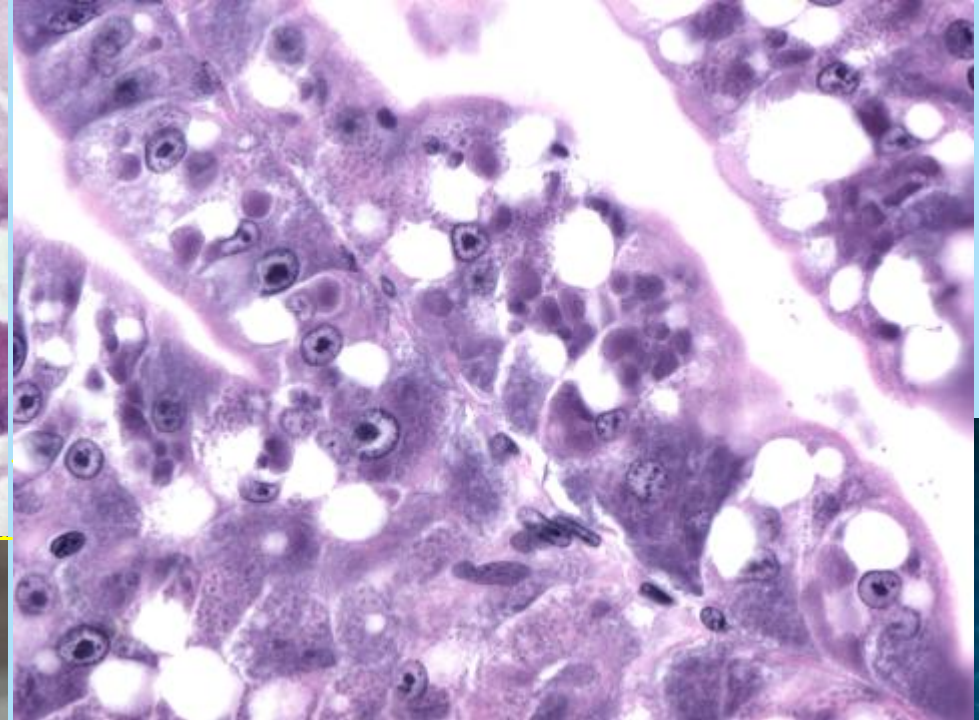
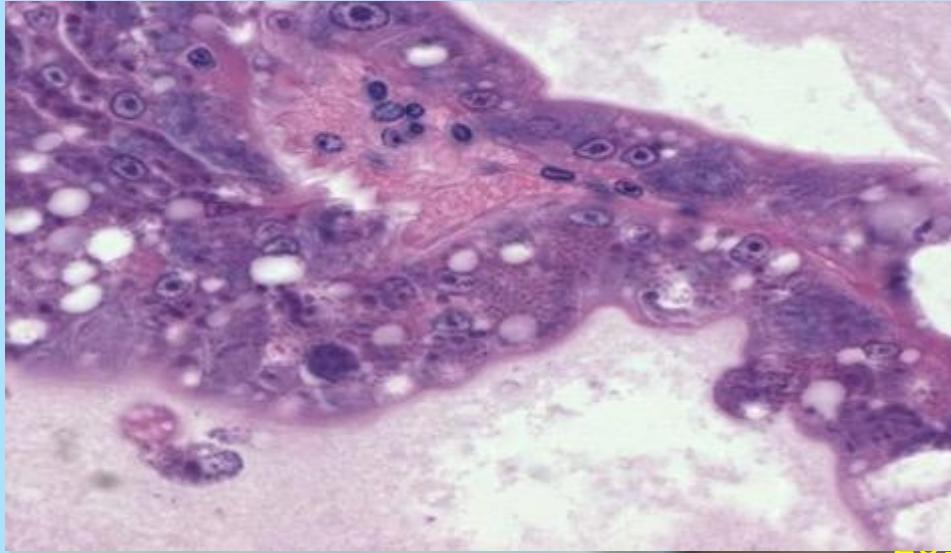
## EHP in the Americas 2016



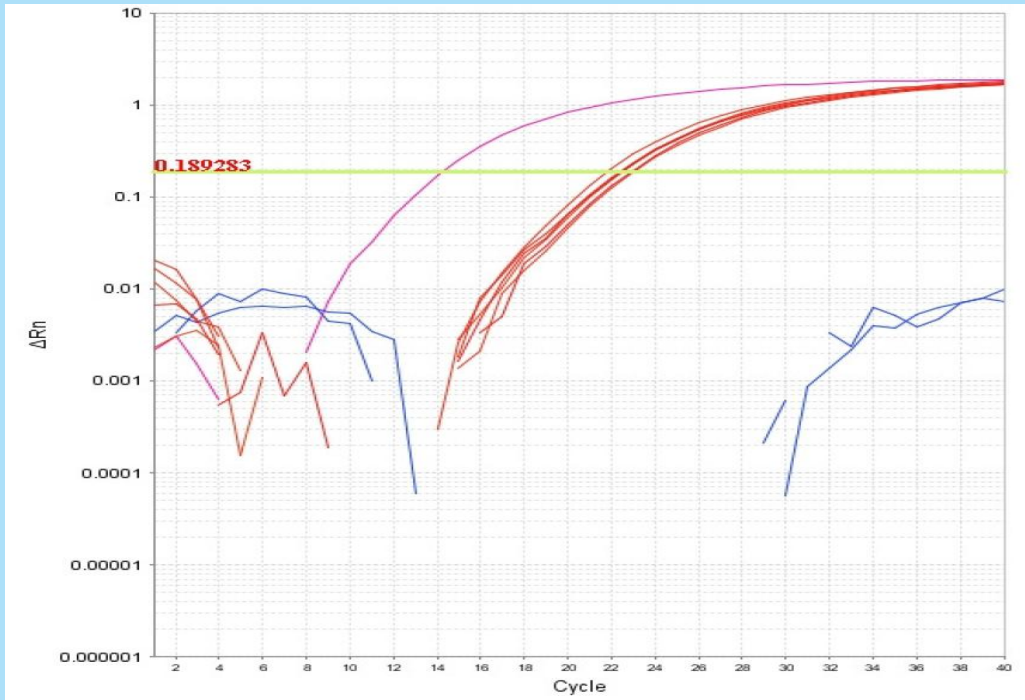
## White Feces in the Americas 2018



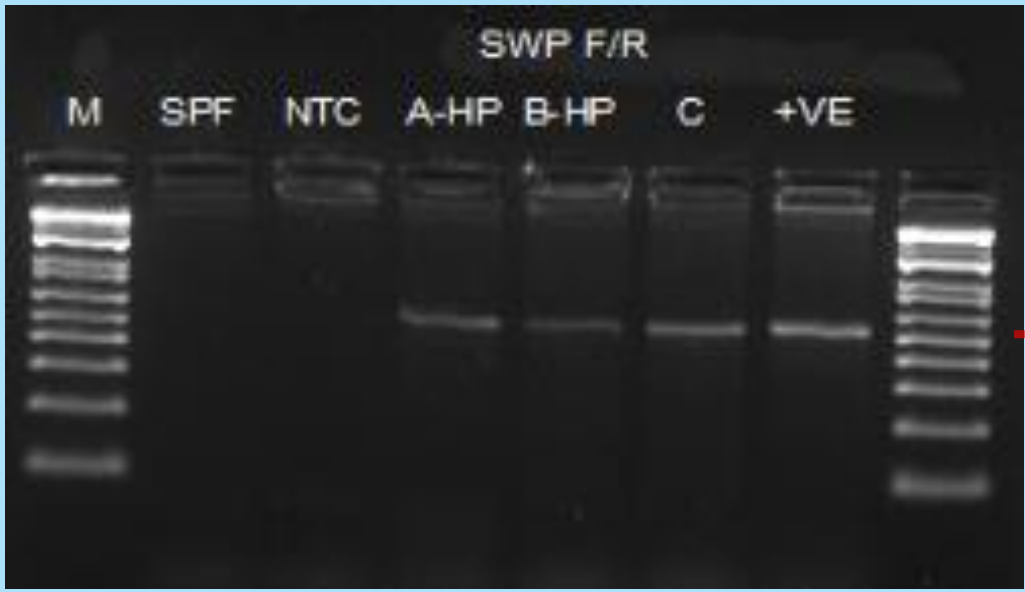
# Doença das fezes brancas nas Américas



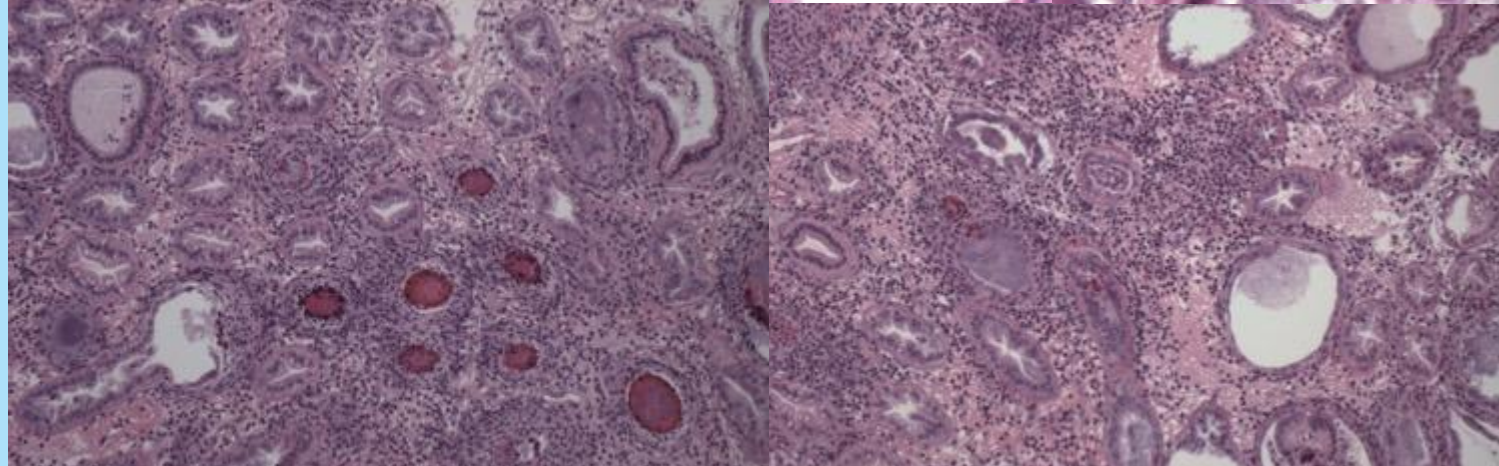
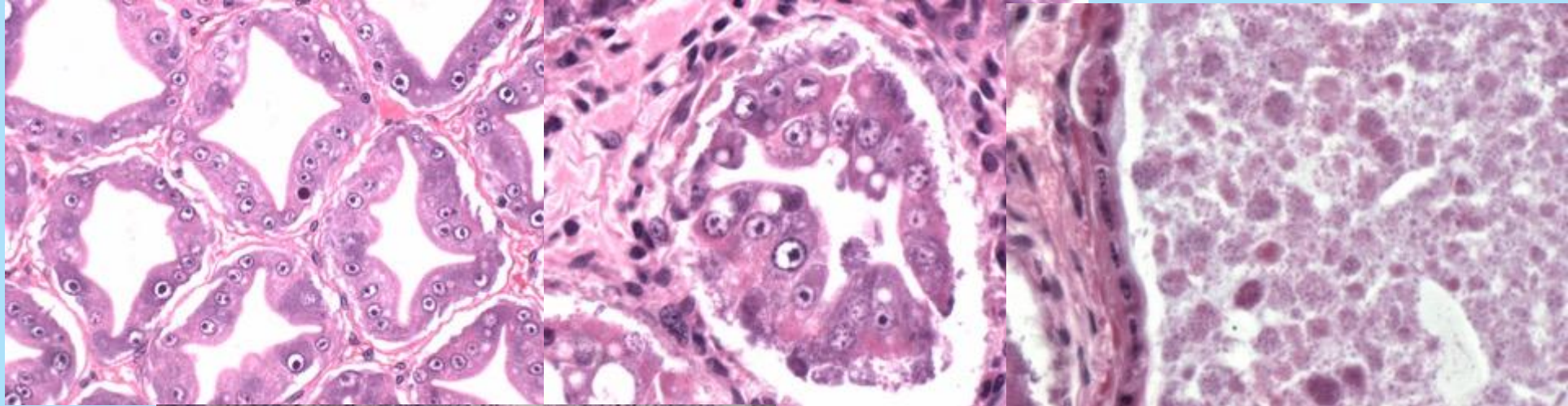
Detection of EHP  
using qPCR  
Taqman Probe  
(SSU) (Liu et  
al., 2018)



EHP Spore wall  
protein gene  
(SWP-PCR)



# Histologia do hepatopâncreas com camarões apresentando fezes brancas

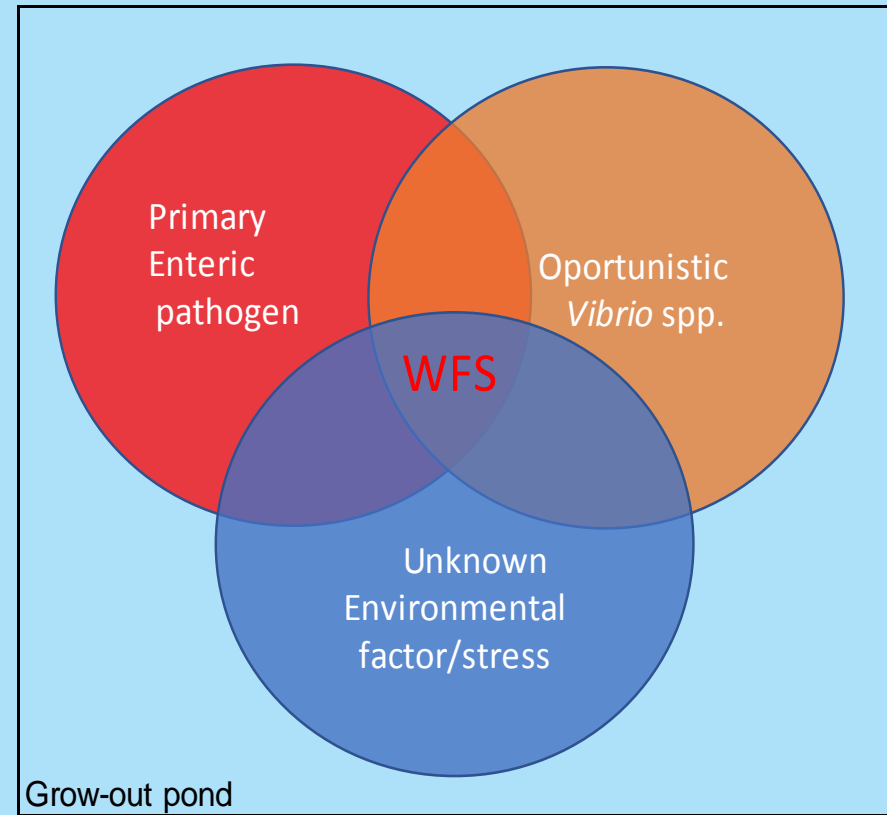


Grow out pond	Lipid droplets in HP	EHP	SHPN
Shrimp with white feces	L 1.0	72%	18%

## Comparison of nucleotide sequences of the Latin America isolates with EHP isolated from SE-Asia.

Gene	Nucleotide sequence Pair-wise (%)
Spore wall protein	100%
<b>SSU</b>	<b>99.8%</b>

- Existe uma forte associação entre WFD (doença das fezes brancas ) e EHP.
- Em regiões endêmicas a EHP, EHP explica as manifestações clínicas de WFD.
- EHP com outros agentes entéricos (SHPN) e outros fatores desconhecidos podem causar WFD.



# Final remarks..

- Em áreas endêmicas a EHP, WFD é altamente infeccioso.
- Biosecurity strategies must be in place to minimize the risk of EHP spread out in the Americas
- Recomenda-se realizar monitoramento de EHP em fazendas que apresentam WFD. (SSU & SW)

## Como gerenciar EMS/AHPND e WFD

1. PLs livres (negativas para EMS/AHPND, EHP, WSSV)
2. Limpeza dos viveiro – água limpa – PL limpa/SPF
3. “maturar microbiota”
4. Descarte de materia orgânica:  
sifonamento, probióticos, RAS, bioflocos.
5. Probióticos no alimento e na água.
6. Uso de berçários
7. Uso de alimentos funcionais

### Berçários – multifásico

- Reduzir período de cultivo
- Uso de liners no fundo do viveiro: facilitar coleta de matéria orgânica
- Monitoramento em tempo real.

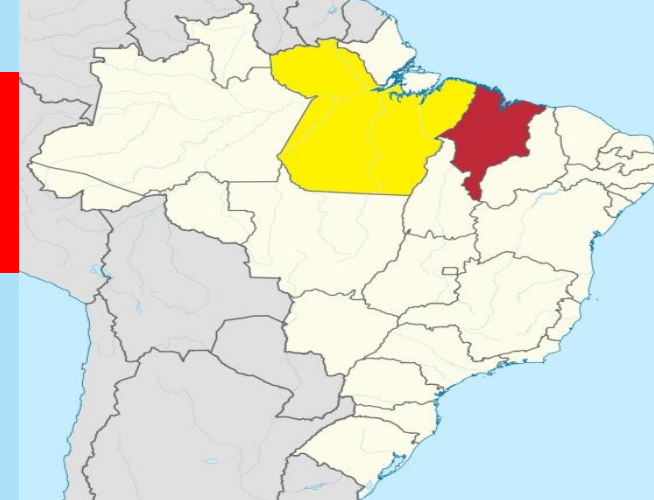
## Intervenção EMS, WFD

1. Reduzir alimentação (50%, 3-5 dias)
2. Retirar materia organica e renovar água,
3. Reduzir densidade de algas
4. Dobrar o uso de probióticos na água e no alimento
5. Dobrar o uso de aditivos alimentares
6. Uso de alimento fermentado





# Primeiro registro de WSSV no MARANHÃO em 2018 (2005 SC..2008 BA etc)



Experiment: CASO 42-2018 WSSV

Type: Standard Curve

Amplification Plot

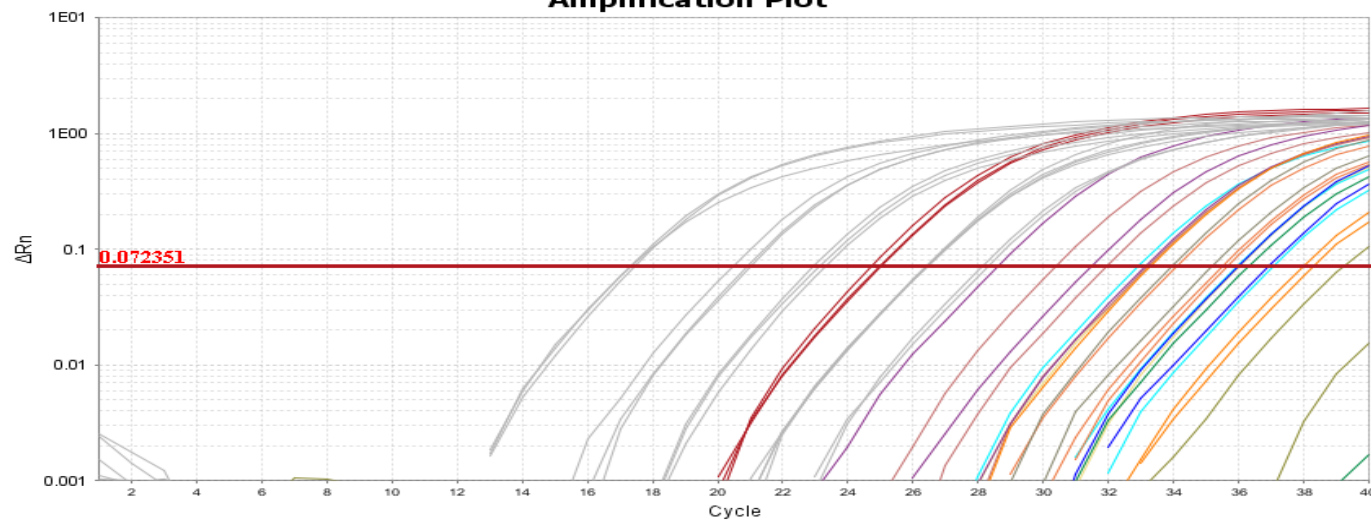
Plot Settings

Plot Type:  $\Delta Rn$  vs Cycle Graph Type: Log Plot Color: Sample

Save current settings as the default



Amplification Plot



Legend  
42.1 42.2 42.2iq 42.3 42.3iq 42.4 42.4iq 42.5  
42.5iq NTC SPF

Duas fazendas confirmadas por histopatologia e PCR quantitativo e não quantitativo. Produtores pensavam que era IMNV mas em fato era somente WSSV.

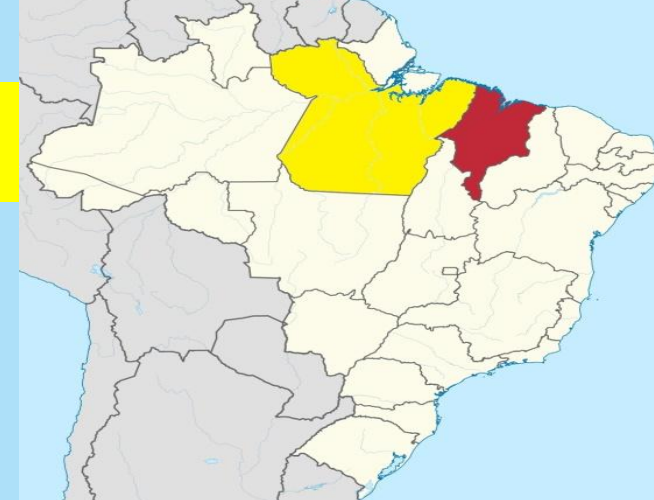


UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DO  
MARANHÃO





# Primeiro registro de WSSV PARA em 2019 (2005 SC..2008 BA, etc)



Experiment: CASO 16 e 19-2019 WSSV

Type: Relative Standard Curve

## Amplification Plot

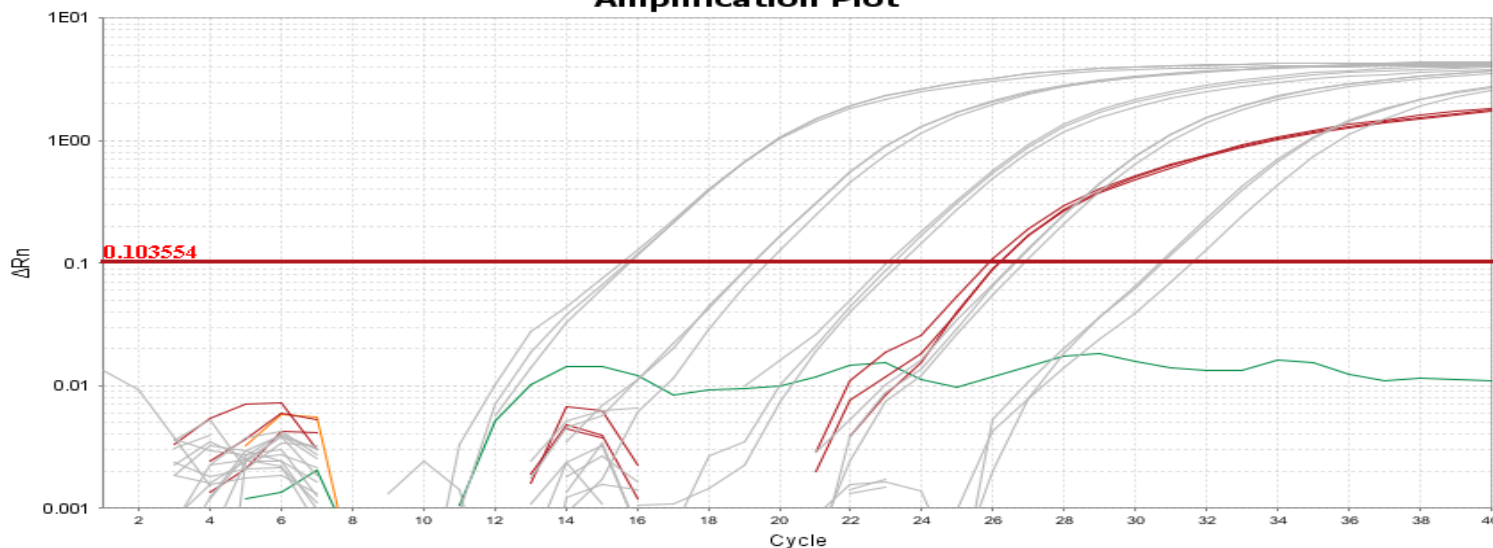
### Plot Settings

Plot Type:  $\Delta Rn$  vs Cycle Graph Type: Log Plot Color: Sample

Save current settings as the default



### Amplification Plot



Legend: 16 (red), 17 (blue), NTC (orange), SPF (green)

Surto de WSSV confirmado em quatro fazendas (histopatologia e qPCR). Seguido de IMNV, SHPN e HPV.

16 e 19-2019 WSSV

Type: Relative Standard Curve

Reagents

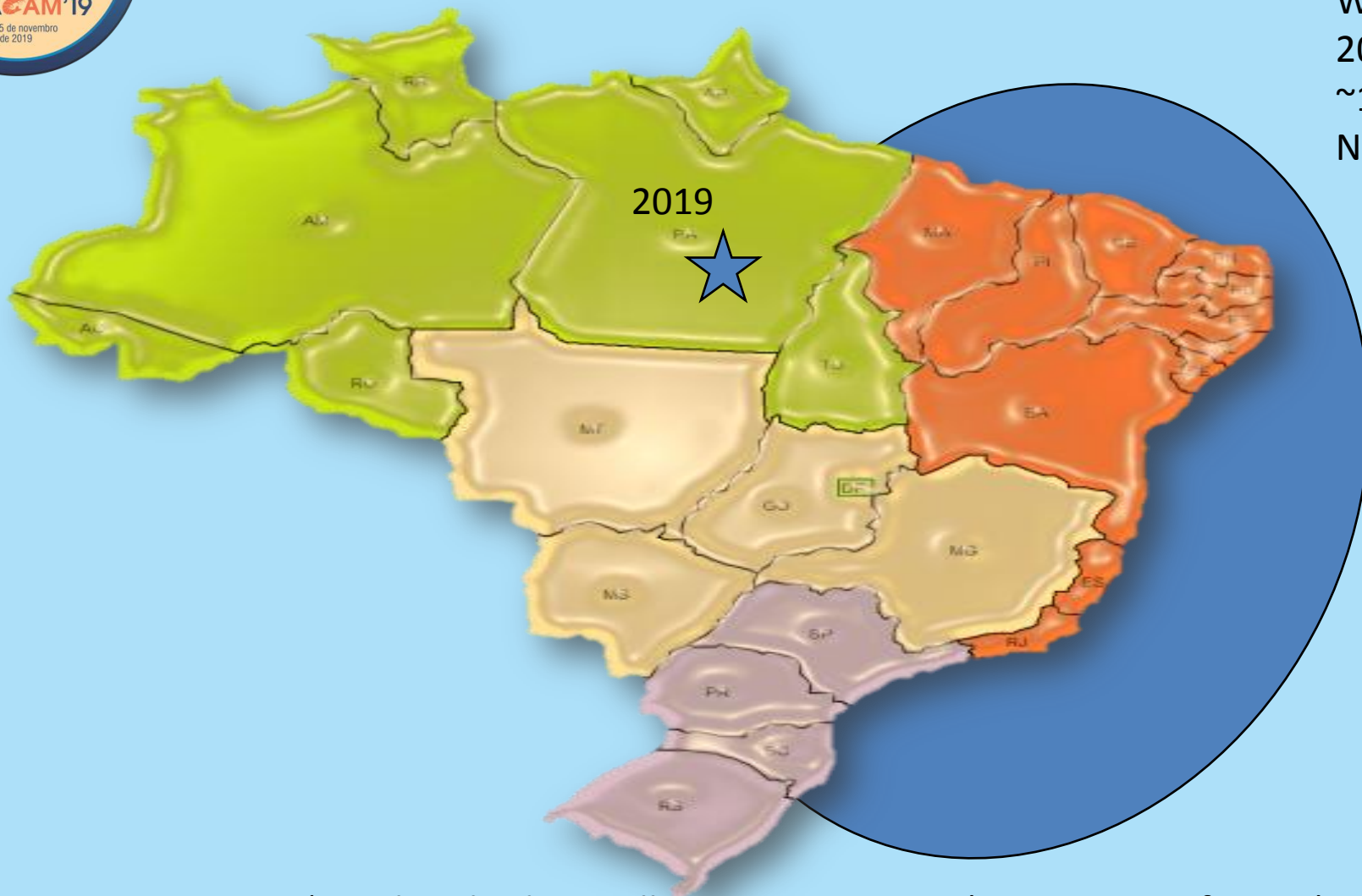
Flag	Sample ...	Target ...	Task	Dyes	Ct	Ct Mean	Ct SD	Quantity	Tm1	Efficiency	Slope	Nc
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	16.990	17.043	0.046	3,670,000,000	80.218	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	17.074	17.043	0.046	3,670,000,000	80.414	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	17.064	17.043	0.046	3,670,000,000	80.414	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	20.471	20.605	0.226	367,000.000	80.414	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	20.479	20.605	0.226	367,000.000	80.414	98.201	-3.366	
⚠		WSSV	STANDARD	SYBR-None	20.867	20.605	0.226	367,000.000	80.512	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	24.485	24.526	0.155	36,700.000	80.414	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	24.697	24.526	0.155	36,700.000	80.316	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	24.395	24.526	0.155	36,700.000	80.316	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	27.848	27.936	0.146	3,670.000	80.316	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	27.854	27.936	0.146	3,670.000	80.316	98.201	-3.366	
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	28.104	27.936	0.146	3,670.000	80.316	98.201	-3.366	
⚠		WSSV	STANDARD	SYBR-None	32.906	32.313	0.516	367.000	80.512	98.201	-3.366	
⚠		WSSV	STANDARD	SYBR-None	32.060	32.313	0.516	367.000	80.414	98.201	-3.366	
⚠		WSSV	STANDARD	SYBR-None	31.972	32.313	0.516	367.000	80.414	98.201	-3.366	
	19 B7											
	37 D1											
	38 D2											
	39 D3											
	43 D7											
	44 D8											
	49 E1											
	50 E2											
		SHRIMP	WSSV	UNKNOWN	SYBR-None	27.634	27.530	0.133	28,3			
		SHRIMP	WSSV	UNKNOWN	SYBR-None	27.575	27.530	0.133	29,5			
		SHRIMP	WSSV	UNKNOWN	SYBR-None	27.381	27.530	0.133	33,7			
⚠		NTC	WSSV	NTC	SYBR-None	Undetermi...						
⚠		NTC	WSSV	NTC	SYBR-None	34.755						
		SPF	WSSV	NTC	SYBR-None	38.151						
⚠		SPF	WSSV	NTC	SYBR-None	Undetermi...						





**Brazil: IMNV: continua sendo reportado em novas áreas onde a industria é emergente.**

Widespread  
2002-2019  
~100%  
Northeast region



**IMNV 's outbreaks does still occurring in 2019 (in minor significance)**

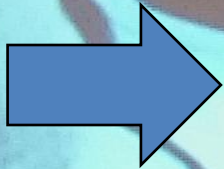
Major cases related to WSSV





13 years later....

November, 2016



Ecuador



Brazil

**“FAO TCP/INT/3501 Workshop on Emergency Preparedness and Response and Contingency Planning”**

**“Strengthening biosecurity governance and capacities for dealing with the serious shrimp Infectious Myonecrosis virus (IMNV) disease” Bangkok, Thailand**





# Publicação recente da FAO



Food and Agriculture  
Organization of the  
United Nations

FIAA/C1187 (En)

FAO  
Fisheries and  
Aquaculture Circular

ISSN 2070-6042

## SHRIMP INFECTIOUS MYONECROSIS STRATEGY MANUAL



41

### Annex 1

Country delegates and resource experts to the FAO Project TCP/INT/3501:  
Strengthening biosecurity governance and capacities for dealing with the serious shrimp  
infectious myonecrosis virus (IMNV) disease

Country	Delegates
Brazil	Marcelo LIMA SANTOS Rodrigo ROUBACH
People's Republic of China	Jie HUANG Yan LIANG
Ecuador	Ulbio Alcides PAREDES NIETO Narciso PIN QUÍMIZ
Indonesia	Hanggono BAMBANG Mukti SRI HASTUTI
Mexico	Mauricio FLORES VILLASUSO
Thailand	Thawonsuwan JUMROENSRI Jaree POLCHANA
FAO Resource Experts	Richard ARTHUR Fernando MARDONES Thales PASSOS DE ANDRADE Ramesh PERERA Melba REANTASO Feng-Jyu (Kathy) TANG-NELSON



# Estratégias de convivência com IMND e WSD

- Investir em biosegurança
  - Tratamento e/ou manejo de água (excluir vetores)
  - Redução de troca de água (controle densidades).
- Uso de SPF (WSSV-livre) estoques (Modelo Tailândia)
- Uso de estoques APE (exposto a patógenos) . Modelo equatoriano.
- Hipertermia WSSV (30-32C, redução de cultivo em inverno) e Hipotermia IMNV (<28C).
- Uso de viveiros cobertos e unidades de apoio
- Uso de linhagens SPF-SPR/T.



## 4. Esforço na publicação de medidas reguladoras

Países produtores e consumidores veem se esforçando na publicação de medidas reguladoras que previnam a importação de camarões infectados de países endêmicos e assim prevenir a introdução de patógenos

- A grande maioria dessas medidas e procedimentos podem ser acessados no **Manual dos Métodos de Diagnósticos e no Código de Conduta para Aquáticos da OIE** (<https://www.oie.int>) que são satisfatórios para avaliação e controle do status sanitário de camarões vivos.

- Outros exemplos:

**Australian Government Department of Agriculture, 2019**; Uncooked prawn consignments - Biosecurity. Acesso 13 de novembro, 2019 em

<http://www.agriculture.gov.au/import/goods/uncooked-prawns/uncooked-prawn-consignments>

**Canadian Food Inspection Agency, 2019**; General import requirements. Acesso 13 de novembro, 2019 em, [https://www.inspection.gc.ca/food/importing-food/food-specific-](https://www.inspection.gc.ca/food/importing-food/food-specific-requirements/overview-importing-fish-and-shellfish/eng/1542814823126/1542814997653#a3)

[requirements/overview-importing-fish-and-shellfish/eng/1542814823126/1542814997653#a3](https://www.inspection.gc.ca/food/importing-food/food-specific-requirements/overview-importing-fish-and-shellfish/eng/1542814823126/1542814997653#a3)

**Saudi Food and Drug Authority, 2019**; Import Food Requirements. Acesso 13 de novembro, 2019 em [https://www.sfda.gov.sa/en/food/about/administration/mangement\\_food/Pages/Introduction](https://www.sfda.gov.sa/en/food/about/administration/mangement_food/Pages/Introduction.aspx)

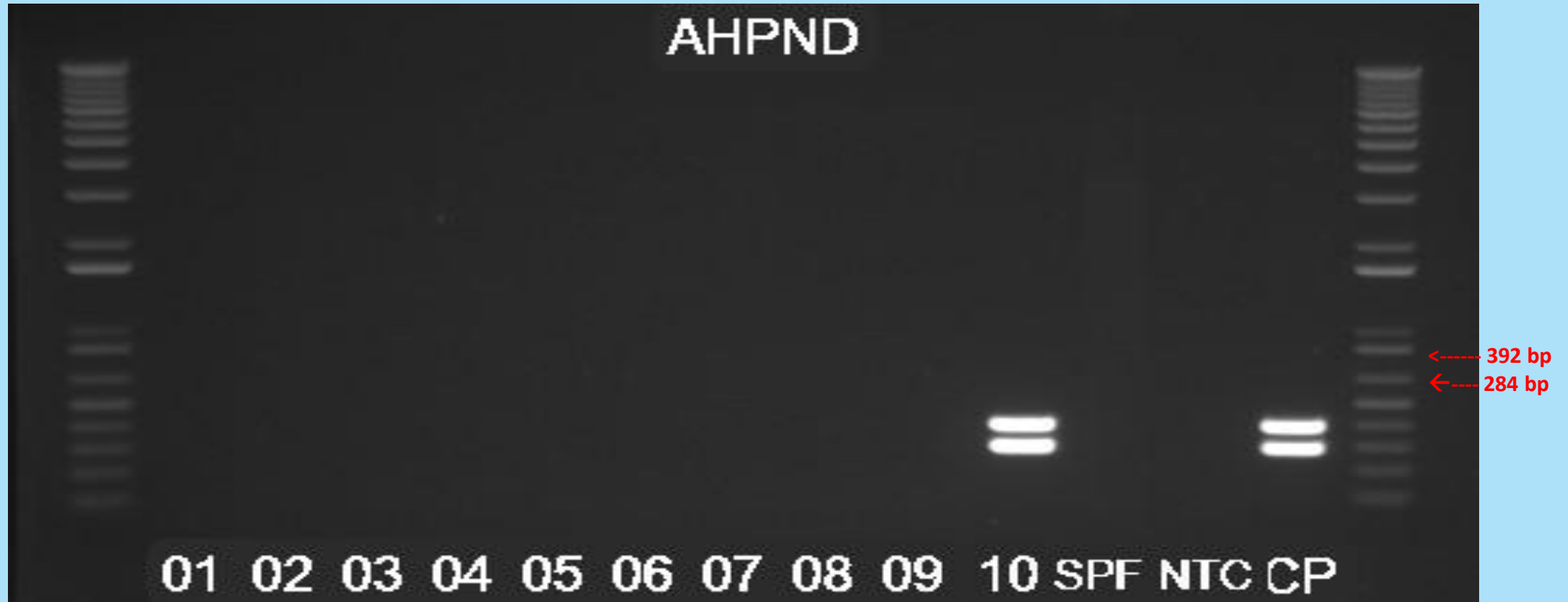
[aspx](https://www.sfda.gov.sa/en/food/about/administration/mangement_food/Pages/Introduction.aspx)

# 5. Esforço na utilização de diagnóstico altamente especializado





# One-step PCR detection of PirA/PirB toxin genes



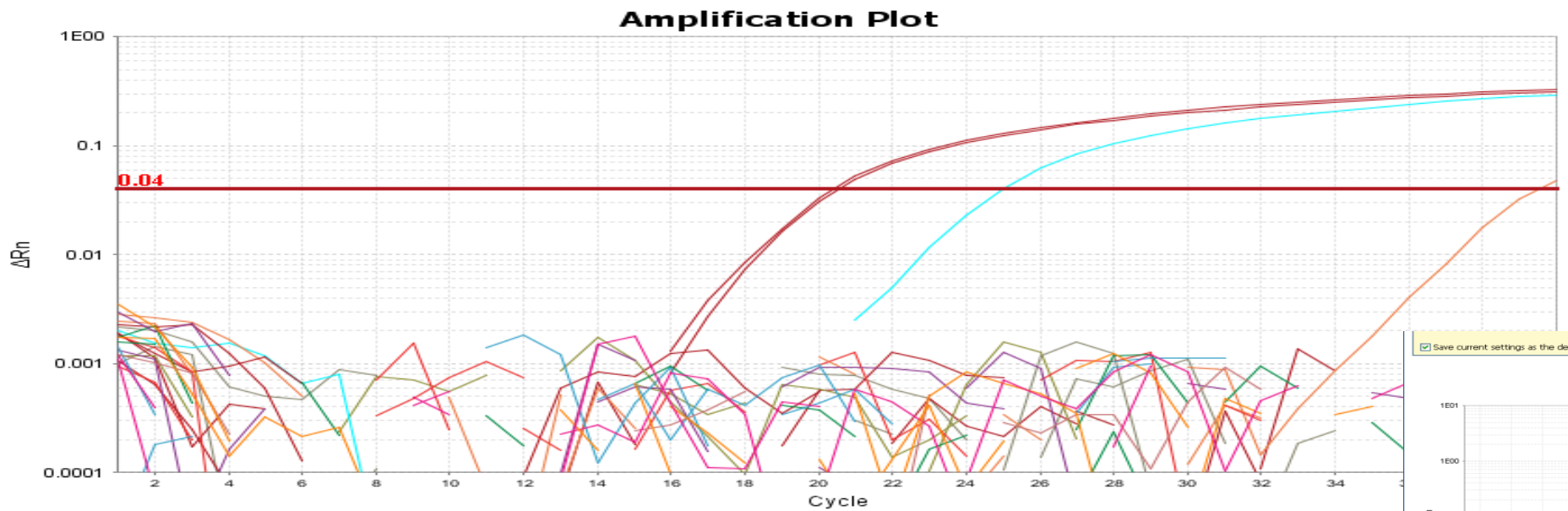
CASO LAQUA (UEMA/MAPA). Calibração laboratorial com Universidade do Arizona

# Ensaio de PCR em tempo real (TaqMan probe) específico para vpAHPND

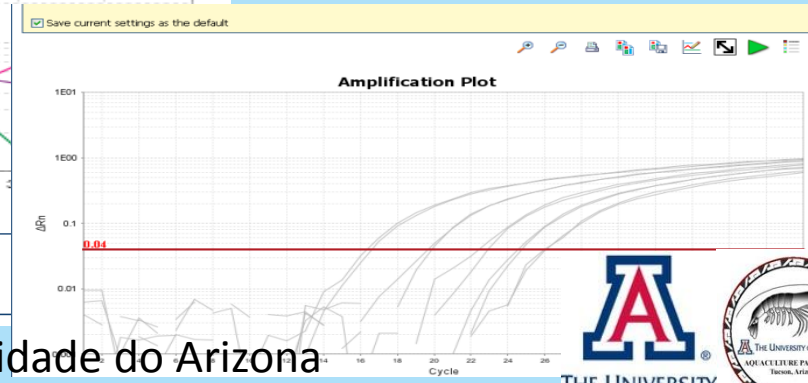
Experiment: **AHPND** Type: **Standard Curve**

Amplification Plot

**Plot Settings**  
Plot Type:  $\Delta Rn$  vs Cycle | Graph Type: Log | Plot Color: Sample  
 Save current settings as the default



- Legend
- AH01 (Green)
  - AH02 (Red)
  - AH03 (Blue)
  - AH04 (Magenta)
  - AH05 (Dark Red)
  - AH07 (Dark Green)
  - AH08 (Orange)
  - AH09 (Grey)
  - AH NTC (Light Brown)
  - AH SPF (Purple)

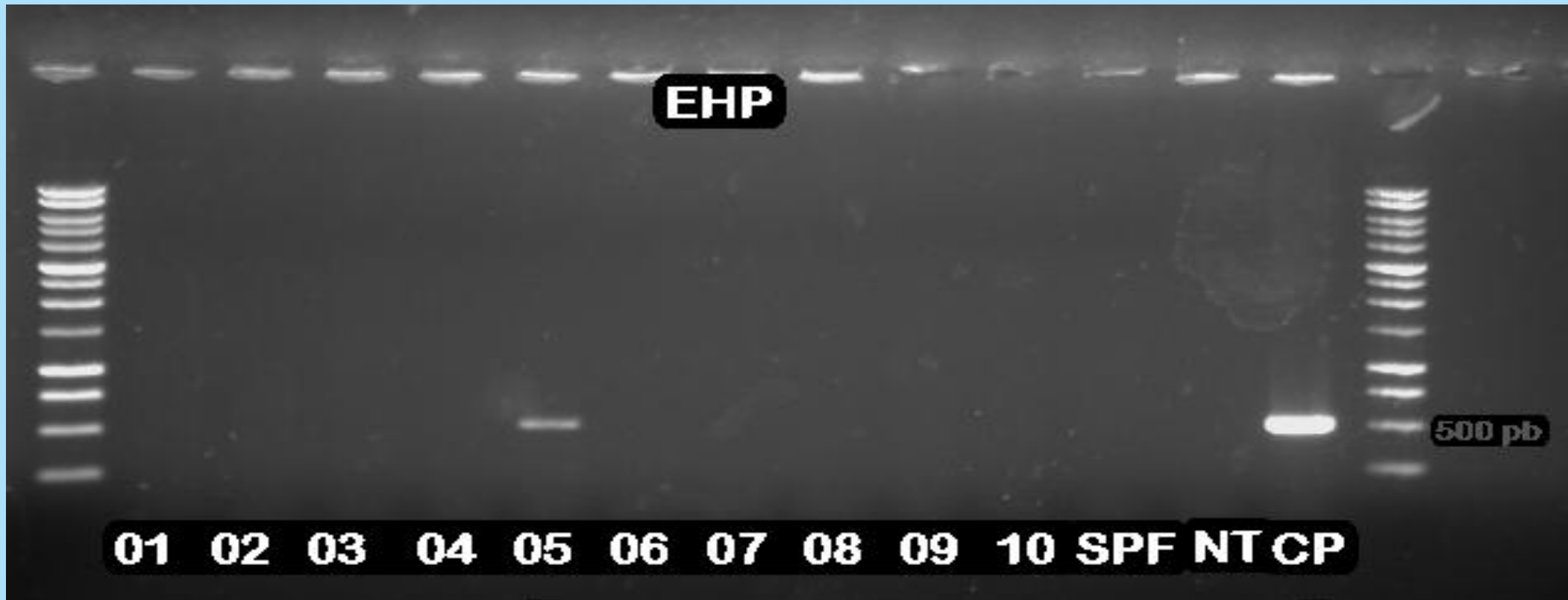


CASO LAQUA (UEMA/MAPA). Calibração laboratorial com Universidade do Arizona





# Ensaio de PCR para detecção de *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP)



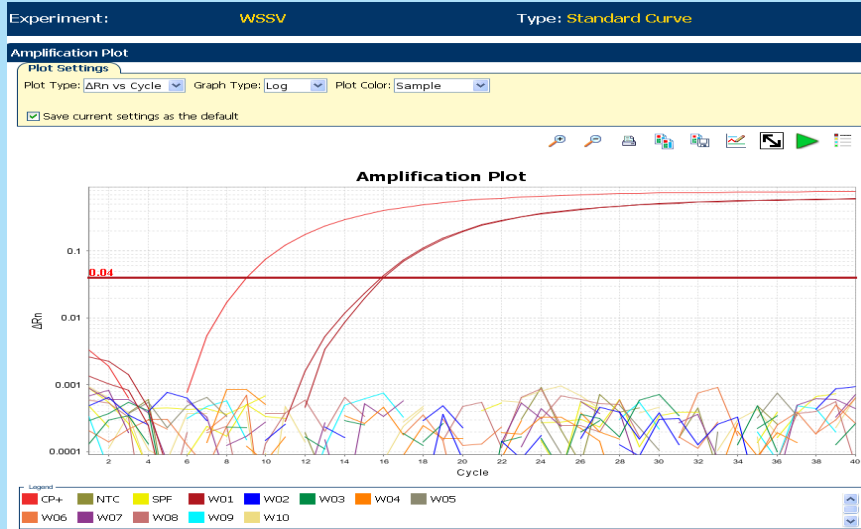
\*CASO LAQUA Calibração laboratorial com Universidade do Arizona

\*\* Tang et al., 2015

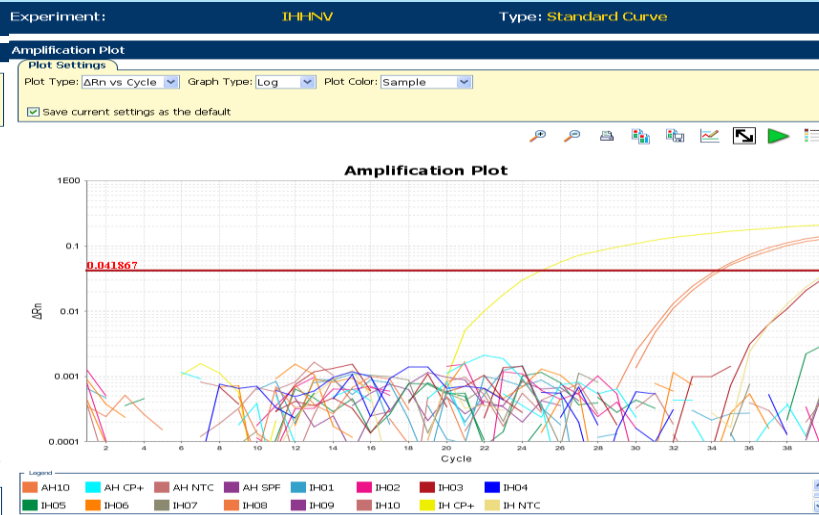


# Exemplos : tempo real PCR/RT-PCR (sonda TaqMan)

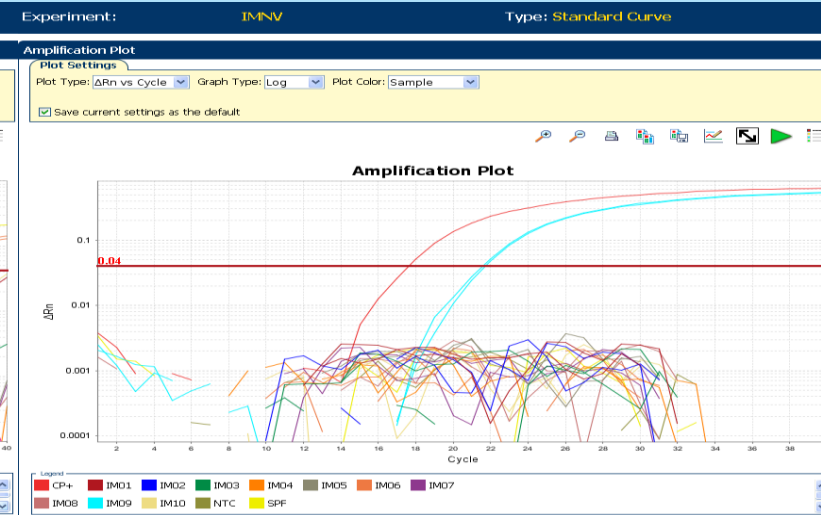
## WSSV



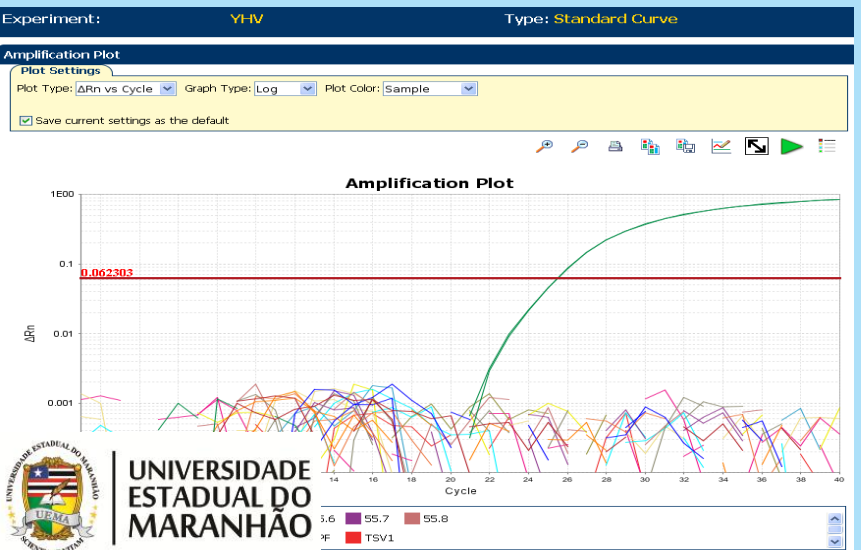
## IHHNV



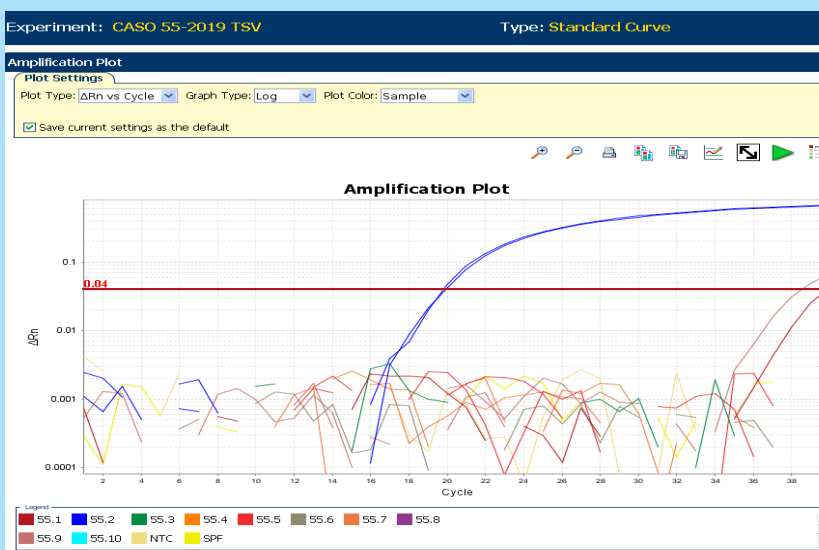
## IMNV



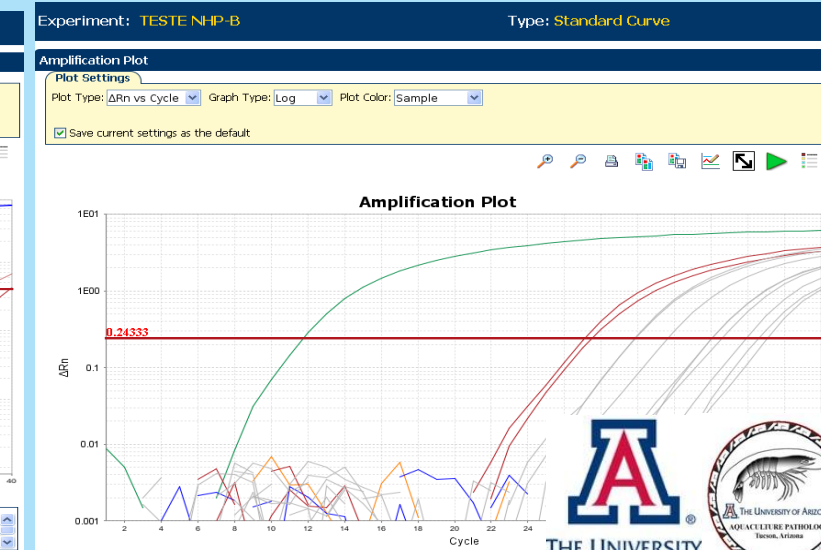
## YHV



## TSV



## NHP-B



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DO  
MARANHÃO



THE UNIVERSITY  
OF ARIZONA



THE UNIVERSITY OF ARIZONA  
COLLEGE OF MEDICINE  
SCHOOL OF PATHOLOGY  
TUCSON, ARIZONA



## Global distribution of white spot syndrome virus genotypes determined using a novel genotyping assay

J. Oakey<sup>1</sup> · C. Smith<sup>1</sup> · D. Underwood<sup>1</sup> · M. Afsharnasab<sup>2</sup> · V. Alday-Sanz<sup>3</sup> · A. Dhar<sup>4</sup> · S. Sivakumar<sup>5</sup> · A. S. Sahul Hameed<sup>5</sup> · K. Beattie<sup>6</sup> · A. Crook<sup>6</sup>

Received: 24 February 2019 / Accepted: 29 March 2019  
© The Author(s) 2019

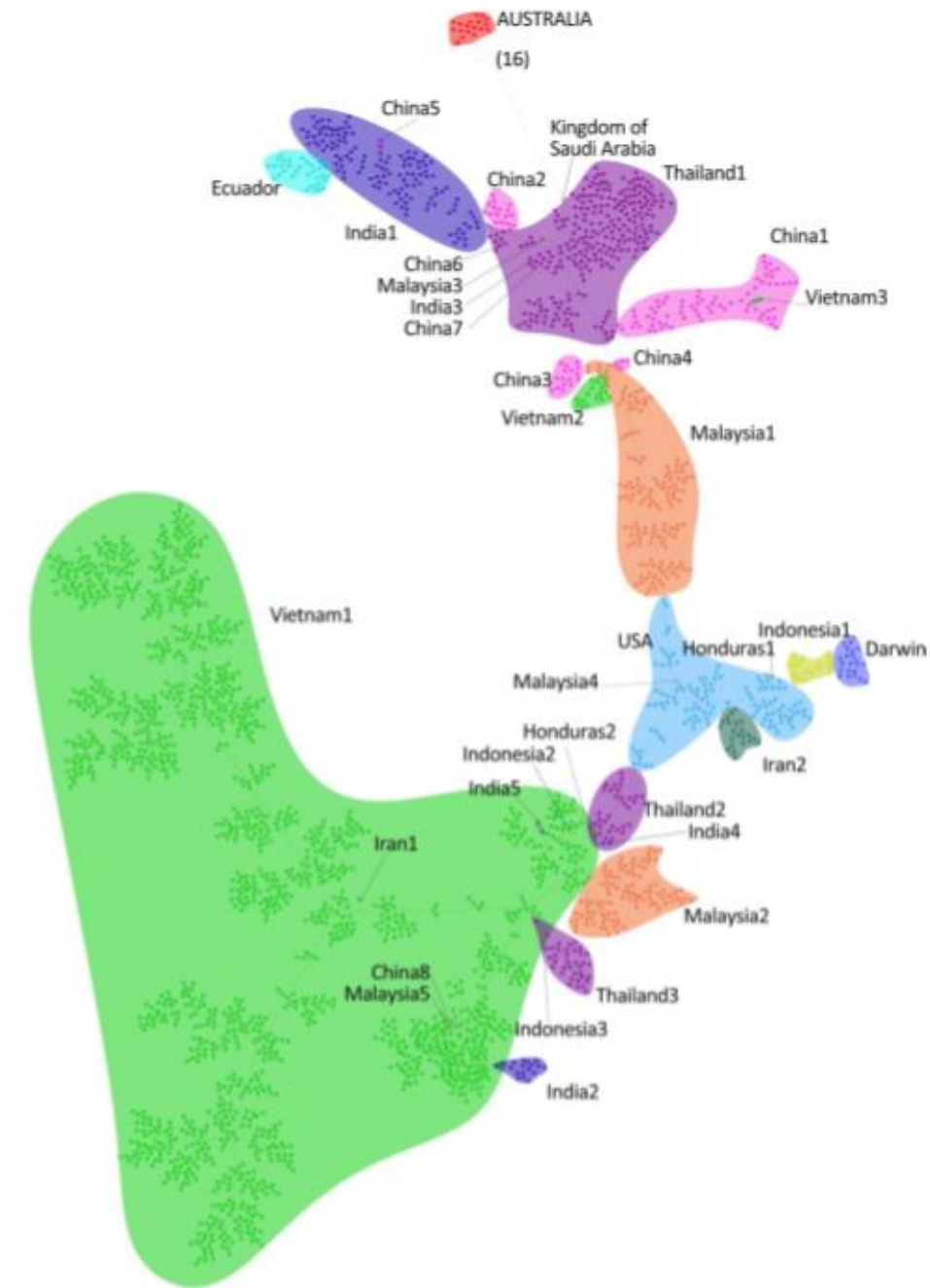
Estudo aplicado no caso de WSSV ocorrido em Queensland, Australia

“Infecções multiplas por diferentes cepas foram frequentemente notadas em amostras de regioes endemicas”

“Genótipos obtidos do Equador ficaram separados dos outras das americas e linked com um único cluster de um nova WSSV cepas da India”

“the STR genotyping of WSSV has potential for application by regulatory bodies investigating transboundary movement of stock infected with WSSV or regulation of commodity package labelling”

**Fig. 1** Minimum spanning tree of WSSV genotypes (stylised for ease of labelling and navigation). Where there are multiple clusters from the same region, the numerical codes relate to the following samples: **China1:** C1, C2, C4, C5, C6, C7, C10, C16, C19, C71, C72, C73, C74, C75, IT14. **China2:** IT5. **China3:** IT2. **China4:** IT9. **China5:** IT6, IT12. **China6:** IT38. **China7:** IT44. **China8:** C30. **India1:** NAPI, NAP2, NAP3, NTN3, NTN4, NTN5, NWB1, NKE1, NKE2, NKE3, NKE4, NKE5. **India2:** OTN1, OAP1, OGU1, OWB1. **India3:** NTN2. **India4:** OOD1, OKE1. **India5:** NTN1. **Thailand1:** T16, T19, T20, T101, T103, T105, T106, T108, T110, T116, T119, T120, T121, T122, T123, T124, T125. **Thailand2:** ThC-98. **Thailand3:** ThaiMB, F17, T140, T142, T143. **Malaysia1:** IT7, IT8, IT10. **Malaysia2:** IT1, IT11, IT19. **Malaysia3:** IT4. **Malaysia4:** IT13. **Malaysia5:** IT3. **Malaysia6:** IT15. **Indonesia1:** D1-99, I187, I186. **Indonesia2:** SulA. **Indonesia3:** SulB. **Vietnam1:** IT16, IT17, IT18, IT20, IT21, IT22, IT23, IT25, IT27, IT28, IT29, IT30, IT31, IT32, IT33, IT34, IT35, IT36, IT37, IT39, IT40, IT41, IT42, IT43, IT45, IT46, IT47, IT48, IT49, IT50, V20, V16, V17, V19, V21, V26, V27, V28, V29, V30, V76, V100, V111, V112, V114, V157, V159, V160. **Vietnam2:** IT24. **Vietnam3:** V23. **Honduras1:** HE02. **Honduras2:** H-D2. **Iran1:** IR1, IR2, IR3, IR4, IR5, IR6, IR7. **Iran2:** IR8, IR9, IR10, IR11, IR12, IR13, IR14, IR15

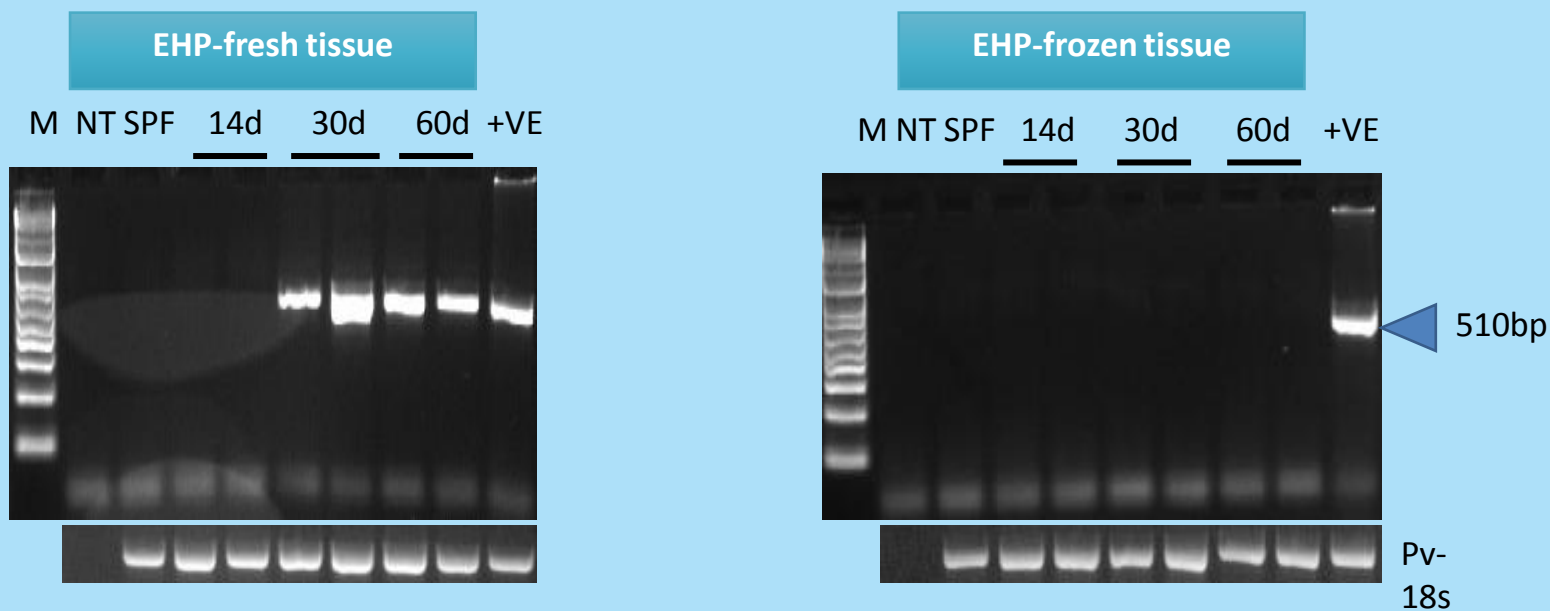




## 6. Avaliando infectividade para camarões congelados e cozidos

No tocante ao camarão infectado processado congelado ou cozido, estudos recentes sugerem que camarões infectados por AHPND and EHP não são infecciosos quando expostos a moderada baixa temperatura. Por outro lado, camarões congelados continuam sendo uma rota real para introdução de WSSV, IMNV, YHV, TSV, IHNV etc. (muitos sistêmicos e + ISH)

# Tratamentos



M=Marker; NT=non-template control; SPF=Specific Pathogen Free; 14d=14dpi; 30d=30dpi; 60d=60dpi; +VE=EHP positive control. 18S rRNA of *P. vannamei* was used as an internal control



## 6. Avaliando infectividade para camarões congelados e cozidos

A Organização de Saúde Animal (OIE) > camarões cozidos por um minuto a temperatura de fervura destrói WSSV.

E sobre lotes de camarões cozidos que apresentem resultados de diagnostico molecular PCR como *detectado*?

“Article 9.8.3.

**Importation or transit of aquatic animal products for any purpose regardless of the infection with WSSV status of the exporting country, zone or compartment**

Competent Authorities should not require any conditions related to WSSV, regardless of the infection with WSSV status of the exporting country, zone or compartment, when authorising the importation or transit of the following aquatic animal products derived from a species referred to in Article 9.8.2. that are intended for any purpose and comply with Article 5.4.1.:

- A) heat sterilised hermetically sealed crustacean products (i.e. a heat treatment at 121°C for at least 3.6 minutes or any time/temperature equivalent that has been demonstrated to inactivate WSSV);
- b) cooked crustacean products that have been subjected to heat treatment at 60°C for at least one minute (or any time/temperature equivalent that has been demonstrated to inactivate WSSV);”

[https://www.oie.int/index.php?id=171&L=0&htmfile=chapitre\\_wsd.htm](https://www.oie.int/index.php?id=171&L=0&htmfile=chapitre_wsd.htm) , acesso em 13 de novembro de 2019.

**WSSV é inativado a 60°C por pelo menos 1 minuto**



## **7. Considerações finais:**

1. Principais enfermidades emergentes para América Latina (AL): <sup>v</sup>PAHPND, EHP e WFD (EHP- <sup>v</sup>PAHPND e EHP-WFD associadas).
2. **Apesar de endêmicas em alguns países, a existência de diferentes cepas, WSSV e IMNV continuam emergindo ou re-emergindo em regiões livres da AL.**
3. Em uma época que a humanidade caminha para INDÚSTRIA 4.0 (Aquicultura 4.0), para a carcinicultura se manter sustentável, é vital, que haja cooperação mútua entre os setores público e privado e entre os países produtores que visem estabelecer medidas (normas, estoques etc.) que previnam a disseminação de patógenos emergentes e suas cepas, existentes dos países afetados para regiões livres.
4. **É vital , o envolvimento do setor produtivo com unidades laboratoriais de referência, dedicadas ao diagnóstico de doenças de camarão para avaliação de seus estoques e produtos.**
5. O processamento de camarão, por cozimento, apresenta excelente potencial para o comércio internacional, porem outros patógenos e tratamentos devem ser avaliados.





# OBRIGADO PELA ATENÇÃO!!!

SHRIMP PATHOLOGY SHORT COURSE 2019 – UNIVERSITY OF ARIZONA (USA)



Thales Andrade, PhD

thalespda@hotmail.com

LAQUA(UEMA/MAPA)

Fernando Aranguren Caro, PhD

lfarangu@email.arizona.edu

Arun Dhar, PhD  
Head

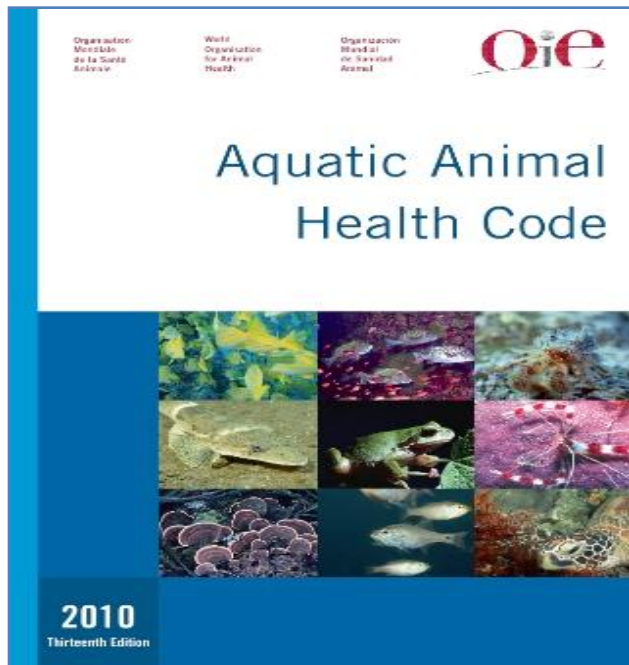
adhar@email.arizona.edu

AQUACULTURE PATHOLOGY LAB

Loc Tran, PhD



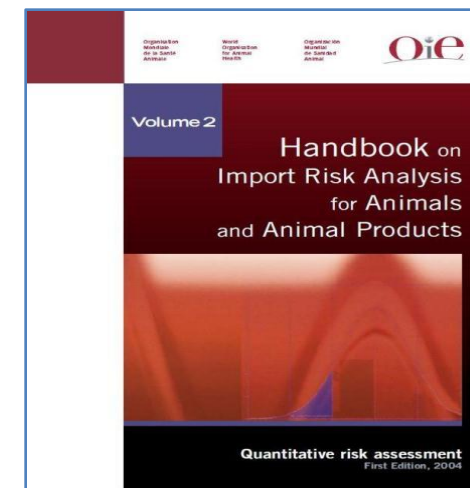
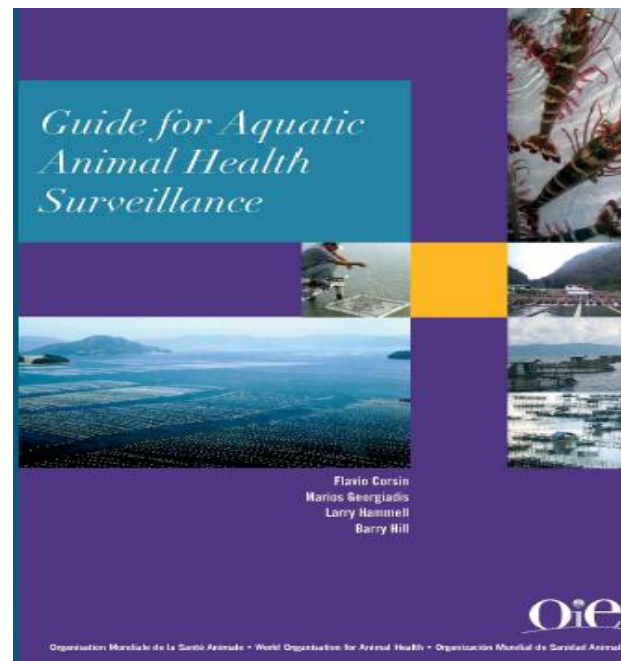
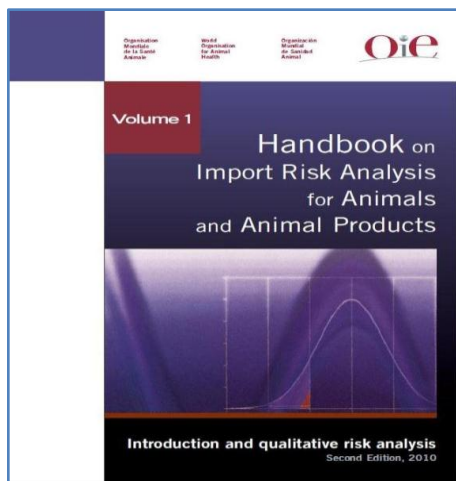
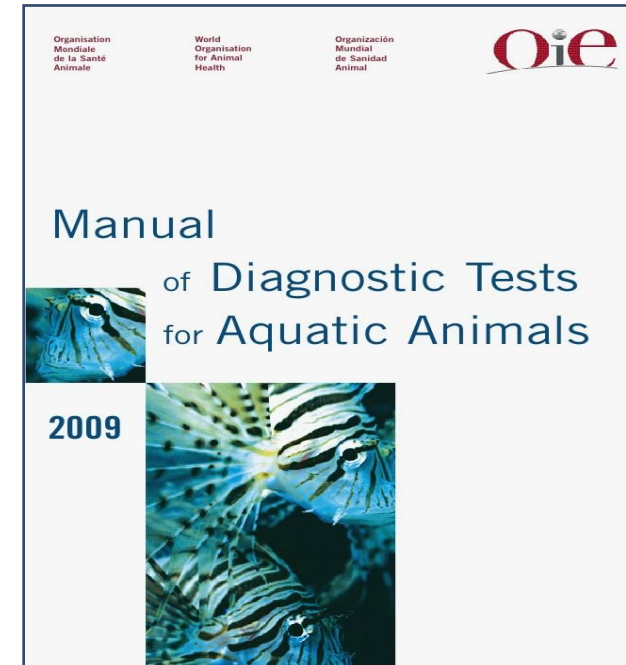
# Código – anual



Versões on line atualizadas (2019)

(<https://www.oie.int>)

# Diagnóstico - 3 Yr.



Thales Passos de Andrade, PhD, 2012

# Doenças de crustáceos listadas pela OIE (maio de 2012)

- **Síndrome de taura – TSV**
- **Doença da mancha branca– WSSV/WSV**
- **Doença da cabeça amarela – YHV/GAV**
- **Infecção hipodermal e necrose hematopoiética - IHHNV**
- **Mionecrose infecciosa – IMNV**
- **Hepatopancreatite necrotizante – NHP-B**
- *Doença da cauda branca no Macrobrachium rosenbergii – MrNV*
- *Peste do lagostin – Aphanomyces astaci*
- **<sup>v</sup>AHPND ( necrose hepatopancreática aguda, *V. parahaemolyticus* [pir A pir B])**
- **EHP (Microsporidiose hepatopancreática , *Enterocytozoon hepatopenaei*)**
- **SHIV**



## Tabela 2 - Principais agentes etiológicos<sup>a,b</sup> (e cepas variantes) do camarão marinho cultivado e aqueles de alto risco de introdução no Brasil em 2012. A situação zoossanitária de zonas aquáticas de produção em 29 países foram observadas.



País de origem	Etiologia/genotipos presentes no país (listada na OIE em 2012)	Etiologias/genotipos presentes no país de origem com potencial para listagem ou re-listagem na OIE	<b>Alto risco de introdução no Brasil</b> pela importação de camarão congelado, pós-larvas e reprodutores
<b>China</b>	YHV/GAV, MrNV, WSSV, TSV-3	HPV, ASDD, LSNV(MSGS), LOVV, EMS	YHV/GAV, MrNV, TSV-3, HPV, ASDD, LSNV(MSGS), WSSV <sup>c</sup> , LOVV, EMS,
<b>Tailândia</b>	YHV/GAV, MrNV, WSSV, TSV-3, IHNNV-1,	HPV, LSNV(MSGS), ASDD, MBV, HPV-2, MoV	YHV/GAV, TSV-3, MrNV, HPV, LSNV(MSGS), ASDD, MBV, WSSV <sup>c</sup> , HPV-2, MoV
<b>Indonésia</b>	WSSV, IMNV, TSV-3	LSNV (MSGS), ASDD, HPV-2	TSV-3, LSNV(MSGS), ASDD, WSSV <sup>c</sup> , HPV-2
<b>Vietnã</b>	YHV/GAV, MrNV, IMNV	LSNV(MSGS), ASDD, SRL-B (MHS), EMS	YHV/GAV, MrNV, LSNV(MSGS), ASDD, SRL-B (MHS), EMS
<b>Equador</b>	WSSV, TSV-1, IHNNV-1, NHP-B	PVNV, IRIDO, REO-III-V, EstS, TBP	PVNV, TSV-1, IRIDO, REO-III-V, WSSV <sup>c</sup> , EstS
<b>México</b>	YHV/GAV, WSSV, IHNNV-1, TSV-2, NHP-B	HRL-B-1, TBP	YHV/GAV, TSV-2, WSSV <sup>c</sup>
<b>Índia</b>	YHV/GAV, MrNV, WSSV	LSNV(MSGS), MBV, IHGS	YHV/GAV, MrNV, LSNV(MSGS), MBV, WSSV <sup>c</sup> , IHGS
<b>Blangadesh</b>	WSSV	LSNV(MSGS)	WSSV <sup>c</sup> , LSNV(MSGS)
<b>Filipinas</b>	YHV/GAV, WSSV, IHNNV-1, HPV	LSNV(MSGS), MBV	YHV/GAV, WSSV <sup>c</sup> , HPV, LSNV(MSGS), MBV
<b>Nicarágua</b>	WSSV, TSV-4, NHP-B	PVNV, HPV-3	PVNV, WSSV <sup>c</sup> , HPV-3, TSV-4
<b>Belize</b>	WSSV, TSV-4, IHNNV-1, NHP-B	PVNV	TSV-4, WSSV <sup>c</sup> , PVNV
<b>Panamá</b>	WSSV, TSV-1	TBP	WSSV <sup>c</sup> , TSV-1
<b>Colômbia</b>	TSV-1, TSV-4, WSSV, NHP-B	EP-B	TSV-1, EP-B, WSSV <sup>c</sup> , TSV-4
<b>Honduras</b>	WSSV, TSV-1, NHP-B	?	WSSV <sup>c</sup> , TSV-1
<b>Venezuela</b>	WSSV, TSV-1, NHP-B	?	WSSV <sup>c</sup> , TSV-1
<b>Sirilanka</b>	YHV/GAV, WSSV	HPV	YHV/GAV, WSSV <sup>c</sup> , HPV
<b>Austrália</b>	YHV/GAV, WSSV, IHNNV-4, MrNV	MoV, HPV-1, LPV, SRL-B (MHS)	YHV/GAV, IHNNV-4, MoV, HPV-1, LPV, WSSV <sup>c</sup> SRL-B (MHS), MrNV
<b>Outros</b>	YHV/GAV, WSSV, TSV-1, TSV-2, TSV-3, TSV-4, IHNNV-4, IHNNV-2, IHNNV-3, NHP-B	MBV, BMN, HPV-1, HPV-3, MoV, SRL-B (MHS), TBP, HRL-B, EstS, EMS	YHV/GAV, WSSV <sup>c</sup> , TSV-1, TSV-2, TSV-3, TSV-4, IHNNV-4, IHNNV-2, IHNNV-3, MBV, BMN, HPV-1, HPV-3, MoV, SRL-B (MHS), HRL-B, EstS, EMS

(Madagascar, Taiwan, Aruba, Peru, Eritrea, Moçambique, El Salvador, Tanzânia, USA, Malasia, Brunei, Iran, Arábia Saudita)

<sup>c</sup>Risco de introdução em Estados/zonas livres do Brasil.

Thales Passos de Andrade, PhD - Fenacam 2012

Patógenos e cepas variantes para análise de trabalho qualitativa e quantitativa sobre o risco de introdução pela importação de camarão congelado, pós-larvas e reprodutores durante o primeiro semestre de 2012, no Brasil. Um total de 26 agentes etiológicos estão listados abaixo.

Thales Passos de Andrade, PhD, 2012

### Patógenos de notificação obrigatória

- WSSV** – *Vírus da mancha branca* (5 genótipos)<sup>c</sup>
- YHV/GAV/LOV** – Complexo viral da cabeça amarela (cepas 1, 2, 3, 4, 5 e 6)
- TSV** – *Vírus da síndrome de taura* (cepas 2, 3, 4, 5)
- NHP** – *Hepatobacterium penaei* (Hepatopancreatite necrotizante)
- IHHNV** – *Vírus da Infecção hipodermal e necrose hematopoietica* (Cepa 2)
- MRNV** – *Macrobrachium rosenbergii* nodovirus

### Outros patógenos de significância

- HPV** – *Pavovirose hepatopancreática* (cepas 2, 3 e 4)
- LSNV(MSGS)** – *Vírus de Laem-Singh* (relacionado a doença do crescimento retardado)
- PVNV** – *Penaeus vanamei* nodovirus
- LPV** – *Vírus linfoidal do tipo parvovirus*
- REO** – *Reoviridae Reolike virus* (4)
- MoV** – *Vírus Mourilyan*
- MBV** – *Baculovírus do Monodom* (3 cepas)
- ASDDV** – *Vírus da deformidade do segmento abdominal*
- SMSV** – *Vírus da síndrome de mortalidade na desova*
- BMNV** – *Vírus da necrose da glândula intestinal do tipo Baculovirus*
- TBP** – *Baculovirus penaei* tetraédrico (4 cepas)
- EMS** – *Síndrome da mortalidade precose*
- IHGS** – *Síndrome da granulomatose hialina infecciosa*
- HRL-B** – *Hepatopancreatite do tipo rickettsia* (bacteria)
- SRL-B (MHS)** – *Bactériose sistêmica do tipo rickettsia* (doença da hemolínfa leitosa)
- EstS** – *Estreptococose sistêmica*
- EP-B** – *Bacteria spiroplasma penaei*
  - Microsporídeos
  - Haplosporídeos
- Hematodinium sp.* (dinoflagelado)<sup>d</sup>

<sup>c</sup>Risco de introdução em Estados/zonas livres do Brasil.

<sup>d</sup>Em estudo.

