Pandemia COVID-19 X Doenças Emergentes na Carcinicultura

Thales Passos de Andrade [1*], Roberto Cruz-Flores [2], Hung N. Mai [3], Arun K. Dhar [3]

[1*] Laboratório de Biopatologia de Organismos Aquáticos – LAQUA, Centro de Ciências Agrárias Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, 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.** https://laqua.uema.br
thalespda@hotmail.com

[2] Centro de Investigação Científica e de Educação Superior de Ensenada, (CICESE), Carretera Ensenada-Tijuana No. 3918, Zona Playitas, 22860 Ensenada, Baja California, México.

[3] 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

"XVII FENACAM '21 – FEIRA NACIONAL DO CAMARÃO', **XVII Simpósio Internacional de Carcinicultura,** 16 a 19 de novembro de 2021, Natal Rio Grande do Norte - **Os Desafios e Oportunidades para a Carcinicultura e Aquicultura Brasileira, no Contexto do Mercado Nacional e Internacional.**

Tópicos a serem abordados:

1. Principais desafios dos países produtores (GOAL, 2019);
2. Esforço na publicação de medidas reguladoras;
3. Sobre a Importância dos profissionais e laboratórios de biopatologia de organismos aquáticos;
4. Esforço na utilização de diagnóstico altamente especializado;
5. Fases da Pandemia COVID 19;
6. Pandemia do COVID-19 X Principais ENTRAVES no diagnostico doenças de Camarões;
7. Fases da Pandemia COVID 19 e os principais surtos de doenças na carcinicultura brasileira;
   - Nova variante de IMNV relacionada as variantes da Indonésia (reintrodução?)
   - *Penaeus vannamei* Calicivirus (PvCV) : (Identificação de novo virus e métodos de diagnósticos)
8. Pandemia do COVID-19 X Principais DESENTRAVES no diagnóstico doenças de camarões;
9. Considerações finais

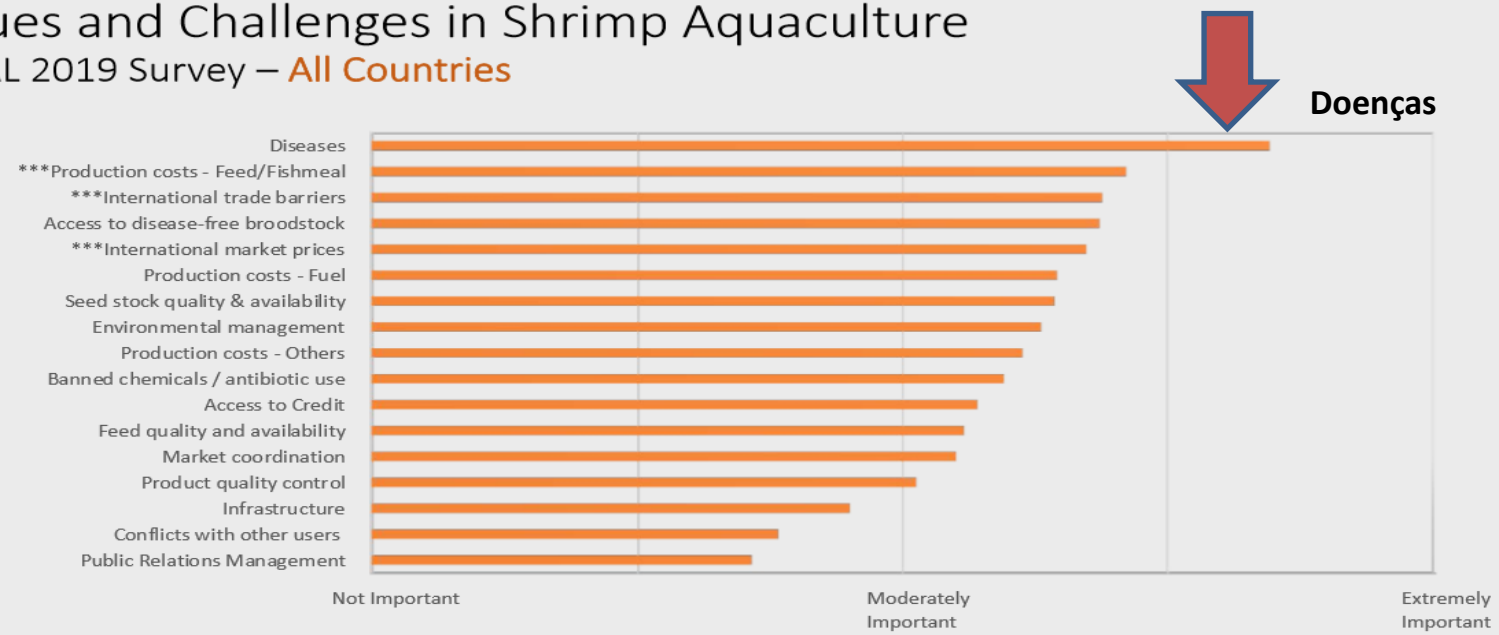
1. Principais desafios para os produtores (GOAL , 2019)

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

GOAL CHENNAI, INDIA OCTOBER 22, 2019 — Global Aquaculture Alliance

Issues and Challenges in Shrimp Aquaculture

GOAL 2019 Survey – All Countries



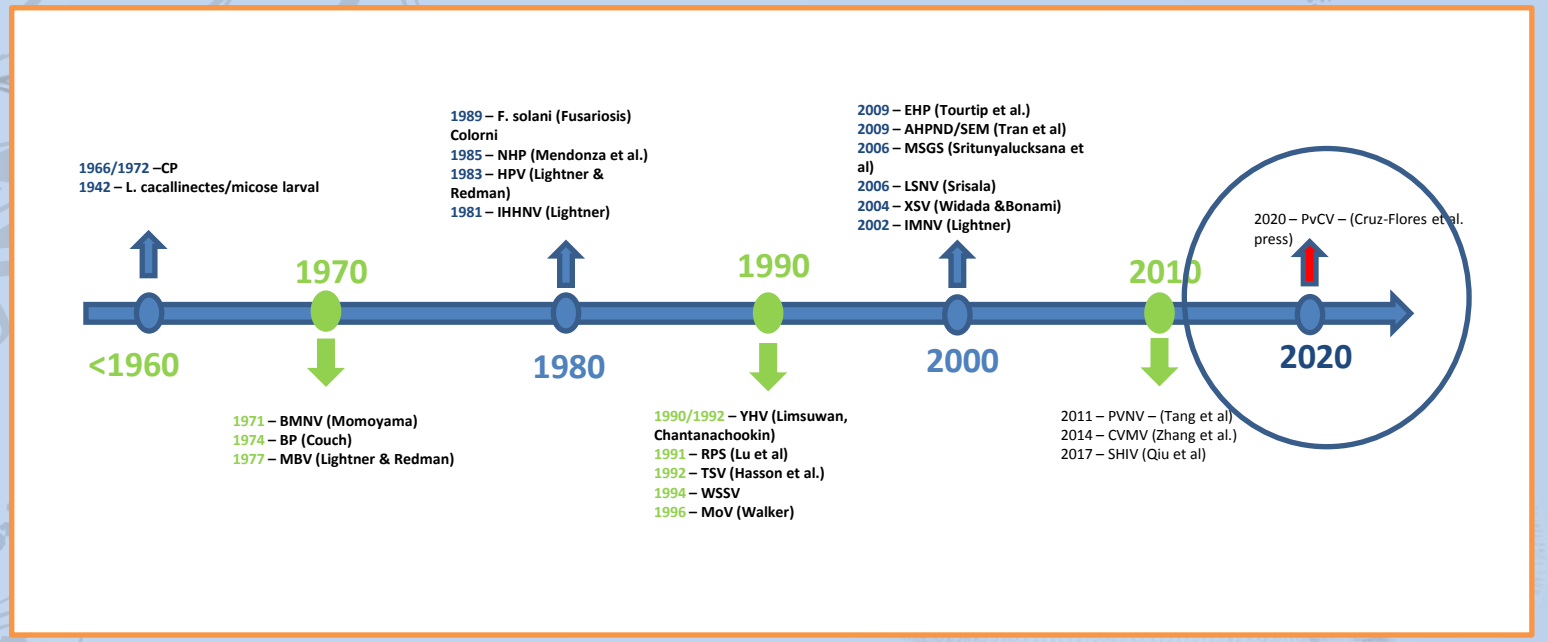
Asterisks indicate a Top 3 issue in GOAL 2007 Survey

Anderson , J. et al 2019

CONNECT. COLLABORATE. COMMIT. #GOALCONF19

Cronologia da descoberta de patógenos na carcinicultura

Novos agentes etiológicos e/ou variantes estão constantemente surgindo: aumento das áreas de produção; manejo integrado; mais profissionais realizando diagnóstico..

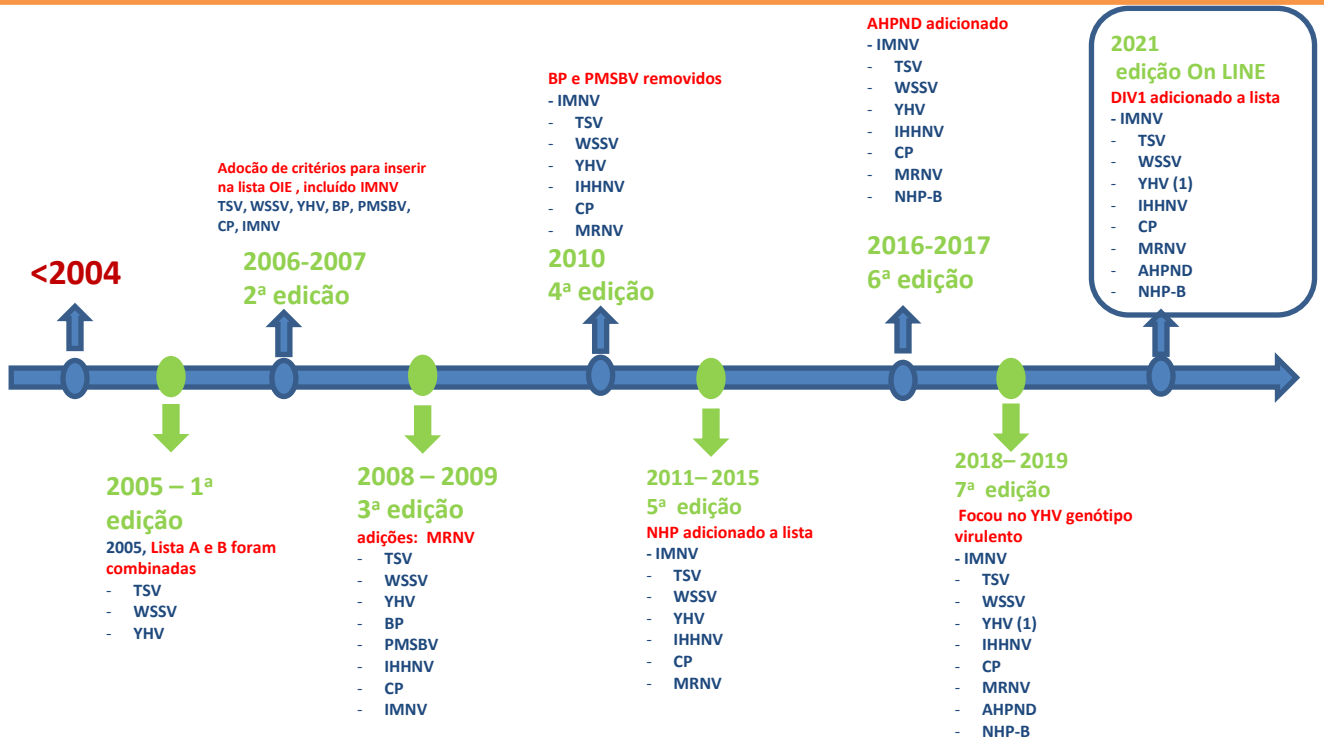


Modificado de Dhar, A.

Cronologia da listagem de patógenos de crustáceos pela OIE

IMNV emergiu 2002; em estudo 2004 e listado em 2006

SHIV/DIV1 2017 em estudo 2019 Listado 2021



Modificado de Dhar, A.

•Infection with decapod iridescent virus 1 (Aquatic Code in 2021)

Doenças de crustáceos listadas pela OIE

- **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*
- **^{vp}AHPND (necrose hepatopancreática aguda, *V. parahaemolyticus* [*pir A pir B*])**
- Decapod iridescent virus 1 (2021, OIE Code)

Pathogen	Genus (genome)	Listed as OIE notifiable, requested by country
*Vp*AHPND (acute hepatopancreatic necrosis disease)-*Vibrio* bacteria	*Vibrio* spp. (ds DNA)	OIE-listed
IHHNV (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus)	Brevidensovirus (ss DNA)	OIE-listed
IMNV (infectious myonecrosis virus)	Totivirus (ds RNA)	OIE-listed
NHP-B (Necrotising hepatopancreatitis bacterium)	Rackettsia-like bacterium (ds DNA)	OIE-listed
TSV (Taura syndrome virus)	Aparavirus (ss RNA)	OIE-listed
WSSV (white spot syndrome virus)	Whispovirus (ds DNA)	OIE-listed
YHV (yellow head virus)	Okavirus (ss RNA)	OIE-listed
BP (*Baculovirus penaei*)	Baculovirus (ds DNA)	Not listed/Hawaii, Japan, the Philippines
MBV (*Penaeus monodon*-type baculovirus)	Baculovirus (ds DNA)	Not listed/Hawaii, the Philippines
CMNV (covert mortality nodavirus)	Nodavirus (ss RNA)	Not listed/Japan
EHP (*Enterocytozoon hepatopenaei*)	Microsporidium (ds DNA)	Not listed/the Philippines
HPV (hepatopancreatic parvovirus)	Parvovirus (ss DNA)	Not listed/the Philippines
LSNV (Laem-Sing virus)	*Leuteovirus* (ss RNA)	Not listed/Indonesia
PvNV (penaeus vannamei nodovirus)	Nodavirus (ss RNA)	Not listed/Mexico
MoV (Mourilyan virus)	Bunyavirus (ss RNA)	Not listed
SHIV (shrimp hemocyte iridescent virus)	Iridovirus (ds DNA)	under consideration for OIE-listing

THE BRAZILIAN LEGISLATION AND THE PRELIMINARY HAZARD IDENTIFICATION OF PATHOGENS THAT CAN PLAUSIBLY BE CARRIED BY IMPORTED FRESH AND FROZEN SHRIMP TO BRAZIL (as in 2010)

Country	OIE listed shrimp diseases	Other significant diseases	Preliminary hazard identification to Brazil
China	YHV/GAV, MrNV, WSSV, TSV-3	HPV, ASDD, LSNV(MSGS), LOVV	YHV/GAV, MrNV, TSV-3, HPV, ASDD, LSNV(MSGS),LOVV
Thailand	YHV/GAV, MrNV, WSSV, TSV-3, IHHNV-1,	HPV, LSNV(MSGS), ASDD, TGAV, MBV, HPV-2, MoV	YHV/GAV, TSV-3, MrNV, HPV, LSNV(MSGS), ASDD, MBV, HPV-2, TGAV, MoV
Indonesia	WSSV, IMNV, TSV-3	LSNV (MSGS), ASDD, HPV-2	TSV-3, LSNV(MSGS), ASDD, HPV-2
Vietnam	YHV/GAV, MrNV, IMNV	LSNV(MSGS), ASDD, SRL-B (MHS)	YHV/GAV, MrNV, LSNV(MSGS), ASDD, SRL-B (MHS)
Ecuador	WSSV, TSV-1,IHHNV-1, NHP-B	PVNV, IRIDO, REO-III-V, EstS, TBP	PVNV, TSV-1, IRIDO, REO-III-V, EstS
Mexico	YHV/GAV, WSSV, IHHNV-1,TSV-2, NHP-B	HRL-B-1, TBP	YHV/GAV, TSV-2
India	IHHNV 1, YHV/GAV, MrNV, WSSV	LSNV(MSGS), MBV, IHGS	YHV/GAV, MrNV, LSNV(MSGS), MBV, IHGS
Bangladesh	WSSV	LSNV(MSGS)	LSNV(MSGS)
Philippines	YHV/GAV, WSSV, IHHNV-1, HPV	LSNV(MSGS), MBV	YHV/GAV, WSSV, HPV, LSNV(MSGS), MBV
Nicaragua	WSSV, TSV-4, NHP-B	PVNV, HPV-3	PVNV, HPV-3, TSV-4
Belize	WSSV, TSV-4, IHHNV-1, NHP-B	PVNV	TSV-4, PVNV
Panama	WSSV,TSV-1	TBP	TSV-1
Colombia	TSV-1, TSV-4, WSSV, NHP-B	EP-B	TSV-1, TSV-4, EP-B
Honduras	WSSV, TSV-1, NHP-B	?	TSV-1
Venezuela	WSSV, TSV-1, NHP-B	?	TSV-1
Sirilanka	YHV/GAV, WSSV	HPV	YHV/GAV, HPV
Australia	YHV/GAV, WSSV, IHHNV-4,	MoV, HPV-1, LPV, SRL-B (MHS)	YHV/GAV, IHHNV-4, MoV, HPV-1, LPV, SRL-B (MHS)
Others*	YHV/GAV, WSSV, TSV-1, TSV-2, TSV-3, TSV-4, IHHNV-4,IHHNV-2, IHHNV-3, NHP-B,	MBV, BMN, HPV-1,HPV-3, MoV, SRL-B (MHS), TBP, HRL-B	YHV/GAV, TSV-1, TSV-2, TSV-3, TSV-4, IHHNV-4,IHHNV-2, IHHNV-3, MBV, BMN, HPV-1,HPV-3, MoV, SRL-B (MHS), HRL-B

*Madagascar, Taiwan, Aruba, Peru, Eritrea, Mozambique, El Salvador, Tanzânia, USA , Malaysia., Saudi Arabia

Thales Passos de Andrade, Ph.D.

DNA Viruses of Penaeid Shrimp

IHHNV 20 nm

HPV 22 nm

RNA Viruses of Penaeid Shrimp

LvNV 28 nm

TSV 30 nm

IMNV 40 nm

Scale Bar divisions are 20 nm

Thales Andrade, PhD & Donald Lightner , PhD , Fenacam 2011

nature

Explore content | About the journal | Publish with us | Subscribe

nature > articles > article

Published: 23 November 2016

Redefining the invertebrate RNA virosphere

Mang Shi, Xian-Dan Lin, Jun-Hua Tian, Liang-Jun Chen, Xiao Chen, Ci-Xiu Li, Xin-Cheng Qin, Jun Li, Jian-Ping Cao, John-Sebastian Eden, Jan Buchmann, Wen Wang, Jianguo Xu, Edward C. Holmes & Yong-Zhen Zhang

Nature **540**, 539–543 (2016) | Cite this article

33k Accesses | **633** Citations | **610** Altmetric | Metrics

Abstract

Current knowledge of RNA virus biodiversity is both biased and fragmentary, reflecting a focus on culturable or disease-causing agents. Here we profile the transcriptomes of over 220 invertebrate species sampled across nine animal phyla and report the discovery of 1,445 RNA viruses, including some that are sufficiently divergent to comprise new families. The identified viruses fill major gaps in the RNA virus phylogeny and reveal an evolutionary history that is characterized by both host switching and co-divergence. The invertebrate

220 espécies
1445 RNA vírus
394 novos vírus de RNA em crustáceos

2. 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 avalição e controle do status sanitário de camarões vivos.

https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/

- Outros exemplos:

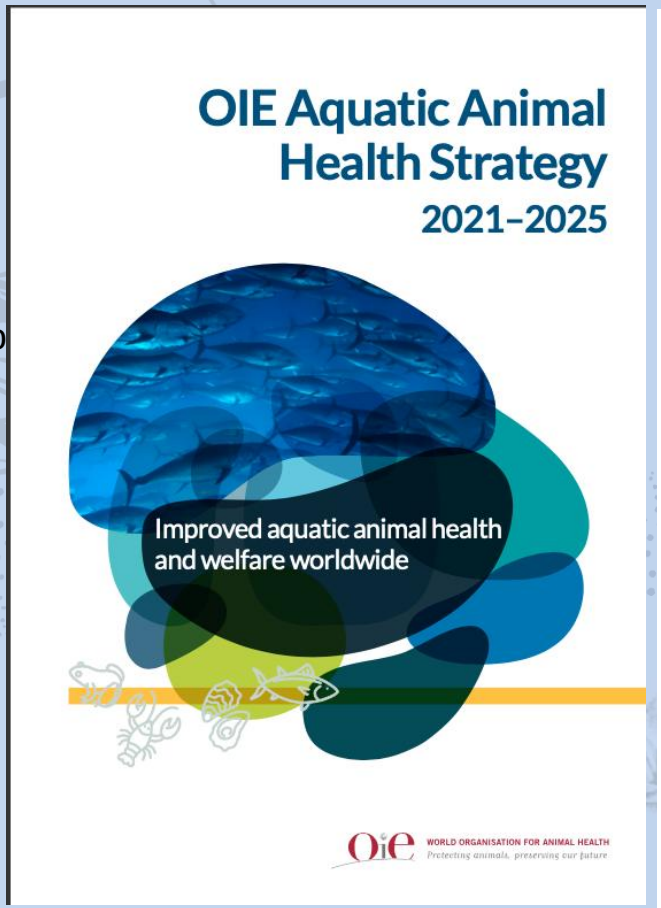
Australian Government Department of Agriculture, 2019; Uncooked prawn consignments - Biosecurity. Acesso 13 de novembro, 2019 em http://www.agriculture.gov.au/import/goods/uncooked-prawns/uncooked-prawn-consignments

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

Saudi Food and Drug Authority, 2019; Import Food Requirements. Acesso 13 de novembro, 2019 emhttps://www.sfda.gov.sa/en/food/about/administration/mangement_food/Pages/Introduction.aspx

Brasil. **Sanidade de Animais Aquáticos**. Normas , Manuais. Material técnico, links e contatos https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/sanidade-dos-animais-aquaticos

Esta estratégia visa potencializar a saúde dos animais aquáticos em todo mundo, contribuindo com o crescimento econômico, lixiviação da pobreza e segurança alimentar, e assim colaborando com o alcance das metas globais de desenvolvimento sustentável (MDS) da Organização das Nações Unidas ONU



How to use this strategy

This Aquatic Strategy is for the **OIE Community** – OIE Members (including both the public and private sectors), OIE Reference Laboratories and Collaborating Centres, international partners and OIE staff.

If you work in any aspect of aquatic animal health or welfare, this Strategy will be relevant to you.

It has been designed to guide strategic improvement of the aquatic animal health system worldwide. Some parts will be more applicable than others, depending on your role. Below, you will find a guide that will direct you to the sections that are most relevant to you, based on your role and responsibilities.

If you are/ If you work in the	You will want to know about...	Activity number
OIE Delegate	... activities that you and your country, as an OIE Member, have responsibility for	2.4
	... activities that can provide support to you	2.6
Competent Authority for aquatic animal health	...activities to improve aquatic animal health and welfare in your country	2.2 2.3 2.8 3.2 3.4
OIE Reference Laboratory, OIE Collaborating Centre or expert	... activities that build the capacity of OIE scientific networks through better utilisation of these important resources	3.2 4.3
Partner organisation of the OIE	... implementation of this Strategy and capacity-building activities	2.4 4.1
Private sector	... activities regarding implementation of OIE standards at the national level	1.1 2.3
Potential investor in capacity-building projects	... activities that require investment	2.5 2.7 3.3 3.4
OIE staff member, either at Headquarters or in Regional Representations	... all of the activities, particularly those that you have responsibility for implementing	All

Plano Estratégico para Saúde dos Animais Aquáticos da OIE 2021-2025 - https://www.oie.int/en/document/oie-aquatic-animal-health-strategy-2021-2025/

3. Sobre a Importância dos profissionais e laboratórios dedicados a biopatologia de animais aquáticos

Não é somente pesquisa e educação!!!

Os laboratórios que são dedicados ao diagnóstico e realizam extensão com o setor produtivo estão diretamente ligados a redução da pobreza; combate a fome; ao desenvolvimento sustentável dos ambientes aquáticos; a qualidade nutricional humana; crescimento econômico e a educação!

Assim como na construção de acoes estratégicas em apoio ao setor publico e privado, dentre outras.

Portanto são essenciais!

Plano Estratégico para Saúde dos Animais Aquáticos da OIE 2021-2025 - https://www.oie.int/en/document/oie-aquatic-animal-health-strategy-2021-2025

"XVII FENACAM '21 – FEIRA NACIONAL DO CAMARÃO', **XVII Simpósio Internacional de Carcinicultura,** 16 a 19 de novembro de 2021, Natal Rio Grande do Norte - **Os Desafios e Oportunidades para a Carcinicultura e Aquicultura Brasileira, no Contexto do Mercado Nacional e Internacional.**

“3. Sobre a Importância dos profissionais e laboratórios dedicados a biopatologia de animais aquáticos”

“Detentores de habilidades essenciais e holística”

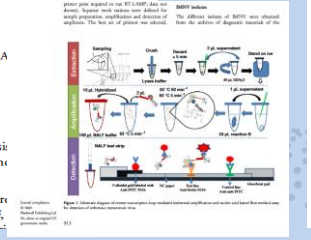
2009
IMNV

Journal of Fish Diseases 2009, 32, 911–924 doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01072.x

Development of a method for the detection of infectious myonecrosis virus by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification and nucleic acid lateral flow hybrid assay

T P D Andrade and D V Lightner

Department of Veterinary Science and Microbiology, University of Arizona, Tucson, AZ, USA



We report the development of a reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification and nucleic acid lateral flow method (RT-LAMP-NALF) for detection of infectious myonecrosis virus (IMNV). The RT-LAMP-NALF method combines simplified nucleic acid extraction, a reverse-

shorten the time for analysis application for IMNV diagnostic settings.

Keywords: infectious myonecrosis assay, *Litopenaeus vannamei*,

2019
WSSV

SCIENTIFIC REPORTS
nature research

OPEN

Rapid, CRISPR-Based, Field-Deployable Detection Of White Spot Syndrome Virus In Shrimp

Timothy J. Sullivan[1*], Arun K. Dhar[2], Roberto Cruz-Flores[2] & Andrea G. Bodnar[1]

Rapid, sensitive, point-of-care diagnostics are critical for managing infectious diseases. Here we adapt the CRISPR-based SHERLOCK method to develop a rapid, accurate, single copy detection assay for White Spot Syndrome Virus, the most devastating virus impacting global shrimp aquaculture. Further, we combine paper matrix nucleic acid extraction and lateral flow colorimetric reporting to create a fully field-deployable, next-generation diagnostic with potential to transform veterinary pathology, disease ecology, and animal production.

Mitigating the spread of infectious diseases in agriculture, livestock production, and aquaculture is of paramount importance for global food security. Aquaculture has grown at an incredible pace over the past 50 years[1,2] and

2020
COVID

JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY

RESEARCH ARTICLE

Lee et al., *Journal of Medical Microbiology* 2020;69:1169–1178
DOI 10.1099/jmm.0.001238

MICROBIOLOGY SOCIETY

MICROBIOLOGY

EDITOR'S CHOICE

Validation of a single-step, single-tube reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of SARS-CoV-2 RNA

Jean Y. H. Lee[1,2], Nickala Best[3], Julie McAuley[1], Jessica L. Porter[1], Torsten Seemann[1,4], Mark B. Schultz[4], Michelle Sait[4], Nicole Orlando[4], Karolina Mercoulia[4], Susan A. Ballard[4], Julian Druce[5], Thomas Tran[5], Mike G. Catton[5], Melinda J. Pryor[6], Huanhuan L. Cui[6], Angela Luttick[6], Sean McDonald[3], Arran Greenhalgh[3], Jason C. Kwong[1,7], Norelle L. Sherry[4,7], Maryza Graham[8], Tuyet Hoang[1,4], Marion Herisse[1], Sacha J. Pidot[1], Deborah A. Williamson[1,4,9], Benjamin P. Howden[1,4,7], Ian R. Monk[1†] and Timothy P. Stinear[1,*,†]

Abstract

Introduction. The SARS-CoV-2 pandemic of 2020 has resulted in unparalleled requirements for RNA extraction kits and enzymes required for virus detection, leading to global shortages. This has necessitated the exploration of alternative diagnostic options to alleviate supply chain issues.

Aim. To establish and validate a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT- LAMP) assay for the detection of SARS-CoV-2 from nasopharyngeal swabs.

Methodology. We used a commercial RT-LAMP mastermix from OptiGene in combination with a primer set designed to detect the CDC N1 region of the SARS-CoV-2 nucleocapsid (N) gene. A single-tube, single-step fluorescence assay was implemented

2021
COVID

nature biotechnology

Explore content ⌄ About the journal ⌄ Publish with us ⌄

nature › nature biotechnology › news in brief › article

News in Brief | Published: 09 September 2021

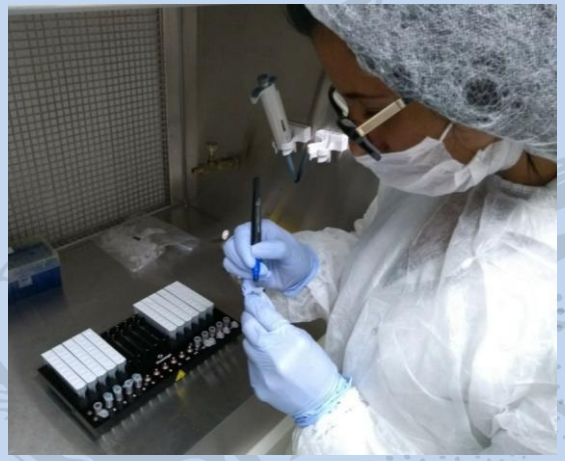
CRISPR-based portable COVID tests

Nature Biotechnology **39**, 1031 (2021) | Cite this article

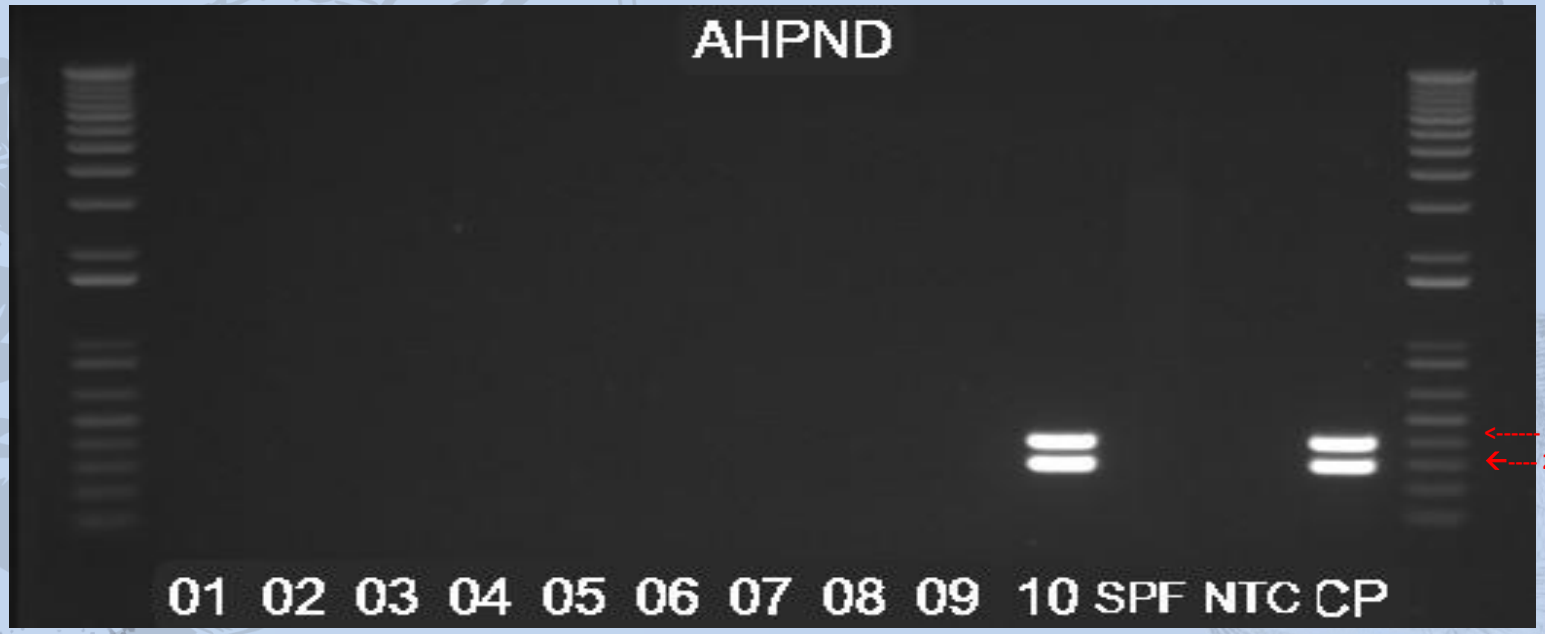
3444 Accesses | **7** Altmetric | Metrics

Two new CRISPR-based tests developed by academic groups have each taken a step toward providing portable, low-cost, sensitive SARS-CoV-2 diagnostics. A team at MIT and the Wyss Institute led by James J. Collins, publishing in *Science Advances*, describes an at-home saliva test that detects and reports the presence of different viral variants within an hour. The other COVID-19 diagnostic published in *Nature Chemical Biology* by Jennifer Doudna's

4. Utilização de diagnóstico altamente especializado



One-step PCR detection of PirA/PirB toxin genes



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

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

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

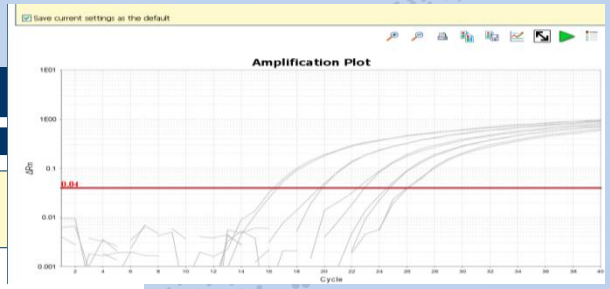
Experiment: AHPND Type: Standard Curve

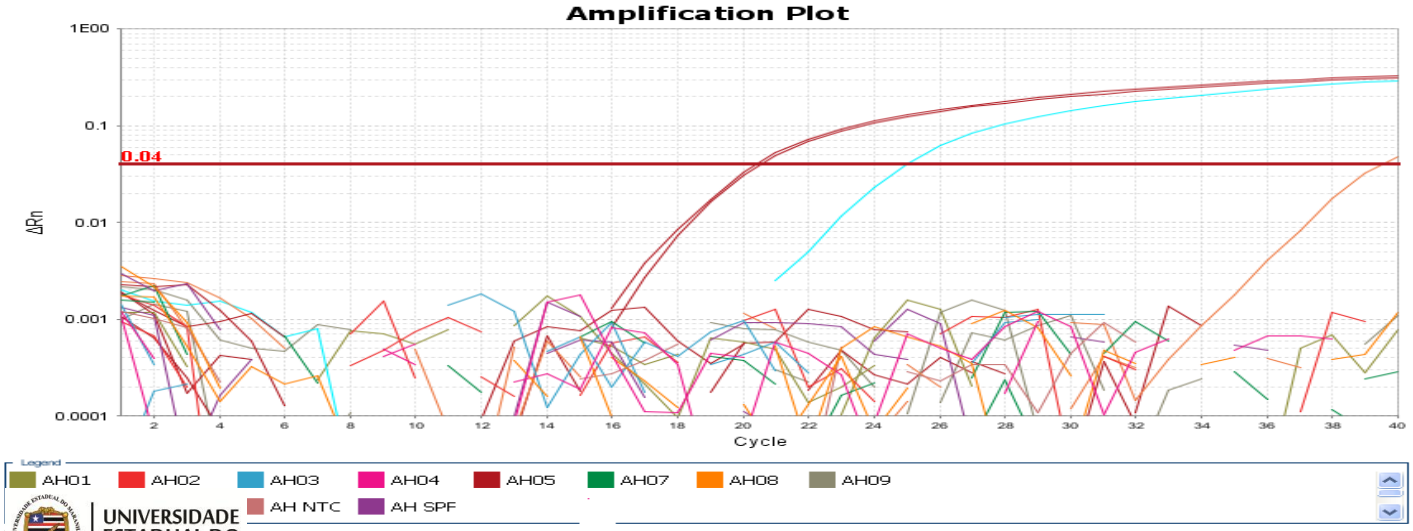
Amplification Plot

Plot Settings

Plot Type: ΔRn vs Cycle Graph Type: Log Plot Color: Sample

Save current settings as the default





UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

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

XVII FENACAM'21

Treinamento para 2022:

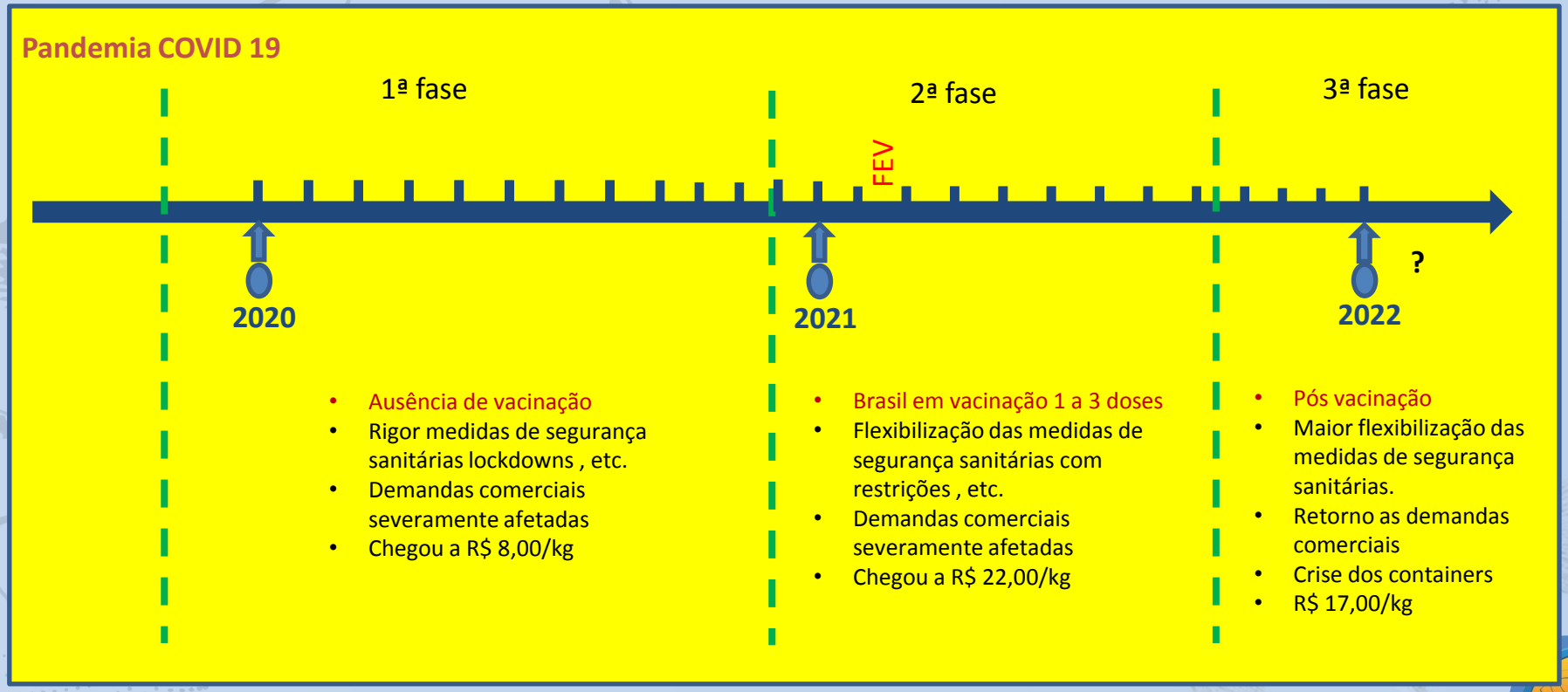
Diagnóstico Aplicado ao Monitoramento de Doenças e a Validação de Biossegurança para produção de pós-larvas, juvenis e reprodutores

Thales Passos de Andrade, Ph.D. & Arun Dhar, Ph.D

[1*] Laboratório de Biopatologia de Organismos Aquáticos – LAQUA, Centro de Ciências Agrárias Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, 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.** https://laqua.uema.br/
thalespda@hotmail.com

[2] 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

5. Fases da Pandemia COVID 19 e principais surtos de doenças na carcinicultura brasileira - janeiro de 2020 a outubro de 2021 - 3 fases. Esta apresentação será focada nas duas primeiras fases.



6. Pandemia do COVID-19 X Principais ENTRAVES no Diagnostico Doenças de Camarões (jan 2020 a out 2021) – 1ª e 2ª fases

1. Fechamento de laboratórios especializados. Empréstimo de equipamentos ao governo. Transferência e/ou Redução do número de técnicos, técnicos doentes/grupo de risco. Dificuldade em contratação de pessoal especializado. Lockdowns, restrições de acesso e contato com fornecedores. Ocorrência de surtos de COVID-19 com cronologias diferentes nos estados.

2. Altíssima competição laboratorial por equipamentos, reagentes, insumos (escassez e elevação exacerbada de preços). Extrema demora no envio/entrega de reagentes, insumos e equipamentos.

3. Restrições no transporte de amostras para envio/recebimento de amostras e atrasos/cancelamento de vôos e envios pelo correio (SEDEX) e ou via terrestre.

4. Brusca restrições orçamentárias à educação e setor privado .

5. Tomadas de decisões no cultivo mais difíceis por ausência ou falta de informação dos procedimentos de coleta e envio de amostras. Erros na coleta ou preservação de amostras!

6. Crise na produção. Setor produtivo (limitação a produção intensiva e aumentos dos custos com racão, ...)

Outros exemplos de impacto negativo no fornecimento de serviços de diagnósticos devido a pandemia

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

LOGIN

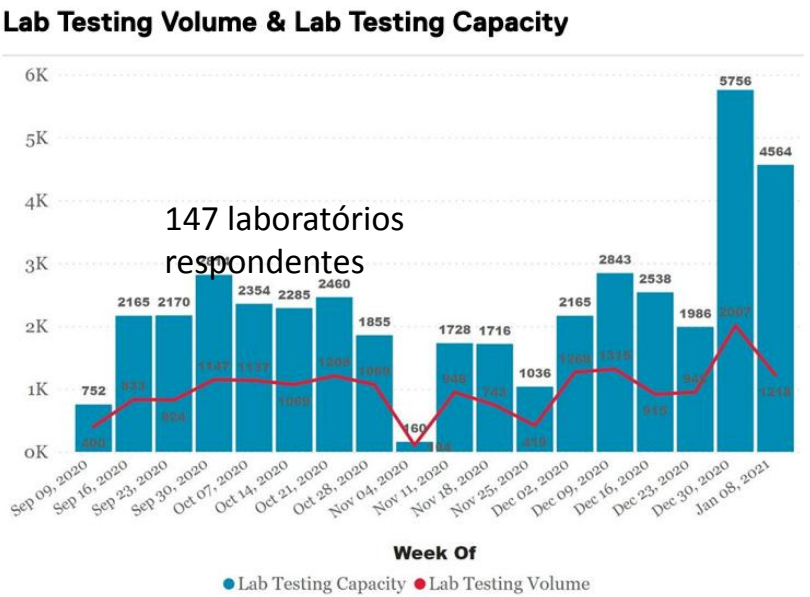
rticles / Supply Shortages Impacting COVID-19 and Non-COVID Testing

Supply Shortages Impacting COVID-19 and Non-COVID Testing

Jan. 19, 2021 SHARE THIS

COVID-19 brought unprecedented challenges to clinical laboratories. While U.S. labs strove to provide quality and accurate test results in the face of 2020's adversity, the uncertainty and lack of supplies were a significant hurdle, hindering day-to-day laboratory operations and the ability to increase testing capacity.

In 2020, ASM partnered with the Association of Supply Chain Management to collect testing supply status for both COVID-19 tests, as well as other microbiological tests to highlight, and ultimately alleviate, these debilitating supply chain issues. Starting Sept. 11, 2020, ASM began independently collecting shortage data directly from clinical labs using the Clinical Microbiology Supply Shortage Collection (CMSSC) tool, drawing attention to the data



147 laboratórios respondentes

In 2020, ASM partnered with the Association of Supply Chain Management to collect testing supply status for both COVID-19 tests, as well as other microbiological tests to highlight, and ultimately alleviate, these debilitating supply chain issues. Starting Sept. 11, 2020, ASM began independently collecting shortage data directly from clinical labs using the Clinical Microbiology Supply Shortage Collection (CMSSC) tool, drawing attention to the data provided by laboratory directors and practicing clinical microbiologists without external influence. This data reflects shortages of medium, reagents, collection devices and consumables that significantly impacted day-to-day testing for both COVID-19 and other infectious diseases during the time period of Sept. 11, 2020 to Jan. 15, 2021.

7. Principais enfermidades emergentes

- Apesar de um significativo avanço tecnológico disponível ao setor produtivo, **a 1ª e 2ª fase da pandemia de COVID19** CONTRIBUIU para que enfermidades infecciosas, emergentes, se tornem, endêmicas, em países ou regiões livres.

- **Maiores desafios:**

- ^{vp}AHPND (necrose hepatopancreática agúda, *V. parahaemolyticus* [*pir A pir B]*)
- EHP (Microsporidiose hepatopancreática , *Enterocytozoon hepatopenaei*)
- WSD (Mancha branca, WSSV)
- IMND (Mionecrose infecciosa, IMNV)*
- PvCV?
- Outros ainda não concluídos diagnóstico definitivo?

Exemplos de doenças no Brasil durante a pandemia (alguns sem diagnóstico definitivo)

^{vp}AHPND (Necrose hepatopancreática agúda, *V. parahaemolyticus* [*pir A pir B]*)

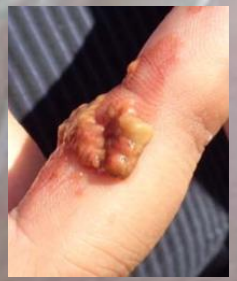
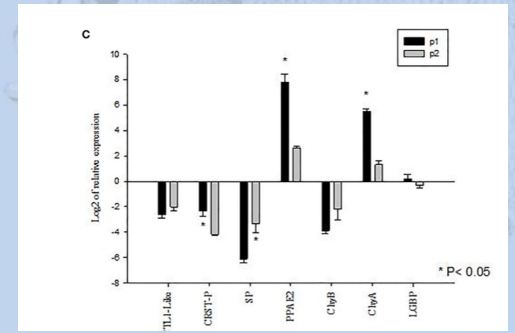


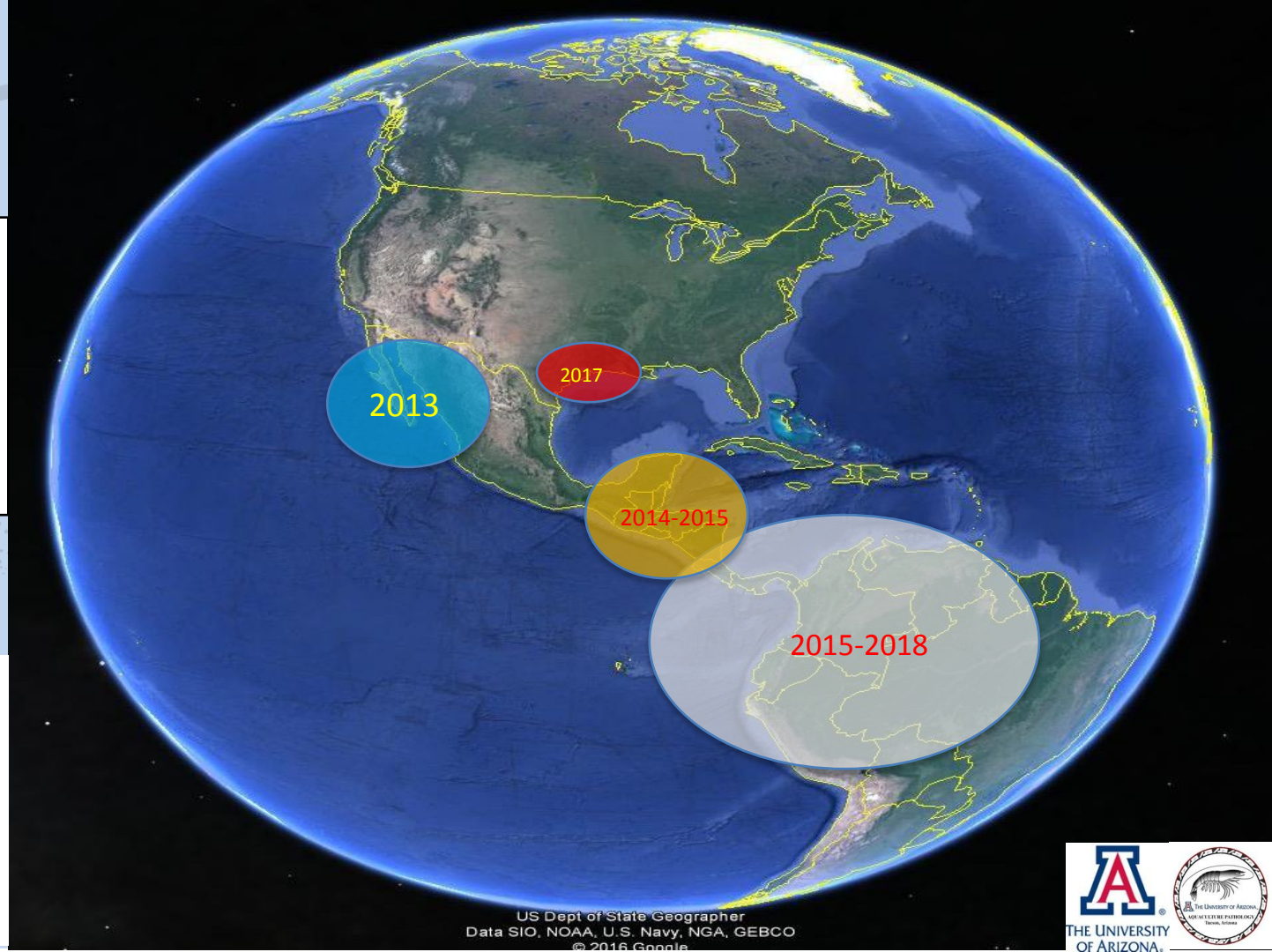
Foto: SPSC ,2018

Susceptible line: CTL1-like, CRSTP, SP and ChyBtiveram níveis de expressão significamente reduzidos. **Tolerant line:** níveis de expressão **PPAE2** e **ChyA** aumentado (P<0.05). **LGBP** expression level was not significant during the experiment (P>0.05)



Mai, N.H., et al 2021

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

THE UNIVERSITY OF ARIZONA

Corrente status de AHPND na América Latina

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

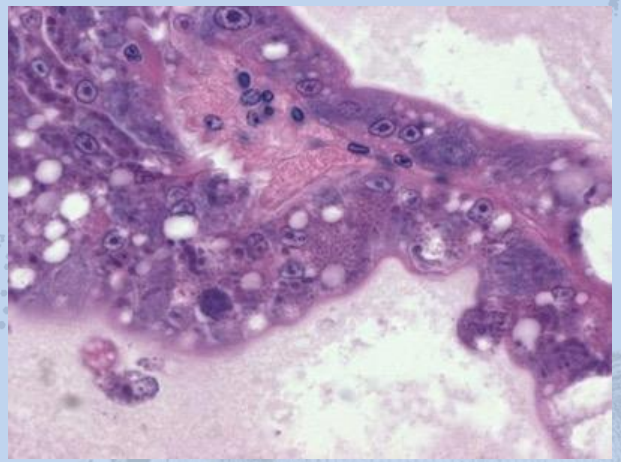
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

THE UNIVERSITY OF ARIZONA

XVII FENACAM'21

Enterocytozoon hepatopenaei (EHP)

- Descrito em *Penaeus monodon* Tailândia. (2003-2004)
- *Penaeus monodon* & *Penaeus vannamei* na Asia, Madagascar e Latin America
- 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.



Microsporidiose hepatopancreática

Salinidade: 2 (- severo)
30 (+ severo)
Aranguren, L. F., et al 2021

THE UNIVERSITY OF ARIZONA

XVII FENACAM'21

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

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

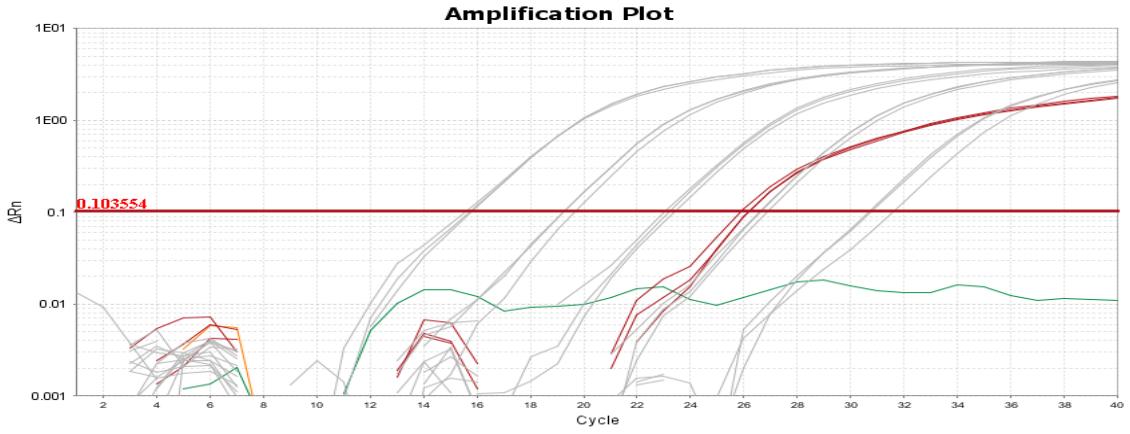
Experiment: CASO 16 e 19-2019 WSSV Type: Relative Standard Curve

Amplification Plot

Plot Settings

Plot Type: ΔRn vs Cycle Graph Type: Log Plot Color: Sample

Save current settings as the default



16 e 19-2019 WSSV Type: Relative Standard Curve Reagents

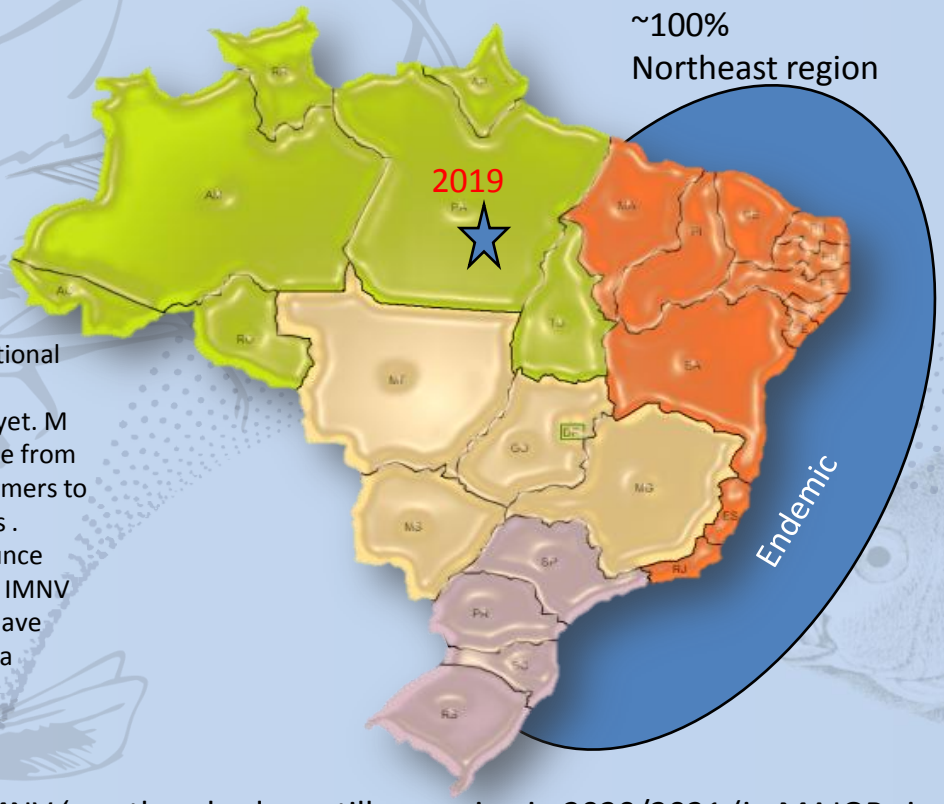
Group by

Flag	Sample ...	Target ...	Task	Dyes	Cт	Cт Mean	Cт SD	Quantity	Tm1	Efficiency	Slope
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	16.990	17.043	0.046	3,670,000....	80.218	98.201	-3.366
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	17.074	17.043	0.046	3,670,000....	80.414	98.201	-3.366
		WSSV	STANDARD	SYBR-None	17.064	17.043	0.046	3,670,000....	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
	SHRIMP	WSSV	UNKNOWN	SYBR-None	27.634	27.530	0.133	28,368.203	79.827	98.201	-3.366
	SHRIMP	WSSV	UNKNOWN	SYBR-None	27.575	27.530	0.133	29,531.516	79.827	98.201	-3.366
	SHRIMP	WSSV	UNKNOWN	SYBR-None	27.381	27.530	0.133	33,732.543	79.827	98.201	-3.366
⚠	NTC	WSSV	NTC	SYBR-None	Undetermi...				79.240	98.201	-3.366
⚠	NTC	WSSV	NTC	SYBR-None	34.755				80.414	98.201	-3.366
	SPF	WSSV	NTC	SYBR-None	38.151				80.414	98.201	-3.366
⚠	SPF	WSSV	NTC	SYBR-None	Undetermi...				61.623	98.201	-3.366

19	B7		
37	D1		SHRIMP
38	D2		SHRIMP
39	D3		SHRIMP
43	D7	⚠	NTC
44	D8	⚠	NTC
49	E1		SPF
50	E2	⚠	SPF

Brazil: General status of IMNV

Widespread
2002-2021
~100%
Northeast region



There is no official national active surveillance in Hatcheries and farms yet. M most of the dates came from diagnostics sent by farmers to diagnostic laboratories .
Two companies announce they produce SPR/SPT IMNV post larvae ,but they have never passed thought a reference diagnostic laboratory for testing.

+ OIE RT-qPCR detecta as novas variantes encontradas no Brasil e Indonesia

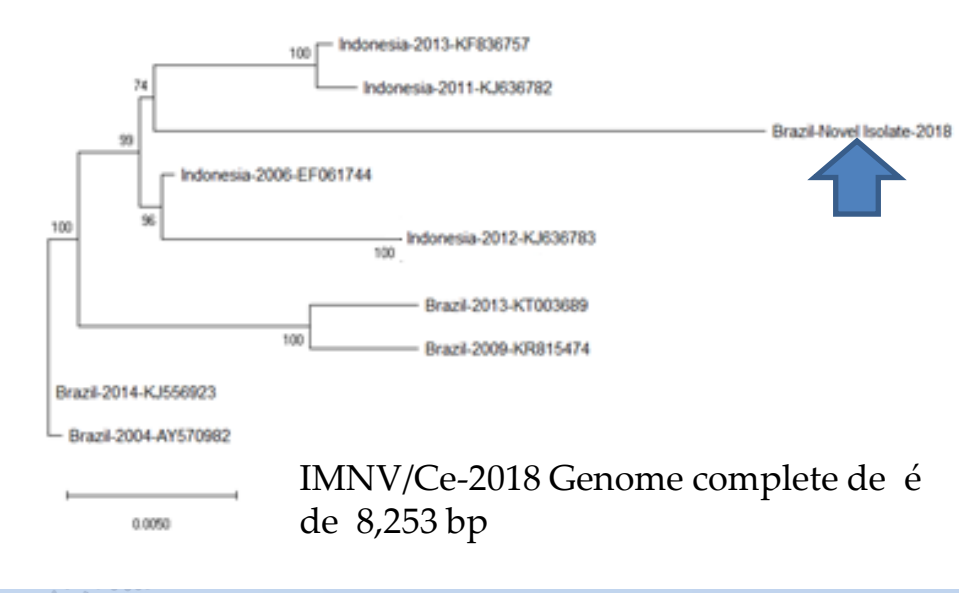
** O principal problema no diagnóstico esta na manipulação e preparo das amostras no PCR*

IMNV ‘s outbreaks does still occurring in 2020/2021 (in MAJOR significance)
WSSV, IHNNV, vibriosis…

Novel Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) variant are associated with recent disease outbreaks in *Penaeus vannamei* shrimp in Brazil

Thales P.D. Andrade[1], Roberto Cruz Flores[2,3], Hung N. Mai[2]; Arun K. Dhar[2*], in press

"Este estudo apresenta o 1a WGS de IMNV desde 2014 e mostra evolução continua de IMNV através dos anos. Os resultados sugerem possível reintrodução de variante Indonésia-adptada da IMNV no Brazil."



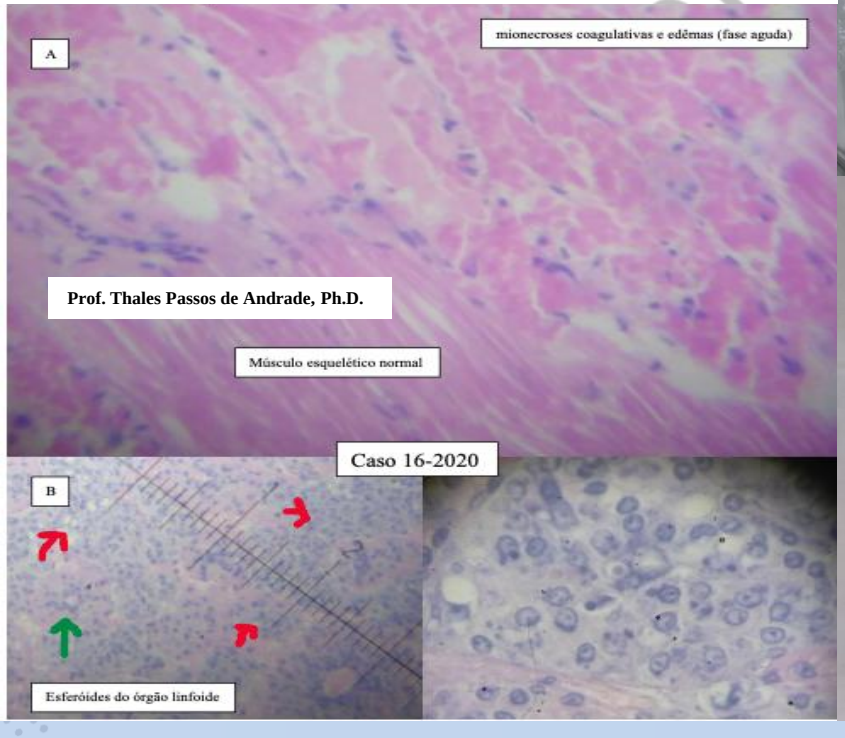
IMNV/Ce-2018 Genome complete de é de 8,253 bp

História evolucionária de nova variante de IMNV usando método Neighbor-Joining.

Análises de RT-PCR em tempo real para IMNV mostrou que este patógeno esta presente em relativamente em altas em estados brasileiros. O WGS de IMNV do Ceara mostrou que esta nova variante de IMNV emergiu em torno de 2018 esta causando doença e mortalidade no Brasil. Análise filogenética usando a sequência do genoma completo do nova variante de IMNV mostrou que este é altamente divergente, unico, e esta no proximo das variantes de IMNV reportadas na Indonesia .

Trabalho em equipe “Produtor X Laboratório de diagnóstico” : caso concluído 2020 IMNV + depois PvCV também confirmado em FEV 2021 (RT-qPCR com sonda Taqman).

ID#(I) de amostras		PCR em Tempo Real (*q*PCR) com® *TaqMan*	
		Nº de cópias NHP-B(II))/µl de DNA* Hepatopâncreas	Nº de cópias IMNV(III)/µl de cDNA* periópodos
19-2020	“1”	ND	1,6 x 10^7
	“2”	ND	1,7 x 10^6



IMNV +
PvCV + (lower)

Julho 6 de 2021

Penaeus vannamei Calicivirus (PvCV) - Emergente no Brasil.

Roberto Cruz-Flores, Arun K. Dhar, Thales P.D. Andrade, Hung N. Mai, Russel Alenton, no prelo

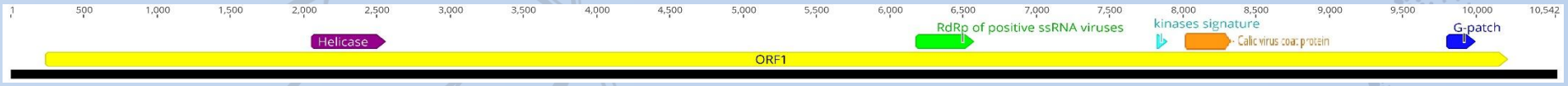
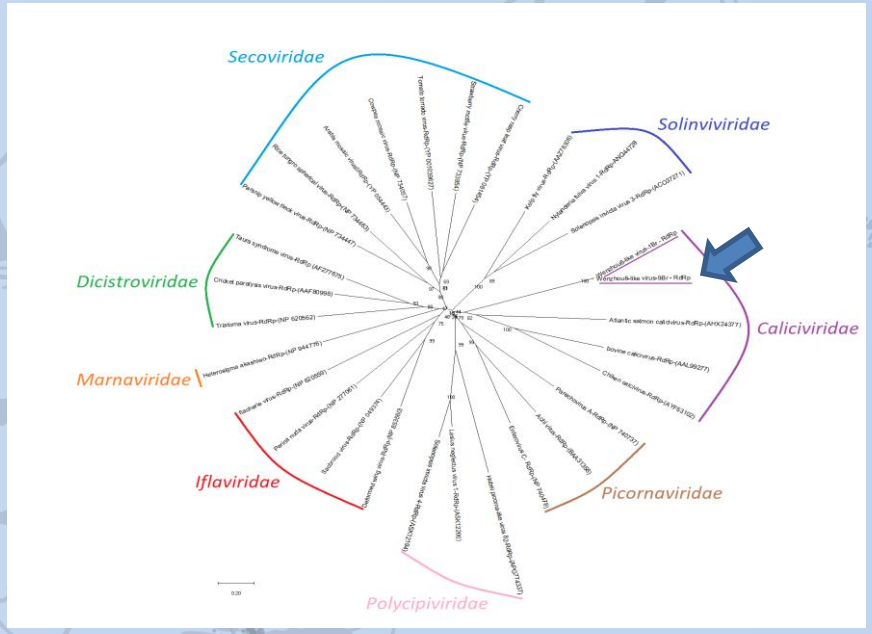


Figura 1. Organização do Genoma de Penaeus vannamei Calicivirus - PvCV, de ~10.4 kb (+ssRNA), apresentando domínios de genes para helicase (violeta), RdRp (verde), Proteina do capsídeo (laranja), G-patch (azul) e Kinase (azul claro).



Evolução histórica do *Caliciviridae* do Brazil foi inferida usando o método Neighbor-Joining.

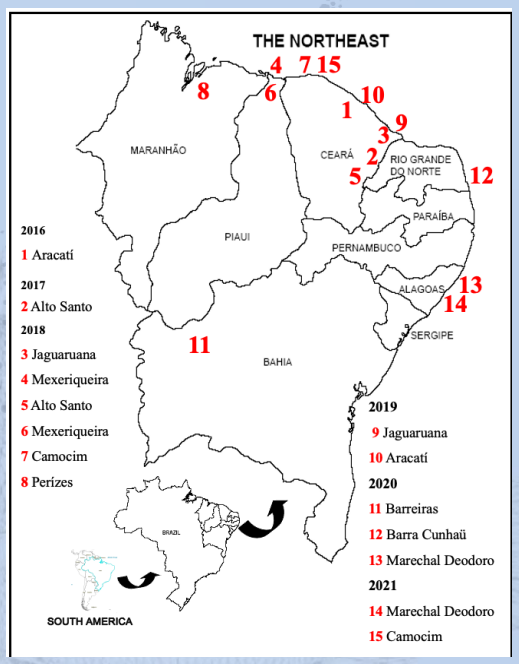
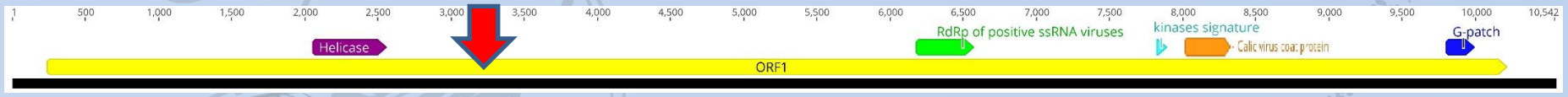
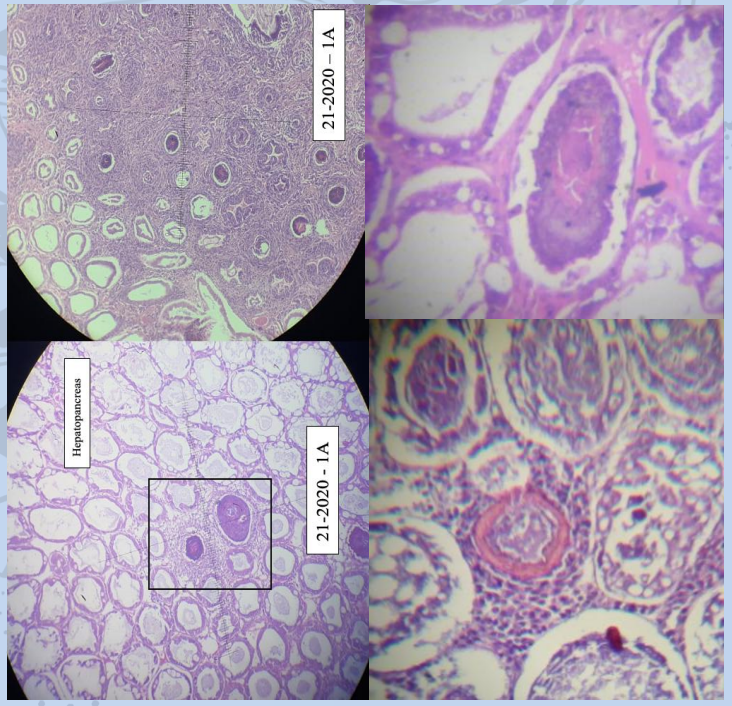


Figura 3 . PvCV detectado RT-qPCR com sonda TaqMan desenvolvido neste estudo . Exemplos de casos positivos entre 2016 a 2021.

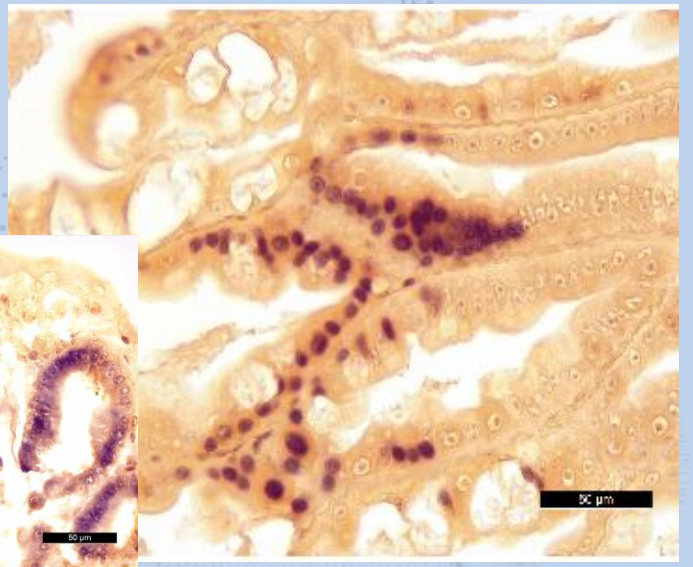
Histologia e Hibridização in situ *Penaeus vannamei* Calicivirus (PvCV)

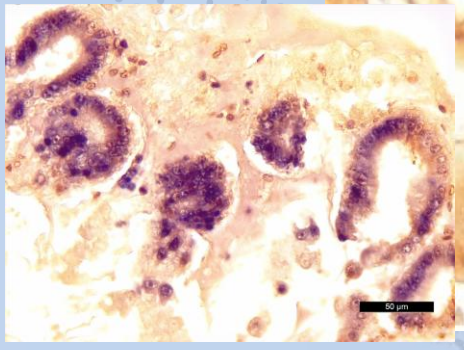
Roberto Cruz-Flores, Arun K. Dhar, Thales P.D. Andrade, Hung N. Mai, Russel Alenton, no prelo





By HP histopathology from shrimp outbreaks were always associated with SHPN lesions .Hard to confirm only PvCV, but sugestive.

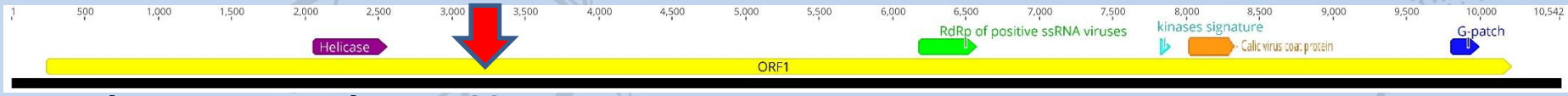




Primers (3,136 F and 3,268 R) para RT- qPCR e a sonda (Probe 3,159) foram marcadas no 3'-end com digoxigenin-11-dUTP (Sigma-Aldrich™).

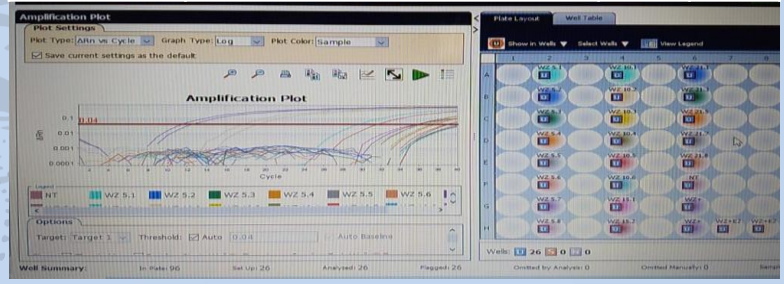
Design Real time RT-qPCR Penaeus vannamei Calicivirus (PvCV)

Roberto Cruz-Flores, Arun K. Dhar, Thales P.D. Andrade, Hung N. Mai, Russel Alenton, no prelo



- Usando os genomas gerados por NGS.
- Primers e sondas foram defenidos usando Geneious Prime e testados por especificidade usando PrimerBast. As sondas TaqMan foram sintetizadas e marcadas com 6-car- boxyfluorescein (FAM) on the 5′ end and N, N, N′,N′-Tetramethyl-6-carboxyrhodamine TAMARA em 3′-end.
- Validação usando plasmídeo vetorial e amostras de regioes com surtos.

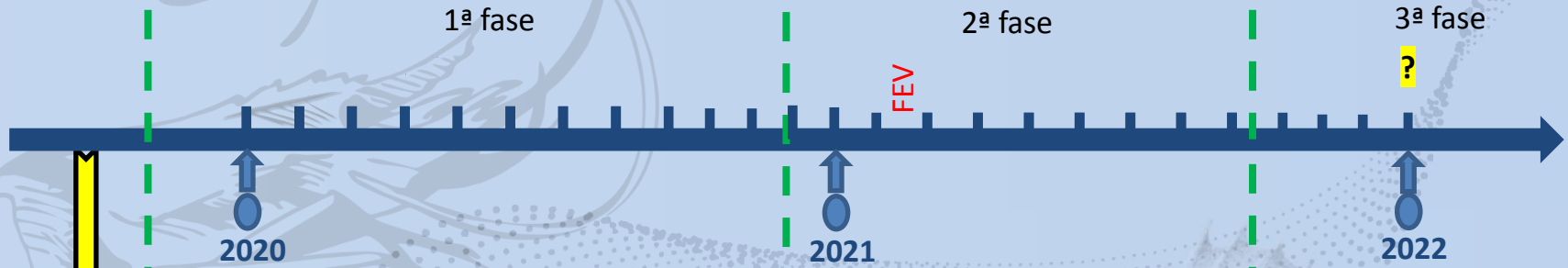
Virus	Primer/Probe name	Product size (nt)	Target gene
PVCV 1Br	3,136 F (Set 1)	133	ORF1
	3,268 R (Set 1)		
	Probe 3,159 (Set 1)		
PvCV 9Br	3,694 F (Set 2)	110	CP
	3,803 R (Set 2)		
	Probe 3,745 (Set 2)		



Exemplos de Casos + 2016 - 2021

Year	Date	State	Case n.	IMNV RT-qPCR	PvCV RT-qPCR
2016	07/07/2016	Ceará	2016.1	29.27	35.77
2017	03/10/17	Ceará	2017.5	32.89	20.37
2018	03/28/18	Piaui	2018.04	24.97	37.9
	04/24/18	Ceará	2018.06	15.9	undeter
	05/15/2018	Piaui	2018.07	27.61	37.32
	07/23/18	Ceará	2018.21	29.79	38.89
	07/23/18	Ceará	2018.21	18.41	28.34
	10/10/2018	Maranhão	2018.42	10.63	36.83
2019	03/13/19	Ceará	2019.14	31.77	27.9
	05/23/19	Ceará	2019.42	32.21	24.71
2020	09/21/20	Bahia	2020.05	12.59	39.07
				24.5	37.61
				26.81	35.89
				25.52	34.2
	10/22/20	Rio G Norte	2020.10	28.84	29.66
				30	36.5
				21.73	37.25
				11.94	36.08
				28.06	31.68
	11/09/20	Alagoas	2020.16	16.82	35.73
				17.46	36.95
	12/02/2020	Rio G Norte	2020.21	21.5	38.78
				21.7	37.26
2021	06/30/21	Ceara	2021.16	25	34.4
	08/14/21	Ceara	2021.18	18	37.36
	08/24/21	Bahia	2021.20	20.3	35.

Fases da Pandemia COVID 19 e principais surtos de doenças na carcinicultura brasileira - janeiro de 2020 a outubro de 2021.



Line X generations; tolerance to WSSV

- Ausência de vacinação
- Rigor medidas de segurança sanitárias, “lockdowns” , etc.
- Demandas comerciais severamente afetadas
- ~R$ 8,00/kg

- AL e Brasil em vacinação 1 a 3 doses
- Flexibilização das medidas de segurança sanitárias mas ainda com restrições , etc.
- Demandas comerciais severamente afetadas
- R$ 22,00/kg

- Pós vacinação
- Maior flexibilização das medidas de segurança sanitárias.
- Retorno as demandas comerciais
- Crise dos containers
- R$ 17,00/kg

principais surtos de doenças*

(Andrade et al, in press)

IMNV new var

PvCV new

(Cruz-flores et al, in press)

Casos confirmados por NGS, RT-qPCR, HIS, histopatologia

* outros: IHHNV; WSSV; vibrioses

Considerações sobre os surtos de IMNV com PvCV:

É evidente que mais investigações precisam ser realizadas, uma vez que a indústria é grande e complexa.

a) A indústria brasileira tem usado linhagens mais “tolerantes” a WSSV, porém são essas linhagens genéticas mais susceptíveis a IMNV?
b) É possível que a nova variante de IMNV (Indonésia) encontrada em nossos trabalhos seja mais severa nas linhagens genéticas brasileiras?
c) Nota-se que quando PvCV esta associado a IMNV, aumenta a severidade de doenças nos camarões afetados.
d) PvCV é um vírus que infecta principalmente o hepatopâncreas e células epiteliais do intestino. Pode apresentar bacterioses secundárias causando um maior esforço para um diagnóstico definitivo.

Continuamos com estudos adicionais para encontrar respostas sobre a nova variante de IMNV, PvCV assim como sua interação.

8. Pandemia do COVID-19 (PC) X Principais DESENTRAVES no Diagnóstico Doenças de Camarões (janeiro 2020 a novembro 2021)

O lado bom do lado ruim!

1. A COVID-19 colabora para melhor compreensão, de todos setores publico e privado, sobre a importância do impacto negativo de novas variantes virais (Índia, Brasil, EUA) que possam entrar em um estado ou pais (WSSV, etc);
2. Melhor entendimento dos resultados dos métodos de diagnósticos moleculares (sensitividade etc.).
3. Novas técnicas de diagnóstico estão sendo desenvolvidas para detecção de COVID19 e estas mesmas poderão serem adaptadas para o diagnóstico de doenças de camarões.
4. Mais profissionais estão sendo treinados em biologia molecular etc. mas será vital obter treinamento em doenças de camarões e vivência no setor produtivo.
5. Novas técnicas/mecanismos de vacinação, pesquisas de inibidores virais etc.
6. A potencialização do “saber” : resultados por meio da ação de equipes de profissionais multidisciplinares e conectados com a ciência global.
7. Reconhecer os entraves e criar estratégias para superá-las.

“com base nos **Entraves** e **Desentraves** apresentados pela Pandemia do COVID-19, é possível notar um maior impacto dos Entraves no curto prazo, o que afetou diretamente o diagnostico de doenças de camarões marinhos de cativeiro, reforçando a necessidade de uma maior atenção no controle do movimento de pós-larvas, insumos e camarões vivos ou congelados para prevenir problemas com a dispersão e/ou aumento dos surtos que possam colocar em prejuízo a sustentabilidade da carcinicultura”.

9. Considerações finais:

1. Os entraves da Pandemia do COVID19 potencializam a dispersão de doenças na América Latina (AL) e Brasil.
2. Principais enfermidades emergentes para América Latina (AL): ^{vp}AHPND, EHP e WFD (EHP-^{vp}AHPND e EHP-WFD associadas), WSSV, IMNV E IHHNV.
3. Apesar de endêmicas em alguns países, a existência de diferentes variantes, WSSV e IMNV continuam emergindo ou re-emergindo em regiões livres destes variantes.
4. Relatamos a descoberta de Penaeus vannamei Calicivirus (PvCV) - Emergente no Brasil, existência de genome completo sequenciado (NGS) e ferramentas de diagnóstico (ISH, RT-qPCR).
5. Nota-se que PvCV, associado a IMNV, aumenta a severidade de doença e consequentemente aumenta as mortalidades identificadas em cultivos com camarões afetados 2020-2021.
6. É vital , o envolvimento do setor produtivo com unidades laboratoriais dedicadas ao diagnóstico de doenças de camarão para avalição de seus estoques e produtos.
7. Os desentraves da Pandemia do COVID19 potencializam a médio e longo prazo um melhor entendimento sobre a variantes virais, ao acesso de novas tecnologias que ajudarão no controle de doenças na AL e Brasil.

Homenagem Póstuma ao Prof Donald V. Lightner PHD

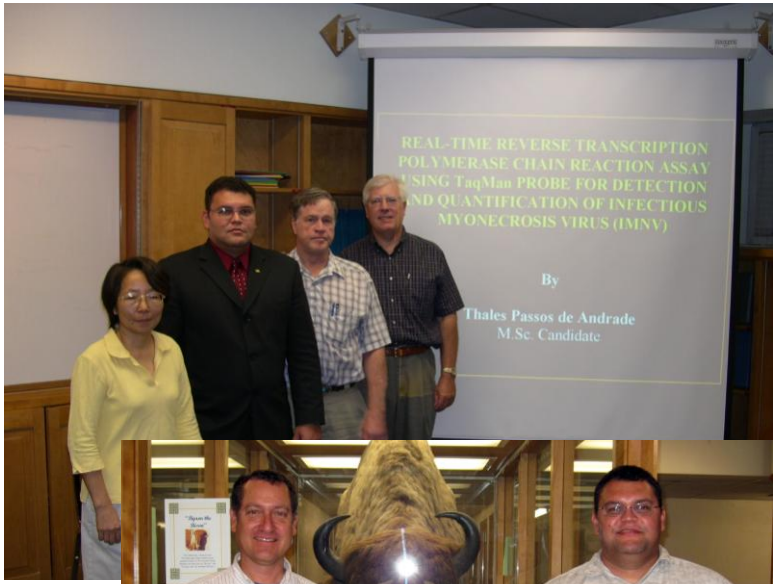
First time Dr. Lightner was colecting IMNV infected shrimp in Brazil, he showed me how to better fix shrimp and analyse gross signals, dissecting cefalotórax to expose enlarged lynphoid organs. My contact with him started much earlier...IMNV emerged so it was possible to move to UAZ/APL.

“The paper says by itself when it is ready, not us!!!”
Donald Vicent Lightner

PhD, 2009

“Make sure you do not miss things in the slide” DVL

MSc. 2006



My both diploms of MSc. And Ph.D. under supervision of prof Dr Lightner! 7 short courses..(of 10 attendences!)
Why he was so happy?

Ph.D. 2009

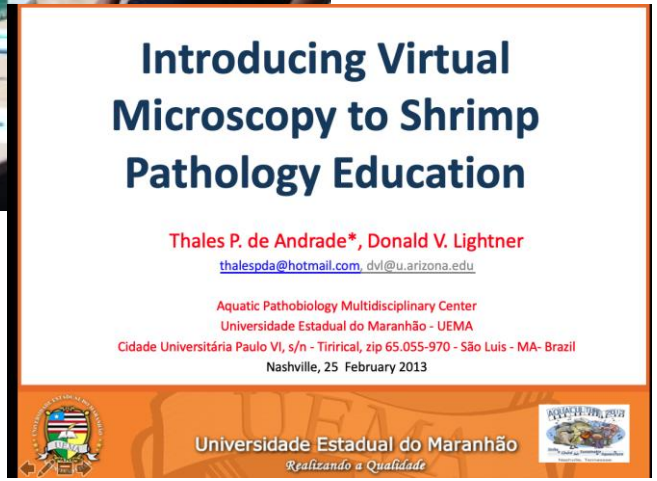
I do remenber Prof Lightner almost everyday doing my work. I can tell you if I was able to build my laboratory and working on diferent duties on aquaculture pathology ... most of the guidance/learning was with him. My respect and gratitude! Lets keep spreading the knowledge!

Introducing virtual microscopy to shrimp histopathology – IMNV workshop Panama 2011 – First time Dr. Lightner leadered a short course by totally using virtual microscope

Panama Camaron 2011

IMNV workshop Panama 2011

In Nashville (WAS 2013) we did present the research work, but we did never published it! ***"Buzy times"!!***



Agradecimentos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

IMOU

THE UNIVERSITY OF ARIZONA

THE UNIVERSITY OF ARIZONA AQUACULTURE PATHOLOGY Tucson, Arizona

CICESE

https://laqua.uema.br
thalespda@hotmail.com

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

BRASIL UM PAÍS DE TODOS GOVERNO FEDERAL

UEMA/MAPA n. 54/2011,
SIAFI 763568/2011

FAPEAD FUNDAÇÃO DE APOIO AO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO