



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**  
**CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**ÁLVARO LUCCAS BEZERRA DOS SANTOS**

**DISSEMINAÇÃO E POTENCIAIS RISCOS DA NECROSE HEPATOPANCREÁTICA  
AGUDA (AHPND) PARA A CARCINICULTURA, UMA REVISÃO**

**FORTALEZA**  
**2021**

ÁLVARO LUCCAS BEZERRA DOS SANTOS

DISSEMINAÇÃO E POTENCIAIS RISCOS DA NECROSE HEPATOPANCREÁTICA  
AGUDA (AHPND) PARA CARCINICULTURA, UMA REVISÃO

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Pesca do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheiro de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni

FORTALEZA  
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S239d Santos, Álvaro Luccas Bezerra dos.  
Disseminação e potenciais riscos da Necrose Hepatopancreática Aguda (Ahpnd) para carcinicultura, uma revisão / Álvaro Luccas Bezerra dos Santos. – 2021.  
59 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.
1. Aquicultura. 2. Bacteriose. 3. Camarão. 4. Vibriose. I. Título.

CDD 639.2

---

ÁLVARO LUCCAS BEZERRA DOS SANTOS

DISSEMINAÇÃO E POTENCIAIS RISCOS DA NECROSE HEPATOPANCREÁTICA  
AGUDA (AHPND) PARA CARCINICULTURA, UMA REVISÃO

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Pesca do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheiro de Pesca.

Aprovada em: 08 / março / 2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Rodrigo Maggioni (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Rafael dos Santos Rocha  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Me. Juliana Oliveira de Freitas  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

FORTALEZA  
2021

À Deus.

Aos meus pais, Maria e Rubens.

À educação pública, gratuita e de qualidade.

Ao futuro da ciência.

## AGRADECIMENTOS

À minha família que sempre estiveram comigo em todos os momentos, em especial os meus pais, Rubens e Maria, por me dar acesso à educação que me fez abrir portas; além de cuidarem de mim e incentivarem-me em cada passo dado em minha vida.

Aos meus padrinhos, Marta e Erivaldo, que sempre me apoiaram e foram importantes nessa caminhada.

À Vilany, por todo amor, apoio, compreensão, incentivo, ensinamentos e por me mostrar muitas vezes o caminho correto a seguir. Você é muito importante para mim, obrigado por tudo!

Aos amigos que fiz nesse período de cinco que me mostraram o melhor do UFC: Daniel Borges, Larissa Pinto, Leonardo Gomes, Lucas Fonseca, Antônio Monte, Hudson Maia. Em especial ao Jhonatas Teixeira que foi muito importante para minha formação acadêmica e pessoal, além de ser minha inspiração de força e inteligência. E ao Carlos Átila por me auxiliar em todos os momentos.

Ao Programa de Educação Tutorial onde aprendi muito e conheci pessoas incríveis.

Ao professor Dr. Wladimir Farias, que me mostrou o amor pelo curso, mesmo nos últimos momentos de vida. Também ao eterno professor Dr. Manuel Furtado que sempre me incentivou a continuar no curso e demonstrou uma grande amizade que nunca esquecerei. E também ao professor e amigo Dr. Reynaldo Marinho por todos os ensinamentos.

Aos amigos da empresa júnior CORAq por todas as oportunidades e aprendizados.

Ao laboratório CEDECAM, muito obrigado pela oportunidade em trabalhar com pessoas que inspiram e por todos ensinamentos nesse último ano.

Agradeço muito ao professor Rodrigo Maggioni, pela oportunidade, incentivo, confiança e pela orientação. Também ao Dr. Rafael por todo apoio e ensinamentos. E a Me. Juliana por ter aceitado o convite e por suas contribuições.

Por fim, a todos me auxiliaram até aqui, muito obrigado!

“Permita que eu fale, e não as minhas cicatrizes  
Elas são coadjuvantes, não, melhor, figurantes  
Que nem devia tá aqui  
Permita que eu fale, e não as minhas cicatrizes  
Tanta dor rouba nossa voz, sabe o que resta de  
nós? Alvos passeando por aí

Permita que eu fale, não as minhas cicatrizes  
Se isso é sobre vivência, me resumir à  
sobrevivência  
É roubar um pouco de bom que vivi

Por fim, permita que eu fale, não as minhas  
cicatrizes  
Achar que essas mazelas me definem é o pior  
dos crimes  
É dar o troféu pro nosso algoz e fazer nóiz  
sumir

Tenho sangrado demais  
Tenho chorado pra cachorro  
Ano passado eu morri  
Mas esse ano eu não morro”

**- Emicida (AmarElo: Sample: Belchior -  
Sujeito de Sorte).**

## RESUMO

A necrose hepatopancreática aguda (AHPND), também conhecida por síndrome da mortalidade precoce (EMS), é uma doença emergente que vem causando grandes perdas econômicas no setor da carcinicultura. A espécie bacteriana *Vibrio parahaemolyticus* é o principal agente causador da AHPND, no entanto, estudos mostraram que outras espécies de *Vibrio* podem se apresentar como causadoras da doença. Esta revisão tem como objetivo mostrar um panorama sobre surgimento, a disseminação e os impactos da AHPND na carcinicultura. Os primeiros surtos aconteceram em cultivos dos camarões *Litopenaeus vannamei* e *Penaeus monodon* em países da Ásia. No entanto, a doença foi também notificada em fazendas do México e foram observados casos suspeitos, não confirmados, em fazendas de países da América do Sul. Estima-se que entre 2010 e 2016 as perdas econômicas causadas pela AHPND foram de aproximadamente US\$ 40 bilhões, mostrando a importância do entendimento da doença para a carcinicultura. As mortalidades ocorrem nos primeiros 30 dias de cultivo e são ocasionadas por cepas de bactérias que carregam um plasmídeo que produz uma toxina binária (PirAB) que é produzida no hepatopâncreas do animal. Como tentativa de prevenir surtos em ambientes de cultivo, diagnósticos precoces devem ser realizados, tais como observação do comportamento dos animais e de indicadores clínicos, análise histológicas, e o uso de técnicas moleculares, como a PCR. Em caso de resultado positivo para AHPND, faz-se necessário notificar para Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e realizar uma quarentena do ambiente afetado para a aplicação de métodos de descarte e desinfecção. Somado a isso, é necessário efetuar mudanças estruturais e de manejo, para o aumento da biossegurança do cultivo. A implementação de boas práticas de manejo, o uso de probióticos, de imunostimulantes e o uso de terapia fágica, vêm demonstrando os melhores resultados de sobrevivência após desafios com *V. parahaemolyticus* causador da AHPND. Para regiões ainda não afetadas, como é o caso do Brasil, é importante efetuar investigações preventivas da comunidade bacteriana em viveiros e em ecossistemas costeiros. Além disso, com o conhecimento dos manejos recomendados para a AHPND, é possível presumir que a disseminação e os impactos causados pela doença podem ser prevenidos.

**Palavras-chave:** Aquicultura. Bacteriose. Camarão. Vibriose.



## ABSTRACT

Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), also known as the Early Mortality Syndrome (EMS), is an emerging disease that has been causing major losses in the shrimp industry. The bacterial species *Vibrio parahaemolyticus* is the main causative agent of AHPND, however, studies have shown that other species of *Vibrio* spp. have been presenting themselves as precursors of the disease. This review aims to provide an overview of the emergence, spread and impacts of the disease on shrimp farming. The first outbreaks occurred in shrimp cultivation *Litopenaeus vannamei* and *Penaeus monodon* in Asian countries. However, the disease has also been reported on farms in Mexico and suspected, unconfirmed cases have been observed on farms in countries in South America. It is estimated that between 2010 and 2016 the economic losses caused by AHPND were approximately US \$ 40 billion, showing the importance of understanding the disease for shrimp farming. Mortalities occur in the first 30 days of culture and are caused by strains of bacteria that carry a plasmid that produces a binary toxin (*PirAB*) that is produced in the animal's hepatopancreas. In an attempt to prevent outbreaks in farming environments, early diagnosis should be made, such as observation of animal behavior and clinical indicators, histological analysis, and the use of molecular techniques, such as PCR. In case of a positive result for AHPND, it is necessary to notify the World Organization for Animal Health (OIE) and quarantine the affected environment for the application of methods of disposal and disinfection. In addition, it is necessary to make structural and management changes to increase the biosafety of the crop. The implementation of good management practices, the use of probiotics, immunostimulants and the use of phage therapy, have been showing the best survival results after challenges with *V. parahaemolyticus* that causes AHPND. For regions not yet affected, such as Brazil, it is important to carry out preventive investigations of the bacterial community in nurseries and coastal ecosystems. In addition, with the knowledge of the recommended management for AHPND, it is possible to assume that the spread and impacts caused by the disease can be prevented.

**Keywords:** Aquaculture. Bacteriosis. Shrimp. Vibriosis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	– Produção de camarão no Brasil no ano de 2019, com ênfase a Região Nordeste e os Estados do Rio Grande do Norte e Ceará .....	17
<b>Figura 2</b>	– Distribuição geográfica da AHPND pelo mundo .....	20
<b>Figura 3</b>	– A diferença entre as cepas de <i>V. parahaemolyticus</i> causadoras da AHPND e não causadoras da AHPND .....	24
<b>Figura 4</b>	– pVA1 e as regiões amplificadas pelos iniciadores específicos AP1, AP2 e AP3 no plasmídeo pVA1 .....	25
<b>Figura 5</b>	– Histologia do estômago de <i>L. vannamei</i> colonizado com <i>V. parahaemolyticus</i> causador da AHPND .....	25
<b>Figura 6</b>	– Fluxograma para diagnóstico da AHPND .....	27
<b>Figura 7</b>	– Juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i> em cultivos do Vietnam. Camarão do lado esquerdo com indicativo da AHPND com hepatopâncreas pálido e do lado direito saudável .....	28
<b>Figura 8</b>	– Juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i> em cultivos do Vietnam. Ambas imagens com hepatopâncreas atrofiado, indicativo de AHPND .....	29
<b>Figura 9</b>	– Morfologia do hepatopâncreas do camarão .....	30
<b>Figura 10</b>	– Citologia funcional do hepatopâncreas de <i>P. semisulcatus</i> . A figura mostra a evolução celular da região distal (a direita) até a proximal do microtúbulo (a esquerda) em estágio inicial da pré-muda. As células destacadas são células excretoras (B), células fibrilares (F), células de absorção (R), células embrionárias (E) e células anãs (M) .....	30
<b>Figura 11</b>	– Histologia do hepatopâncreas de camarão saudável apresentando as células excretoras (B), células fibrilares (F), células de absorção (R) e células embrionárias (E) .....	30
<b>Figura 12</b>	– Comparação da histologia do hepatopâncreas de camarão saudável e outro afetado pela AHPND .....	31
<b>Figura 13</b>	– Histologia do hepatopâncreas de camarão afetado pela AHPND em estágio	31

inicial. A) Setas mostrando descamação leve das células epiteliais B) Setas mostrando uma cariomegalia .....

- Figura 14** – Histologia do hepatopâncreas de camarão afetado pela AHPND em fase aguda e as setas apresentam descamações das células epiteliais tubulares ... 32
- Figura 15** – Histologia do hepatopâncreas de camarão afetado pela AHPND na fase terminal ..... 33
- Figura 16** – Análise da idade das pós-larvas de camarão pela formação de espinhos no rosto ..... 39

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	–	Condições gerais de crescimento do <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	22
<b>Tabela 2</b>	–	Cepas bacterianas carregadoras do plasmídeo causador da AHPND .....	23
<b>Tabela 3</b>	–	<i>Primers</i> utilizados em métodos moleculares para detecção da AHPND ...	35
<b>Tabela 4</b>	–	Diferenças estruturais de sistemas intestinais antes e depois da AHPND ..	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCC	Associação Brasileira de Criadores de Camarão
AHPND	<i>Acute hepatopancreatic necrosis disease</i> (Necrose hepatopancreática aguda)
DNA	Ácidos desoxirribonucleico
EHP	<i>Enterocytozoon hepatopenaei</i>
EMS	<i>Early mortality syndrome</i> (Síndrome da mortalidade precoce)
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
GAA	<i>Global Aquaculture Alliance</i>
GIA	Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IHHNV	<i>Infection hipodermal and hematopoietic necrosis virus</i> (Vírus da infecção hipodermal e necrose hematopoiética)
IMNV	<i>Infectious myonecrosis virus</i> (Vírus da mionecrose infecciosa)
kb	Milhares de pares de base
LAMP	Amplificação isotérmica mediada por loop
NACA	<i>Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific</i>
NHP	Hepatopancreatite necrosante
nPCR	Reação em cadeira da polimerase em <i>nested</i>
OIE	<i>World Organisation for Animal Health</i>
OIRSA	<i>Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria</i>
pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia da polimerase
qPCR	Transcrição reversa seguida de PCR em tempo real
SPF	Camarões livres de patógenos específicos
SPR	Camarões resistentes a patógenos
TCBS	Tiosulfato, citrato, bÍlis e sacarose
UFC	Unidade formadora de colônia
WSSV	<i>White spot syndrome virus</i> (Vírus da síndrome da mancha branca)
YHV	<i>Yellow head virus</i> (Vírus da doença da cabeça amarela)

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
cm	Centímetro
g	Gramma
ha	Hectare
hp	<i>Horsepower</i>
kDa	Quilodalton
kg	Quilogramas
L	Litros
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
mg	Miligramas
ppm	Parte por milhão
ppt	Parte por mil
US\$	Dólar

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
2.1	<b>Carcinicultura no Brasil e no mundo</b> .....	16
2.2	<b>Impactos das doenças na Carcinicultura</b> .....	17
3	<b>METODOLOGIA</b> .....	19
4	<b>REVISÃO</b> .....	20
4.1	<b>Histórico da AHPND na Carcinicultura</b> .....	20
4.2	<b>Epidemiologia da AHPND</b> .....	22
4.3	<b>Métodos de diagnóstico para AHPND</b> .....	27
4.3.1	<i>Análise a fresco e avaliação dos sinais clínicos</i> .....	28
4.3.2	<i>Análises histopatológicas</i> .....	29
4.3.3	<i>Análises moleculares</i> .....	33
4.4	<b>Controle sanitário para AHPND</b> .....	36
4.4.1	<i>Estratégias para diminuir a disseminação da AHPND</i> .....	36
4.4.2	<i>Boas práticas aquícolas</i> .....	37
4.4.3	<i>Uso de antibióticos</i> .....	39
4.4.4	<i>Uso de probióticos e imunostimulantes</i> .....	40
4.4.5	<i>Uso de terapia fágica</i> .....	41
4.5	<b>Perspectivas Futuras</b> .....	43
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	44
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45

## 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura, historicamente, vem se expandindo nos últimos 40 anos trazendo com ela segurança alimentar e nutritiva para a população mundial. A produção total de pescado em 2018 foi de 179 milhões de toneladas, das quais 82,1 milhões de toneladas foram produzidas pela aquicultura com um crescimento de 25% em relação ao período de 2008 a 2017 com faturamento de 263,6 bilhões de dólares. Contudo, a produção mundial da aquicultura foi dominada pela Ásia com 89% de participação (FAO, 2020).

O cultivo de crustáceos em 2018 obteve um crescimento de 18,22% em relação ao ano de 2016, com produção total de 9,4 milhões de toneladas que representa 69,3 bilhões de dólares. A espécie em destaque foi o camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei*, com produção de 52,9% do montante (FAO, 2020). Entretanto, a carcinicultura mundial é constantemente afetada por doenças, sendo as mais importantes de origem viral e bacteriana, gerando grandes perdas econômicas (PRIETO; RODRÍGUEZ, 1993; MARTIN *et al.*, 2004; MORALES, V.; CUÉLLAR-ÁNJEL, 2008; SOTO *et al.*, 2010).

A partir de 2009 foi constatado em países asiáticos, uma nova ameaça para a carcinicultura: a síndrome da mortalidade precoce (EMS – sigla em inglês de *Early Mortality Syndrome*), ou necrose hepatopancreática aguda (AHPND – sigla em inglês de *Acute Hepatopancreatic necrosis disease*) (TRAN *et al.*, 2013). Seu primeiro relato se deu em criações de camarões juvenis na China, das espécies *Penaeus monodon* e *Litopenaeus vannamei*, apresentando rápida disseminação (NACA-FAO, 2011; LIGHTNER *et al.*, 2012). Nos anos seguintes, outros países do sudeste asiático foram afetados, como Vietnã em 2010, a Malásia em 2011 e a Tailândia em 2012 (NACA, 2012; FAO, 2013; VARELA, 2013). A enfermidade foi detectada por último nas Américas e em especial no México (NUNAN *et al.*, 2014).

Uma das dificuldades para diagnosticar camarões acometidos com AHPND é que os sinais clínicos são inespecíficos e não possuem valores confirmatórios (NACA, 2012). Os surtos são causados, principalmente, por influência de alta atividade bacteriana no ambiente de cultivo, geralmente acarretado por *Vibrio* apresentando assim, uma mortalidade que pode atingir 100% da população durante trinta a quarenta dias de cultivo do animal (TRAN *et al.*, 2013; VARELA; PEÑA, 2014).

A AHPND teve como agente etiológico inicial a espécie *Vibrio parahaemolyticus*, que é carregadora de um plasmídeo que contém uma toxina binária que confere patogenicidade (TRAN *et al.*, 2013; NUNAN *et al.*, 2014; HAN *et al.*, 2015a). No entanto, segundo Kondo *et*



*al.* (2015), na espécie *V. harveyi* foi observado a presença do mesmo plasmídeo, levantando a hipótese de transferência entre espécies de *Vibrio* e até para outros gêneros de bactérias (DONG *et al.*, 2017; XIAO *et al.*, 2017; RESTREPO *et al.*, 2018) aumentando potencialmente a complexidade dos agentes causadores da AHPND e agravando a ameaça à carcinicultura.

Deste modo, percebe-se o quanto a AHPND é uma doença emergencial no mundo, sendo assim o objetivo deste trabalho é analisar o surgimento, a disseminação e os impactos da AHPND na carcinicultura. Além disto buscou-se compreender quais as perspectivas futuras no cenário nacional com a AHPND.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aquicultura no Brasil e no Mundo

A aquicultura, segundo a FAO (2020), é definida como o cultivo de organismos aquáticos que possuem pelo menos uma fase de vida no meio aquático, exemplo dos peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis e plantas aquáticas em ambientes costeiros ou continentais. Historicamente, a aquicultura vem se expandindo nos últimos 40 anos, trazendo com ela segurança alimentar e nutritiva para a população mundial.

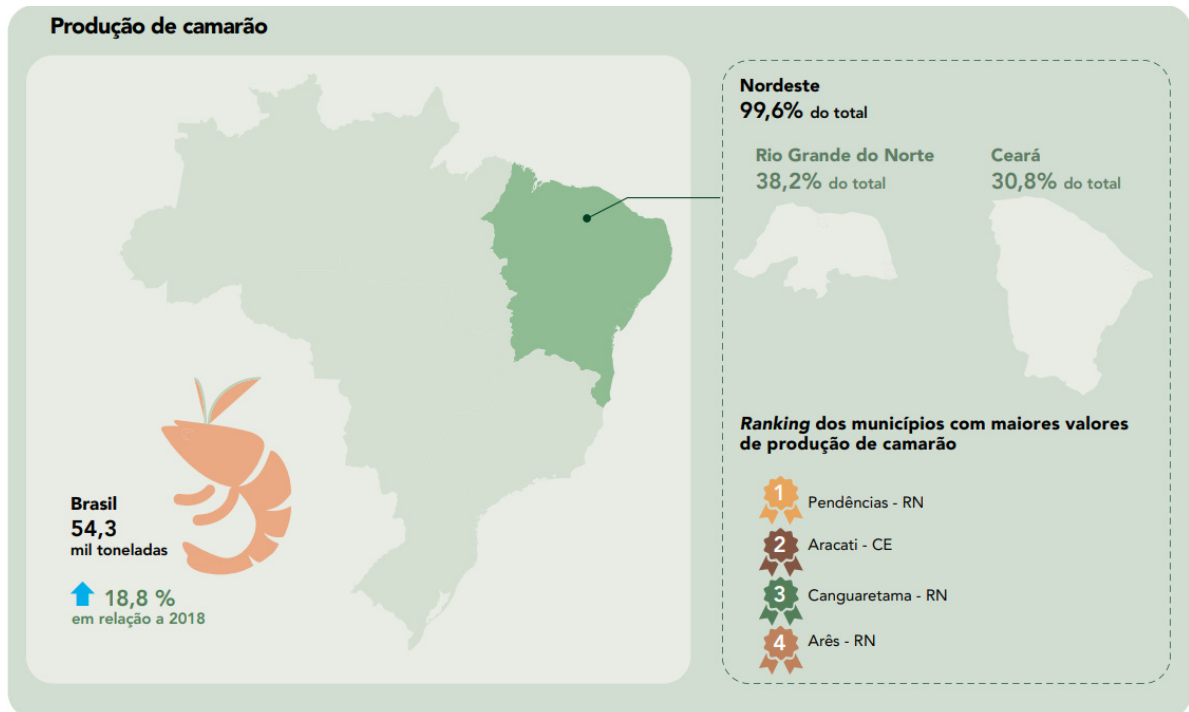
Segundo o relatório bienal da situação mundial da pesca e aquicultura (SOFIA) a aquicultura produziu 82,1 milhões de toneladas em 2018, com um crescimento de 25% em relação aos anos 2008 e 2017. Em relação ao consumo de pescado, desde 1961, o aumento anual tem sido de 3,1%. Em termos *per capita*, o consumo de pescado tem aumentado de 9,0 kg em 1961 a 20,5 kg em 2018 (FAO, 2020).

A carcinicultura, por sua vez, mesmo enfrentando problemas com enfermidades, no mesmo ano obteve um crescimento de 18,22% em relação ao ano de 2016. A espécie de camarão mais cultivada nesse período foi o camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei*, com uma produção total próximo de 5,0 milhões de toneladas (FAO, 2020). E a estimativa da *Global Aquaculture Alliance's* (GOAL, 2019) é que a carcinicultura possa chegar a uma produção de 10,0 milhões de toneladas até 2021.

A carcinicultura mundial, sofre atualmente por conta da pandemia da COVID-19 com o fechamento de mercados, restaurantes e conseqüentemente o setor de processamento devido à baixa demanda do consumidor. Além disso, os principais insumos para a formulação de rações aumentaram o preço gerando acréscimo no preço da ração (FAO, 2020). Entretanto, além desse desafio pontual, existem outros problemas que acometem a carcinicultura como as doenças e o custo de produção (VALDERRAMA *et al.*, 2016).

O setor da carcinicultura no Brasil apresentou crescimento pelo segundo ano consecutivo. Em 2019, foram produzidas 54,3 mil toneladas de camarão com um aumento de 18,8% em relação ao ano anterior. A produção de camarão é liderada pela Região Nordeste (99,6%), principalmente pelos Estados do Rio Grande do Norte (38,2%) e o Ceará (30,8%) (Figura 1) (IBGE, 2019). Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC), em 2020 estimava-se uma produção nacional de camarão de 120 mil toneladas, mas devido os efeitos adversos da COVID-19, naturalmente aponta uma queda da produção para entorno de 90 mil toneladas (ABCC, 2020).

**Figura 1** – Produção de camarão no Brasil no ano de 2019, com ênfase a Região Nordeste e os Estados do Rio Grande do Norte e Ceará.



Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal (2019).

## 2.2 Impactos das doenças na Carcinicultura

As doenças infecciosas de origem viral e bacteriana, desde as décadas de 80 e 90, geram grandes perdas econômicas em todo mundo (MARTIN *et al.*, 2004; MORALES *et al.*, 2008; PRIETO; RODRÍGUEZ, 1993; SOTO *et al.*, 2010). Com isso, as enfermidades nos camarões de cultivo se tornaram um problema emergente mundial e que ameaçam financeiramente a atividade.

Os relatos de doenças relacionadas ao cultivo de camarão marinho são causados, principalmente por vírus e bactérias (MORALLES-COVARRUBIAS, 2010). Existem enfermidades virais que são de notificação obrigatória, e caso haja relatos em regiões produtivas, devem ser notificadas para a OIE (Organização Mundial para Saúde Animal), sendo elas: Síndrome da Mancha Branca (WWS), Mionecrose Infecciosa (IMN), Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHN), Síndrome de Taura (TS) e Doença da Cabeça Amarela (YH) (CUNHA, 2008). Outras doenças que acometem o camarão são de origem bacteriana, em destaque, o gênero *Vibrio*, como a Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP) (FEIJÓ,

2009) e a Necrose Hepatopancreática Aguda (AHPN) (TRAN *et al.* 2013).

O surgimento de enfermidades no fim dos anos 90 e início dos anos 2000 diminuiu o crescimento do setor. A doença ocasionada pelo vírus da Mionecrose infecciosa (IMNV), por exemplo, em 2004, causou uma queda de 15,84% na produção e 24% na produtividade do cultivo de camarão marinho em todo Brasil (PAEZ-OSUNA, 2001; MADRID, 2005; FEIJÓ, 2009; NEW *et al.*, 2010). Em 2015, o Ceará já registrou uma produção maior que 40 mil toneladas, entretanto no ano de 2016 o vírus da mancha branca (WSSV) se disseminou nas fazendas do estado e devastou boa parte da produção de fazendas (NUNES; FEIJÓ, 2016). Tal enfermidade foi responsável pela queda de 41,6% da produção na região (ABCC,2017).

Além das doenças de origem viral, no início dos anos 90, os cultivos de camarões registraram mortalidades ocasionada pela presença de bactérias do gênero *Vibrio* (KUMAR *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2012; SOTO-RODRIGUEZ *et al.*, 2014). A AHPND é uma doença que o agente etiológico são cepas do gênero *Vibrio*, e inicialmente relatada em cepas de *V. parahaemolyticus*, que é capaz de destruir o tecido do hepatopâncreas causando grandes mortalidades nos primeiros 30 dias de cultivo (TRAN *et al.* 2013).

### 3 METODOLOGIA

Com a finalidade de analisar o objeto de estudo do trabalho, optou-se por uma natureza de estudo qualitativa a fim de compreender o fenômeno de forma descritiva, coletando dados que não se esvaziam apenas em padrões estatísticos, mas que potencializam o aprendizado a respeito do assunto estudado com expansão da discussão sobre esta realidade, apontando os fatos evidenciados na pesquisa (PRODANOV; FREITAS, 2013).

Além disto, para atingir os objetivos pretendidos na pesquisa, utilizou-se periódicos nacionais e internacionais, publicações de Organizações Públicas e Governamentais, relatórios técnicos, livros, Anais e trabalhos apresentados em Congressos e Encontros Científicos. Para esquematizar o “estado da arte”, as pesquisas de estado da arte procuram analisar, não só identificar, o que já foi produzido e as contribuições sobre determinadas pesquisas de forma significativa em sua construção teórica (ROMANOWISKI; ENS, 2006), logo, com a intenção de explorar a historicidade, dissipação e as consequências da AHPND na carciniocultura, definiu-se este tipo de abordagem de pesquisa.

As pesquisas se deram no período de março a dezembro de 2020 e para organização, os artigos científicos foram catalogados por ano no *software Mendeley*. Foi utilizado como fonte de pesquisa o portal de periódicos da CAPES para entrada nas principais plataformas de periódicos científicos, dentre as quais “*Web of Science*” e “*Science Direct*”. Foram usados como critérios de inclusão trabalhos que apresentavam os seguintes descritores “*Early Mortality Syndrome*”, “*Acute Hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)*”, “*Acute Hepatopancreatic necrosis Syndrome (AHPNS)*”, “*Vibrio parahaemolyticus*” em suas palavras-chave em língua portuguesa, inglesa ou espanhola; terem sido publicados nos últimos 10 anos; e que possuíam relação com o objetivo geral do trabalho, independente do *Qualis*. A seguir foram analisados todos os achados com o propósito de aglutinar os textos nas categorias de (1) Histórico da AHPND na carciniocultura, (2) Epidemiologia da AHPND, (3) Métodos de diagnóstico para AHPND, (4) Controle sanitário para AHPND.

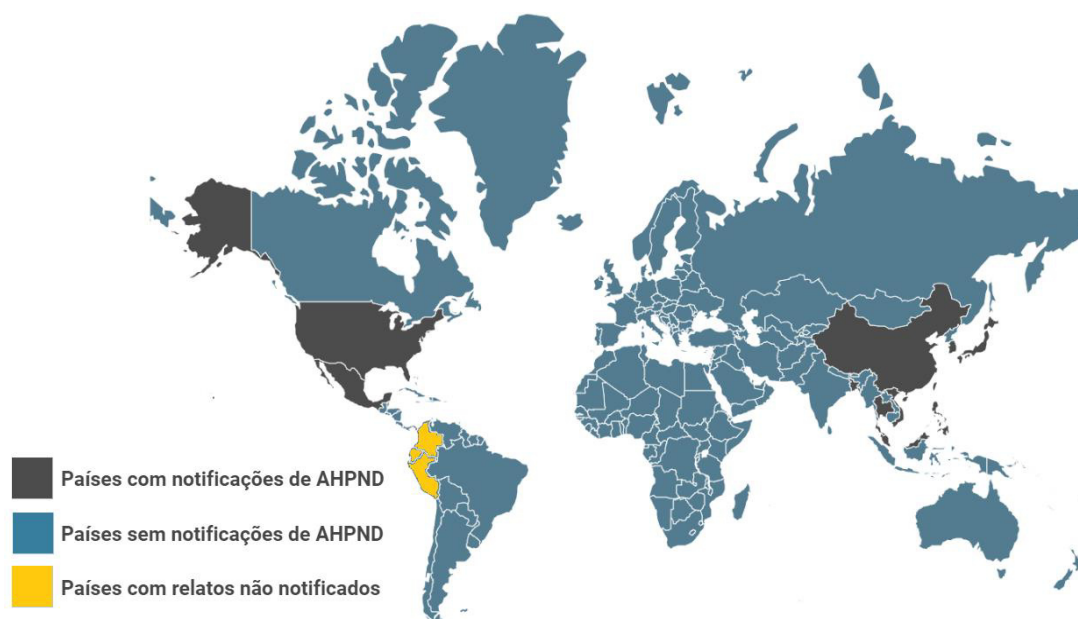
## 4 REVISÃO

### 4.1 Histórico da AHPND na Carcinicultura

A Necrose Hepatopancreática Aguda (AHPND – sigla em inglês de *Acute Hepatopancreatic necrosis disease*), ou também conhecida inicialmente como Síndrome da Mortalidade Precoce (EMS – sigla em inglês de *Early Mortality Syndrome*) é uma doença bacteriana que causa mortalidade em massa em viveiros de camarão. Em 2013, Tran *et al.* (2013) identificaram como agente causador da AHPND, o *Vibrio parahaemolyticus*.

O primeiro surto da doença aconteceu por volta de 2009 em fazendas de camarão na República Popular da China e foi inicialmente chamada de EMS (ZHANG *et al.*, 2012). Em pouco tempo a doença se espalhou em vários outros países da Ásia. No ano de 2011 chegou em fazendas de camarão no Vietnã e na Malásia (TRAN *et al.*, 2013) e em 2012 chegou na Tailândia (JOSHI *et al.*, 2014). Um fator que preocupou bastante o impacto da doença na carcinicultura marinha mundial, foi o rápido aparecimento em países da América. Em 2013 o patógeno foi encontrado em fazendas do México (SOTO-RODRIGUEZ *et al.*, 2015) e com contínuo avanço na Ásia, chegando até a Filipinas em 2015 (DABU *et al.*, 2015; LEOBERT *et al.*, 2015), Bangladesh em 2017 (OIE, 2017), província de Taiwan na China em 2018 (OIE, 2019), em fazendas da Coreia do Sul em 2019 (HAN *et al.*, 2020) e por último registrado em 2020 pela prefeitura de Okinawa no Japão (OIE, 2020).

**Figura 2** – Distribuição geográfica da AHPND pelo mundo.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Após registro dos primeiros casos em fazendas do México, foi relatado pela primeira vez por Dhar *et al.* (2019) que em 2017 a AHPND estava presente em cultivos no Texas e Ahn *et al.* (2017) constatou a presença da doença em um país da América Latina não descrito pelos autores. Apesar das suspeitas e também por ser uma doença de notificação obrigatória, estima-se que a AHPND está presente em mais países da América e Ásia. Restrepo *et al.* (2016) isolaram cepas patogênicas de *V. parahaemolyticus* em camarões da América do Sul, entretanto não foi notificado pela OIE a origem das cepas e dos camarões.

Segundo a FAO (2013), os impactos econômicos e as perdas produtivas que o surto de AHPND foram enormes nos primeiros anos. De acordo com Shinn *et al.* (2018), estima-se que entre 2010 e 2016 as perdas econômicas, nos países mais afetados (China, Malásia, México, Tailândia e Vietnã), foram aproximadamente US \$ 23,6 bilhões. Outros custos não somados a esse valor são as perdas nas vendas de ração (US \$ 7 bilhões) e nas exportações de camarão (US \$ 13,4 bilhões). Entretanto, os autores comentaram que no mesmo período esses países notificaram a presença de outras doenças (WSS, EHP e NHP) (TANG *et al.*, 2020).

Com o avanço dos estudos e a importância econômica que a doença teve para os produtores, posteriormente descobriu-se que a doença era causada por cepas que carregavam um plasmídeo virulento (pVA1) com genes semelhantes à toxina binária (*PirA* e *PirB*) relacionada a insetos do gênero *Photorhabdus* (*Pir*) (LEE *et al.*, 2015). O plasmídeo também tem como característica ter dois grupos de genes de transferência conjugativa e um gene *mobB*, que permitem que o plasmídeo realize uma transferência horizontal entre espécies de bactérias.

Em consequência à transferência do plasmídeo, o *V. parahaemolyticus* não foi exclusivo para causar a doença. Assim, foram evidenciados também nas espécies *V. harveyi* (MUTHUKRISHNAN *et al.*, 2019; PUMKAEW *et al.*, 2019), *V. owensii* (DONG *et al.*, 2019a; LIU *et al.*, 2015; LIU *et al.* 2018; XIAO *et al.*, 2017), *V. campbelli* (AHN, *et al.*, 2017; DONG *et al.*, 2017a, 2017b, 2017c; DONG *et al.*, 2019a) e *V. punensis* (RESTREPO *et al.*, 2018). Segundo Sangpo *et al.* (2020), não é descartada a possibilidade da presença do plasmídeo em outros grupos de bactérias não-*Vibrio*.

Outro fator que deve ser considerado é a abrangência entre as espécies de camarões. As espécies que são afetadas pela AHPND são o camarão branco do pacífico, *L. vannamei*, e o camarão tigre gigante, *Penaeus monodon* (OIE, 2019). Entretanto, existem indícios inconclusivos que a AHPND possa afetar também o camarão branco chinês, *P. chinensis*, e o camarão kuruma, *P. japonicus* (TINWONGGER *et al.*, 2016; THEETHAKAEW *et al.*, 2017).

## 4.2 Epidemiologia da AHPND

A influência das espécies de bactérias do gênero *Vibrio* na aquicultura é enorme, sendo a doença por elas causadas considerada uma das mais problemáticas para os organismos aquáticos cultivados (LIGHTNER; LEWIS, 1975; ADAMS, 1991; LIGHTNER *et al.*, 1992; LAVILLA-PITOGO *et al.*, 1996; LAVILLA-PITOGO *et al.*, 1998; FEIJÓ, 2009). Definida como vibrioses, essas doenças bacterianas, são causadas por bactérias gram-negativas da família *Vibrionaceae* que possui células em forma de bastonetes (bacilos), normalmente retos ou curvos, móveis por flagelos polar, não esporogênicos e anaeróbicos facultativos (PELCZAR *et al.*, 1997).

Os *Vibrio* spp. já estão presente no ambiente estuarino e, principalmente, em viveiros de camarão, mas são considerados como invasores oportunistas secundários (ELSTON *et al.*, 1982). Por serem anaeróbicos facultativos, são associados às regiões que apresentam concentrações elevadas de matéria orgânica pois os mesmos decompõem detritos presentes na água de cultivo e nos sedimentos do fundo (AGUIRRE-GUZMÁN *et al.*, 2001). Conseqüentemente, fatores ambientais como a alta concentração de nutrientes na água, elevadas temperaturas, alta salinidade (acima de 5 ppt), alto valor de pH (acima de 8), baixo volume de água, baixa biodiversidade na comunidade planctônica e o acúmulo de matéria orgânica, que estão apresentados na **Tabela 1**, favorecem o aumento da mortalidade associada à vibriose (BROCK; LIGHTNER, 1990; BONDAD-REANTASO, 2016). Além de serem prejudiciais para os animais cultivados, algumas espécies de *Vibrio* spp. são zoonóticas e são também preocupantes para saúde humana (PEREIRA; SANTOS, 2002). Portanto, podem ser uma ameaça para os trabalhadores de fazendas de cultivo que têm contato diário com esses patógenos (MENDES *et al.*, 2009).

**Tabela 1** – Condições ideais de crescimento do *Vibrio parahaemolyticus*.

Condição de crescimento	Ótimo	Limites
Temperatura (°C)	30 a 37	20 a 40
pH	7,8 a 8,6	4,8 a 9
NaCl (%)	1,5 a 3,0 (15 a 30 ppt)	0,5 a 10 (5 a 100 ppt)
Ambiente	Aeróbico	Aeróbico e anaeróbico

Fonte: ICMSF, 1996; Adaptado de TANG, 2020.

Como foi comentado no tópico anterior, a primeira espécie de *Vibrio* vista como causadora da AHPND foi o *Vibrio parahaemolyticus* (ZHANG *et al.*, 2012; TRAN *et al.*, 2013), entretanto não só as cepas de *V. parahaemolyticus* podem ser causadoras da AHPND. Na



verdade, a bactéria identificada como causadora da doença é somente um agente que carrega um plasmídeo extracromossômico com genes que codificam toxinas homólogas aos genes relacionadas a um gênero bacteriano patogênico para insetos chamado de *Photorhabdus* (*Pir*) (HAN *et al.*, 2015a). Contudo, ainda segundo Han *et al.* (2015a), pode existir uma variação geográfica entre plasmídeos isolados de *Vibrio* com AHPND, visto que plasmídeos isolados nas Américas (pLA) possuem tamanho de 73 kb e os isolados Asiáticos possuem tamanho próximo de 69 kb (identificados na **Tabela 2**) (DONG *et al.*, 2019).

**Tabela 2** – Cepas bacterianas carregadoras do plasmídeo causador da AHPND.

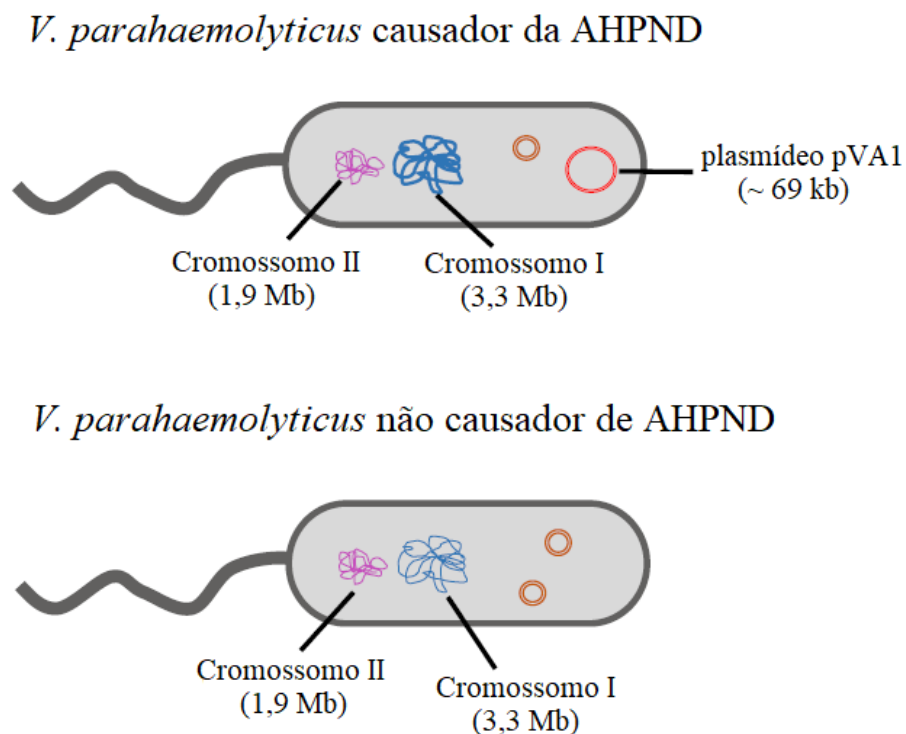
Espécies bacterianas relatadas	Plasmídeo identificado	Tamanho do plasmídeo	Toxina identificada	Espécie afetada	Referência
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	pVA1	70,452 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Lee <i>et al.</i> (2015)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVA	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Lai <i>et al.</i> (2015)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVPA3-1	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Han <i>et al.</i> (2015d)
<i>Vibrio owensii</i>	pVH	69,142 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Liu <i>et al.</i> (2015)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVA1	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i> <i>P. japonicus</i>	Tinwongger <i>et al.</i> (2016)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVPE61a	69,078	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i> <i>P. japonicus</i>	Theethakaew <i>et al.</i> (2017)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVP2HP	183,746	Ausente	<i>L. vannamei</i> <i>P. japonicus</i>	Theethakaew <i>et al.</i> (2017)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVA1 mutado	69 kb	<i>PirA</i>	<i>L. vannamei</i>	Phiwsaiya <i>et al.</i> (2017)
<i>V. owensii</i>	pVH	70 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Xiao <i>et al.</i> (2017)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVPGX1	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Dong <i>et al.</i> (2017)
<i>Vibrio campbelli</i>	pVCGX1	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Dong <i>et al.</i> (2017)
<i>V. campbelli</i>	pLA	73,461 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Ahn <i>et al.</i> (2017)
<i>V. owensii</i>	pVH	70 kb	<i>PirAB</i> instável	<i>L. vannamei</i>	Liu <i>et al.</i> (2018)
<i>V. campbelli</i>	pVA	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Wangman <i>et al.</i> (2018)
<i>Vibrio punensis</i>	pV <sub>AHPND</sub>	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Restrepo <i>et al.</i> (2018)
<i>V. owensii</i>	pVA1	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Dong <i>et al.</i> (2019)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVp_Kor-D1-2	68,848 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Han <i>et al.</i> (2020a)
<i>V. parahaemolyticus</i>	pVpPirA-2	69 kb	<i>PirAB</i>	<i>L. vannamei</i>	Han <i>et al.</i> (2020b)

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Os transposons são genes saltadores de um segmento de DNA que podem mudar sua localização em cromossomos de plasmídeos, devido à presença do gene transposase (KELLY *et al.*, 2009). A presença de um transposon Tn3-like (4243 pb) que só é encontrado em isolados do México e da América Latina é outra diferença relevante entre os plasmídeos identificados em cultivos latino-americano e cultivos em solo asiático (HAN *et al.* 2015b). Após essa análise, foi possível desenvolver uma PCR de genotipagem para avaliar a diferença entre as cepas de várias regiões. Chonsin *et al.* (2016) reforçam que as cepas causadoras da AHPND não são derivadas de uma única linhagem e a sua heterogeneidade gênica pode estar associada aos genes de transferência presente no plasmídeo.

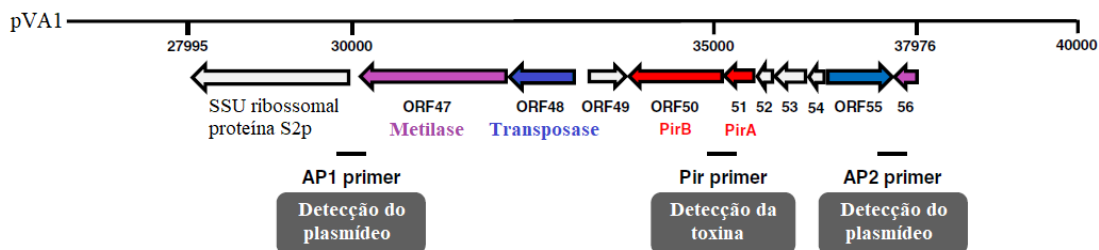
Por esse meio, as toxinas produzidas são proteínas extracelulares chamadas de PirA<sub>vp</sub> (12,7 kDa) e PirB<sub>vp</sub> (50,1 kDa) que atuam de forma conjunta como uma toxina binária. Todos esses aspectos estão explanados nas **Figura 3** e **Figura 4**. Além disso, o mesmo plasmídeo pVA1 é capaz de realizar transferência conjugativa e genes de mobilização de plasmídeo, que tornam o plasmídeo auto transmissível para outras bactérias. De acordo com Lee *et al.* (2015), o plasmídeo também carrega um *pndA* que é um sistema de morte pós-segregacional garantindo que o plasmídeo seja sempre herdado.

**Figura 3** – A diferença entre as cepas de *V. parahaemolyticus* causadoras da AHPND e não causadoras da AHPND.



**Fonte:** Adaptada e modificada de Lee *et al.* (2015) e Kumar *et al.* (2019).

**Figura 4** – As localizações dos genes da metilase, transposase, da toxina PirAB no plasmídeo pVA1 e as regiões amplificadas pelos iniciadores específicos AP1, AP2 e AP3 no plasmídeo pVA1.

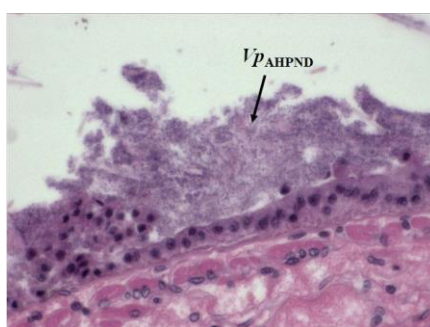


**Fonte:** Adaptada e modificada de Lee *et al.* (2015) e Kumar *et al.* (2019)

Os efeitos negativos em camarões de cultivo da AHPND estão diretamente relacionados a produção das toxinas pelo plasmídeo. Conforme ressaltam Tinwogger *et al.* (2016), a virulência do *V. parahaemolyticus* não dependerá do número de cópias do gene do plasmídeo, mas sim da quantidade de toxina *PirA* e *PirB* secretadas no hospedeiro. No estudo de Lee *et al.* (2015), mesmo com injeção apenas da toxina *PirB* em camarões, ocorreu o aparecimento dos sintomas semelhantes aos da AHPND. O tamanho do plasmídeo presente nas bactérias também deve ser considerado. Segundo Theethakaew *et al.* (2017), bactérias com plasmídeo de tamanho 69 kb causaram AHPND, entretanto como foi avaliado no trabalho, a bactéria que tinha um plasmídeo de 183 kb não causava AHPND.

Normalmente, as infecções causadas por bactérias do gênero *Vibrio* são consideradas de forma secundária e oportunista. Entretanto, as infestações por espécies que são consideradas causadoras da AHPND são agentes primários (ZHANG *et al.*, 2012; TRAN *et al.*, 2013; HAN *et al.*, 2015). A rota da infecção inicia-se na colonização no estômago do camarão, como apresentado na **Figura 5**, onde as toxinas serão produzidas e secretadas no hepatopâncreas.

**Figura 5** – Histologia do estômago de *L. vannamei* colonizado com *V. parahaemolyticus* causador de AHPND.



**Fonte:** Han, 2015.

A partir disso, ao chegar no órgão alvo, as toxinas geram destacamentos massivos e agudo nas células e acompanhado da necrose, torna-se substrato de adesão e replicação, de forma secundária, de outras bactérias, destruindo o hepatopâncreas (LIGHTNER *et al.*, 2013; TRAN *et al.*, 2013; PANTOJA; LIGHTNER, 2014; HAN *et al.*, 2015). O aparecimento de sinais clínicos e mortalidade, após a chegada das toxinas no hepatopâncreas, pode ocorrer entre 7 e 10 dias de povoar o camarão e sendo passíveis de atingir 100% de mortalidade nos primeiros 30 dias de cultivo (OIRSA, 2013).

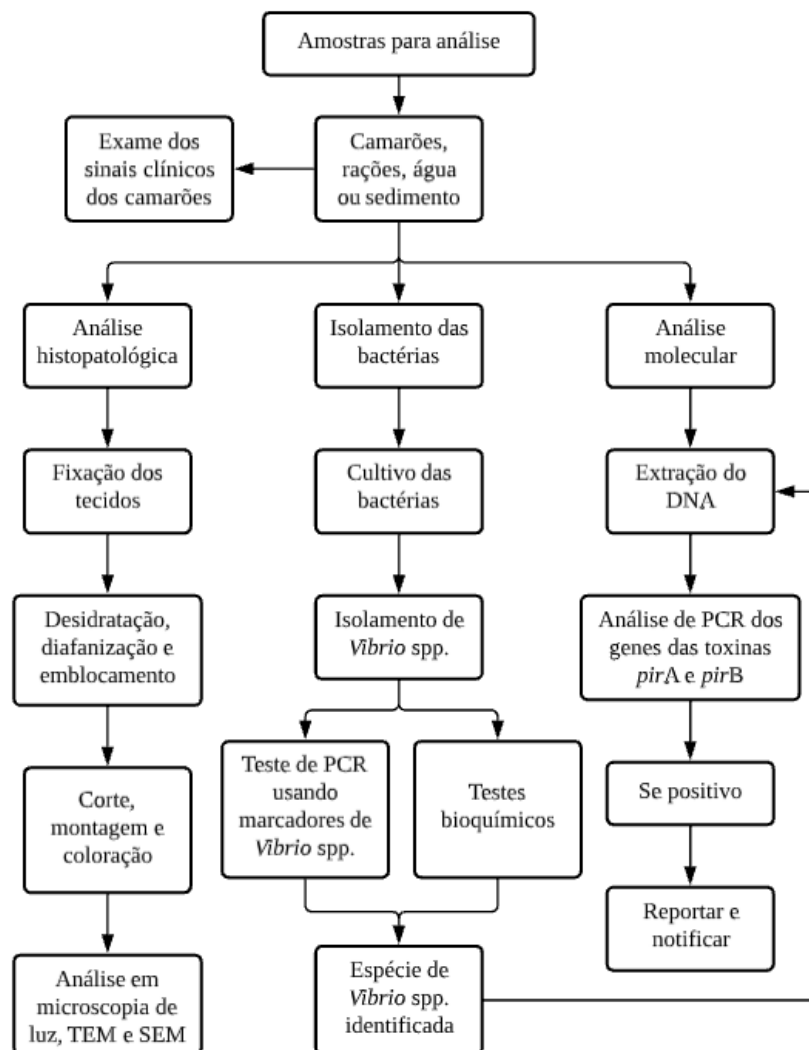
De acordo com a Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE, 2019), o modo de transmissão da AHPND é de forma horizontal, sem evidências de transmissão vertical. Com a presença de agentes bacterianos que podem causar a doença em ambientes de cultivo, a transmissão ocorrerá a partir da ingestão oral, do canibalismo de camarões doentes e mortos, na alimentação de sobras de ração no fundo do viveiro ou tanque e até mesmo na ingestão de sedimentos ou fezes de animais infectados (HAN *et al.*, 2017b).

As espécies do gênero *Vibrio* estão associados à organismos aquáticos, que podem ser vetores de doenças, como fitoplâncton, zooplâncton, moluscos, outros crustáceos, poliquetas e peixes (TANG *et al.*, 2020). O alimento natural ofertado para camarões em laboratórios de larvicultura e nas fases iniciais do cultivo é outro ponto importante evidenciado. Conforme ressaltam Desrina *et al.* (2018), com a utilização de PCR foi detectado *V. parahaemolyticus* com AHPND em poliquetas e bivalves usados para alimentação de reprodutores de camarão. Por sua vez, a presença de outros agentes patológicos como o parasita microsporídeo *Enterocytozoon hepatopenaei*, comumente conhecido por EHP, aumentou a vulnerabilidade do camarão a AHPND (ARANGUREN *et al.*, 2017).

### 4.3 Métodos de diagnósticos para AHPND

O diagnóstico precoce das espécies do gênero *Vibrio* que podem causar a AHPND (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. owensii*, *V. campbellii* e *V. vulnificus*) no ambiente de cultivo, nas pós-larvas de camarão antes do povoamento e até mesmo o monitoramento de regiões estuarinas próximas de polos produtores, são essenciais para prevenir surtos. As metodologias para diagnosticar patologias em organismos aquáticos podem ser divididas em três tipos: a primeira caracterizada pela observação do comportamento dos animais e de indicadores clínicos; a segunda é definida a partir de exames parasitológicos, bacteriológicos e histopatológicos; e a terceira que é indicado realizar o cultivo bacteriano ou viral para avaliar em microscópio eletrônico e em técnicas moleculares (BONDAD-REANTASO *et al.*, 2001). Na **Figura 6** é mostrado as metodologias usadas para diagnosticar a AHPND.

**Figura 6** - Fluxograma para diagnóstico da AHPND.



Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 4.3.1 Avaliação dos sinais clínicos

Os sinais clínicos de camarões que possam apresentar AHPND, são semelhantes aos sinais apresentados por outras doenças como a vibriose sistêmica, síndrome da mancha branca (WSSV), síndrome de taura (TSV), síndrome da cabeça amarela (YHV) e a hepatopancreatite necrosante (NHP). Assim, faz-se necessário realizar uma verificação histórica do ambiente antes do procedimento (CUÉLLAR-ÁNJEL, 2013; LIGHTNER *et al.*, 2012).

O aparecimento de sinais clínicos e mortalidade podem ocorrer entre 7 e 10 dias após o povoamento do camarão, sendo passíveis de atingir 100% de mortalidade nos primeiros 30 dias de cultivo. Os comportamentos que, inicialmente, podem ser observados são: natação errática ou irregular; diminuição no consumo da ração e conseqüentemente redução do crescimento; e bioluminescência em períodos noturnos nos viveiros principalmente para ocorrência de *V. harveyi* (CZYZ *et al.*, 2000; CUÉLLAR-ÁNJEL, 2013; KARUNASAGAR, 2001; NACA, 2012; OIRSA, 2013; ZORRIEHZAHRA; BANAEDERAKHSHAN, 2015).

Além disso, NACA (2012) descreveu os sinais clínicos nos camarões infectados por AHPND, que são: coloração do hepatopâncreas pálido ou esbranquiçado (descrito na **Figura 7**); atrofia ou diminuição do tamanho do hepatopâncreas de forma significativa (apresentado na **Figura 8**); listras ou manchas escuras no hepatopâncreas vistas a olho nu; hepatopâncreas não é facilmente esmagado devido ao aumento de tecido conjuntivo fibroso e acúmulo de hemócitos; e esvaziamento gástrico e intestinal (DEVADAS *et al.* 2019).

**Figura 7** – Juvenis de *Litopenaeus vannamei* em cultivos do Vietnam. Camarão do lado esquerdo com indicativo da AHPND com hepatopâncreas pálido e do lado direito saudável.



Fonte: adaptado de NACA (2012).

**Figura 8** – Juvenis de *Litopenaeus vannamei* em cultivos do Vietnam. Ambas as imagens com hepatopâncreas atrofiado, indicativo de AHPND.



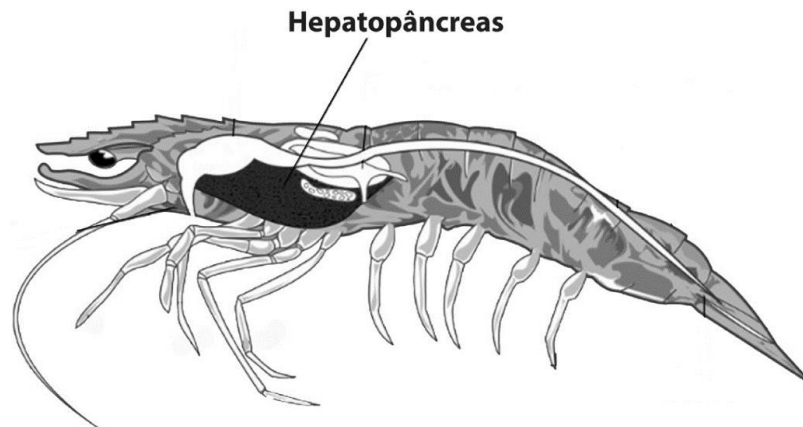
Fonte: NACA (2012).

#### 4.3.2 Análises histopatológicas

A partir dos resultados colhidos na análise presuntiva, as principais metodologias para confirmar a infecção em camarões são as análises histológicas. Para realizar a histopatologia, faz-se necessária a coleta de amostra de pós-larvas moribundas ou camarões inteiros, onde devem ser fixados por 1 a 2 dias em fixador AFA de Davidson, processados em parafina e seccionadas para verificação do hepatopâncreas por microscopia de luz (BELL; LIGHTNER, 1988), bem como coradas com hematoxilina e eosina, como descrito em Lightner (1996). O autor ressalta que além da microscopia de luz, podem ser utilizadas outras técnicas para examinar as amostras, como a microscopia eletrônica de transmissão (MET) e a microscopia eletrônica de varredura (MEV).

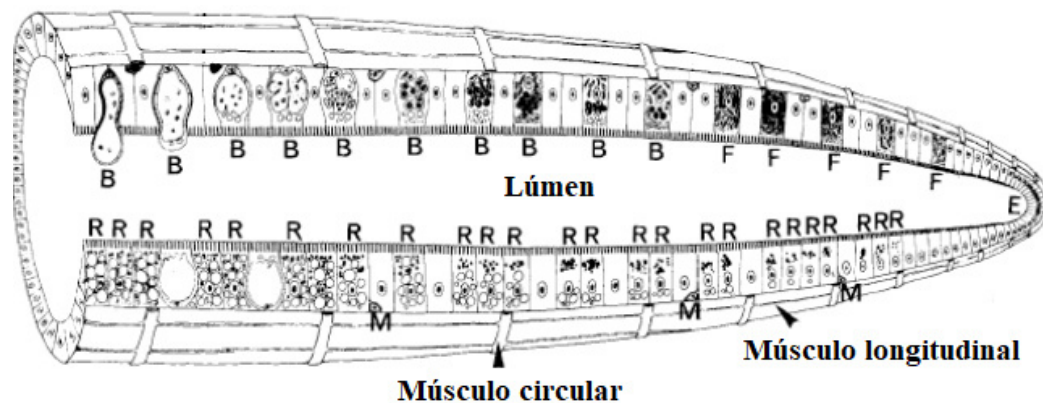
O hepatopâncreas é um dos principais órgãos do sistema digestório do camarão, é responsável pela síntese e secreção de enzimas digestivas, também absorve, acumula e metaboliza nutrientes importantes para o animal, além de servir de reserva energética e de manutenção das funções vitais (ilustrado na **Figura 9**). O hepatopâncreas possui cinco tipos de células: células embrionárias (E); células anãs (*meioget cells*) (M); células excretoras (B), que produzem enzimas digestivas; células de absorção e armazenamento (R) que captam os nutrientes da luz dos túbulos e sintetizam glicogênio e lipídeos; e células fibrilares (F) que sintetizam as enzimas digestivas e guardam como reservas (OSTRENSKY *et al.*, 2017) como está exemplificado na **Figura 10**. Sabendo disso, como método comparativo para análises histológica, a **Figura 11** mostra uma histologia do hepatopâncreas de camarão saudável.

**Figura 9** – Morfologia do hepatopâncreas do camarão.



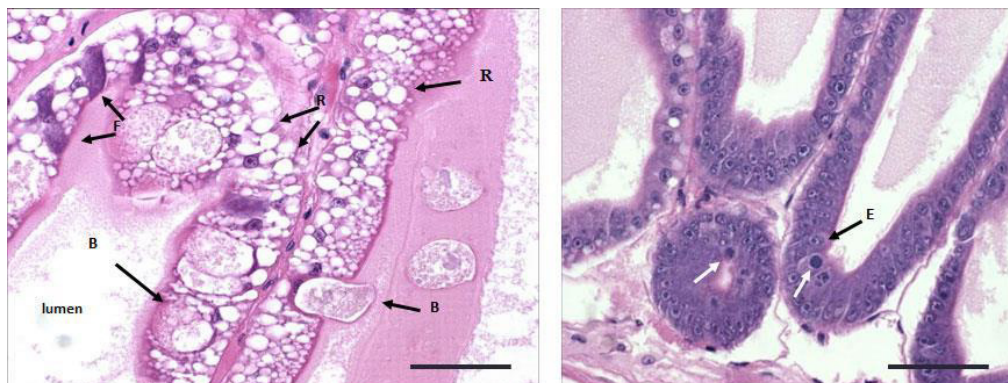
Fonte: Ostrensky *et al.* (2017).

**Figura 10** - Citologia funcional do hepatopâncreas de *P. semisulcatus*. A figura mostra a evolução celular da região distal (a direita) até a proximal do microtúbulo (a esquerda) em estágio inicial da pré-muda. As células destacadas são células excretoras (B), células fibrilares (F), células de absorção (R), células embrionárias (E) e células anãs (M).



Fonte: Al-Mohanna e Nott (1989).

**Figura 11** – Histologia do hepatopâncreas de camarão saudável apresentando as células excretoras (B), células fibrilares (F), células de absorção (R) e células embrionárias (E).

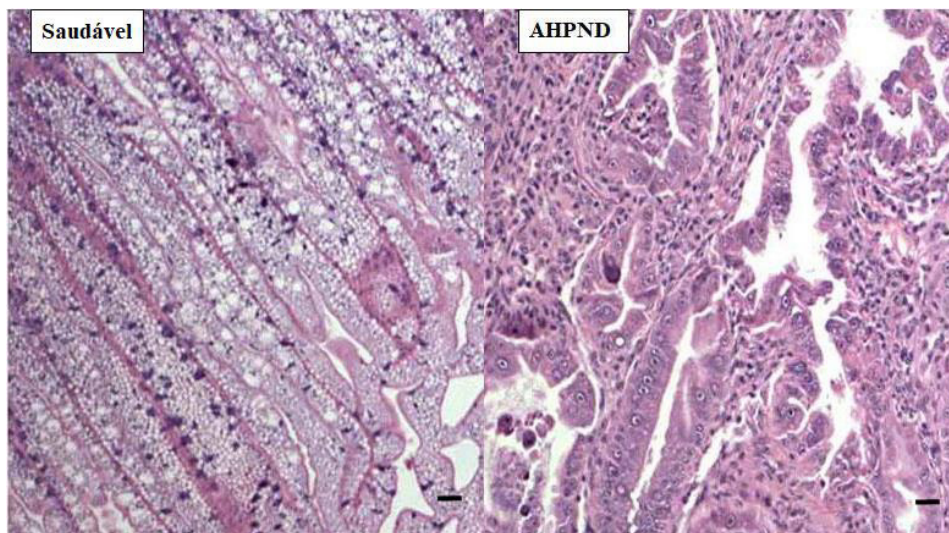


Fonte: NACA (2012).



Como descrito por Tran *et al.* (2013), as características histológicas da AHPND no estágio inicial ao intermediário são a descamação, a degeneração e o arredondamento maciço das células epiteliais dos túbulos hepatopancreáticos. Os estágios iniciais da AHPND são caracterizados por disfunção medial a distal das células blister (B), células fibrilares (F) e células absortivas (R), além de cariomegalia e pouca ou nenhuma atividade mitótica em células embrionárias (E). A **Figura 12** compara uma histologia do hepatopâncreas de um camarão saudável e outro infectado com AHPND e a **Figura 13** mostra o camarão doente em estágio inicial como descrito anteriormente.

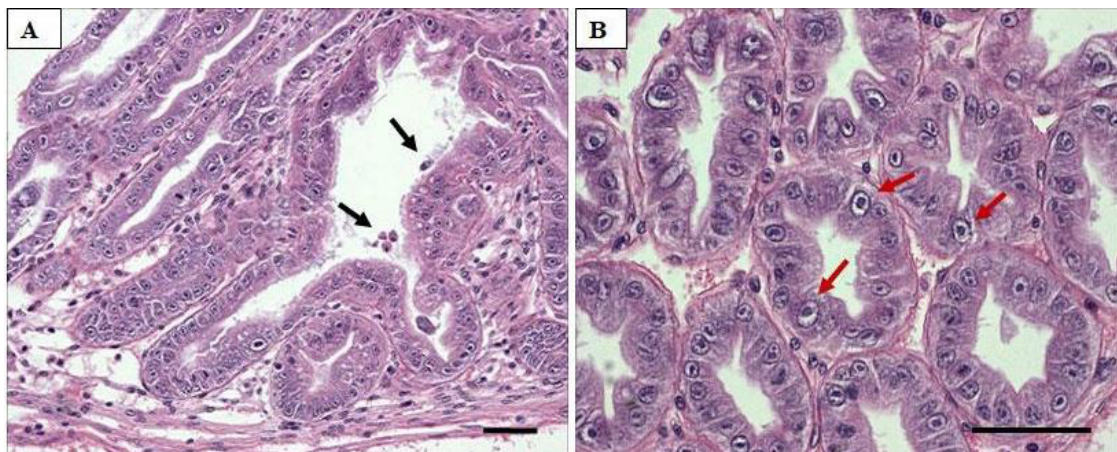
**Figura 12** – Comparação da histologia do hepatopâncreas de camarão saudável e outro afetado pela AHPND.



Fonte: NACA (2012).

**Figura 13** – Histologia do hepatopâncreas de camarão afetado pela AHPND em estágio inicial.

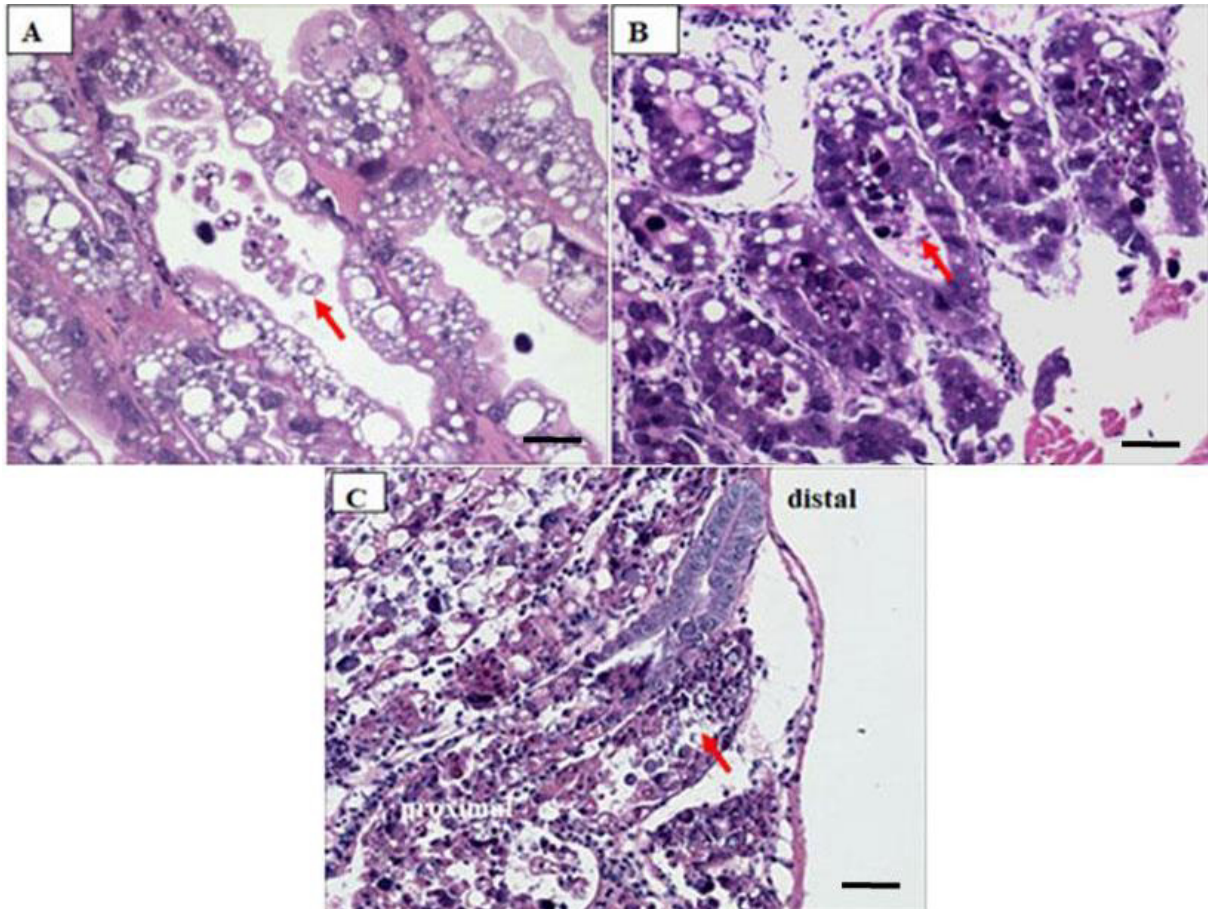
A) Setas mostrando descamação leve das células epiteliais B) Setas mostrando uma cariomegalia.



Fonte: NACA (2012).

Ressalta-se, também, que o estágio mais agudo é caracterizado por uma degeneração progressiva dos túbulos do hepatopâncreas de proximal para distal, com arredondamento, descamação maciça das células epiteliais, disfunção das células B, F e R, além da falta de atividade mitótica em células E (TRAN *et al.*, 2013). Todas essas características estão apresentadas na **Figura 14**.

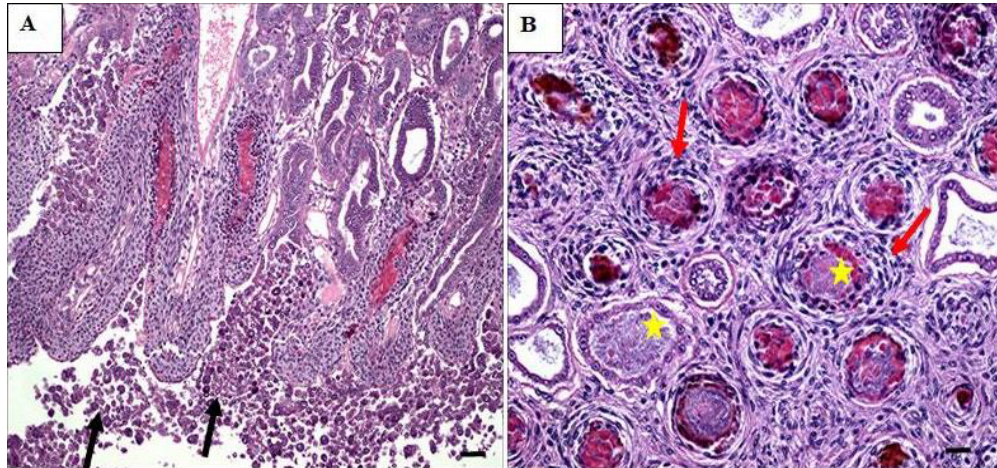
**Figura 14** – Histologia do hepatopâncreas de camarão afetado pela AHPND em fase aguda e as setas apresentam descamações das células epiteliais tubulares.



Fonte: NACA (2012).

Por fim, os estágios finais são caracterizados por grande agregação de hemócitos, com o aparecimento de granulomas melanizados e acompanhado de infestação de diferentes colônias bacterianas (TRAN *et al.*, 2013), apresentados na **Figura 15**. Após chegar nos estágios finais, as infecções de outras bactérias dificultam a análise precisa, mostrando-se difícil de distinguir a AHPND de outras patologias (HONG *et al.*, 2016).

**Figura 15** – Histologia do hepatopâncreas de camarão afetado pela AHPND na fase terminal. A) As setas apresentam descamações das células epiteliais tubulares, inflamação hemocítica proximal significativa e túbulos destruídos. B) As setas apresentam infiltração hemocítica extensa e estrelas mostram colonização bacteriana maciça em lúmens tubulares.



Fonte: NACA (2012).

#### 4.3.3 Análises moleculares

As análises histopatológicas fornecem bons resultados e possuem baixo custo para obtenção, entretanto, segundo a OIE (2019), as análises moleculares (PCR convencional, qPCR, PCR-LAMP) são mais recomendadas para a confirmação da doença. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma excelente ferramenta para detecção de patógenos de animais e pode ser utilizada para diagnosticar a AHPND em camarões, cepas bacterianas isoladas, efluentes e sedimentos de ambientes de cultivo. Nesse caso, faz-se utilização de *primers* específicos ou sondas para checar a presença do plasmídeo pVA, além da toxina binária *PirAB* (TINWONGGER *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2015; DANGTIP *et al.*, 2015; SIRIKHARIN *et al.*, 2015; HAN *et al.*, 2015b). A soma das análises presuntivas, histopatológicas e moleculares são de grande importância, pois no caso de realização das análises moleculares sem presença de sinais clínicos, influenciará em resultados de difícil interpretação por conta dos baixos níveis de produtos amplificados (OIE, 2019).

As técnicas moleculares possuem benefícios, como alta confiabilidade nos resultados, no entanto, um dos grandes entraves das técnicas moleculares são as instrumentações caríssimas e o tempo envolvido para obtenção dos resultados, mesmo com PCR multiplex em tempo real (CRUZ-FLORES *et al.*, 2019), os equipamentos não são acessíveis para produtores de camarão. Além da utilização de qPCR, outras técnicas já foram utilizadas como a PCR convencional (TINWONGGER *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2015; LAI *et al.*, 2015;

SIRIKHARIN *et al.*, 2015), *nested* PCR (nPCR) (DANGTIP *et al.*, 2015), amplificação da polimerase recombinante (RPA) e o método de amplificação meditada por loop (LAMP) (KOIwai *et al.*, 2015; KONGRUENG *et al.*, 2015).

O uso dos *primers* tem como objetivo detectar sequências específicas do DNA alvo. O primeiro registro de utilização de *primers* para detecção da AHPND foi em 2013 (FLEGEL; LO, 2013), com o uso do conjunto de *primers* AP1 e AP2. Os mesmos autores, no ano seguinte, utilizaram mais outro conjunto de *primers* (AP3), no entanto por conta de uma mutação do plasmídeo sem os genes das toxinas, o *primers* AP2 apresentou um resultado falso positivo (FLEGEL; LO, 2014). Em outro trabalho, utilizando os mesmos *primers*, Flegel (2014) e Soto-Rodriguez *et al.* (2015), demonstraram que os *primers* AP3 (mais recomendado) apresentaram maior sensibilidade para detecção da AHPND. Tinwongger *et al.* (2014) utilizaram um novo *primer* chamado de TUMSAT-Vp3, que visava as sequências de DNA da AHPND. O uso do método nPCR com o conjunto de *primers* AP4, utilizado por Dangtip *et al.* (2015), mostrou maior sensibilidade para detecção dos genes *PirA* e *PirB*.

Com o intuito de diminuir o tempo para obtenção do resultado, outros métodos alternativos são utilizados tanto em campo, como em laboratórios especializados. Um desses métodos alternativos é o que utiliza ensaios baseados em fluorescência, chamado de RPA, que foi capaz de detectar, na espécie *V. owensii*, 2 cópias de genes semelhantes à toxina *Pir* (LIU *et al.*, 2017). Outro método confiável e conveniente para a detecção é a LAMP, que gera resultados que podem ser facilmente interpretados adequados para detectar o início precoce da AHPND (KONGRUENG *et al.*, 2015). Visando o mesmo objetivo, Arunrut *et al.* (2016), desenvolveram outro método para detectar o gene *PirA* em sedimentos usando a LAMP em uma sonda *nanogold* marcada com ssDNA, que foi possível obter o resultado em menos de uma hora. Koiwai *et al.* (2018), apresentaram um método usando cromatografia de PCR em complemento com qPCR multiplex para identificar quatro doenças de camarão, dentre elas a AHPND. Os métodos mais recomendados utilizados estão apresentados na **Tabela 3**.

Existem outras tecnologias em desenvolvimento como os biosensores que podem servir para detectar patógenos, onde a detecção é baseada em respostas químicas (AHMED *et al.*, 2014), mecânicas (CHENG *et al.*, 2012), sinais elétricos (LUO; DAVIS, 2013) ou sinais ópticos (PIRES *et al.*, 2014) gerado pela interação com as proteínas e os ácidos nucleicos (OLUWASEUN *et al.*, 2018). Entretanto, até agora, nenhum biossensor foi desenvolvido para detecção da AHPND. Por último, outra metodologia importante, mas ainda não estudada para AHPND, é o DNA ambiental ou eDNA. O eDNA é realizado a partir de monitoramento de ambientes estuarinos, a fim de detectar e quantificar DNA de patógenos ou espécies invasoras

(BARNES *et al.*, 2014; FICETOLA *et al.*, 2008; GOLDBERG *et al.*, 2016).

**Tabela 3** – *Primers* utilizados em métodos moleculares para detecção da AHPND.

<b>Classificação</b>	<b>Primers (5'-3')</b>	<b>Tamanho</b>	<b>Referência</b>
PCR <i>primers</i> AP1	AP1F: CCTTGGGTGTGCTTAGAGGATG AP1R: GCAAACATATCGCGCAGAACACC	700 bp	Flegel e Lo (2013)
PCR <i>primers</i> AP2	AP2F: TCACCCGAATGCTCGCTTGTGG AP2R: CGTCGCTACTGTCTAGCTGAAG		
PCR <i>primers</i> 89F/R	89F: GTCGCTACTGTCTAGCTGAA 89R: ACGGCAAGACTTAGTGTACC	470 bp	Nunan <i>et al.</i> (2014)
PCR <i>primers</i> TUMSAT-Vp3	TUMSAT-Vp3 F: TGTTGCATAATTTTTGTGCA TUMSAT-Vp3 R: TGTACAGAAACCACGACTA	360 bp	Tinwongger <i>et al.</i> (2014)
PCR <i>primers</i> AP3	AP3-F: ATGAGTAACAATATAAAACATGAAAC AP3-R: GTGGTAATAGATTGTACAGAA	333 bp	Sirikharin <i>et al.</i> (2014)
PCR <i>primers</i> AP4	AP4-F1: ATGAGTAACAATATAAAACATGAAAC AP4-R1: ACGATTTTCGACGTTCCCAA	1269 bp	Dangtip <i>et al.</i> (2015)
	AP4-F2: TTGAGAATACGGGACGTGGG AP4-R2: GTTAGTCATGTGAGCACCTTC	230 bp	
PCR duplex <i>primers</i> VpPirAB	VpPirA-284F: TGACTATTCTCACGATTGGACTG VpPirA-284R: CACGACTAGCGCCATTGTTA	284 bp	Han <i>et al.</i> (2015c)
	VpPirB-392F: TGATGAAGTGATGGGTGCTC VpPirB-392R: TGTAAGCGCCGTTTAACTCA	392 bp	
qPCR <i>primers</i> VpPirA	VpPirA_F: TTGGACTGTGCAACCAAACG VpPirA_R: GCACCCCATTTGGTATTGAATG	135 bp	
	SONDA: AGACAGCAAACATACACCTATCATCC CGCA		
PCR LAMP-A3	FIB: GTATTGAATGGTAAGCTCCCCGGAAGTCG GTCGTAGTGT	40 bp	Kongrueng <i>et al.</i> (2015)
	BIP: AATGGGGTGCGCCATTTATGAAGTTTCAT CACGTTGTACC	40 bp	
	F3: GCAAACATACACCTATCATCC	21 bp	
	B3: GCATTATCAGGGCGTTGT	18 bp	
	LF: ACGTCCCCTATTCTCAATGTCT	22 bp	
	LB: GCTGGCGCTGGAAAGT	17 bp	
PCR LAMP- AuNP	F3-EMS: GTGCAATTTAATAGGAGAACATC	23 bp	Arunrut <i>et al.</i> (2016)
	B3-EMS: GAATGGTAAGCTCCCCAC	18 bp	
	FIP-EMS: CGTTTGGTTCGACAGTCCAATTTTTA TGAGTAACAATATAAAACATGA	48 bp	
	BIP-EMS: GAGGCGTCACAGAAGTAGACATTTT CCCGTATTCTCAATGTCTACAC	47 bp	
	LF-EMS: CGTGAGAATAGTCAGTT	17 bp	
	LB-EMS: ACATACACCTATCATCCCCGGAAG	23 bp	
PCR LAMP- AHPND	SONDA-THIOL-EMS: (SH) <sub>10</sub> -ATCATCCCCGGAAG GTCGGTTCG	30 bp	Koiwai <i>et al.</i> (2016)
	F3: TGATAATGCATTCTATCATCAGC	23 bp	
	B3: ATTTGAAAGACCAAATGAAACC	22 bp	
	F1c: GTGAGCACCTTCTTAGTGGTAA	24 bp	
	F2: GTTGTAATTAACAATGGCGCTAG	23 bp	
B1c: TGACGGAATTTAACCCCTAACAAATGC	25 bp		
B2: GCTTTGAAAGCATAGTTAGGATC	23 bp		

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

## 4.4 Controle sanitário para AHPND

### 4.4.1 Estratégias para diminuir a disseminação de AHPND

Conforme ressalta a OIE (2019a), quando ocorre algum surto de doenças relacionadas ao camarão que sejam de notificação obrigatória, a tarefa inicial é diagnosticar a doença utilizando os métodos recomendados e notificá-la para que os órgãos responsáveis possam aplicar políticas e técnicas adequadas para tal ocasião. Feito isto, existem outros objetivos para controlar o avanço da doença, são eles: erradicar a doença sempre que possível; e prevenir a propagação da doença para outros ambientes.

O primeiro passo que pode ser implementado após a suspeita ou diagnóstico da AHPND é realizar uma quarentena do ambiente e restringir entrada e saída do local afetado. Com isso é proibido a venda de camarão vivo e fresco (resfriado no gelo) de fazendas ou áreas afetadas por AHPND para áreas livres. Outras restrições e controles são recomendados a serem seguidas, como: realizar despescas; lançamento de efluentes; se possível realizar um controle do acesso de aves marinhas, peixes e outros crustáceos; e realizar o descarte correto dos camarões doentes (TANG *et al.*, 2020). A OIE (2019a) ainda reforça, que se faz necessário o rastreamento de outras áreas ou fazendas afetadas na região.

Os métodos de descartes e desinfecção das fazendas afetadas, dependerá muito do país ou estado que ocorreu o surto. Entretanto, segundo a OIE (2019a), algumas regras gerais devem ser seguidas: o abate dos camarões deve ser higiênico, humanizado e devem ser mantidas afastadas as aves marinhas; se possível enterrar os camarões afetados em locais distantes de áreas de cultivo; e por último incineração dos lotes afetados. Segundo a FAO (2013), a água do ambiente deve ser desinfetada com cloro a uma concentração de 50 ppm e retida por no mínimo quatro dias antes do descarte, da mesma forma para equipamentos utilizados e as superfícies dos tanques. Já para desinfecção do sedimento é recomendado aplicar cal virgem (6 ton/ha no mínimo), arar o solo para mistura de suas camadas e secar ao sol por no mínimo dois meses.

Um das principais hipóteses da disseminação da AHPND pelo mundo é o comércio internacional de camarões vivos (pós-larvas, reprodutores), camarão fresco (resfriado no gelo) e insumos aquícolas (FAO, 2013; OIE, 2019a; OIE, 2019b; NACA, 2012). Outro fator importante que deve ser considerado, é a comercialização e importação de camarões ornamentais pelo mundo, que podem apresentar AHPND (CHOI *et al.*, 2019). Em consequência, países que apresentam histórico de notificações da AHPND, devem estabelecer condições aos

países-alvo de importação, além da exigência de certificação de que está livre do patógeno.

A divulgação científica teve grande importância para o entendimento da AHPND. Essas ações partiram de Organizações Internacionais e Regionais de países afetados. Primeiramente, no ano de 2012, a Rede de Centros de Aquicultura na Ásia-Pacífico (NACA) listou a AHPND como reportável pelos países membros. No ano de 2013, a Organização Internacional Regional de Proteção Vegetal e Saúde Animal (OIRSA) realizou palestras virtuais com membros dos países membros com o objetivo de prevenir a entrada do patógeno na região e a FAO em conjunto com a OIE, organizaram e financiaram diversas comissões, eventos e capacitações com epidemiologistas para realizarem pesquisas com o objetivo de reduzir e gerenciar o risco da AHPND (BONDAD-REANTASO, 2016). No Brasil, no ano de 2017, na Feira Nacional do Camarão (FENACAM) foi apresentado o impacto da AHPND no mundo e a condição atual do país em relação a doença (ABCC *et al.*, 2017).

#### **4.4.2 Boas práticas aquícolas**

As perdas econômicas geradas pelas enfermidades no setor da carcinicultura, principalmente pelas doenças virais (WSSV, IMNV) (LIGHTNER *et al.*, 1996) são enormes mundialmente. Como efeito disso, para reduzir os impactos gerados pelas doenças, foi necessário realizar mudanças estruturais e nos manejos em busca de uma maior biossegurança (LIGHTNER *et al.*, 2012). O controle dos fatores ambientais influencia diretamente no crescimento de espécies do gênero *Vibrio*, principalmente elevadas temperaturas (30 a 37 °C), o acúmulo da matéria orgânica e as flutuações de salinidade nos ambientes de cultivo (ICMSF, 1996). Com os impactos das doenças, as fazendas começaram a adotar outras tecnologias para minimizar o problema, como a utilização de estufas (MCABEE *et al.*, 2003) e conseqüentemente o aumento das densidades de estocagem para justificar os investimentos (SAMOCHA *et al.*, 2017). No entanto, o gerenciamento incorreto da estufa, pode ocasionar o aumento da temperatura da água (acima de 30 °C) e favorecer o desenvolvimento de *Vibrio* spp.

Com o passar do tempo, as mudanças e adaptações dos sistemas aquícolas começaram a fazer parte do cotidiano dos produtores. Alguns manuais foram preparados por organizações internacionais (FAO, OIRSA, NACA) e nacionais (ABCC) com o intuito de auxiliar os produtores da forma mais correta para a diminuição de surtos. As alterações se deram a partir da instalação de sistemas semifechado ou de recirculação, que estão incluídos bacias de sedimentação para tratamento de água, filtros biológicos e alteração no tamanho dos viveiros de cultivo (TANG *et al.*, 2020). A implantação da drenagem do tipo central (*toilette*) e de

sistemas *raceways*, ambiente de tamanho reduzido denominada como fase de berçário é outra inovação importante para os sistemas de cultivo (NUNES, 2019). Somado a isso, é de grande importância realizar o monitoramento dos parâmetros de qualidade de água como: temperatura (ideal de 26 a 30 °C), salinidade (ideal de 15 a 25 g/L), oxigênio dissolvido (a cima de 5 mg/L), transparência (ideal entre 35 e 50 cm), alcalinidade (ideal acima de 120 mg/L), dureza (ideal entre 140 a 1000 mg/L), amônia (menor que 0,1 mg/L), nitrito (menor que 1 mg/L) e gás sulfídrico (menor que 0,001 mg/L) (BOYD, 1989). A **Tabela 5** mostra as alterações estruturais realizadas após os impactos da AHPND.

**Tabela 5** – Diferenças estruturais de sistemas intensivos antes e depois da AHPND.

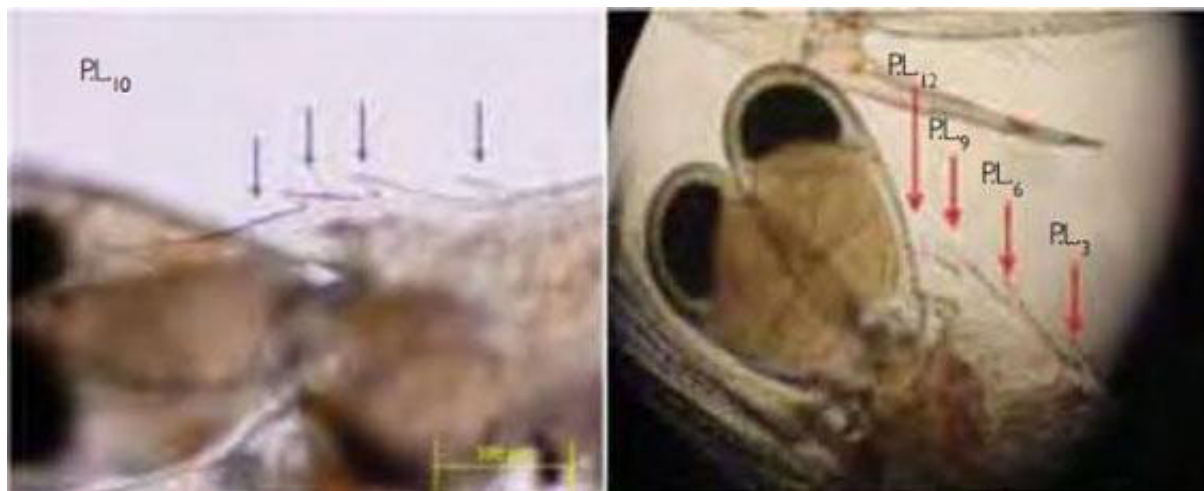
<b>Informações dos sistemas</b>	<b>Sistemas intensivos antes da AHPND</b>	<b>Sistemas intensivos após AHPND</b>
Tamanho	10.000 m <sup>2</sup>	1.000 – 4.000 m <sup>2</sup>
Formato	Retangular	Quadrado
Profundidade	1,0 – 1,5 m	1,5 – 2,5 m
Revestimento do fundo	Solo sem revestimento	Revestido com PEAD
Aeração	20 – 40 hp/ha	55 – 75 hp/ha
Drenagem	Comporta lateral	Dreno central ( <i>toilette</i> )
Policultivo em bacias	Nenhum	Uso de tilápias
Frequência alimentar	4 – 5 vezes por dia	Mais de 12 vezes por dia (alimentador automático)
Densidade de estocagem	1 – 2 kg/m <sup>2</sup>	3 – 4 kg/m <sup>2</sup>

**Fonte:** Kawahigashi, 2018.

Antes do início do novo ciclo, a escolha de um lote de pós-larvas livre de enfermidade resultará em alta probabilidade de sucesso no cultivo. Alguns fatores devem ser avaliados no momento da compra, dentre eles estão: a idade da pós-larva (mínimo PL12) (**Figura 16**); se possível diagnosticar a presença de patógeno por meio de análises de PCR; uniformidade do lote; relação entre a largura do musculo ventral e a largura da porção do intestino (ideal 3:1); e teste de estresse osmótico com sobrevivência superior a 95% (ABCC, 2014; TANG *et al.*, 2020). Por fim, alguns estudos relatam a importância do tratamento da água antes e após o cultivo e o uso de nanobolhas de ozônio se mostrou eficaz para eliminar 100% dos *V. parahaemolyticus* em água do mar (IMAIZUMI *et al.*, 2018). O monitoramento da densidade bacteriana deve ser constante e se manter em até 10<sup>4</sup> UFC/mL, entretanto, essa concentração ideal dependerá muito das espécies presentes no ambiente (TANG *et al.*, 2020).



**Figura 16** – Análise da idade das pós-larvas de camarão pela formação de espinhos no rosto.



Fonte: GAA, 2013.

#### 4.4.3 Uso de antibióticos

Em geral, agentes bacterianos, tradicionalmente, são tratados com antibióticos. No entanto, o uso indiscriminado de antibiótico é problemático podendo causar contaminação do meio ambiente, pode afetar bactérias benéficas, gera uma pressão seletiva resultando transferência de genes resistentes entre bactérias (KEHRENBURG *et al.*, 2001) e em consequência, o aumento da resistência das bactérias por antimicrobianos. Alguns países da Ásia, já afetados pela AHPND, permitem o uso de alguns antibióticos como: tetraciclina, oxitetraciclina, sulfonamidas, quinolonas e trimetoprima (YONO *et al.*, 2014). No entanto, o Vietnã proíbe o uso de alguns antibióticos como: cloranfenicol, ciprofloxacina, enrofloxacina e nitrofuranos (VMARD, 2016).

Lai *et al.* (2015) testaram a resistência de quatro cepas de *V. parahaemolyticus* com AHPND a antibióticos, e os resultados mostraram que a maioria foi considerada resistentes a cinco antibióticos e todas as quatro cepas apresentaram forte sensibilidade à tetraciclina. Outro trabalho mostrou que nove cepas de *V. parahaemolyticus* com AHPND (México e Vietnã) eram resistentes à ampicilina e duas cepas eram resistentes à tetraciclina (HAN *et al.*, 2015c). Dong *et al.* (2017c) apresentaram que duas cepas de *V. parahaemolyticus* com AHPND eram resistentes a uma gama de antibióticos. Dessa forma, a resistência aos antibióticos é uma grande preocupação e é necessário mais estudos para entender os impactos do uso do medicamento em ambientes de cultivos afetados pela AHPND.

#### 4.4.4 Uso de probióticos e imunostimulantes

Yu *et al.* (2018) e Yao *et al.* (2018) realizaram estudos recentes sobre a modulação da diversidade da microbiota intestinal de camarões afetados por AHPND. Os resultados mostraram que, em camarões saudáveis, as classes de bactérias presentes no intestino eram *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* e *Bacteriodes*, e em camarões afetados pela AHPND a ordem *Vibrionales* (*Gammaproteobacteria*) era mais presente no intestino do animal. Esses resultados mostraram a capacidade de mudança na diversidade bacteriana no intestino dos camarões após serem infectados e como as variações ambientais, bem como na dieta, podem influenciar a composição da microbiota intestinal.

O estudo da microbiota do ambiente do cultivo e da microbiota intestinal de camarões marinho é um assunto de grande importância atualmente. Apesar das perdas econômicas geradas pelas patologias na aquicultura em geral, o setor tem se inovado na utilização de novas técnicas para minimizar esses problemas, uma delas que vem ganhando espaço é o uso de probióticos, principalmente pelos efeitos positivos que causam, como: melhora na saúde, no desempenho zootécnico, na qualidade de água e a possível substituição do uso de antibióticos (KUMAR *et al.*, 2013; ABCC, 2014; BERNAL *et al.*, 2017). Para reduzir os efeitos da AHPND se faz necessário o equilíbrio entre algas e bactérias no ambiente de cultivo e no trato digestivo do animal (AGUILERA-RIVERA *et al.*, 2014; ZORRIEZHARA; BANAEDERAKHSHAN, 2015).

Pinoargote *et al.* (2018) realizaram o tratamento contra a AHPND com o uso de cepas bacterianas probióticas (*Lactobacillus casei* e *Rhodopseudomonas palustres*) e uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), onde o uso da *S. cerevisiae* apresentou maior sobrevivência e se mantendo no trato intestinal do camarão. Chomwong *et al.* (2018) relataram que bactérias ácido lácticas, *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis*, exibiram atividade antimicrobiana, foram capazes de se aderirem no intestino e proteger os camarões infectados por AHPND. E outros estudos afirmam que as bactérias do gênero *Lactobacillus* spp. estão mais presentes em camarões saudáveis, mostrando a importância da utilização dessas bactérias (NGUYEN *et al.*, 2018; YU *et al.*, 2018; YAO *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2018).

Os grupos de *Bacillus* spp. também foram testados. Cai *et al.* (2019) identificaram duas cepas bacterianas com probióticas, *Bacillus licheniformis* e *B. flexus*, que toleram a sais biliares, estresse gastrointestinal, exibindo capacidade antibacteriana contra *Vibrio* spp e resultando em melhor crescimento e resistência a doenças. O uso de *L. pentosus*, *L. fermentum*, *B. subtilis* e *S. cerevisiae* suplementadas em alimentação, também apresentou eficácia contra *V.*

*alginolyticus* (WANG *et al.*, 2019).

Os probióticos também podem atuar no aumento da imunidade do camarão (CAI *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2019), entretanto existem agentes específicos imunoestimulantes. O sistema imunológico do camarão é considerado inato, não possuindo memória imunológica e assim, impedindo o uso de vacinas contra os patógenos (SMITH; CHISHOLM, 1992). No entanto, o sistema imune do camarão, através de processos celulares e humorais, responde a possíveis invasores que possam prejudicá-lo. Apesar de não possuir vacinas para camarões, existem linhas de pesquisas que trabalham com toxina semelhante a *PirA* recombinante, na qual após desafio com *V. parahaemolyticus* mostrou aumento na sobrevivência (CAMPA-CORDOVA *et al.*, 2017).

O uso de nanopartículas de ouro, suplementado na ração e ofertadas para camarões, levaram ao aumento da expressão dos genes relacionados ao sistema imunológico, *TLR3* e *proPO*, após desafio com *V. parahaemolyticus* e aumentando também a taxa de sobrevivência (TELLO-OLEA *et al.*, 2019). O uso da hemocianina de camarões também foi testado contra a AHPND, na qual foi isolada, purificada e aplicada em camarões desafiados e os resultados mostraram a neutralização da toxina *PirA* e o aumento da sobrevivência (BOONCHUEN *et al.*, 2018). Em outra pesquisa, realizaram imunização em galinhas com as toxinas recombinantes *PirA*-like e *PirB*-like, com isso foi obtivo ovos contendo IgY anti-*PirAB*-like e posteriormente aplicado na dieta aumentando a sobrevivência dos camarões desafiados com AHPND (NAKAMURA *et al.*, 2019). No ano de 2018 e 2019, Pedrosa-Gerasmio *et al.*, suplementaram ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) em rações em três doses diferentes, que melhoraram a taxa de sobrevivência, aumentou a expressão dos genes imunológicos e melhorou o metabolismo energético aeróbio dos camarões desafiados com *V. parahaemolyticus*.

#### 4.4.5 Uso de terapia fágica

O uso de bacteriófago é bastante promissor na aquicultura, principalmente para prevenção e tratamento contra *Vibrio* spp (KALATZIS *et al.*, 2018). Foi utilizada pela primeira vez no Japão para combater a bactéria *Lactococcus garvieae* (NAKAI *et al.*, 1999). Lomeli-Ortega e Martínez-Díaz (2014) avaliaram o uso de dois fagos líticos, A3S e Vp1, que foram ofertados após 6 horas de infecção e os resultados mostraram uma queda na mortalidade por *V. parahaemolyticus* em *L. vannamei*. Jun *et al.* (2018) realizaram também um tratamento profilático com fago pVP-1 que apresentou eficácia na redução da mortalidade de camarões após desafio com *V. parahaemolyticus*.

Extratos de plantas e microalgas também possuem propriedades antibacterianas contra bactérias causadoras da AHPND. Após a aplicação de uma mistura de óleos essenciais de 10 plantas diferentes na ração, os camarões não apresentaram sinais clínicos graves de AHPND após a infecção com *V. parahaemolyticus* (JHA *et al.*, 2016). E camarões alimentados com microalga rica em caroteno, *Dunalelia* spp., após o desafio com *V. parahaemolyticus* tiveram maior taxa de sobrevivência (MEDINA-FELIX *et al.*, 2017).

#### 4.5 Perspectivas Futuras

Lightner (1996) classificou as principais espécies de *Vibrio* que apresentam risco para a carcinicultura mundial: *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbellii*, *V. carchariae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. ordalli*, *V. parahaemolyticus*, *V. salmonicida*, *V. splendidus* e *V. vulnificus*. Alguns trabalhos brasileiros mostram a presença da grande maioria das bactérias associadas a carcinicultura (LIMA, 2007; VIEIRA *et al.*, 2012; MURATORI *et al.*, 2014; MENDES *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2009). Isso mostra a importância do monitoramento e diagnóstico de possíveis agentes causadores da AHPND em áreas de cultivo e em populações selvagens próximas aos polos produtivos. É necessário realizar a criação de programas governamentais e em associações relacionadas a carcinicultura para prevenir qualquer risco de surto da AHPND no Brasil (TANG *et al.*, 2020).

O uso de probiótico já se popularizou na aquicultura nacional, onde diversas camadas produtivas entendem os benefícios do uso para uma melhor produtividade (ABCC, 2014). O aumento da oferta de probióticos no mercado também ajudou nesse processo. Segundo a ABCC (2014), são diversas as bactérias probióticas utilizadas no Brasil, dentre elas estão descritas: *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. clausii* e *B. megaterium*, além da presença de leveduras como a *Saccharomyces* spp. A maioria das bactérias probióticas e leveduras comentadas anteriormente, foram relatadas como eficientes no combate de bactérias do gênero *Vibrio*, principalmente associados a AHPND (DE NEGREIROS; SANTOS, 2015; CHOMWONG *et al.*, 2018; NGUYEN *et al.*, 2018; YU *et al.*, 2018; YAO *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2018; CAI *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2019).

Uma opção que não pode ser descartada é o uso de camarões livres de patógenos (SPF) ou resistentes a patógenos (SPR) a partir do uso de melhoramento genético na fase de larvicultura. Mesmo em regiões afetadas por AHPND, fazenda desinfectadas podem retornar o cultivo e optarem por usar pós-larvas SPF ou SPR de laboratórios confiáveis (ALDAY-SANZ, 2018).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde o início do surto da AHPND, os esforços foram enormes em todo mundo, gerando muitas informações relevantes para o entendimento sobre a doença. Foram desenvolvidas técnicas para diagnóstico a partir de sinais clínicos, histologia e biologia molecular. Além disso, os estudos mostraram que o *Vibrio parahaemolyticus* não era o único agente etiológico. Com o auxílio das divulgações científicas e apoio das autoridades responsáveis das regiões afetadas, foi possível montar estratégias de controle e prevenção da patologia, junto com alterações e inovações nas estruturas e nas boas práticas de manejo utilizada antes do surto.

Faz-se necessário investigar detalhadamente a dinâmica das comunidades bacterianas em viveiros de camarão e em ecossistemas aquáticos próximos. Também é possível imaginar que a carcinicultura brasileira pode ser afetada pela doença, contudo, muitos manejos recomendados para prevenção da AHPND, usados em países afetados pela doença, já são utilizados no Brasil. A partir disso, por ser uma doença emergente e recente, outros trabalhos devem ser desenvolvidos principalmente sobre diagnósticos mais rápidos e precisos, novos manejos preventivos e monitoramento ambiental constante.

## REFERÊNCIAS

ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **As dores e as oportunidades para o carcinicultor no mercado pós pandemia.** Natal, 2014. Disponível em: <<https://abccam.com.br/wp-content/uploads/2020/11/ARTIGO-RODRIGO-CARVALHO-REVISTA-ABCC-ED.-DIG.-JULHO-2020.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2021.

ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **Manual de boas práticas de manejo e biossegurança.** Natal, 2014. Disponível em: <<https://abccam.com.br/2014/01/manual-de-boas-praticas-de-manejo-e-biosseguranca-abcc-2/>>. Acesso em: 20 mar. 2021.

ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **Patógenos Emergentes na Indústria de Camarão na América Latina.** Natal, 2017. Disponível em: <<http://www.fenacam.com.br/download/public/programacao/download/47/3%20Pat%C3%B3genos%20Emergentes%20na%20Industria%20de%20Camar%C3%A3o%20na%20Am%C3%A9rica%20Latina%20-%20Thales%20Andrade%20-%20UEMA.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2021.

ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **As Dores e as Oportunidades para o Carcinicultor no Mercado Pós Pandemia.** Natal, 2020. Disponível em: <<https://abccam.com.br/wp-content/uploads/2020/11/ARTIGO-RODRIGO-CARVALHO-REVISTA-ABCC-ED.-DIG.-JULHO-2020.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2021.

ADAMS, A. Response of penaeid shrimp to exposure to *Vibrio* species. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 1, n. 1, p. 59-70, 1991.

AGUILERA-RIVERA, D.; PRIETO-DAVÓ, A.; ESCALANTE, K.; CHÁVEZ, C.; CUZON, G.; GAXIOLA, G. Probiotic effect of FLOC on *Vibrios* in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 424, p. 215-219, 2014.

AGUIRRE-GUZMÁN, Gabriel; VÁZQUEZ-JUÁREZ, Ricardo; ASCENCIO, Felipe. Differences in the susceptibility of American white shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species. **Journal of invertebrate pathology**, v. 78, n. 4, p. 215-219, 2001.

AHMED, K. B. A.; KALLA, D.; UPPULURI, K. B.; ANBAZHAGAN, V. Green synthesis of silver and gold nanoparticles employing levan, a biopolymer from *Acetobacter xylinum* NCIM 2526, as a reducing agent and capping agent. **Carbohydrate polymers**, v. 112, p. 539-545, 2014.

AHN, Y. S.; PIAMSOMBOON, P.; TANG, K. F.; HAN, J. E.; KIM, J. H. Complete genome sequence of acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio campbellii* LA16-V1,

isolated from *Penaeus vannamei* cultured in a Latin American country. **Genome announcements**, v. 5, n. 37, 2017.

AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biology**, v. 101, n. 4, p. 535-544, 1989.

ARANGUREN, L. F.; HAN, J. E.; TANG, K. F. J. *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*. **Aquaculture**, v. 471, p. 37-42, 2017.

ARUNRUT, N.; KAMPEERA, J.; SIRITHAMMAJAK, S.; SANGUANRUT, P.; PROESPRAIWONG, P.; SUEBSING, R.; KIATPATHOMCHAI, W. Sensitive visual detection of AHPND bacteria using loop-mediated isothermal amplification combined with DNA-functionalized gold nanoparticles as probes. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0151769, 2016.

BARNES, M. A.; TURNER, C. R.; JERDE, C. L.; RENSHAW, M. A.; CHADDERTON, W. L.; LODGE, D. M. Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 3, p. 1819-1827, 2014.

BELL, T. A.; LIGHTNER, D. V. **A handbook of normal penaeid shrimp histology**. 1988.

BELL, T. A.; LIGHTNER, D. V.; BROCK, J. A. A biopsy procedure for the nondestructive determination of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) infection in *Penaeus vannamei*. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 2, n. 2, p. 151-153, 1990.

BERNAL, M. G.; MARRERO, R. M.; CAMPA-CÓRDOVA, Á. I.; MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M. Probiotic effect of *Streptomyces* strains alone or in combination with *Bacillus* and *Lactobacillus* in juveniles of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture International**, v. 25, n. 2, p. 927-939, 2017.

BONDAD-REANTASO, M. G.; MCGLADDERY, S. E.; EAST, I.; SUBASINGHE, R. P. Asia diagnostic guide to aquatic animal diseases. 2001.

BONDAD-REANTASO, M. **Addressing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and other transboundary diseases for improved aquatic animal health in Southeast Asia: Proceedings of the ASEAN Regional Technical Consultation on EMS/AHPND and Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast Asia, 22-24 February 2016, Makati City, Philippines**. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, 2016.

BOONCHUEN, P.; JAREE, P.; TASSANAKAJON, A.; SOMBOONWIWAT, K. Hemocyanin of *Litopenaeus vannamei* agglutinates *Vibrio parahaemolyticus* AHPND (VPAHPND) and neutralizes its toxin. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 84, p. 371-381, 2018.



BOYD, Claude E. Water quality management and aeration in shrimp farming. 1989.

CAI, Y.; YUAN, W.; WANG, S.; GUO, W.; LI, A.; WU, Y.; ZHOU, Y. In vitro screening of putative probiotics and their dual beneficial effects: To white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae and to the rearing water. **Aquaculture**, v. 498, p. 61-71, 2019.

CAMPA-CÓRDOVA, A. I.; LEÓN-GALLO, A. F.; ROMERO-MALDONADO, A.; IBARRA-SERRANO, A. C.; ROSALES-MENDOZA, S.; HIRONO, I.; ANGULO, C. Recombinant PirA-like toxin protects shrimp against challenge with *Vibrio parahaemolyticus*, the aetiological agent of acute hepatopancreatic necrosis disease. **Journal of fish diseases**, v. 40, n. 11, p. 1725-1729, 2017.

CHEN, W. Y.; NG, T. H.; WU, J. H.; CHEN, J. W.; & WANG, H. C. Microbiome dynamics in a shrimp grow-out pond with possible outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017.

CHENG, C. I.; CHANG, Y. P.; CHU, Y. H. Biomolecular interactions and tools for their recognition: focus on the quartz crystal microbalance and its diverse surface chemistries and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 5, p. 1947-1971, 2012.

CHOI, H. J.; KWON, H. C.; JUNG, H. J.; KANG, Y. J. Survey of viral and bacterial pathogens in ornamental aquatic crustaceans imported into South Korea. **Aquaculture**, v. 495, p. 668-674, 2018.

CHOMWONG, S.; CHAROENSAPSRI, W.; AMPARYUP, P.; TASSANAKAJON, A. Two host gut-derived lactic acid bacteria activate the proPO system and increase resistance to an AHPND-causing strain of *Vibrio parahaemolyticus* in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 89, p. 54-65, 2018.

CHONSIN, K.; MATSUDA, S.; THEETHAKAEW, C.; KODAMA, T.; JUNJHON, J.; SUZUKI, Y.; IIDA, T. Genetic diversity of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from farmed Pacific white shrimp and ambient pond water affected by acute hepatopancreatic necrosis disease outbreak in Thailand. **FEMS Microbiology Letters**, v. 363, n. 2, 2016.

COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; DOS FERNANDES VIEIRA, R. H. S.; SAMPAIO, S. S. *Vibrio* em amostras de água de viveiros de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, no Ceará-Brasil. **Atlântica (Rio Grande)**, v. 31, n. 2, p. 177-182, 2009.

CRUZ-FLORES, R.; MAI, H. N.; DHAR, A. K. Multiplex SYBR Green and duplex TaqMan real-time PCR assays for the detection of *Photobacterium* Insect-Related (*Pir*) toxin genes *pirA* and *pirB*. **Molecular and cellular probes**, v. 43, p. 20-28, 2019.

CUÉLLAR-ANJEL, Jorge. Síndrome de mortalidad temprana (EMS). **Institute for International Cooperation in Animal Biologics**, v. 1, p. 1-7, 2013.

CZYZ, A.; WRÓBEL, B.; WEGRZYN, G. *Vibrio harveyi* bioluminescence plays a role in stimulation of DNA repair. We would like to dedicate this paper to the memory of Karol Taylor, who introduced *V. harveyi* projects to our laboratories. **Microbiology**, v. 146, n. 2, p. 283-288, 2000.

DABU, I. M.; LIM, J. J.; ARABIT, P. M. T.; ORENSE, S. J. A. B.; TABARDILLO JR, J. A.; CORRE JR, V. L.; MANINGAS, M. B. B. The first record of acute hepatopancreatic necrosis disease in the Philippines. **Aquaculture research**, v. 48, n. 3, p. 792-799, 2017.

DANGTIP, S.; SIRIKHARIN, R.; SANGUANRUT, P.; THITAMADEE, S.; SRITUNYALUCKSANA, K.; TAENGCHAIYAPHUM, S.; FLEGEL, T. W. AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. **Aquaculture Reports**, v. 2, p. 158-162, 2015.

DE NEGREIROS, L. M. S.; SANTOS, D. B. Doenças microbianas na carcinicultura brasileira: uma revisão. **Carpe Diem: Revista Cultural e Científica do UNIFACEX**, v. 13, n. 1, p. 107-124, 2015.

DESRINA, J. V.; VERDEGEM, M. C. J.; VLAK, J. M. Polychaetes as potential risks for shrimp pathogen transmission. **Asian Fisheries Science S**, v. 31, p. 155-167, 2018.

DEVADAS, S.; BANERJEE, S.; YUSOFF, F. M.; BHASSU, S.; SHARIFF, M. Experimental methodologies and diagnostic procedures for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Aquaculture**, v. 499, p. 389-400, 2019.

DHAR, A. K.; PIAMSOMBOON, P.; CARO, L. F. A.; KANRAR, S.; ADAMI JR, R.; JUAN, Y. S. First report of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) occurring in the USA. **Diseases of aquatic organisms**, v. 132, n. 3, p. 241-247, 2019.

DONG, X.; BI, D.; WANG, H.; ZOU, P.; XIE, G.; WAN, X.; HUANG, J. *pirABvp*-bearing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio campbellii* pathogens isolated from the same AHPND-affected pond possess highly similar pathogenic plasmids. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1859, 2017c.

DONG, X.; CHEN, J.; SONG, J.; WANG, H.; WANG, W.; REN, Y.; HUANG, J. Evidence of the horizontal transfer of pVA1-type plasmid from AHPND-causing *V. campbellii* to non-AHPND *V. owensii*. **Aquaculture**, v. 503, p. 396-402, 2019.

DONG, X.; WANG, H.; XIE, G.; ZOU, P.; GUO, C.; LIANG, Y.; & HUANG, J. An isolate of *Vibrio campbellii* carrying the *pirVP* gene causes acute hepatopancreatic necrosis disease. **Emerging microbes & infections**, v. 6, n. 1, p. 1-3, 2017a.

DONG, X.; WANG, H.; ZOU, P.; CHEN, J.; LIU, Z.; WANG, X.; HUANG, J. Complete genome sequence of *Vibrio campbellii* strain 20130629003S01 isolated from shrimp with acute hepatopancreatic necrosis disease. **Gut pathogens**, v. 9, n. 1, p. 1-5, 2017b.

ELSTON, R.; ELLIOT, ELISA L.; COLWELL, R. R. Conchiolin infection and surface coating *Vibrio*: shell fragility, growth depression and mortalities in cultured oysters and clams, *Crassostrea virginica*, *Ostrea edulis* and *Mercenaria mercenaria*. **Journal of Fish Diseases**, v. 5, n. 4, p. 265-284, 1982.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action**. FAO: Roma, 2020, 206 p.

FAO. Report of the FAO/MARD technical workshop on early mortality syndrome (EMS) or acute hepatopancreatic necrosis syndrome (AHPNS) of cultured shrimp (UNDER TCP/VIE/3304). **Fisheries and Aquaculture Report**, v. 1053, 2013.

FEIJÓ, R. G. **Prospecção de genes relacionados à ocorrência de enfermidades no camarão *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) sob condições de cultivo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas e Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

FÉLIX, D. M.; ELÍAS, J. A. L.; CÓRDOVA, Á. I. C.; CÓRDOVA, L. R. M.; GONZÁLEZ, A. L.; JACINTO, E. C.; ZAZUETA, M. G. B. Survival of *Litopenaeus vannamei* shrimp fed on diets supplemented with *Dunaliella* sp. is improved after challenges by *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 148, p. 118-123, 2017.

FICETOLA, G. F.; MIAUD, C.; POMPANON, F.; & TABERLET, P. Species detection using environmental DNA from water samples. **Biology letters**, v. 4, n. 4, p. 423-425, 2008.

FLEGEL, T. W. A game changer for the future development of aquaculture. In: **9th symposium on diseases in Asian aquaculture, Ho Chi Minh City, Vietnam**. 2014.

FLEGEL, T. W.; LO, C. F. Announcement regarding free release of primers for specific detection of bacterial isolates that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Aquacult Asia**, v. 19, p. 30, 2013.

FLEGEL, T. W.; LO, C. F. Interim primers for specific detection of bacterial isolates that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). In: **World Aquaculture Society, World Aquaculture Society Meetings, Meeting Abstract**. 2014.

GAA - GLOBAL AQUACULTURE ALLIANCE. **GOAL 2019: Global shrimp production review**. Portsmouth: GAA, 2019. 5 p.

GAA - GLOBAL AQUACULTURE ALLIANCE. **Postlarvae evaluation key to controlling shrimp diseases**. Portsmouth: GAA, 2013. Disponível em: <<https://www.aquaculturealliance.org/advocate/postlarvae-evaluation-key-to-controlling-shrimp-diseases/>>. Acesso em: 20 mar. 2021.

- GOLDBERG, C. S.; TURNER, C. R.; DEINER, K.; KLYMUS, K. E.; THOMSEN, P. F.; MURPHY, M. A.; TABERLET, P. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. **Methods in ecology and evolution**, v. 7, n. 11, p. 1299-1307, 2016.
- HAN, J. E.; MOHNEY, L. L.; TANG, K. F.; PANTOJA, C. R.; LIGHTNER, D. V. Plasmid mediated tetracycline resistance of *Vibrio parahaemolyticus* associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimps. **Aquaculture Reports**, v. 2, p. 17-21, 2015c.
- HAN, J. E.; TANG, K. F.; LIGHTNER, D. V. Genotyping of virulence plasmid from *Vibrio parahaemolyticus* isolates causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. **Diseases of aquatic organisms**, v. 115, n. 3, p. 245-251, 2015b.
- HAN, J. E.; TANG, K. F.; PANTOJA, C. R.; WHITE, B. L.; LIGHTNER, D. V. Molecular detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* and *Vibrio parahaemolyticus*-associated acute hepatopancreatic necrosis disease in Southeast Asian *Penaeus vannamei* shrimp imported into Korea. **Aquaculture**, v. 517, p. 734812, 2020.
- HAN, J. E.; TANG, K. F.; TRAN, L. H.; LIGHTNER, D. V. *Photothabdus* insect-related (*Pir*) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. **Diseases of aquatic organisms**, v. 113, n. 1, p. 33-40, 2015a.
- HAN, J. E.; TANG, K. F.; PANTOJA, C. R.; WHITE, B. L.; LIGHTNER, D. V. qPCR assay for detecting and quantifying a virulence plasmid in acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) due to pathogenic *Vibrio parahaemolyticus*. **Aquaculture**, v. 442, p. 12-15, 2015d.
- HONG, X.; LU, L.; XU, D. Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Aquaculture international**, v. 24, n. 2, p. 577-593, 2016.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal 2019**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019, 8 p.
- ICMSF. **Microorganisms in foods 5: Microbiological specifications of food pathogens**. Chapman & Hall, 1996.
- IMAIZUMI, K.; TINWONGGER, S.; KONDO, H.; HIRONO, I. Disinfection of an EMS/AHPND strain of *Vibrio parahaemolyticus* using ozone nanobubbles. **Journal of fish diseases**, v. 41, n. 4, p. 725-727, 2018.
- JHA, R. K.; BABIKIAN, Y. H.; BABIKIAN, H. Y.; KHOA, L. V.; WISOYO, D.; SRISOMBATV, S.; JIARAVANON, B. Efficacy of natural herbal formulation against acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) causing *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus vannamei*. **Vet Med Open J**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2016.

- JOSHI, J.; SRISALA, J.; TRUONG, V. H.; CHEN, I. T.; NUANGSAENG, B.; SUTHIENKUL, O.; THITAMADEE, S. Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from a single Thai shrimp farm experiencing an outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Aquaculture**, v. 428, p. 297-302, 2014.
- JUN, J. W.; HAN, J. E.; GIRI, S. S.; TANG, K. F.; ZHOU, X.; ARANGUREN, L. F.; PARK, S. C. Phage application for the protection from acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in *Penaeus vannamei*. **Indian journal of microbiology**, v. 58, n. 1, p. 114-117, 2018.
- KALATZIS, P. G.; CASTILLO, D.; KATHARIOS, P.; MIDDELBOE, M. Bacteriophage interactions with marine pathogenic vibrios: implications for phage therapy. **Antibiotics**, v. 7, n. 1, p. 15, 2018.
- KAWAHIGASHI, DAVID. New Paradigm for Controlling EMS/APHNS in Intensive *P. vannamei* Boone 1931 Culture Ponds. **ASIAN FISHERIES SOCIETY**, v. 31, p. 182-193, 2018.
- KEHRENBERG, C. SALMON, S. A.; WATTS, J. L.; SCHWARZ, S. Tetracycline resistance genes in isolates of *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia glucosida* and *Mannheimia varigena* from bovine and swine respiratory disease: intergeneric spread of the tet (H) plasmid pMHT1. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. 5, p. 631-640, 2001.
- KELLY, B. G.; VESPERMANN, A.; BOLTON, D. J. The role of horizontal gene transfer in the evolution of selected foodborne bacterial pathogens. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 47, p. 951-968, 2009.
- KOIWAI, K.; KODERA, T.; THAWONSUWAN, J.; KAWASE, M.; KONDO, H.; HIRONO, I. A rapid method for simultaneously diagnosing four shrimp diseases using PCR-DNA chromatography method. **J Fish Dis**, v. 41, n. 2, p. 395-399, 2018.
- KOIWAI, K.; TINWONGGER, S.; NOZAKI, R.; KONDO, H.; HIRONO, I. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease strain of *Vibrio parahaemolyticus* using loop-mediated isothermal amplification. **Journal of fish diseases**, v. 39, n. 5, p. 603-606, 2015.
- KONDO, H.; VAN, P. T.; DANG, L. T.; HIRONO, I. Draft genome sequence of non-*Vibrio parahaemolyticus* acute hepatopancreatic necrosis disease strain KC13. 17.5, isolated from diseased shrimp in Vietnam. **Genome announcements**, v. 3, n. 5, 2015.
- KONGRUENG, J.; TANSILA, N. MITRAPARP-ARTHORN, P.; NISHIBUCHI, M.; VORA, G. J.; VUDDHAKUL, V. LAMP assay to detect *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. **Aquaculture international**, v. 23, n. 5, p. 1179-1188, 2015.

KUMAR, N. R.; RAMAN, R. P.; JADHAO, S. B.; BRAHMCHARI, R. K.; KUMAR, K.; DASH, G. Effect of dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* on gut microbiota, growth and immune response in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). **Aquaculture International**, v. 21, n. 2, p. 387-403, 2013.

KUMAR, R.; NG, T. H.; CHANG, C. C.; TUNG, T. C.; LIN, S. S.; LO, C. F.; WANG, H. C. Bile acid and bile acid transporters are involved in the pathogenesis of acute hepatopancreatic necrosis disease in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Cellular microbiology**, v. 22, n. 1, p. e13127, 2019.

LAI, H. C.; NG, T. H.; ANDO, M.; LEE, C. T.; CHEN, I. T.; CHUANG, J. C.; WANG, H. C. Pathogenesis of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. **Fish & shellfish immunology**, v. 47, n. 2, p. 1006-1014, 2015.

LAVILLA-PITOGO, C. R. Shrimp health research in the Asia-Pacific: present status and future directives. **FAO FISHERIES TECHNICAL PAPER**, p. 41-50, 1996.

LAVILLA-PITOGO, C. R.; ALBRIGHT, L. J.; PANER, M. G. Will. Will microbial manipulation sustain the ecological balance in shrimp (*Penaeus monodon*) hatcheries?. In: **Advances in Shrimp Biotechnology: Proceedings to the special session on shrimp biotechnology, 5th Asian Fisheries Forum, 11-14 November 1998, Chiangmai, Thailand**. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, 1998. p. 185-192.

LEE, C. T.; CHEN, I. T.; YANG, Y. T.; KO, T. P. HUANG, Y. T.; HUANG, J. Y.; LO, C. F. The opportunistic marine pathogen *Vibrio parahaemolyticus* becomes virulent by acquiring a plasmid that expresses a deadly toxin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 34, p. 10798-10803, 2015.

LEOBERT, D.; CABILLON, N. A. R.; CATEDRAL, D. D.; AMAR, E. C.; USERO, R. C.; MONOTILLA, W. D.; SALOMA, C. P. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) outbreaks in *Penaeus vannamei* and *P. monodon* cultured in the Philippines. **Diseases of aquatic organisms**, v. 116, n. 3, p. 251-254, 2015.

LIGHTNER, D. V. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. 1996.

LIGHTNER, D. V.; LEWIS, D. H. A septicemic bacterial disease syndrome of penaeid shrimp. **Mar. Fish. Rev**, v. 37, n. 5-6, p. 25-28, 1975.

LIGHTNER, D.V. et al. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. **Global Aquaculture Advocate**, v. 15, n. 1, p. 40, 2012.

LIMA, A. S. **Vibrio em camarão e na água de três fazendas de carcinicultura do Ceará. 2007. 120p.** 2014. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas e Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

LIU, L.; JIANG, L.; YU, Y.; XIA, X. PAN, Y.; YAN, S.; WANG, Y. Rapid diagnosis of *Vibrio owensii* responsible for shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease with isothermal recombinase polymerase amplification assay. **Molecular and cellular probes**, v. 33, p. 4-7, 2017.

LIU, L.; XIAO, J.; XIA, X.; PAN, Y.; YAN, S.; WANG, Y. Draft genome sequence of *Vibrio owensii* strain SH-14, which causes shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease. **Genome announcements**, v. 3, n. 6, 2015.

LIU, L.; XIAO, J.; ZHANG, M.; ZHU, W.; XIA, X.; DAI, X.; WANG, Y. A *Vibrio owensii* strain as the causative agent of AHPND in cultured shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 153, p. 156-164, 2018.

LOMELÍ-ORTEGA, C. O.; MARTÍNEZ-DÍAZ, S. F. Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. **Aquaculture**, v. 434, p. 208-211, 2014.

LUO, X.; DAVIS, J. J. Electrical biosensors and the label free detection of protein disease biomarkers. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 13, p. 5944-5962, 2013.

MADRID, R. M. M. A crise econômica da carcinicultura. **Revista Panorama da Aquicultura**, v.15, n. 90, 2005.

MARTIN, G.G.; RUBIN, N.; SWANSON, E. *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi* cause detachment of the epithelium from the midgut trunk of the penaeid shrimp *Sicyonia ingentis*. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 60, p.21-29, 2004.

MCABEE, B. J.; BROWDY, C. L.; RHODES, R. J.; STOKES, A. D. The use of greenhouse-enclosed raceway systems for the superintensive production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in the United States. **Global Aquaculture Advocate**, v. 6, n. 4, p. 40-43, 2003.

MENDES, E. S. Avaliação do exame a fresco em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) associado à contagem e identificação de *Vibrio* spp. em água de cultivo. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 1, n. 2, p. 7-15, 2007.

MORALES, M. S. 2008. Enfermedades bacterianas. MORALES, V.; CUÉLLAR-ANJEL, J. X. **Guía técnica: patología e inmunología de camarones penaeidos**. 1. ed. Programa CYTED Red II-D Vannamei, Panamá, Rep. De Panamá. P. 117-134.

MORALES-COVARRUBIAS, MARÍA SOLEDAD; LOZANO-OLVERA, R.; HERNÁNDEZ-SILVA, A. J. Necrotizing hepatopancreatitis in cultured shrimp caused by extracellular and intracellular bacteria. **Tilapia & Camarones**, Ecuador, n. 5., p. 33-39, 2010.

MORALES-COVARRUBIAS, M. S.; GÓMEZ-GIL, B. Enfermedades bacterianas de camarones. In: Q., VIELKA MORALES; CUÉLLAR-ANJEL, J. **Guía técnica: patología e**

**inmunología de camarones penaeidos. PATOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DE CAMARONES PENAEIDOS.** 2. ed. Panamá: Oirsa, 2014. Cap. 3. p. 167-178.

MURATORI, M. C. S. M.; VELOSO, A. P. B.; COSTA, A. P. R.; PEREIRA, M. M. G.; GUIMARAES, C. M. M.; CALVET, R. M.; CARDOSO FILHO, F. D. C. *Vibrio parahaemolyticus* em carcinicultura marinha. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 289-296, 2014.

MUTHUKRISHNAN, G.; MASTERS, E. A.; DAISS, J. L.; SCHWARZ, E. M. Mechanisms of immune evasion and bone tissue colonization that make *Staphylococcus aureus* the primary pathogen in osteomyelitis. **Current osteoporosis reports**, v. 17, n. 6, p. 395-404, 2019.

NACA (Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific); FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Oct. 2011. **Quarterly Aquatic Animal Disease Report (Asia and Pacific Region)**, 2011/2, April – June 2011. NACA: Bangkok, Thailand.

NACA. **Final Report: asia pacific emergency regional consultation on the emerging shrimp disease: Early Mortality Syndrome (EMS) / Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS)**. Bangkok: Department Of Agriculture, Fisheries And Forestry - Australian Government, 2012. Disponível em: <https://enaca.org/?id=719>. Acesso em: 25 fev. 2020.

NAKAI, T.; SUGIMOTO, R.; PARK, K. H.; MATSUOKA, S.; MORI, K. I., NISHIOKA, T.; MARUYAMA, K. Protective effects of bacteriophage on experimental *Lactococcus garvieae* infection in yellowtail. **Diseases of aquatic organisms**, v. 37, n. 1, p. 33-41, 1999.

NAKAMURA, R.; PEDROSA-GERASMIO, I. R.; ALENTON, R. R. R.; NOZAKI, R.; KONDO, H.; HIRONO, I. Anti-PirA-like toxin immunoglobulin (IgY) in feeds passively immunizes shrimp against acute hepatopancreatic necrosis disease. **Journal of fish diseases**, v. 42, n. 8, p. 1125-1132, 2019.

NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. **Freshwater prawns: biology and farming**. John Wiley & Sons, 2009.

NGUYEN, T. T. G.; NGUYEN, T. C.; LEELAKRIANGSAK, M.; PHAM, T. T.; PHAM, Q. H.; LUEANGTHUWAPRANIT, C. Promotion of *Lactobacillus plantarum* on growth and resistance against acute hepatopancreatic necrosis disease pathogens in white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 48, n. 1, p. 19-28, 2018.

NUNAN, L.; LIGHTNER, D.; PANTOJA, C.; GOMEZ-JIMENEZ, S. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v.111, n. 1, p.81-86, 21 ago. 2014.

NUNES, A. J. P. A intensificação no cultivo de camarões: uma tendência inevitável. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 175, p. 1-9, 2019.



NUNES, A. J. P.; FEIJÓ, R. G. Convivência com o vírus da mancha branca no cultivo de camarão marinho no Brasil. **Revista da ABCC**, v. XVIII N° 2. pág 30-36, 2016.

OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Aquatic animal health code**. Paris, 2019a. Disponível em: <<http://www.oie.int/standard-setting/aquatic-code/access-online/>> Acesso: 28 jun. 2020.

OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Immediate notifications and follow-ups, Acute hepatopancreatic necrosis disease**. Paris, 2017. Disponível em: <[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=24597](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=24597)> Acesso: 28 jun. 2020.

OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Immediate notifications and follow-ups, Acute hepatopancreatic necrosis disease**. Paris, 2019c. Disponível em: <[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=29737](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=29737)>. Acesso: 28 jun. 2020.

OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Immediate notifications and follow-ups, Acute hepatopancreatic necrosis disease**. Paris, 2020. Disponível em: <[https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=36209&newlang=en](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=36209&newlang=en)>. Acesso: 25 fev. 2021.

OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests for aquatic animals**. Paris, 2019b. Disponível em: <<http://www.oie.int/standard-setting/aquatic-manual/access-online/>>. Acesso: 28 jun. 2020.

OIRSA - ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA. **Programa regional de vigilancia epidemiológica para la enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (EMS/AHPND)**. Panamá, 2013. Disponível em: <[https://www.oirsa.org/contenido/documentos/AHPND/PROGRAMA%20DE%20VEP%20ACTUALIZADO%20031016\[5\].pdf](https://www.oirsa.org/contenido/documentos/AHPND/PROGRAMA%20DE%20VEP%20ACTUALIZADO%20031016[5].pdf)>. Acesso: 28 jun. 2020.

OLUWASEUN, A. C.; PHAZANG, P.; SARIN, N. B. Biosensors: a fast-growing technology for pathogen detection in agriculture and food sector. **Biosensing technologies for the detection of pathogens-a prospective way for rapid analysis, 1st edn. INTECH**, p. 37-52, 2018.

OSTRENSKY, A.; STEVANATO D. J.; PONT, G. D.; CASTILHO-WESTPHAL, G. G.; GIROTTO, M. V. F.; COZER, N.; GARCÍA-MADRIGAL, R. F. A.; DA SILVA, U. A. T. A produção integrada na carcinicultura brasileira: princípios e práticas para se cultivar camarões marinhos de forma mais racional e eficiente. **Instituto GIA**, Curitiba, v. 1, 2017.

PÁEZ-OSUNA, Federico. The environmental impact of shrimp aquaculture: a global perspective. **Environmental pollution**, v. 112, n. 2, p. 229-231, 2001.

PANTOJA, C.; LIGHTNER, D. V. EMS/AHPND descripción de la enfermedad en Asia y

América. **Patología e inmunología de camarones penaeidos. Guía técnica. 2da ed. OIRSA (Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria), PAN**, p. 172-177, 2014.

PEDROSA-GERASMIO, I. R.; TANAKA, T.; SUMI, A.; KONDO, H.; HIRONO, I. Effects of 5-Aminolevulinic acid on gene expression, immunity, and ATP levels in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Marine Biotechnology**, v. 20, n. 6, p. 829-843, 2018.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N. R.; EDWARDS, D.D.; PELCZAR, M.F. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. São Paulo, 1997. v.1 ,524p.

PRIETO, A., RODRÍGUEZ, M.C. **Diagnóstico y control de enfermedades bacterianas en camarón de cultivo**. Roma, Italia: FAO. 66 p, 1993.

PRODANOV, C. C.; FREITAS, E. C. **Metodologia do trabalho científico [recurso eletrônico]: métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico**. 2 ed. Novo Hamburgo: Feevale, 2013, 277 pp. Disponível em: <[http://www.feevale.br/Comum/midias/8807f05a-14d0-4d5b-b1ad-1538f3aef538/E\\_book%20Metodologia%20do%20Trabalho%20Cientifico.pdf](http://www.feevale.br/Comum/midias/8807f05a-14d0-4d5b-b1ad-1538f3aef538/E_book%20Metodologia%20do%20Trabalho%20Cientifico.pdf)> Acesso: 28 jun. 2020.

RESTREPO, L.; BAYOT, B.; ARCINIEGAS, S.; BAJAÑA, L.; BETANCOURT, I.; PANCHANA, F.; MUÑOZ, A. R. *PirVP* genes causing AHPND identified in a new *Vibrio* species (*Vibrio punensis*) within the commensal *Orientalis clade*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p.1-14, 30 ago. 2018.

ROMANOWSKI, J. P; ENS, R. T. As pesquisas denominadas do tipo "estado da arte" em educação. **Revista diálogo educacional**, Curitiba, v. 6, n. 19, pp. 37-50, set./dez., 2006.

SOTO-RODRIGUEZ, Sa; GOMEZ-GIL, B.; LOZANO, R. 'Bright-red' syndrome in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* is caused by *Vibrio harveyi*. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 92, n. 1, p.11-19, 26 out. 2010.

VARELA MEJÍAS, A.; PEÑA NAVARRO, N. Síndrome de la Mortalidad Temprana (EMS/AHPNS) en camarones cultivados: Una revisión. **Artículos Científicos**, v. 17, p.25-30. 2014. Recuperado de <https://revistas.uned.ac.cr/index.php/repertorio/article/view/2563>

VARELA, M. A.; PEÑA, N. N. El Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (WSSV): una revisión y su impacto en la camaronicultura costarricense. **Revista Ciencias Veterinarias**. Escuela de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Costa Rica. 28, N° 2, p. 51-69. 2013.

VIEIRA, C. B.; DE SOUSA, O. V.; GESTEIRA, T. C. V.; DE CARVALHO, F. C. T.; DOS FERNANDES VIEIRA, R. H. S. *Vibrio* spp. Em Hemolinfa De Camarões *Litopenaeus vannamei* Coletados Em Três Fazendas De Cultivo Do Estado Do Ceará. **Boletim Técnico Científico do CEPNOR**, v. 9, n. 1, p. 141-150, 2012.

XIAO, J.; LIU, L.; KE, Y.; LI, X.; LIU, Y.; PAN, Y.; YAN, S.; WANG, Y. Shrimp AHPND-

causing plasmids encoding the *PirAB* toxins as mediated by *pirAB*-Tn903 are prevalent in various *Vibrio* species. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p.1-11, 7 fev. 2017.

PEREIRA, A.M.L.; SANTOS, M.L. **Relatório do treinamento em patologias de camarões marinhos**. Parnaíba: ITS, p.19-29, 2002.

PINOARGOTE, G.; RAVISHANKAR, S. Evaluation of the efficacy of probiotics in vitro against *Vibrio parahaemolyticus*, causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. **J. Probiotics Heal**, v. 6, p. 1-7, 2018.

PIRES, N. M. M.; DONG, T.; HANKE, U.; HOIVIK, N. Recent developments in optical detection technologies in lab-on-a-chip devices for biosensing applications. **Sensors**, v. 14, n. 8, p. 15458-15479, 2014.

PUMKAEW, M.; TAENGCHAIYAPHUM, S.; POWTONGSOOK, S.; PUNGRASMI, W.; SRITUNYALUCKSANA, K. Production of acute hepatopancreatic necrosis disease toxin is affected by addition of cell-free supernatant prepared from AI-2-producing *Vibrio harveyi* mutant. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 50, n. 4, p. 878-886, 2019.

RESTREPO, L.; BAYOT, B.; BETANCOURT, I.; PINZÓN, A. Draft genome sequence of pathogenic bacteria *Vibrio parahaemolyticus* strain Ba94C2, associated with acute hepatopancreatic necrosis disease isolate from South America. **Genomics data**, v. 9, p. 143-144, 2016.

SAMOCHA, T. M.; PRANGNELL, D. I. HANSON, T. R.; TREECE, G. D.; MORRIS, T. C.; CASTRO, L. F.; STARESINIC, N. Design and operation of super intensive, biofloc-dominated systems for indoor production of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*—The Texas A&M Agrilife Research experience. **Louisiana: The World Aquaculture Society**. **398p**, 2017.

SANGPO, P.; THITAMADEE, S.; DONG, H. T.; SENAPIN, S. *Aeromonas schubertii*, a novel bacterium recovered from AHPND affected farm is lethal to whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104501, 2020.

SHINN, A. P.; JIRAVANICHPAISAL, J.; GRIFFITHS, D.; POKHARATSIRI, A.; BURANA, P.; SUMON, T.; GALLI, L. Effect of biofloc on the survival of whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei* Boone 1931, when challenged with a pathogenic strain of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Asian Fisheries Society**, v. 31, p. 210-225, 2018.

SIRIKHARIN, R.; TAENGCHAIYAPHUM, S.; SANGUANRUT, P.; CHI, T. D.; MAVICHAK, R.; PROESPRAIWONG, P.; SRITUNYALUCKSANA, K. Characterization and PCR detection of binary, *Pir*-like toxins from *Vibrio parahaemolyticus* isolates that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0126987, 2015.

SMITH, V. J.; CHISHOLM, J. R. Non-cellular immunity in crustaceans. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 2, n. 1, p. 1-31, 1992.

SOTO-RODRIGUEZ, S. A.; GOMEZ-GIL, B.; LOZANO-OLVERA, R.; BETANCOURT-LOZANO, M.; MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 5, p. 1689-1699, 2015.

SOTO-RODRIGUEZ, S. A.; GIL, B. G.; OLVERA, R. L.; BOLAN, C.; MEJIA, K. A. R.; IBARRA, J. E. Pathological, Genomic and Phenotypical Characterization of *Vibrio parahaemolyticus*, Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Mexico. **ASIAN FISHERIES SOCIETY**, v. 31, p. 102Y111, 2018.

TANG, K.F.J.; BONDAD-REANTASO, M.G.; ARTHUR, J.R.; MACKINNON, B.; HAO, B.; ALDAY-SANZ, V.; LIANG, Y.; DONG, X. **Shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease strategy manual**. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1190. Rome, FAO, 2020.

TELLO-OLEA, M.; ROSALES-MENDOZA, S.; CAMPA-CÓRDOVA, A. I.; PALESTINO, G.; LUNA-GONZÁLEZ, A.; REYES-BECERRIL, M.; ANGULO, C. Gold nanoparticles (AuNP) exert immunostimulatory and protective effects in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus*. **Fish & shellfish immunology**, v. 84, p. 756-767, 2019.

THEETHAKAEW, C.; NAKAMURA, S.; MOTOOKA, D.; MATSUDA, S.; KODAMA, T.; CHONSIN, K.; IIDA, T. Plasmid dynamics in *Vibrio parahaemolyticus* strains related to shrimp Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS). **Infection, Genetics and Evolution**, v. 51, p. 211-218, 2017.

TINWONGGER, S.; PROESPRAIWONG, P.; THAWONSUWAN, J.; SRIWANAYOS, P.; KONGKUMNERD, J.; CHAWEEPCK, T.; HIRONO, I. Development of PCR diagnosis for shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) strain of *Vibrio parahaemolyticus*. **Fish Pathol**, v. 49, n. 4, p. 159-164, 2014.

TINWONGGER, S.; NOCHIRI, Y.; THAWONSUWAN, J.; NOZAKI, R.; KONDO, H.; AWASTHI, S. P.; HIRONO, I. Virulence of acute hepatopancreatic necrosis disease *PirAB*-like relies on secreted proteins not on gene copy number. **Journal of applied microbiology**, v. 121, n. 6, p. 1755-1765, 2016.

TINWONGGER, S.; THAWONSUWAN, J.; KONDO, H.; HIRONO, I. Identification of an anti-lipopolysaccharide factor AV-R isoform (LvALF AV-R) related to Vp\_PirAB-like toxin resistance in *Litopenaeus vannamei*. **Fish & shellfish immunology**, v. 84, p. 178-188, 2019.

TRAN, L.; NUNAN, L.; REDMAN, R. M.; MOHNEY, L. L.; PANTOJA, C. R.; FITZSIMMONS, K.; LIGHTNER, D. V. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Diseases of aquatic**

organisms, v. 105, n. 1, p. 45-55, 2013.

VALDERRAMA, D.; ANDERSON, J.; JORY, D. **The Economic Impacts of Emerging Diseases in Shrimp Aquaculture: Insights from a Multi-Year**, Global Survey of the Industry. 2017.

VIETNAMESE MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT (VMARD). **Promulgating the list of veterinary drugs permitted for circulation, banned from use in Vietnam announced for imported veterinary drugs permitted for circulation in Vietnam**, 2016.

WANG, Y. C.; HU, S. Y.; CHIU, C. S.; LIU, C. H. Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains. **Fish & shellfish immunology**, v. 84, p. 1050-1058, 2019.

YU, W.; WU, J. H.; ZHANG, J.; YANG, W.; CHEN, J.; XIONG, J. A meta-analysis reveals universal gut bacterial signatures for diagnosing the incidence of shrimp disease. **FEMS microbiology ecology**, v. 94, n. 10, p. f147, 2018.

YANO, Y.; HAMANO, K.; SATOMI, M.; TSUTSUI, I. BAN, M.; AUE-UMNEOY, D. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. **Food control**, v. 38, p. 30-36, 2014.

YU, W.; WU, J. H.; ZHANG, J.; YANG, W.; CHEN, J.; XIONG, J. A meta-analysis reveals universal gut bacterial signatures for diagnosing the incidence of shrimp disease. **FEMS microbiology ecology**, v. 94, n. 10, p. f147, 2018.

ZHANG, B. C.; LIU, F.; BIAN, H. H.; LIU, J.; PAN, L. Q.; HUANG, J. Isolation, identification, and pathogenicity analysis of a *Vibrio parahaemolyticus* strain from *Litopenaeus vannamei*. **Progress in Fishery Sciences**, v. 33, n. 2, p. 56-62, 2012.

ZORRIEHZAHRA, M. J.; BANAEDERAKHSHAN, R. Early mortality syndrome (EMS) as new emerging threat in shrimp industry. **Adv. Anim. Vet. Sci**, v. 3, n. 2S, p. 64-72, 2015.