



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL**

**BACTERIOSES EM VIVEIROS DE CAMARÃO MARINHO  
EM MOSSORÓ-RN**

**LUCIANA VÉRAS DE AQUINO FIGUEIRÔA**

**MOSSORÓ/RN - BRASIL**

**JULHO / 2013**

LUCIANA VÉRAS DE AQUINO FIGUEIRÔA

**BACTERIOSES EM VIVEIROS DE CAMARÃO MARINHO  
EM MOSSORÓ-RN**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi Árido - UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Ticiano Arruda Ximenes de Lima

Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó

MOSSORÓ/RN - BRASIL  
Julho – 2013

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e  
catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

F475b Figueirôa, Luciana Vêras de Aquino.  
Bacterioses em viveiros de camarão marinho em Mossoró/RN.  
/ Luciana Vêras de Aquino Figueirôa. -- Mossoró, 2013.

73f.: il.

Dissertação (Mestrado em Produção Animal) –  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido.  
Orientador: Prof. Dr. José Ticiano Arruda Ximenes de  
Lima.  
Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro  
Feijó.

1.*Litopenaeus vannamei*. 2.Análises presuntivas.  
3.Vibriose. 4.Hepatopancreatite necrosante bacteriana (NHP-  
B). 5.Histopatologia. I.Título.

CDD: 639.5

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB 15 120

LUCIANA VÉRAS DE AQUINO FIGUEIRÔA

**BACTERIOSES EM VIVEIROS DE CAMARÃO  
MARINHO EM MOSSORÓ-RN**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal Rural do Semi Árido - UFERSA,  
Campus de Mossoró, como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Mestre em Produção Animal.

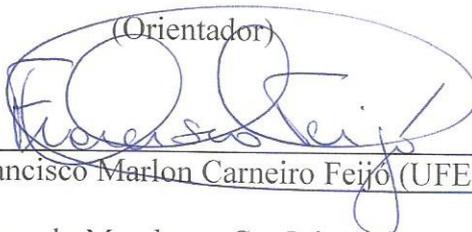
APROVADA EM 30/ 07/ 2013

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. José Ticiano Arruda Ximenes de Lima (UFERSA)

(Orientador)



Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó (UFERSA)

(Segundo Membro – Co-Orientador)



Prof. Dr. Alexandre Paula Braga (UFERSA)

(Terceiro Membro)

Ofereço este trabalho ao meu filho,  
Rafael Henrique, fonte de amor e  
carinho.

Busque em primeiro lugar o Reino de Deus e a sua justiça, e todas essas coisas serão acrescentadas a vocês.

Mateus 6:33

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça de força e esperança que me acompanham ao longo da vida. Sem elas, o sonho de chegar a Mestre em Produção Animal não seria realizado. Obrigada, Senhor.

Aos meus pais, Francisco Praxedes de Aquino e Joana D'Arc Vêras de Aquino, pela educação, amor, carinho, respeito, incentivo, apoio e sempre acreditar em mim. Presentes em todos os momentos de minha vida, mostrando-me caminhos certos e orientando-me nas decisões a serem tomadas. Acompanhando-me nos risos dos momentos bons e apoiando-me nas situações difíceis. Não existem palavras para descrever meus agradecimentos, nem gestos que expressem todo carinho que dedico a eles. Obrigada. Amo muito vocês.

Ao meu marido Carlos Henrique Figueirôa Batista e ao meu filho Rafael Henrique, que me acompanharam e incentivaram ao longo dessa jornada. Obrigada. Amo muito vocês.

Ao orientador Prof. Dr. José Ticiano Arruda Ximenes de Lima, pelos ensinamentos, incentivos à pesquisa, paciência, apoio, confiança e credibilidade em mim depositados.

Ao Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó, por aceitar participar da minha dissertação, enriquecendo-a com suas sugestões.

À Universidade Federal Rural do Semi - Árido (UFERSA), pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal (PPGPA), pela oportunidade de realizar o sonho de me tornar mestre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido através da bolsa de mestrado, sem o qual a pesquisa não seria realizada.

À equipe do Laboratório de Sanidade Aquática (LASA), Tarcísio, Bruna, Daniana e Tanyla, pelo apoio, amizade, incentivo e participação constante nas etapas do experimento.

À Liliane Elzi, pela amizade, apoio e carinho, que sempre me dedicou. Suas palavras de encorajamento foram fundamentais para vencer obstáculos nos momentos mais difíceis do trabalho.

Às Engenheiras de Pesca Lívia e Larissa, pela prestimosa colaboração na coleta de dados.

A Waldir, Gordo, Ronildo, Glênio, Ida, Nenêm, Janeide e Joseval, pela colaboração.

A todos os amigos da turma de mestrado do PPGPA, pelo apoio e troca de experiência.

## **BACTERIOSES EM VIVEIROS DE CAMARÃO MARINHO EM MOSSORÓ-RN**

FIGUEIRÔA, Luciana Vêras de Aquino. **BACTERIOSES EM VIVEIROS DE CAMARÃO MARINHO EM MOSSORÓ-RN**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal Rural do Semi – Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi identificar bacterioses que acometem o camarão marinho em cultivo tradicional em águas euhalina e oligohalina no município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte. Foram utilizadas análises presuntivas e confirmatórias com histologia e microbiologia para avaliar a sanidade dos camarões. Os animais foram coletados de forma aleatória em viveiros euhalino e oligohalino. Na análise clínica dos camarões provenientes dos viveiros euhalino com elevadas mortalidades, registrou-se morbidade de 89,5% de enfermos, verificando-se lesões melanizadas, necrose focal a difusa nos segmentos abdominais, urópodos com cromatóforos expandidos e redução dos níveis de lipídios do hepatopâncreas. Histologicamente, foi observada ausência de citoplasma nas células B com bactérias intracitoplasmáticas apresentando núcleos picnóticos e basófilos, confirmando a Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP-B) como agente causador de elevadas mortalidades nestes viveiros. Na análise clínica dos camarões microbiologicamente positivos de viveiro oligohalino apresentaram lesões melanizadas na cutícula, opacidade difusa da musculatura, cromatóforos expandidos, principalmente nos apêndices pereiópodos e urópodos. Microscopicamente, os túbulos dos hepatopâncreas apresentaram redução significativa dos teores de lipídios com presença de deformidades, atrofia e necrose dos túbulos. Microbiologicamente, o microorganismo identificado no hepatopâncreas foi *Vibrio fluvialis* com quantificação entre 3,0 e  $3,1 \times 10^3$  UFC/g causando a vibriose sistêmica nestes indivíduos.

**PALAVRAS CHAVE:** *Litopenaeus vannamei*, Análises presuntivas, Vibriose, Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP-B), Histopatologia.

## BACTERIOSIS IN NURSERY OF MARINE SHRIMP IN MOSSORÓ-RN

FIGUEIRÔA, Luciana Vêras de Aquino. **BACTERIOSIS IN NURSERY OF MARINE SHRIMP IN MOSSORÓ-RN**. 2013. 73f. Master Science Degree in Animal Science – Universidade Federal Rural do Semi – Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

**ABSTRACT:** The purpose of this study was to identify bacterial diseases that affect the sea shrimp in traditional cultivation with euhaline and oligohaline water in Mossoró/RN. The sanity of shrimp was evaluated by presumptive analysis and confirmatory with histology and microbiology. The animals were collected in an aleatory way in euhaline and oligohaline nurseries. In clinical analysis of the coming shrimps of the nurseries euhalino with high mortalities, enrolled 89,5% morbidity shrimp of being verified melanized lesions, focal necrosis the diffuse in the abdominal segments, uropods with chromatophores expanded and reduced levels of lipids of the hepatopancreas. Histologically, was observed cytoplasm absence in the cells B with bacteria intracytoplasmic presenting pyknotic and basophils nuclei, confirming Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP-B) causing high mortalities in these nurseries. In the clinical analysis of the shrimps positive microbiologically of the nursery oligohaline showed melanized lesions in the cuticle, diffuse opacity of the muscles, especially in chromatophores expanded appendices pereopods and uropods. Microscopic, tubules of the hepatopancreas showed a significant reduction of the levels of lipids in the presence of deformities, atrophy and necrosis of the tubules. Microbiological was identified microorganism in the hepatopancreas was *Vibrio fluvialis* with quantification between 3,0 to  $3,1 \times 10^3$ CFU/g as causing systemic vibriosis in these individuals.

**KEYWORDS:** *Litopenaeus vannamei*. Presumptive analyzes Vibriosis, Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP-B). Histopathology.

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Respostas imunológicas induzidas pelos hemócitos, após reconhecimento dos patógenos, via PRPs plasmáticas celulares. (1) degranulação com liberação de diferentes imunofatores e imunoreguladores; (2) indução e repressão de genes imunológicos; (3) ativação de respostas celulares como a fagocitose e formação de nódulos e cápsulas ..... 18

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Quantitativo do grau de severidade para melanizações das lesões na cutícula, presença de opacidade muscular e expansão dos cromatóforos nos apêndices..... 36

**Tabela 2.** Quantitativa do grau de severidade para quantidade de lipídios no hepatopâncreas..... 36

**Tabela 3.** Quantitativo do grau de severidade para atrofia e deformidades nos túbulos hepatopancreáticos ..... 37

**Figura 1.** (a) Grau de severidade 3 apresentando atrofia, deformidade, necrose e estrangulamento tubular. (b) Grau de severidade 4 caracterizado por aumento da necrose nas células dos túbulos hepatopancreáticos, assim como maior quantidade de nódulos melanizados ao redor dos túbulos..... 39

**Figura 2.** (a) Vista da região medial de túbulos do hepatopâncreas de *L. vannamei* cortado transversalmente apresentando alguns túbulos atrofiados e nódulos hemocíticos ao redor dos túbulos (setas). (b) Vista da região proximal do túbulo do hepatopâncreas de *L. vannamei* apresentando túbulo atrofiado com desprendimento celular e aparecimento de rickettsia no interior das células B (setas)..... 40

### CAPÍTULO III

**Tabela 1.** Quantitativo do grau de severidade para melanizações das lesões na cutícula, presença de opacidade muscular e expansão dos cromatóforos nos apêndices..... 50

**Tabela 2.** Quantitativo do grau de severidade para níveis de lipídios no hepatopâncreas . 50

**Tabela 3.** Quantitativo do grau de severidade para deformidades nos túbulos hepatopancreáticos..... 50

**Figura 1.** *Litopenaeus vannamei* com diagnóstico de vibriose sistêmica apresentando diferentes graus de melanização no exoesqueleto. (a) Poucas lesões melanizadas do *L. vannamei* (GS 1), (b) Moderadas lesões melanizadas do *L. vannamei* (GS 2), (c) Numerosas lesões melanizadas do *L. vannamei* (GS 3). \*GS - Grau de Severidade ..... 51

**Figura 2.** *L. vannamei* com diagnóstico de vibriose sistêmica apresentando diferentes graus de opacidade muscular. (a) Pouca opacidade muscular (GS 1), (b) Moderada opacidade muscular (GS 2), (c) Opacidade difusa muscular (GS 3). \*GS - Grau de Severidade ..... 52

**Figura 3.** Expansão dos cromatóforos nos urópodos do *L. vannamei* submetidos ao cultivo oligohalino com diagnóstico de vibriose sistêmica. (a) Pigmentação normal do *L. vannamei* (GS 0), (b) Pouca pigmentação do *L. vannamei* (GS 1), (c) Muita pigmentação do *L. vannamei* (GS 2), (d) Bastante pigmentação do *L. vannamei* (GS 3). \*GS= Grau de Severidade ..... 53

**Figura 4.** Diferentes graus de deformidades dos túbulos do hepatopâncreas do *L. vannamei* submetidos ao cultivo oligohalino com diagnóstico de vibriose sistêmica. (a) Alguns túbulos atrofiados (GS 1), (b) Túbulos apresentando pontas duplas (GS 2), (c) Túbulos enrugados, atrofiados e alguns necrosados (GS 3). (d) Numerosos túbulos necrosados e deformados (GS 4). \*GS= Grau de Severidade ..... 54

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	13
<b>1 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
1.1 PRODUÇÃO DE CAMARÃO MARINHO .....	14
1.2 A ESPÉCIE <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	15
1.3 FATORES AMBIENTAIS PARA A SAÚDE DOS CAMARÕES .....	16
1.4 SISTEMA IMUNOLÓGICO DOS CAMARÕES.....	17
1.5 DOENÇAS NOS CAMARÕES .....	19
1.6 ANÁLISES PRESUNTIVAS .....	21
1.7 ENFERMIDADES BACTERIANAS .....	21
<b>1.7.1 Vibriose</b> .....	21
<b>1.7.2 Hepatopancreatite Necrosante (NHP)</b> .....	23
1.8 CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS BACTERIANAS.....	25
1.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	26
<b>CAPÍTULO II</b> .....	33
<b>DIAGNÓSTICO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO DE <i>RICKETTSIA</i> EM CULTIVO DE <i>L. VANNAMEI</i> COM ELEVADA MORTALIDADE</b> .....	34
INTRODUÇÃO .....	35
MATERIAL E MÉTODOS.....	35
RESULTADOS .....	37
DISCUSSÃO .....	40
AGRADECIMENTOS.....	43
REFERÊNCIAS CITADAS .....	43
<b>CAPÍTULO III</b> .....	46
<b>CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DE VIBRIOSE SISTÊMICA EM CAMARÕES MARINHOS CULTIVADOS EM SISTEMA OLIGOHALINO</b> .....	47
INTRODUÇÃO .....	48
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÃO .....	55

AGRADECIMENTOS.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>59</b>
<b>VIBRIOS PATOGÊNICOS NA CARCINICULTURA DO RIO GRANDE DO NORTE</b> .....	<b>60</b>
INTRODUÇÃO.....	62
MATERIAL E MÉTODOS.....	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
CONCLUSÃO.....	67
AGRADECIMENTOS.....	67
REFERÊNCIAS.....	68

# CAPÍTULO I

## 1 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 PRODUÇÃO DE CAMARÃO MARINHO

A produção mundial de pescado no ano de 2011 foi 146,3 milhões de toneladas, das quais 83,7 milhões da pesca extrativa e 62,6 milhões da exploração aquícola. No que diz respeito à pesca extrativa, a China foi campeã, respondendo com 60% do total. O Brasil, apesar de todo potencial existente, ficou apenas com 0,75% da produção mundial de 2011, ou seja, 630.000 toneladas (FAO, 2011).

No caso específico do camarão, de acordo com a FAO (2013) a produção extrativa mundial saltou de 1,5 milhões de toneladas em 1979, para 3,3 milhões de toneladas em 2011, o que representa um crescimento de 120%. Vale salientar que, em 2011, a produção mundial de camarão cultivado superou a extrativa, pois foi de 3,9 milhões de toneladas. A China também lidera a produção mundial de camarão cultivado, impulsionada pelo bom desempenho da espécie *L. vannamei*, originária do Pacífico e introduzida naquele país em 1999.

Na América Latina o país que lidera a produção e exportação de camarão é o Equador, que, em 2011, produziu 260.000t, das quais 142.469t foram exportadas. O Brasil, que em 2003 exportou mais do que o Equador, reduziu a produção de camarão em 27,2%, chegando em 2011 a exportar zero do produto. Isso apesar das condições excepcionais de localização geográfica, clima, disponibilidade de área, qualidade da água, mão de obra abundante, etc. (OSTRENSKY et al., 2007).

No que diz respeito ao estado do Rio Grande do Norte, a produção de camarão caiu de 37.473t em 2003, para 30.807t em 2004 e 17.742t em 2011 (ROCHA et al., 2013b). Borba e Nogueira (2013) destacam que a carcinicultura potiguar caracteriza-se por acentuada participação do micro e pequeno produtor (de 5 a 10 hectares) que, mesmo com 67,6% do número de empreendimentos do estado, respondem por apenas 15,1% do total produzido. Todo resto é creditado aos considerados grandes empreendimentos, acima de 50 hectares.

## 1.2 A ESPÉCIE *Litopenaeus vannamei*

A espécie *Litopenaeus vannamei*, também conhecida como camarão branco do Pacífico, que segundo Barbieri Júnior e Ostrensky Neto (2002) têm distribuição geográfica natural de Sonora (México) a Tumbes (Peru), encontrada em região infralitorânea até profundidades de 72 metros.

De acordo com Ostrensky et al. (2007) essa espécie foi introduzida no Brasil em meados dos anos 1980, porém, a partir de 1994/95 é que começou a ser produzida comercialmente. Tornou-se conhecida e aceita no mercado devido a excelente qualidade da carne, destacando-se pelo sabor característico, firmeza e coloração. Adaptou-se bem ao litoral brasileiro onde encontrou condições climáticas favoráveis para seu desenvolvimento.

A espécie apresenta características que favoreceram a adaptabilidade ao Brasil como elevado grau de rusticidade, rápido crescimento em todas as fases do processo produtivo, desenvolvimento rápido em baixas densidades de estocagem e capacidade de suportar amplitude térmica entre 9-34°C (BRASIL, 2001; CARVALHO, 2004).

A região Nordeste e, em particular, o Estado do Rio Grande do Norte, oferecem condições excepcionais para o crescimento no cultivo de camarões, destacando-se como pontos positivos a disponibilidade de área adequada, mão de obra e localização geográfica estratégica em relação aos mercados externos (ABCC, 2004).

Com habilidade em manter regulação osmótica, *L. vannamei* pode habitar águas com salinidade que vão de 0,5‰ até 40‰ (BRAY et al., 1994; PONCE-PALAFOX et al., 1997), mas a faixa de salinidade considerada ideal é entre 15‰ e 25‰ (VINATEA, 2004).

Segundo Boyd (2001) a salinidade deve ser de pelo menos 0,5‰ para a sobrevivência e crescimento do camarão, podendo ser cultivada também em água doce. Quando a salinidade é associada à temperatura da água, chega-se aos valores de 14,7-31,1‰ para temperaturas entre 27-30°C (HERNÁNDEZ et al., 2006).

### 1.3 FATORES AMBIENTAIS PARA A SAÚDE DOS CAMARÕES

Salinidade e temperatura são apontadas como os principais fatores abióticos com influência na vida dos organismos aquáticos. Essa influência varia de acordo com o estágio do ciclo de vida da espécie (CHEN et al., 1995; YE et al., 2009).

Camarões apresentam elevada tolerância às flutuações dos níveis de salinidade da água, devido à sua capacidade de osmorregulação, característica adquirida ao longo do processo evolutivo desses animais. Em locais com elevada salinidade, os camarões mantêm a concentração interna menor do que a do meio ambiente; no caso contrário, quando o meio apresenta baixa salinidade, os animais conservam a concentração interna maior (CHARMANTIER, 1987).

Segundo Nunes (2001), os camarões marinhos, durante o processo de osmorregulação em águas com elevada salinidade, retêm água e excretam sais, o que evita o acúmulo de íons em seus fluidos corporais e, conseqüentemente, a desidratação celular. Em ambientes de água doce, o animal perde uma grande quantidade de água, retendo íons.

Hickman et al. (2001) revela que a temperatura também apresenta grande importância para os camarões, já que eles são animais pecilotérmicos, ou seja, a temperatura do corpo varia de acordo com a do meio em que estão inseridos. Para esse autor, em águas frias, a temperatura do corpo do animal cai e o processo metabólico diminui, provocando redução na quantidade de energia que ele utiliza para realizar as atividades de reprodução. No caso contrário, em temperaturas elevadas, o metabolismo se acentua, levando a uma maior demanda de energia.

O desenvolvimento satisfatório e as funções osmorregulatórias normais dos camarões estão intimamente relacionados com as concentrações de íons bicarbonato, sulfato, cloreto, cálcio, magnésio e potássio, na água onde eles são cultivados (BALBI et al., 2005).

Le Moullac et al. (1998); Brock e Main (1994) acreditam que há uma ligação clara entre as condições ambientais e os processos infecciosos, alterações nas condições normais climáticas apresenta um efeito significativo no aparecimento de doenças.

A redução de oxigênio dissolvido na água, de acordo com Van Wyk e Scarpa (1999), limita a habilidade que os animais têm para metabolizar os alimentos, ocasionando prejuízos nas taxas de crescimento e conversão alimentar. A faixa ideal recomendada pelos autores é de 5 a 9mg de oxigênio dissolvido em um litro de água.

Camarões marinhos toleram muito bem um pH entre 7 e 9. Entretanto, em ambientes ácidos (pH inferior a 6,5) ou básicos (pH superior a 10), as brânquias do animal são afetadas, ocasionando supressão do crescimento (DECAMP et al., 2003).

#### 1.4 SISTEMA IMUNOLÓGICO DOS CAMARÕES

Os crustáceos são dotados apenas de um sistema imune inato, que está intimamente relacionado com a hemolinfa. A hemolinfa é composta por uma fração celular, representada pelas células circulares ou hemócitos e por uma fração líquida, constituída pelo plasma que contém diferentes fatores humorais (BARRACCO et al., 2008).

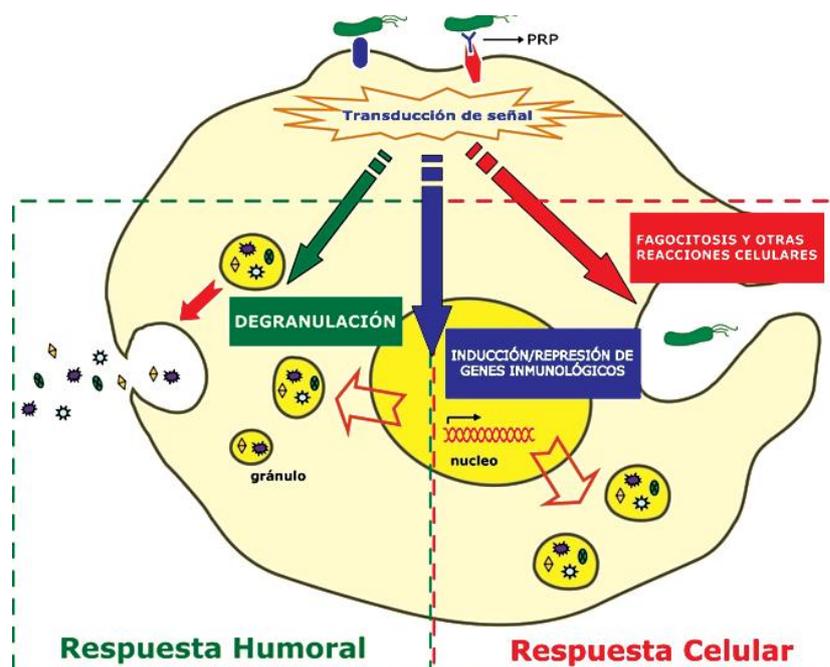
Segundo Barracco (2004) as respostas imunes celulares estão relacionadas com os hemócitos e incluem a fagocitose de micro-organismos, a formação de nódulos e cápsulas em torno de partículas estranhas e os mecanismos citotóxicos intracelulares utilizados para degradar e eliminar agentes invasores.

Os principais sistemas de defesa dos crustáceos são: coagulação da hemolinfa; melanização mediada pelo sistema de pro-fenoxidase (proPO); reconhecimento seguido de aglutinação celular mediada por lecitinas, sistemas antibacterianos, antifúngicos e antivirais mediados por peptídeos; RNA de interferência e por proteínas de reconhecimento padrão (PRP); produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e o sistema fagocítico de encapsulamento, como relata Iwanaga e Lee (2005).

O sistema de coagulação da hemolinfa é um mecanismo imunológico muito importante em que a reação de coagulação depende da enzima transglutaminasa (TGasa) e durante este processo a proteína de coagulação (CP) é o componente principal na gelificação do plasma que resulta em coágulos estáveis através da reação de união cruzada entre suas moléculas mediadas pelo TGasa (BARRACCO et al., 2008).

Dentre os parâmetros acima citados, Lightner (1996) considera que as alterações mais evidentes em camarões infectados ou estressados referem-se à modulação do número total de hemócitos e a diminuição da capacidade coagulante da hemolinfa. No mesmo sentido, Jussila et al. (2001) afirma na prática de cultivo, o aumento no tempo de coagulação da hemolinfa em crustáceos sobre estresse fisiológico ou durante infecções.

A primeira linha de defesa celular do sistema imune contra a invasão de micro-organismos é o processo de fagocitose, conforme Martin et al. (1996) este processo ocorre com a migração dos hemócitos para o local da invasão onde o agente estranho é englobado e interiorizado dentro de um fagossomo, posteriormente associa-se com vesículas e grânulos presentes no citoplasma. Uma vez fundidas estas duas estruturas, um arsenal de compostos degradativos e microbicidas são liberados nos vacúolos fagocíticos, levando a degradação das partículas endocitadas (Figura 1).



**Figura 1.** Respostas imunológicas induzidas pelos hemócitos, após reconhecimento dos patógenos, via PRPs plasmáticas celulares. (1) degranulação com liberação de diferentes imunofetores e imunoreguladores; (2) indução e repressão de genes imunológicos; (3) ativação de respostas celulares como a fagocitose e formação de nódulos e cápsulas (MORALES-COVARRUBIAS, 2008).

Segundo Cerenius; Söderhäll (2004); Cerenius et al. (2008) uma vez ocorrida a ativação do sistema proPO, inicia-se uma cascata proteolítica, a qual gera transitoriamente moléculas altamente tóxicas, como as quinonas, hemiquinonas e radicais livres sendo a melanina o produto final dessa via. Neste sentido, o sistema proPO é considerado a principal resposta imunofetoras dos camarões, desencadeado por componentes da superfície dos micro-organismos como os lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias gram-negativas ou peptidoglicanos e  $\beta$ -1,3- glicanas de fungos.

## 1.5 DOENÇAS NOS CAMARÕES

As doenças nos camarões resultam da interação entre o camarão (hospedeiro), o meio de cultivo (ambiente) e o agente patogênico. Alterações ou deficiências de natureza genética, fisiológica, imunológica ou de base ecológica, podem levar o animal a maiores ou menores chances de contrair uma doença. O grau de patogenicidade de uma doença infecciosa depende diretamente do número de patógenos encontrados no ambiente, como também do grau de virulência do agente infeccioso e do nível de defesa do hospedeiro (LIGHTNER; REDMAN, 1998).

Segundo o mesmo autor, sob a ótica do hospedeiro, o meio de cultivo pode variar de inóspito a ideal, podendo favorecer ou não a proliferação do agente causador de doença. Main e Laramore (1999) revelam que o ambiente de cultivo pode ser responsável por impactos significativos no crescimento, produção e saúde dos camarões, uma vez que esses animais, em condições adversas, não se alimentam bem e crescem mais lentamente, tornando-se, assim, mais suscetíveis à ação de agentes infecciosos. Pascual et al. (2003) acrescenta que, condições ambientais adversas e o estresse, podem provocar o aparecimento de doenças virais que causam elevada mortalidade.

Segundo Arana (1996) as doenças podem ser classificadas em dois tipos: infecciosas e não infecciosas. As doenças não infecciosas são decorrentes de fatores genéticos provocados por substâncias tóxicas presentes no ambiente, ou mesmo deficiências nutricionais do indivíduo. Já as doenças infecciosas são provocadas por organismos patogênicos, tais como vírus, clamídias, riquetsias, bactérias, fungos, protozoários e metazoários.

Fatores ambientais como temperatura e pH extremos, baixas concentrações de oxigênio dissolvido, mudanças bruscas na salinidade e presença de substâncias tóxicas, são elementos associados a um desequilíbrio ambiental. A propagação de bactérias patogênicas oportunistas (*Vibrio sp* e *Aeromonas spp*), a proliferação de protozoários (*Zoothamnium spp* e gregarinas), a captação de águas contaminadas, a aquisição de pós larvas com elevada carga viral e presença em excesso de microalgas (dinoflagelados e cianofíceas), também geram efeitos deletérios na saúde dos camarões (LENOCH, 2004).

De acordo com Kautsky et al. (2000), alterações nas qualidades físicas e químicas da água dos viveiros de cultivo, podem ocasionar estresse e alteração no estado imunológico dos camarões, tornando-os suscetíveis ao ataque de patógenos.

Algumas alterações no comportamento tais como letargia, desorientação, diminuição no consumo de alimento, bem como mudanças na aparência e na cor de órgãos como brânquias, apêndices, cutícula e músculo abdominal dos crustáceos podem ser indicativo de estresse (MAIN; LARAMORE, 1999).

De um modo geral, o estresse é habitualmente referido pelos epidemiologistas como fator iniciante de doenças em cultivo de animais (MOULLAC; HAFFNER, 2000). Os agentes estressantes, segundo Brock (1994) podem ser de ordem física, química ou biológica, e o contato com eles, invariavelmente, resultará na redução efetiva da resistência imunológica dos animais, aumentando, assim, a presença de patógenos oportunistas e a incidência e/ou severidade de inúmeras enfermidades.

Para muitas espécies aquáticas, a transição do ambiente selvagem para o cativeiro, é acompanhada por mudanças comumente vinculadas à incidência de condições patológicas tais como, aumento da densidade de estocagem, degradação dos ambientes de cultivo, mistura de populações com origens genéticas diferentes, o que aumenta a probabilidade do surgimento de surtos de doenças graves (PINHEIRO et al., 2007).

Dentre as enfermidades virais que acometem os camarões existem as de notificação obrigatória para a Organização Internacional das Epizootias (OIE) como: Vírus da Mancha Branca (*White Spot Syndrome Virus* - WSSV), Vírus da Síndrome de Taura (*Taura Syndrome Virus* - TSV), Vírus da Cabeça Amarela (*Yellow Head Virus* - YHV), Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (*Infectious Hypodermal and Hematopietic Necrosis Virus* - IHHNV) (LIGHTNER, 1996). Na atualização da OIE (2012a) em janeiro de 2008, o Vírus da Mionecrose Infecçiosa (IMNV) foi incluído na lista de doenças de notificação obrigatória.

## 1.6 ANÁLISES PRESUNTIVAS

As análises presuntivas fundamentam-se na observação visual e *in situ* de exemplares vivos ou moribundos, podendo, depois de sacrificados os animais, realizar-se estudo mais detalhado a procura de alterações indicativas de enfermidades conforme Gamez (2001).

Morales-Covarrubias (2008) acrescenta que a análise a fresco é uma técnica de monitoramento do estado de saúde dos organismos, utilizada para diagnósticos presuntivos em campo e em laboratório. Consiste na dissecação do camarão em todos os estágios de desenvolvimento, objetivando observar as principais alterações e patógenos presentes nos órgãos e tecidos.

Amostras de brânquias, apêndices orais, fragmentos de tecidos e órgãos, hemolinfa, bem como animais completos como larvas e pós-larvas são úteis para demonstração de algumas enfermidades bacterianas, micóticas e parasitárias (HERZBERG, 1996).

## 1.7 ENFERMIDADES BACTERIANAS

### 1.7.1 Vibriose

Os víbrios conforme Lightner (1993) são bactérias de relevância na aquicultura, devido à capacidade de infectar organismos aquáticos como os camarões peneídos, peixes (AUSTIN; AUSTIN, 1999) e os moluscos (RHEINHEIMER, 1992).

De acordo com Bier (1994) as bactérias deste gênero pertencem à família Vibrionaceae, fermentam carboidratos sem produção de gás, não produzem H<sub>2</sub>S, apresentam positividade nas provas de manitol, oxidase e lisina-descarboxilase. São halófilos restritos e necessita de sódio para seu crescimento, acrescenta Murray et al. (1999).

Morfologicamente, Farmer e Hickman-Brenner (1992) afirma que estas bactérias são gram-negativas, possuem formas de bastonete curvo ou reto, podendo chegar a medir 1µm de largura e entre 2-3µm de comprimento; quando móveis possuem no mínimo um flagelo polar, mesófilas e anaeróbicas facultativas.

Os víbrios fazem parte da microbiota natural dos camarões, podendo representar risco ao cultivo quando as condices ambientais se apresentarem adversas ao desenvolvimento dos camarões (LIGHTNER, 1996).

Como relata ainda Barbieri et al. (1999) os ambientes estuarinos são reservatórios de espécies de *Vibrio* causadoras de doenças e, uma vez que as fazendas de camarão utilizam a água dos estuários para o abastecimento do cultivo, o monitoramento microbiológico das mesmas se faz necessário.

Lightner (1996) classificou mundialmente as principais espécies de *Vibrio* que apresentam risco para a carcinicultura: *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbellii*, *V. carchariae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. ordalli*, *V. parahaemolyticus*, *V. salmonicida*, *V. splendidus* e *V. vulnificus*.

Ulusarac e Carter (2004) ressaltaram ainda vinte espécies associadas à saúde pública, dentre as mais importantes *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*.

Dentre as espécies citadas acima, cepas toxigênicas de *V. cholerae*, relatadas por Barbieri et al. (1999) e Panicker et al. (2004) podem provocar danos para a saúde pública, variando de gastroenterites até quadros graves de septicemia. A habilidade destas cepas de aderir e colonizar exoesqueletos de crustáceos representa um meio de sobrevivência em ambientes aquáticos, apresentando risco para saúde pública (CASTRO-ROSAS; ESCARTIN, 2002).

Referindo-se ao *V. parahaemolyticus*, os padrões microbiológicos do pescado e de produtos derivados de pescado são definidos pela ANVISA (2001), na Resolução N 12, item 22 um limite máximo de  $10^3$  de *V. parahaemolyticus*/g para pratos prontos para o consumo  base de pescado.

Cabe resaltar, que *V. vulnificus* destaca-se pela frequência em ambientes aquáticos e diversas espécies de pescado. Sua relevância em Saúde Pública está fortemente associada ao consumo de alimentos marinhos in natura ou cozidos inadequadamente, como cita Nascimento et al. (2001). Ainda, segundo Parvathi et al. (2004) esta espécie pode causar infecções cutâneas a partir de ferimentos em pacientes imunologicamente comprometidos e lesões superfciais expostas ao meio ambiente aquático.

A vibriose nos camarões está associada a fatores adicionais que predispõem o animal a infecção, como manejo inadequado, ferimentos na cutícula e carapaça, infecções previas por outros patógenos incluindo vírus, rickettsia, *Fusarium* spp., *Gregarina* spp., algas

tóxicas, deficiência de vitamina C, estresse fisiológico, químico ou físico (PEREIRA, 2002).

Roque et al. (2001) afirma que a vibriose nos camarões pode ser caracterizada de duas formas: infecção localizada e infecção sistêmica quando afeta órgãos e tecidos do camarão.

Na infecção localizada ou cuticular, segundo Galli et al. (2001) são observadas manchas marrons ou pretas em resposta a uma possível agressão e são eliminadas por ocasião na ecdise, todavia, se estas lesões forem profundas, este quadro pode evoluir para uma vibriose sistêmica, ou seja, enfermidade secundária a condições de estresse.

Os sinais clínicos da vibriose sistêmica nos camarões são representados por uma enterite séptica hemocítica na fase de engorda apresentando desorientação, hemolinfa turva, opacidade muscular, coloração avermelhada dos apêndices, melanização das brânquias, anorexia e apatia. Os camarões afetados ficam moribundos e aglomeram-se nas margens dos viveiros atraindo aves predadoras, por isso, também é conhecida como “Síndrome da Gaivota” como relata Mendes et al. (2005).

Os camarões da espécie *L. vannamei* infectados pelo *V. alginolyticus* exibem musculatura branca e letargia, podendo ser considerado um patógeno oportunista e causando mortalidades em camarões submetidos a estresse devido a estresse salino e de amônia, acrescenta Wang e Chen (2005).

Quanto ao diagnóstico da vibriose em camarões é realizado através de análises bacteriológica, histopatológica, métodos bioquímicos, moleculares e imunológicos em amostras de hemolinfa e tecidos do camarão (LIGHTNER, 1996).

### **1.7.2 Hepatopancreatite Necrosante (NHP)**

A Hepatopancreatite Necrosante (NHP) é uma enfermidade bacteriana diagnosticada pela primeira vez por Johnson (1990) como hepatopâncreas granulomatoso causando altas mortalidades nas fazendas de camarão na porção central e sul do Texas, Peru, Costa Rica, Panamá, Brasil, Venezuela, Equador e México, relatados por Morales-Covarrubias (2008).

Avila-Villa et al. (2012) afirma que esta doença é causada por uma  $\alpha$ -proteobácteria, gram-negativa, pleomórfica e intracelular obrigatória do tipo *rickettsia*. A OIE (2012b)

acrescenta ainda três formas distintas da bactéria: pleomórfica com forma de bastão, bactéria de forma helicoidal e outra sendo filamentosas.

No entanto, Frelie et al. (1992) considera que a forma predominante da  $\alpha$ -proteobactéria é a de bastão do tipo *rickettsia*, sem flagelos e ocasionalmente exibindo uma zona de constricção transversa indicativa de replicação por fissão binária.

As espécies afetadas pela Hepatobactéria Necrosante (NHP-B) são: *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus setiferus*, *Litopenaeus stylirostris*, *Farfantepenaeus aztecus* e *Farfantepenaeus californiensis*, provocando mortalidades acima de 90% nos indivíduos afetados (LIGHTNER, 1996).

Vincent et al. (2004) em seu estudo verificaram que mortalidades causadas pela NHP-B foram observadas a partir do 16º a 51º dia após a exposição ao agente com pico no 34ª dia. Também, no mesmo estudo foi verificada a presença de DNA do agente bacteriano nas fezes dos camarões, indicativo de uma possível transmissão através da ingestão do material infectado ou através do canibalismo de camarões mortos infectados.

Diferentes estudos com a NHP-B foram realizados com o objetivo de caracterizar a dinâmica da bactéria (AVILA-VILLA et al., 2011), o processo de infecção (GRACIA-VALENZUELA et al., 2011) e o efeito da integridade e sobrevivência dos camarões (FRELIER et al., 1992), além de pesquisas que buscavam soluções para erradicar a bactéria (VINCENT; LOTZ, 2007).

Segundo Lightner e Redman (1994) salinidades entre 20 a 40‰ e temperaturas entre 29 e 30°C são consideradas fatores de risco que influenciam na ocorrência da NHP-B.

Morales-Covarrubias (2010) acrescentou que entre os meses de Setembro a Outubro houve mortalidades acima de 20% em fazendas de camarão marinho, mortalidades essas decorrentes de elevadas temperaturas durante o dia e baixas durante a noite, o que favorece a replicação e o crescimento da NHP-B.

Ressalta-se, portanto que a patogenicidade da NHP-B depende além do grau de virulência, status nutricional do indivíduo e da capacidade do agente etiológico transpor o sistema imunológico do hospedeiro (LIGHTNER, 1996).

Conforme a OIE (2012b) e Lightner (1996) os sinais clínicos da NHP-B são redução da ingestão alimentar, trato digestivo vazio, cutícula mole, musculatura flácida, letargia com retardo do crescimento. Acrescenta ainda Morales-Covarrubias (2008) palidez

generalizada do corpo, brânquias de coloração amarelo pálido a café e hepatopâncreas atrofiado apresentando coloração café claro a escuro.

O hepatopâncreas é considerado o principal alvo da NHP-B, alterações nos níveis de alguns parâmetros da hemolinfa são atribuídas ao fator estresse ou ao mau funcionamento do órgão, relata Boonyaratpalin et al. (2001).

As características do hepatopâncreas infectado pela NHP-B, conforme Lightner (1996) são túbulos hepatopancreáticos atrofiados, melanização e formação de numerosos granulomas de bactérias ao redor deles.

O exame a fresco é um importante método de monitoramento sanitário no cultivo de camarões. Entretanto, não deve ser usado para diagnóstico principal da NHP-B. A interpretação das lesões observadas e o julgamento dos graus de severidade das amostras podem variar de acordo com as observações de quem realiza o exame (MORALES-COVARRUBIAS et al., 2006).

No entanto, Lightner (1996) considera o exame histopatológico um dos métodos de escolha para diagnóstico da NHP-B sendo encontrados sinais característicos da enfermidade como atrofia tubular, lesões granulomatosas e presença maciça de bactérias gram negativas intracelulares do tipo *rickettsia*.

A OIE (2012b) acrescenta que a histopatologia é um método de diagnóstico padrão e de baixo custo apresentando boa sensibilidade e especificidade diagnóstica para NHP-B, no entanto existem também outros métodos confirmatórios como o In-situ DNA, PCR em tempo real, PCR quantitativo e Sequenciamento.

## 1.8 CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS BACTERIANAS

O controle das enfermidades bacterianas em camarões é mediante utilização de antibióticos como a Oxitetraciclina e Florfenicol 50% através de rações medicamentosas administradas a cada 8 horas por 10 dias consecutivos, principalmente administrados na fase inicial da doença como afirma Frelie et al. (1995) e Morales-Covarrubias et al. (2011). Ressalta-se a existência de antibióticos proibidos pelos mercados importadores, entre estas drogas encontra-se o Nitrofuranos e o Clorafenicol as quais já foram

responsáveis pela suspensão das importações do país de origem da carga causando perdas econômicas (ABCC, 2010).

Conforme ABCC (2005) medidas de controle da biomassa bacteriana (*Vibrio spp*) em viveiros de camarões são mediante utilização de três tratamentos de choque com intervalo de 3 dias entre as aplicações, administrando no solo do viveiro Óxido de Cálcio (CaO) ou Hidróxido de Cálcio (CaOH) na proporção de 50Kg/há ou 65Kg/há, respectivamente.

Dentre as medidas preventivas da NHP-B segundo a OIE (2012b) evidencia-se detecção na fase inicial da doença, eliminando camarões infectados evitando o canibalismo e a propagação da enfermidade, utilização de Cal hidratada mediante períodos prolongados de secagem do solo e desinfecção dos equipamentos e utensílios de despesca. Ainda para o mesmo autor, destaca-se uma medida profilática significativa para a carcinicultura a utilização de larvas e reprodutores específicos livres de patógenos (SPF).

Segundo Lee e O'Bryen (2003) a desinfecção dos ovos e das larvas é uma medida recomendada e eficaz para reduzir a contaminação pela NHP-B e por outros agentes infecciosos.

## 1.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**: Resolução nº12 de 02 de Janeiro de 2001. Brasil, 2001.

ARANA, L. V. **Produção de pós-larvas de camarão marinho**. Florianópolis: UFSC, p. 157-179. 1996.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO–ABCC**. 2010. Cartilha ilustrada sobre capacitação de trabalhadores rurais e pescadores artesanais sobre cultivo de camarão marinho, envolvendo: boas práticas de manejo no cultivo de camarões marinhos – trabalhadores rurais e pescadores artesanais; biossegurança em fazendas de camarões. 1. ed. 2010. 140p.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO–ABCC**. 2005. Programa de Biossegurança para Fazendas de Camarões Marinhos. 1. ed. Recife, 2005. 68p.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO–ABCC**. 2004. Recomendações de Boas Práticas de Manejo na Prevenção de Enfermidades. Recife, 2004. 34p.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. **Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish**. Springer: London, 1999. 457p.

ÁVILA-VILLA, L. A. et al. Evaluation of different microalgae species and *Artemia* (*Artemia franciscana*) as possible vectors of necrotizing hepatopancreatitis bacteria. **Aquaculture**, v. 318, p. 273-276, 2011.

ÁVILA-VILLA, L. A. et al. Physiological and immune responses of White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with necrotizing hepatopancreatitis bacterium. **Aquaculture**, v. 324-325, p. 14-19, 2012.

BALBI, F. J.; ROSAS, A.; VELÁSQUEZ, T.; CABRERA, E.; MANEIRO, C. Aclimatación de postlarvas de diferentes edades y criaderos Del camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) a baja salinidad. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 40, p. 109-115, 2005.

BARBIERI, E.; FALZANO, L.; FIORENTINI, C.; PIANETTI, A.; BAFFONE, W.; FABBRI, A.; MATARRESE, P.; CASIERE, A.; KATOULI, M.; KUHN, L.; MOLLBY, R.; BRUSCOLINI, F.; DONELLI, G. Occurrence, diversity and pathogenicity of halophilic *Vibrio* spp and non-O1 *Vibrio cholerae* from estuarine Waters along the Italian Adriatic coast. **Journal Applied Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2748-2753, 1999.

BARBIERI, R. C.; OSTRENSKY, A. **Camarões marinhos: engorda. Aprenda Fácil**, Viçosa – MG, 2002. 320 p.

BARRACCO, M. A. Mecanismos de resistência à doença em crustáceos. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Eds.). **Sanidade de Organismos Aquáticos**. Ed. Varela, p. 49-72, 2004.

BARRACCO, M. A.; PERAZZOLO, L. M.; ROSA, R. D. **Inmunología del camarón**. In: MORALES, Q. V.; CUÉLLAR-ANJEL, J. (Eds.). *Guia Técnica-Patología e Inmunologia de Camarones Penaeidos*. Programa CYTED, Rep. De Panamá, Panamá, p. 169-224, 2008.

BIER, O. **Microbiologia e imunologia**. 24. ed. São Paulo: Melhoramentos. 1994.

BOONYARATPALIN et al. Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). **Aquaculture Research**, v. 32, p. 388-398, 2001.

BORBA, M.; NOGUEIRA, J. Carcinicultura Brasileira: o perfil do setor em cada unidade federativa produtora em 2011. **Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC**, Ano XV, n. 2, 2013.

BOYD, C. E. **Manejo da qualidade da água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho**. Recife: ABCC, 2001.

BRASIL. **Plataforma tecnológica do camarão marinho cultivado**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Departamento de Pesca e Aquicultura, Brasília, 2001. 276p.

BRAY, W. A.; LAWRENCE, A. L.; LEUNG-TRUJILLO, J. R. The effect of salinity on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* with observations on the interaction of IHNV virus and salinity. **Aquaculture**, v. 122, p. 136-146, 1994.

BROCK, J. A.; MAIN, K. L. A. **Guide to the Common Problems and Diseases of Culture Penaeus vannamei**. The Oceanic Institute, Honolulu, 1994. 242p.

CARVALHO, P. V. V. D. B. C. **O macrozoobentos na avaliação da qualidade ambiental de áreas estuarinas no litoral norte de Pernambuco – Brasil**. 2004. 126f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal)– Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

CASTRO-ROSAS, J.; ESCARTIN, E. F. Adhesion and colonization of *Vibrio cholerae* O1 on shrimp and crab carapaces. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 3, p. 492-498, 2002.

CERENIUS, L.; LEE, B. L.; SÖDERHÄLL, K. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. **Trends in Immunology**. v. 29, p. 263-271, 2008.

CERENIUS, L.; SÖDERHÄLL, K. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. **Immunological Reviews**, v. 198, p. 116-126, 2004.

CHARMANTIER, G. L'osmoregulation chez les crevettes Penaeidae (Crustacea, Decapoda). **Océanis**, v. 13, n. 2, p. 179-196, 1987.

CHEN, J. C.; LIN, M. N.; TING, Y. Y.; LIN, J. N. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinities and temperatures levels. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 110A, p. 253-258, 1995.

DECAMP, O. J.; CODY, L.; CONQUEST, G.; DELANOY.; AGJ TACON. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) within experimental zero-water exchange culture systems. **Aquaculture**, v. 34, p. 345-355, 2003.

FARMER III, J. J.; HICKMAN-BRENNER, F. W. The genera *Vibrio* and photobacterium. In: BALOWS, A. et al. (Ed.). **The Prokaryotes**. New York, NY: Springer Verlag, v. 2, p. 2952-3011, 1992.

**FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO)**, 2011. Disponível em: <[www.fao.org/figis](http://www.fao.org/figis)>. Acesso em: 16 abr. 2013.

**FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO)**, 2013. State of World Aquaculture, Rome. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 25 mai. 2013.

FRELIER, P. F.; LOY, J. K.; VARNER, P.; THOMPSON, J. A.; LAWRENCE, A. L. BRAY, W. A. Management procedures for the treatment of necrotizing hepatopancreatitis in farmed shrimp. In: BROWDY, C. L.; HOPKINS, J. S. (Eds.). **Swimming Through Troubled Waters. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming**. World Aquaculture Society '95. San Diego, CA, USA, 1995. 240p.

FRELIER, P. F. et al. Microscopic and ultrastructural studies of Necrotizing Hepatopancreatitis in pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Texas. **Veterinary Pathology**, v. 29, p. 269-277, 1992.

GALLI, L. et al. **I Curso básico de bacteriología**. 2001. 42p.

GAMEZ, J. C. I. Manual de practicas de laboratorio de sanidad de camarón. **Instituto Tecnológico de Sonora**, p. 18-23. 2001.

GRACIA-VALENZUELA, M. H. et al. Assessing the viability of necrotizing hepatopancreatitis bacteria (NHPB) stored at – 20 degrees C for use in forced—feeding infection of *Penaeus* (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 311, p. 105-109, 2011.

HERNÁNDEZ, M. R.; BUCKLE, L. F. R.; PALACIOS, E.; BARÓN, B. S. Preferential behavior of White shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) by progressive temperature-salinity simultaneous interaction. **Journal of Thermal Biology**, v. 31, n. 7, p. 565-572, 2006.

HERZBERG, M. Z. Enfermedades mas frecuentes em cultivos regionales de camarón. **Centro de Ciências de Sinaloa**, p. 1-12. 1996.

HICKMAN, C. P.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A. Homeostasis – Osmotic Regulation, Excretion and Temperature Regulation. In: **Integrated Principles of Zoology**. New York: McGraw Hill, p. 664-683, 2001.

IWANAGA, S.; LEE, B. L. Recent advances in the innate immunity of invertebrate animals. **Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, p. 128-150, 2005.

JUSSILA, J.; MCBRIDE, S.; JAGO, J.; EVANS, L. H. Hemolymph clotting time as an indicator of stress in western rock lobster (*Panulirus Cygnus*, George). **Aquaculture**, p.185-193, 2001.

KAUTSKY, N et al. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp and farming. **Aquaculture**, v. 191, p. 145-161, 2000.

LEE, C. S.; O'BRYEN, P. J. **Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 2003. 293p.

LE MOULLAC, G.; SOYEZ, C.; SAULNIER, D.; AMSQUER, D.; AVARRE, J. C.; LEVY, P. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 8, p. 621-629, 1998.

LENOCH, R. **Avaliação do risco epidemiológico da carcinicultura Catarinense usando como modelo a Síndrome de Taura e a Doença da Mancha Branca**. 2004. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí – SC.

LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M. Shrimp diseases and current diagnostic methods. **Aquaculture**, v. 164, p. 201-220, 1998.

LIGHTNER, D. V. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. **World Aquaculture Society**, Balton Rouge, Louisiana, 1996.

LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M. An epizootic of necrotizing hepatopancreatitis in cultured penaeid shrimp (Crustacea: Decapoda) in northwestern Peru. **Aquaculture**, v. 122, p. 9-18, 1994.

LIGHTNER, D.V. Diseases of cultured penaeid shrimp. In: J. P. McVey. **CRC Handbook of mariculture**. Crustacean aquaculture. Baton Rouge: CRC Press, v. 1, p. 393-486, 1993.

MAIN, K. L.; LARAMORE, R. Shrimp Health Management. In: Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. In: VAN WYK, P.; DAVIS-HODGKINS, M.; LARAMORE, R.; MAIN, K. L.; MOUNTAIN, J.; SCARPA, J. (Eds.). **Harbor Branch Oceanographic Institution (HBOI)**, p. 163-177, 1999.

MARTIN, G. G. et al. Clearance of bacteria injected into the hemolymph of the ridgeback prawn-Sicyonia ingentis (Crustacea: Decapoda): Role of hematopoietic tissue. **Journal of Morphology**, v. 227, p. 227-233, 1996.

MENDES, E. S. et al. Os vírios na carcinicultura. **Panorama da aquicultura**, v. 15, n. 91, 2005.

MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Detección mediante análisis en fresco e histopatología. **Enfermedades del camarón**. Editorial Trillas: SA de CV, 2. ed, p. 1-130, 2010.

MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Enfermedades bacterianas. In: MORALES, V.; CUÉLLAR-ANJEL, J. (Eds.). **Guía técnica: patología e inmunología de camarones penaeidos**. Panamá: Panamá, p. 117-134, 2008.

MORALES-COVARRUBIAS, M. S.; TLAHUEL-VARGAS, L.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, I. E.; LOZANO-OLVERA, R.; PALACIOSARRIAGA, J. M. NHP infection in *Penaeus vannamei* with florfenicol and oxytetracycline: a comparative experimental study. **Revista Científica**, FCV-LUZ, 2011.

MORALES-COVARRUBIAS, M. S. et al. Prevalence of necrotizing hepatopancreatitis in female broodstock of *Penaeus vannamei* with unilateral eyestalk ablation and hormone injection. **Journal Aquatic Animal Health**, v. 18, p. 19-25, 2006.

MOULLAC LE, G.; HAFFNER, P. Environment factors affecting immune responses. **Aquaculture**, v. 191, p. 121-131, 2000.

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2008/2009**. Brasília, 2010. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/>>. Acesso em: 16 fev. 2013.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of clinical microbiology**. 7<sup>th</sup>. ed. American Society for Microbiology, 1999.

NASCIMENTO, S. M. M. et al. *Vibrio vulnificus* as a health hazard for shrimp consumers. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 263-266, 2001.

NUNES, A. J. P. 2001. **O cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em águas oligohalinas**. Disponível em: <<http://www.aqualider.com.br/article.php?action=articleview&recid=101>>. Acesso em 11 de Dezembro de 2012 as 10:34 hrs.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Estudo setorial para a consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**. Grupo integrado de aquicultura e estudos ambientais, Curitiba, Brasil, 2007. 279 p.

PANICKER, G. et al. Deteccion of pathogenic species in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarray. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 7436-7444, 2004.

PARVATHI, A. et al. Detection and enumeration of *Vibrio vulnificus* in oysters from two estuaries along the southwest coast of India, using molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 70, p. 6909-6913, 2004.

PASCUAL, C.; SÁNCHEZ, A.; SÁNCHEZ, A.; VARGAS-ALBORES, F.; LE MOULLAC, G e ROSAS, C. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. **Aquaculture**, v. 218, p. 637-650, 2003.

PEREIRA, A. R. **Patologia de camarões marinhos**. Apostila, 2002. 57p.

PINHEIRO, A. C. A. S et al. Epidemiological status of Taura syndrome and Infectious myonecrosis viruses in *Penaeus vannamei* reared in Pernambuco (Brazil). **Aquaculture**, v. 262, p.17-22, 2007.

PONCE-PALAFOX, J.; MARTINEZ-PALACIOS, C. A.; ROSS, L.G. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile White shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone) 1931. **Aquaculture**, v. 157, p. 107-115, 1997.

RHEINHEIMER, G. **Aquatic microbiology**. Wiley: London, 1992. 363p.

ROCHA, I. A Importância da Aquicultura e da Carcinicultura no Contexto da Produção Mundial de Pescado: Desafios e Oportunidades para o Brasil. **Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC**. Ano XV, n. 2, Jun. de 2013a.

ROCHA, I. et al. O Censo da carcinicultura Nacional em 2011. **Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC**. Jan. de 2013b.

ROQUE, A. et al. In vitro susceptibility to 15 antibiotics of vibrios isolated from penaeid shrimp in Northwestern México. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 17, p. 383-387, 2001.

ULUSARAC, O.; CARTER, E. Varied clinical presentations of *Vibrio vulnificus* infections: a report of four unusual cases and review of the literature. **South East Asian Medical Journal**, v. 97, p. 163–168, 2004.

VAN WYK, P.; SCARPA, J. Water quality and management. In: VAN WYK, P et al. (Eds.). **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**. Florida department of agriculture and consumer services, Tallahassee, p. 128-138, 1999.

VINCENT, A. G.; LOTZ, J. M. Advances in research of necrotizing hepatopancreatitis bacterium (NHPB) affecting penaeid shrimp aquaculture. **Reviews in Fisheries Science**, v. 15, p. 63-73, 2007.

VINCENT et al. Experimental infection of Pacific White shrimp *Litopenaeus vanammei* with Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP) bacterium by per os exposure. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 61, p. 227-233, 2004.

VINATEA, L. **Princípios químicos de qualidade de água em aquicultura**. Florianópolis, Santa Catarina, 2004. 231p.

WANG, L. U.; CHEN, J. C. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vanammei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 18, p. 269-278, 2005.

**WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE)**. Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code). 2012a. Disponível em: <<http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2013/>>. Acesso em: 16 mar. 13.

\_\_\_\_\_. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals (Aquatic Manual). Necrotising hepatopancreatitis. p. 148-159. 2012b. Disponível em: <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/aahm/2010/2.2.04\\_NHP.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/2010/2.2.04_NHP.pdf)>. Acesso em: 16 mar. 2013.

YE, L.; JIANG, S.; ZHU, X.; YANG, Q.; WEN, W.; WU, K. Effects of salinity on growth and energy budget of juvenile *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, p. 140-144, 2009.

# CAPÍTULO II

Trabalho submetido à revista:

DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS

Página eletrônica:

<http://www.int-res.com/journals/dao/dao-home/>

ISSN: 1616 - 1580 (on line)

ISSN: 0177 - 5103 (Impresso)

## Diagnóstico clínico e histopatológico de *rickettsia* em cultivo de *L. vannamei* com elevada mortalidade

L. V. A. Figueirôa<sup>1,\*</sup>, J. T. A. X. Lima<sup>2</sup>, F. M. C. Feijó<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Animais, Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Federal Rural do Semi – Árido (UFERSA), BR 110, Km 47, 59625-000, Mossoró/RN, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Animais, Laboratório de Sanidade Aquática (LASA), UFERSA

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Animais, Laboratório de Microbiologia, UFERSA

**RESUMO:** Com o aparecimento de elevadas mortalidades em cultivo tradicional de camarões marinhos objetivou-se avaliar a sanidade em viveiros semi- intensivo de Mossoró/RN. Uma amostra aleatória de 200 camarões foi coletada para exame clínico presuntivo e histopatológico do hepatopâncreas. Presuntivamente foram avaliados à presença de lesões melanizadas na cutícula, opacidade muscular, expansão dos cromatóforos e o hepatopâncreas quanto ao nível de lipídios e deformidades tubular. Histologicamente os fragmentos hepatopancreáticos foram avaliados quanto à presença de bactérias intracitoplasmáticas. Foram registrados percentuais de morbidade de 89,5% de camarões infectados pela bactéria NHP-B e 10,5% não apresentaram infecção. O tempo de coagulação da hemolinfa não demonstrou ser um bom parâmetro para diagnosticar indivíduos enfermos pela NHP-B já que com a infecção também apresentaram tempo menor que 30s. Presuntivamente os indivíduos afetados apresentaram lesões melanizadas o que favoreceram a bacteriose, 45,5% apresentou necrose focal a difusa nos segmentos abdominais, os pleópodos não apresentaram expansão dos cromatóforos, apenas nos quadros mais evoluídos da infecção e 73% apresentavam urópodos com cromatóforos expandidos. Na análise microscópica do hepatopâncreas verificou-se que 57,5% apresentaram túbulos com redução significativa dos níveis de lipídios, 66,5% apresentavam GS 3 indicando a fase de transição da doença e 23% o GS 4 considerando a fase crônica. Histologicamente observou-se ausência de citoplasma nas células B com condensação da cromatina apresentando bactérias intracitoplasmáticas com núcleos picnóticos e basófilos no seu interior. Conclui-se que fatores abióticos como salinidade e temperaturas elevadas no decorrer do estudo favoreceram a virulência do patógeno nos viveiros de camarões marinhos desencadeando em acentuada mortalidade. Os sinais clínicos presuntivos sugeriu infecção bacteriana por NHP-B e o histopatológico confirmou Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP-B) como causador de elevadas mortalidade nos viveiros.

**PALAVRAS-CHVES:** *L. vannamei* . Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana. Rickettsia. Histopatologia.

---

\* E-mail: lucianaveras\_1@yahoo.com.br

## INTRODUÇÃO

A produção camaroeira latino-americana nas últimas décadas teve diversas restrições devido à ocorrência de enfermidades (Morales-Covarrubias et al. 2011). O aparecimento de doenças em cultivos de camarões inicia-se por redução da defesa imunológica do animal normalmente por agentes estressantes (Brock 1994). Outras causas podem favorecer a enfermidades como presença excessiva de microalgas (dinoflagelados e cianofíceas), propagação de patógenos oportunistas e proliferação de protozoários, aquisição de pós-larvas com alta carga bacteriana e viral ou captação de água contaminada (Lenoch 2004).

De acordo com a OIE (2012a) as enfermidades de notificação obrigatória em crustáceos são Infecção Hipodermal e Necrose hematopoiética (IHHN); Mionecrose Infeciosa (IMN); Síndrome de Taura (TS); Doença da Síndrome da Mancha Branca (WSSD); Doença da Cabeça Amarela (YHD); Doença da Cauda Branca (WTD) e Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP-B). As enfermidades ocasionam alterações no comportamento dos camarões como letargia, desorientação, diminuição no consumo de alimento, aumento no fator de conversão alimentar, mudanças na aparência dos órgãos como brânquias, hepatopâncreas e musculatura abdominal (Main & Laramore 1999). Além de prejudicar a produtividade, que em média chega a 4,5 ton./há/ano de camarão em condições normais de cultivo semi-intensivo no Nordeste do Brasil, e quando acometida por patógenos diminui para 1,2 ton./há/ano, relatado por Nunes (2013).

Diante do aparecimento de elevadas mortalidades em viveiros de camarões marinhos do Rio Grande do Norte, objetivou-se identificar a causa através da avaliação da sanidade dos camarões nestes viveiros.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em viveiros semi-intensivos com alta mortalidade no período entre Agosto a Outubro de 2012 na região de Mossoró/RN, uma amostra de 200 camarões foi coletada aleatoriamente com auxílio de tarrafa e transportados em caixas plásticas com água e aeração adequada para o laboratório de Sanidade Aquática (LASA) na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Os parâmetros físico-químicos dos viveiros como oxigênio, pH, temperatura e salinidade foram registrados.

O monitoramento da sanidade dos camarões foi avaliado através de exame clínico presuntivo e análises histopatológicas dos hepatopâncreas. No exame presuntivo foi observado o tempo de coagulação da hemolinfa segundo Aguirre-Guzmán; Sánchez Martínez (2005), aparência macroscópica do camarão e análise microscópica do hepatopâncreas conforme metodologia proposta por Lightner (1996). Os aspectos macroscópicos foram caracterizados de acordo com o grau de severidade das lesões variando de 0 a 3 (Lightner 1996) para grau de melanizações das lesões na cutícula, presença de opacidade muscular e expansão dos cromatóforos nos apêndices (Tabela 1).

**Tabela 1.** Quantitativo do grau de severidade para melanizações das lesões na cutícula, presença de opacidade muscular e expansão dos cromatóforos nos apêndices.

<b>GRAU DE SEVERIDADE</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>
<b>0</b>	Não apresentam alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.
<b>1</b>	Apresentam poucas alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.
<b>2</b>	Apresentam moderadas alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.
<b>3</b>	Apresentam numerosas alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.

Fonte: Modificado de Lightner (1996)

Para análise microscópica, os animais foram insensibilizados e sacrificados no gelo através de choque térmico. Os hepatopâncreas foram analisados no microscópio óptico com objetivas de 10×, 20×, 40× e de 100×, posteriormente foram caracterizados quanto à quantidade de lipídios (Tabela 2), atrofia tubular e deformidades nos túbulos (Tabela 3) de acordo com a classificação de Morales-Covarrubias (2008).

**Tabela 2.** Quantitativa do grau de severidade para quantidade de lipídios no hepatopâncreas.

<b>GRAU DE SEVERIDADE</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>
<b>1</b>	Hepatopâncreas com muito pouco teor de lipídios (abaixo de 25%).
<b>2</b>	Hepatopâncreas com baixo teor de lipídios (25 - 50%).
<b>3</b>	Hepatopâncreas com moderado teor de lipídios (50 - 75%).
<b>4</b>	Hepatopâncreas com alto nível de lipídios (acima de 75%).

**Tabela 3.** Quantitativo do grau de severidade para atrofia e deformidades nos túbulos hepatopancreáticos.

GRAU DE SEVERIDADE	SINAIS CLÍNICOS
1	Hepatopâncreas de tamanho normal apresentando túbulos normais ausentes de atrofia.
2	Hepatopâncreas atrofiado e em algumas regiões presença de túbulos atrofiados rodeados por algumas camadas de hemócitos.
3	Hepatopâncreas atrofiado caracterizado por túbulos atrofiados, melanização, necrose e formação de nódulos hemocíticos.
4	Hepatopâncreas atrofiado caracterizado pela presença de fibrose, túbulos melanizados, necróticos e presença de granulomas.

Fonte: Modificado de Morales-Covarrubias (2008)

Os fragmentos dos hepatopâncreas foram imersos para fixação em frascos de 250 mL com Solução de Davidson por 48 horas, posteriormente foram enxaguados com água corrente e conservados em álcool etílico a 70% até a análise histológica (Bell & Lightner 1988). Na leitura das lâminas foi utilizado um microscópio de luz com as objetivas de 5×, 10×, 40× e 100×. As imagens foram registradas com câmara digital Infinity 5.0–Olympus-Japón adaptada ao microscópio.

O percentual de camarões acometidos por enfermidades foi registrado baseado na equação: Percentual = Número de indivíduos afetados pela doença com sintomatologia clínica ÷ Número total de indivíduos analisados × 100.

## RESULTADOS

Os viveiros da região de Mossoró no Rio Grande do Norte apresentavam parâmetros físico-químicos da água com variações mínima e máxima (média e desvio padrão) para oxigênio, pH, temperatura e salinidade de 2,9mg/L – 9,7mg/L (5,6mg/L ± 2,46), 8 - 9 (8,5 ± 0,5), 25°C – 29°C (27°C ± 1,40) e 30,9‰ – 37,0‰ (34,3‰ ± 2,78), respectivamente.

Entre os meses de estudo foi observado uma mortalidade de 70% nos viveiros estudados, em que as variações de temperatura e salinidades foram moderadamente elevadas neste período.

Na amostra de camarões foi verificado através de exame clínico presuntivo um percentual de morbidade de 89,5% de camarões enfermos e 10,5% camarões sadios.

No exame clínico presuntivo dos camarões enfermos verificou-se que 86% ocorreu tempo de coagulação da hemolinfa  $\leq 30$ s com média e desvio padrão ( $13 \pm 5,21$ ), 1,5% apresentaram coagulação  $> 30$ s e  $< 60$ s ( $33 \pm 1,52$ ) e 2% com coagulação  $\geq 60$ s. Os 10,5% dos animais sadios observou-se tempo de coagulação  $\leq 30$ s ( $15 \pm 4,56$ ).

Nos indivíduos enfermos 66,5% não apresentavam lesões melanizadas na cutícula (GS 0), 14,5% uma lesão única no exoesqueleto (GS 1), 6% duas a três lesões em diferentes regiões do exoesqueleto e 2,5% múltiplas lesões em toda a extensão do exoesqueleto do camarão.

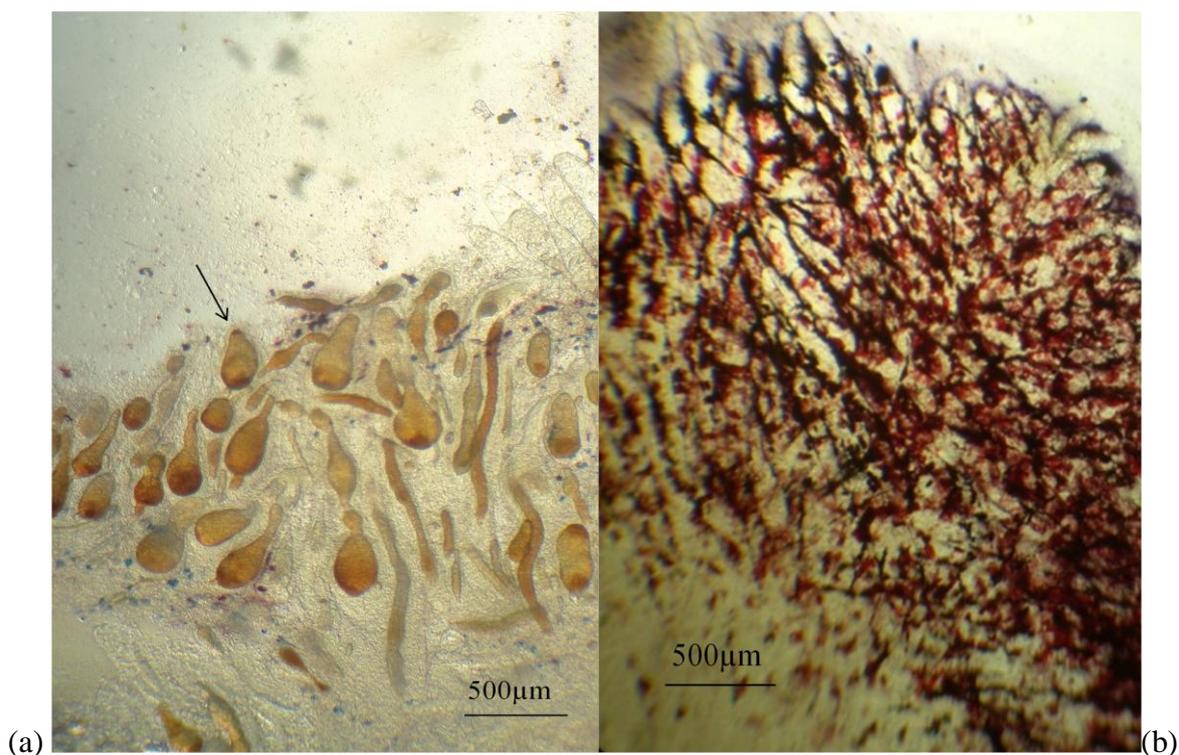
Neste estudo verificou-se que 45,5% dos camarões apresentavam necrose focal a difusa nos segmentos abdominais. A musculatura abdominal dos camarões enfermos apresentavam em 44% musculatura translúcida ausentes de necrose (GS 0), 20% apenas um foco de necrose muscular atingindo um único segmento abdominal (GS 1), 13,5% dois segmentos abdominais afetados com necrose muscular (GS 2) e 12% necrose difusa acometendo toda a extensão do corpo do animal (GS 3).

Em 64,5% dos pleópodos estavam normais sem expansão dos cromatóforos (GS 0), 20% pouca expansão dos cromatóforos (GS 1), 3,5% moderada expansão dos cromatóforos (GS 2) e 1,5% numerosos cromatóforos expandidos (GS 3). No entanto, 73% dos camarões enfermos apresentavam urópodos com cromatóforos expandidos. Em 16,5% apresentaram urópodos normais ausentes de cromatóforos expandidos (GS 0), 19% pouca expansão dos cromatóforos (GS 1), 32,5% moderada expansão dos cromatóforos (GS 2) e 21,5% numerosos cromatóforos expandidos (GS 3).

Na análise microscópica, quanto ao nível de lipídios dos hepatopâncreas foi observado em 57,5% dos camarões enfermos uma redução significativa dos níveis de lipídios dos túbulos. Em 5% dos camarões apresentaram túbulos hepatopancreáticos com muito pouco lipídios (GS 1), 52,5% túbulos com pouco nível de lipídios (GS 2), 31% túbulos com moderado nível de lipídios (GS 3) e 1% túbulos com alto nível de lipídios considerados adequados (GS 4) (Tabela 2).

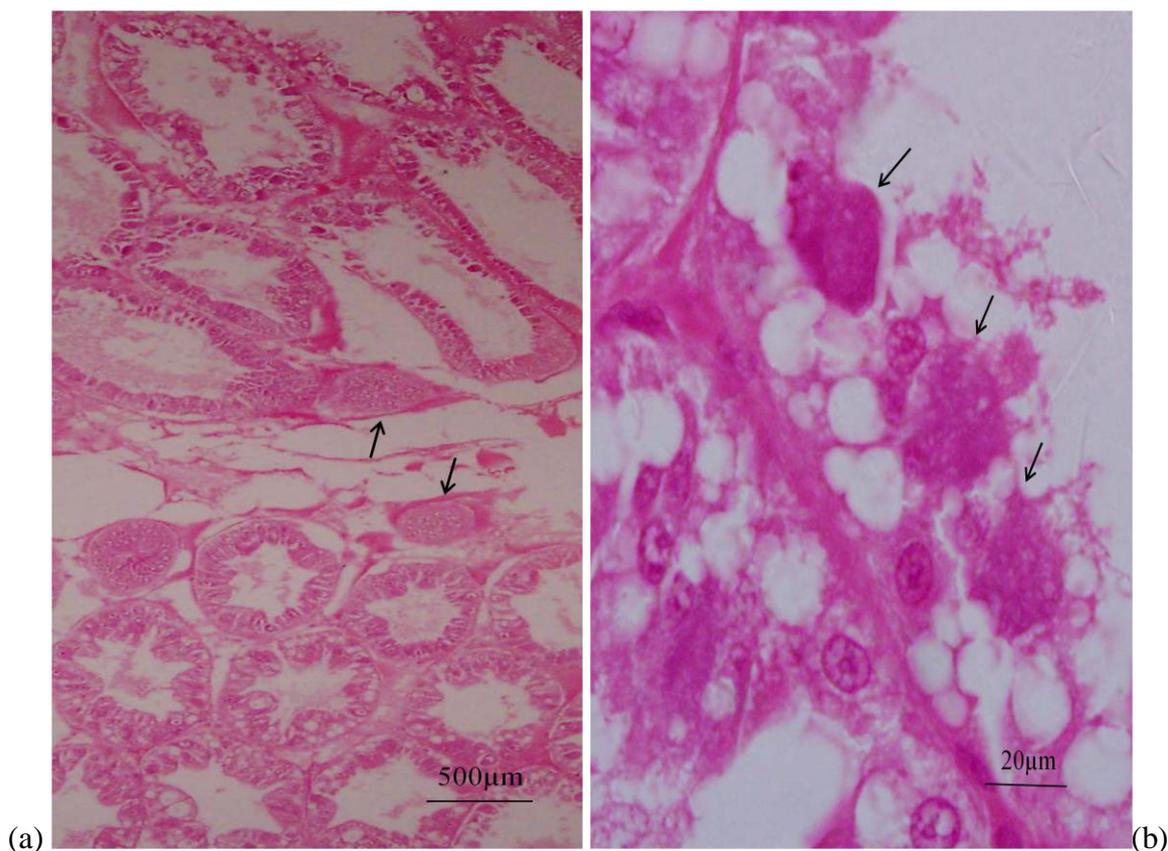
Quanto a deformidade dos túbulos verificou-se que 66,5% dos camarões apresentavam GS 3 considerando a fase de transição da Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP-B) apresentando coloração pálida no interior dos túbulos, atrofia, necrose e estrangulamento tubular. No entanto, em 23% dos camarões verificou-se o GS 4

apresentando a fase crônica da NHP-B caracterizado pelo atrofia tubular com aumento das células com necrose, assim como nódulos melanizados ao redor dos túbulos (Figura 1).



**Fig. 1.** (a) Grau de severidade 3 apresentando atrofia, deformidade, necrose e estrangulamento tubular. (b) Grau de severidade 4 caracterizado por aumento da necrose nas células dos túbulos hepatopancreáticos, assim como maior quantidade de nódulos melanizados ao redor dos túbulos.

Na análise histopatológica dos fragmentos dos hepatopâncreas dos indivíduos enfermos verificou-se atrofia dos túbulos hepatopancreáticos, nódulos hemocíticos, menor quantidade de vacúolos lipídicos (células R) e vacúolos secretores (células B) apresentando condensação do citoplasma. Nestes vacúolos também foram observadas bactérias intracitoplasmáticas do tipo rickettsia com núcleos picnóticos e basófilos em seu interior (Figura 2).



**Fig. 2.** (a) Vista da região medial de túbulos do hepatopâncreas de *L. vannamei* cortado transversalmente apresentando alguns túbulos atrofiados e nódulos hemocíticos ao redor dos túbulos (setas). (b) Vista da região proximal do túbulo do hepatopâncreas de *L. vannamei* apresentando túbulo atrofiado com desprendimento celular e aparecimento de rickettsia no interior das células B (setas).

## DISCUSSÃO

Os fatores abióticos como períodos prolongados de temperaturas elevadas acima de 29°C e salinidade média de 37,0‰ estão de acordo com as variáveis relatadas pela OIE (2012b) e Morales-Covarrubias et al. (2011) favorecendo a replicação do agente etiológico da NHP-B.

Resultados similares ao presente estudo foram relatados por Morales-Covarrubias (2010) que entre os meses de Setembro a Outubro houve mortalidades acima de 20% em fazendas de camarão marinho. Estas mortalidades ocorridas nestes meses do ano devem-se, portanto, a elevadas temperaturas durante o dia e baixas durante a noite o que favorece a replicação e o crescimento da NHP-B como relata a OIE (2012b).

Ressalta-se, portanto que a patogenicidade do agente etiológico dependerá do grau de virulência, status nutricional do indivíduo e a sua capacidade de atravessar o sistema imunológico do hospedeiro (Lightner 1996).

No exame presuntivo verificou-se que o tempo de coagulação da hemolinfa não demonstrou ser um bom parâmetro para diagnosticar indivíduos enfermos já que os mesmos apresentaram um tempo de coagulação menor que 30s considerado coagulação normal segundo Aguirre-Guzmán & Sánchez-Martínez (2005).

Contudo, o tempo de coagulação pode estar associado a outros fatores relacionados ao estresse físico, químico ou biológico. Jussila et al. (2001), Lightner (1996) relataram no cultivo que o aumento no tempo de coagulação da hemolinfa está associado a estresse fisiológico ou a infecções diversas. Fatores estressantes abordados por Maggioni et al. (2004) utilizando a técnica de ablação unilateral do pedúnculo ocular em espécies de *L. vannamei* verificaram uma diminuição da concentração de aglutininas, aumentando conseqüentemente o tempo de coagulação do plasma.

Macroscopicamente, observou-se que camarões enfermos apresentaram ao menos uma lesão melanizada no exoesqueleto, necrose focal a difusa nos segmentos abdominais e cromatóforos expandidos principalmente nos urópodos. As lesões melanizadas confere uma maior predisposição à bacteriose, corroborando com um dos sinais clínicos da NHP-B relatados pela OIE (2012b).

A palidez generalizada do corpo acometendo todos os segmentos abdominais adicionando expansão dos cromatóforos nas bordas dos uropódos observadas no presente estudo está de acordo com os principais sinais clínicos da NHP-B referidos por Morales-Covarrubias (2008); Lightner (1996); Lightner & Redman (1998) e pela OIE (2012b).

Citando os pleópodos dos camarões enfermos, não apresentaram neste estudo expansão dos cromatóforos, apenas nos indivíduos com quadro mais evoluído de infecção.

Microscopicamente, observou-se redução significativa dos níveis de lipídios dos túbulos hepatopancreáticos, correlatado também por Aranguren et al. (2006), Cahu et al. (1995) em náuplios de *L. vannamei*. Estes autores conferiram uma diminuição considerável dos níveis de triglicerídeos em fêmeas infectadas pela NHP-B.

No que concerne à deformidade dos túbulos hepatopancreáticos assemelham-se as descritas pela OIE (2012b) e Morales-Covarrubias (2008). Na fase de transição da NHP-B (GS 3) descritas por Morales-Covarrubias (2008) são observadas atrofia e deformidade

tubular, necrose das células dos túbulos hepatopancreáticos, assim como estrangulamento dos túbulos com desprendimento celular, semelhantes às identificadas neste estudo (Figura 4a). Segundo o mesmo autor referindo-se a fase crônica da NHP-B (GS 4) são relatadas atrofia com aumento da necrose nas células dos túbulos hepatopancreáticos, assim como maior quantidade de nódulos melanizados ao redor dos túbulos, semelhantes as características aqui determinadas (Figura 4b).

Com a progressão da fase de transição para a crônica observada neste estudo, houve um aumento no número de células hepatopancreáticas contendo a NHP-B no decurso da evolução, sugerindo multiplicação bacteriana associada ao aumento da lesão tecidual. Estas características estão de acordo com as encontradas por Vincent & Lotz (2005) em *L.vannamei* na fase crônica da NHP-B.

As fases da NHP-B relatadas no estudo estão de acordo com as descritas por Frelief et al. (1992) considerando o GS 3 o 2º estágio da doença, caracterizado por numerosos túbulos enrugados, hipertróficos, necróticos e apresentando ectasia tubular. O GS 4 foi considerado para o mesmo autor o 3º estágio da doença, caracterizado por numerosos túbulos necróticos dispersos, falta de epitélio intacto tubular, melanização e fibrose.

Histologicamente, a presença de atrofia tubular, nódulos hemocíticos, diminuição das células R, condensação do citoplasma das células B apresentando no seu interior bactérias do tipo rickettsia com núcleos picnóticos e basófilos estão de acordo com as citadas por Lightner & Redman (1994), Lightner (1996) e Morales-Covarrubias (2008) no diagnóstico confirmatório da NHP-B. As características histológicas relatadas no presente estudo estão equivalentes as de Morales-Covarrubias et al. (2011) em análises do hepatopâncreas de *L.vannamei* em oito regiões da América Latina apresentando atrofia tubular, nódulos hemocíticos e granulomas de bactérias.

Segundo Morales-Covarrubias et al. (2006) o exame a fresco é um importante método de monitoramento sanitário no cultivo de camarões, no entanto, não deve ser usado para diagnóstico principal da NHP-B. No entanto, a interpretação das lesões observadas e o julgamento dos graus de severidade das amostras podem ser variáveis de acordo com as observações de quem realiza o exame.

Segundo a OIE (2012b) a histopatologia é considerada um método de diagnóstico padrão e de baixo custo com boa sensibilidade e especificidade diagnóstica para NHP-B,

porém existem também outros métodos confirmatórios como In-situ DNA, PCR em tempo real, PCR quantitativo e Sequenciamento.

Conclui-se que fatores abióticos como salinidade e temperaturas elevadas no decorrer do estudo favoreceram a virulência do patógeno nos viveiros de camarões marinhos desencadeando em acentuada mortalidade.

Os camarões enfermos apresentaram no mínimo uma lesão melanizada no exoesqueleto, necrose focal a difusa nos segmentos abdominais, cromatóforos expandidos nos urópodos, redução significativa dos níveis de lipídios nos túbulos hepatopancreáticos apresentando a fase de transição em maior percentual. Diante destes sinais clínicos presuntivos sugeriu infecção bacteriana por NHP-B. Acrescentando o diagnóstico da enfermidade, o histopatológico confirmou que a alta mortalidade nos viveiros ocorreu devido à infecção intracitoplasmática pela Hepatopancreatite Necrosante Bacteriana (NHP-B).

*Agradecimentos.* Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro com bolsa de mestrado que possibilitou a execução deste trabalho.

#### REFERÊNCIAS CITADAS

- Aguirre-Guzmán G, Sánchez-Martínez JG (2005) Análisis en fresco de camarón, un proceso rápido para el diagnóstico presuntivo de enfermedades. *Panorama Acuícola Magazine* 19:59-65
- Aranguren LF et al (2006) Necrotizing hepatopancreatitis (NHP) infected *Penaeus vannamei* female brood-stock: effect on reproductive parameters, nauplii and larvae quality. *Aquaculture* 258:337-343
- Bell TA, Lightner DV (1988) Manual de Histología del Camarón *Penaeus* Normal. World Aquaculture Society, Tucson, Arizona
- Brock JA, Main K (1994) A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*. Oceanic Institute, Honolulu
- Cahu CL et al (1995) Effects of highly unsaturated fatty acids,  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on eggs composition and development of *Penaeus indicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 112:417-424
- Frelier PF et al (1992) Microscopic and ultrastructural studies of Necrotizing Hepatopancreatitis in pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Texas. *Vet Pathol* 29:269-277

- Jussila, J et al (2001) Hemolymph clotting time as an indicator of stress in western rock lobster (*Panulirus Cygnus*, George). *Aquaculture* 199:185-193
- Lenoch R (2004) Avaliação do risco epidemiológico da carcinicultura Catarinense usando como modelo a Síndrome de Taura e a Doença da Mancha Branca. Dissertação de Mestrado, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC
- Lightner DV (1996) Diseases of penaeid shrimp. In: Mcvey JP (eds). *Handbook of mariculture: crustacean aquaculture*. Boca Raton: CRC Press, p 393-486
- Lightner DV, Redman RM (1994) An epizootic of necrotizing hepatopancreatitis in cultured penaeid shrimp (Crustacea: Decapoda) in northwestern Peru. *Aquaculture* 122:9-18
- Lightner DV, Redman RM (1998) Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture* 164:201-220
- Main KL, Laramore R (1999) Shrimp Health Management. In: Van Wyk, P, Davis-Hodgkins, M, Laramore, R, Main, K.L, Mountain, J, Scarpa, J. (eds). *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Harbor Branch Oceanographic Institution (HBOI), p 163-177
- Maggioni et al. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. *Aquaculture* 241:501–515
- Morales-Covarrubias MS et al (2011) Prevalência de enfermidades de camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em ocho regiones de latinoamérica. *Revista científica, FCV-LUZ* 21:434-446
- Morales-Covarrubias MS (2010) Detección mediante análisis en fresco e histopatología. Enfermedades del camarón. Editorial Trillas: SA de CV, p 1-130
- Morales-Covarrubias MS (2008) Enfermedades bacterianas. In: MORALES, V.; CUÉLLAR-ANJEL, J. (Eds.). *Guia Técnica – Patologia e imunologia de camarones penaeidos*, Panamá, p 117-134
- Morales-Covarrubias MS et al (2006) Prevalence of necrotizing hepatopancreatitis in female broodstock of *Penaeus vannamei* with unilateral eyestalk ablation and hormone injection. *J Aquat Anim Health* 18:19-25
- Nunes AJP (2013) Perspectivas da Piscicultura marinha no Nordeste do Brasil. *Revista da ABCC* 15:50-55
- Vicente AG, Lotz JM (2005) Time course of necrotizing hepatopancreatitis (NHP) in experimentally infected *Litopenaeus vannamei* and quantification of NHP-bacteria using real-time PCR. *Dis Aquat Org* 67:167-169
- WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE) (2012a). *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)*. <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2013/> (Acessado em 16 Març 2013)
- WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE) (2012b) *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals (Aquatic Manual)*. Necrotising

hepatopancreatitis.[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/aahm/2010/2.2.04\\_NHP.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/2010/2.2.04_NHP.pdf) (Acessado em 16 Março 2013)

O artigo está escrito nas normas da revista DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS

# CAPÍTULO III

## CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DE VIBRIOSE SISTÊMICA EM CAMARÕES MARINHOS CULTIVADOS EM SISTEMA OLIGOHALINO

Luciana Vêras de Aquino Figueirôa<sup>(1,2\*)</sup>, José Ticiano Arruda Ximenes de Lima<sup>(2,3)</sup>,  
Francisco Marlon Carneiro Feijó<sup>(3)</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), BR 110, Km 47, 59625-000, Mossoró, RN, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Animais, Laboratório de Sanidade Aquática (UFERSA),

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Animais, Laboratório de Microbiologia (UFERSA) \* autor para correspondência e-mail: lucianaveras\_1@yahoo.com.br

**RESUMO:** Variações bruscas no ambiente de cultivo faz com que o sistema de defesa dos crustáceos fique debilitado, tornando-os mais vulnerável ao ataque de patógenos presentes no meio. As enfermidades infecciosas que acometem os camarões são provocadas principalmente por patógenos virais e bacterianos gram-negativos (*Vibrio spp.*). Dada a importância das bactérias do gênero *Vibrio* para a carcinicultura, objetivou-se caracterizar os aspectos macroscópicos e microscópicos observados na análise presuntiva de camarões marinhos microbiologicamente positivos para vibriose sistêmica. Os indivíduos foram coletados de cultivo oligohalino para exame clínico e microbiológico. Para o exame clínico presuntivo foram observados tempo de coagulação de hemolinfa, aspectos macroscópicos e microscópicos. Os aspectos macroscópicos dos indivíduos microbiologicamente positivos foram caracterizados por lesões melanizadas na cutícula, opacidade difusa muscular e cromatóforos expandidos nos pereiópodos e urópodos. Microscopicamente foi observada redução significativa nos níveis de lipídios com presença de deformidades, atrofia e necrose nos túbulos. Foram quantificados  $3,0$  a  $3,1 \times 10^3$  UFC/g nos hepatopâncreas dos camarões, sendo identificado bioquimicamente o *V. fluvialis*. Pode-se concluir que é possível caracterizar presuntivamente a vibriose sistêmica em animais microbiologicamente positivo com ocorrência de *Vibrio fluvialis* manifestando a vibriose sistêmica nestes animais.

**Palavras-chaves:** *Litopenaeus vannamei*, vibriose sistêmica, análises presuntivas, análises microbiológicas, cultivo oligohalino.

## INTRODUÇÃO

A carcinicultura brasileira revela que, entre 2004 e 2011, houve um crescimento expressivo no número de produtores e apenas moderado em área total de cultivo, no entanto, entre 2003 a 2009 ocorreu um leve declínio da produção total afetando o desempenho da atividade produtiva como relata ABCC (2013). Para o mesmo autor, este declínio ocorreu devido à dificuldade dos produtores para obtenção dos licenciamentos ambientais e a progressiva desvalorização do dólar em relação à moeda brasileira.

Conforme Moss et al. (2012) afirma que a indústria camaroneira continua sendo perseguida pelas doenças que afetam os peneídeos resultando na queda da produção e consequentemente redução dos lucros das empresas produtoras de camarão.

Um dos fatores que viabilizam a disseminação de patógenos no meio de cultivo consistem na produção em altas densidades e a não retirada dos indivíduos enfermos do cultivo, como relata Cock et al. (2009).

Pereira et al. (2003) acrescenta que variações bruscas no ambiente de cultivo faz com que o sistema de defesa dos crustáceos fique debilitado, tornando-os mais vulnerável ao ataque de patógenos.

As enfermidades infecciosas que acometem os camarões são provocadas principalmente por patógenos virais e bacterianos gram-negativos (*Vibrio spp.*) (ESCOBEBO-BONILLA, 1999).

As bactérias do gênero *Vibrio* são gram-negativas com formato de bastonetes curvo ou reto, medindo 1µm de largura e 2-3µm de comprimento, como cita Lightner (1996). Ainda, de acordo com MacFaddin (2000) quando móveis possuem no mínimo um flagelo polar, sendo mesófilas e anaeróbicas facultativas.

Os *Vibrios* são bactérias patogênicas oportunistas encontradas na água, no sedimento e na microbiota intestinal de camarões sadios, causam enfermidades aos camarões conhecidas como Vibriose (LIGHTNER, 1996).

Segundo Galli et al. (2001) esta enfermidade pode ser caracterizada tanto como uma infecção localizada, quanto generalizada (sistêmica) afetando todos os órgãos e tecidos, podendo desenvolver a partir de condições estressantes.

Aguirre-Guzmán et al. (2001) adiciona que estas bactérias afetam a sobrevivência e o crescimento dos camarões. Assim, Lightner (1996) classificou as principais espécies do

gênero *Vibrio* que apresentam risco para o cultivo dos peneídos são: *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbellii*, *V. carchariae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. ordalli*, *V. parahaemolyticus*, *V. salmonicida*, *V. splendidus* e *V. vulnificus*.

Algumas espécies como *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* estão associadas a doenças em humanos, apresentando manifestações clínicas de quadros de gastroenterites, septicemias e infecções em lesões na pele (ULUSARAC; CARTER, 2004; PANICKER et al., 2004).

Diante de crescentes prejuízos na carcinicultura por enfermidades objetivou-se caracterizar os aspectos macroscópicos e microscópicos observados na análise presuntiva de camarões marinhos microbiologicamente positivos para vibriose sistêmica.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado entre Agosto a Outubro de 2012 em sistema fechado com recirculação de água com camarão marinho na região de Mossoró/RN, na área experimental do laboratório de Sanidade Aquática (LASA) na Universidade Federal Rural do Semi – Árido (UFERSA). Os camarões cultivados foram alimentados com ração contendo 30% de proteína bruta distribuída em bandejas, com densidade de 30 – 35 camarões/m<sup>2</sup>, níveis de oxigênio e pH constantes e salinidades variando de 2 a 3‰. Uma amostra de 50 camarões foi coletada aleatoriamente com auxílio de um puçá e transportados em caixas plásticas com água e aeração adequada para o LASA/UFERSA para exame clínico e microbiológico.

Os camarões foram insensibilizados e sacrificados no gelo através de choque térmico para coleta do material biológico. No exame presuntivo foi observado o tempo de coagulação da hemolinfa segundo Aguirre-Guzmán; Sánchez Martinez (2005), aparência macroscópica do camarão e análise microscópica do hepatopâncreas conforme metodologia proposta por Lightner (1996). Os aspectos macroscópicos foram caracterizados de acordo com o grau de severidade das lesões variando de 0 a 3 (LIGHTNER, 1996) para grau de melanizações das lesões na cutícula, presença de opacidade muscular e expansão dos cromatóforos nos apêndices (Tabela 1).

**Tabela 1.** Quantitativo do grau de severidade para melanizações das lesões na cutícula, presença de opacidade muscular e expansão dos cromatóforos nos apêndices.

<b>GRAU DE SEVERIDADE</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>
<b>0</b>	Não apresentam alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.
<b>1</b>	Apresentam poucas alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.
<b>2</b>	Apresentam moderadas alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.
<b>3</b>	Apresentam numerosas alterações macroscópicas sugestivas de enfermidade.

Fonte: Modificado de Lightner (1996)

Para análise microscópica, os hepatopâncreas foram observados no microscópio óptico com objetivas de 10×, 20×, 40×, 100× e verificados quanto à quantidade de lipídios (Tabela 2), deformidades nos túbulos (Tabela 3).

**Tabela 2.** Quantitativo do grau de severidade para níveis de lipídios no hepatopâncreas.

<b>GRAU DE SEVERIDADE</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>
<b>1</b>	Hepatopâncreas com muito pouco teor de lipídios (abaixo de 25%).
<b>2</b>	Hepatopâncreas com baixo teor de lipídios (25 - 50%).
<b>3</b>	Hepatopâncreas com moderado teor de lipídios (50 - 75%).
<b>4</b>	Hepatopâncreas com alto nível de lipídios (acima de 75%).

**Tabela 3.** Quantitativo do grau de severidade para deformidades nos túbulos hepatopancreáticos.

<b>GRAU DE SEVERIDADE</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>
<b>0</b>	Hepatopâncreas de tamanho normal apresentando túbulos normais ausentes de atrofia.
<b>1</b>	Hepatopâncreas normal com alguns túbulos atrofiados.
<b>2</b>	Hepatopâncreas atrofiado com túbulos apresentando pontas duplas e estrangulamento dos túbulos.
<b>3</b>	Hepatopâncreas atrofiado com presença de túbulos enrugados, atrofiados e alguns necrosados.
<b>4</b>	Hepatopâncreas atrofiado com numerosos túbulos necrosados e deformados.

Fonte: Modificado de Morales-Covarrubias (2008)

O diagnóstico microbiológico de *Vibrio* foi realizado segundo o recomendado pela ABCC (2012) para a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e a identificação bioquímica da espécie conforme MacFaddin (2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No exame clínico presuntivo, o tempo de coagulação da hemolinfa dos camarões positivos para vibriose sistêmica obteve-se média e desvio padrão de  $16,36s \pm 5,22s$ , respectivamente. O tempo de coagulação preconizado pela ABCC (2012) é de 20s considerado adequado para camarões saudáveis. Contudo, o tempo de coagulação dos indivíduos infectados não aumentou com a vibriose sistêmica.

Barracco (2004) e Lightner (1996) afirmam que situação de estresse causada por fatores ambientais, fisiológicos ou infecções favorecem alterações nos níveis de lecitinas nos crustáceos culminando com o aumento da atividade aglutinante do plasma. Vieira et al. (2009) acrescenta que a contaminação de *Vibrio* no hepatopâncreas de *L. vannamei* não houve relação direta entre maior tempo de coagulação da hemolinfa com altas contagens de *Vibrio* semelhante ao relatado no presente estudo.

Na avaliação macroscópica dos camarões coletados aleatoriamente com vibriose positiva microbiologicamente, verificou-se que em 70% dos indivíduos apresentavam numerosas lesões melanizadas na cutícula (GS 3) (Figura 1).



**Figura 1.** *Litopenaeus vannamei* com diagnóstico de vibriose sistêmica apresentando diferentes graus de melanização no exoesqueleto. (a) Poucas lesões melanizadas do *L. vannamei* (GS 1), (b) Moderadas lesões melanizadas do *L. vannamei* (GS 2), (c) Numerosas lesões melanizadas do *L. vannamei* (GS 3). \*GS - Grau de Severidade

No decorrer das análises presuntivas foi visualizado que estas lesões de cutícula enegrecidas desapareceram na ecdise, corroborando com Morales-Covarrubias (2008) que

afirma que estas manchas negras podem desaparecer com o processo de muda dos crustáceos como também favorecer a penetração de patógenos oportunistas desenvolvendo infecção sistêmica.

A presença elevada de melanizações no exoesqueleto culminando em infecção sistêmica nos indivíduos assemelham-se as descritas por Nunes e Martins (2002) que lesões melanizadas na cutícula favorecem a penetração das bactérias do gênero *Vibrio* afetando órgão e tecidos desenvolvendo a vibriose sistêmica.

Relacionando ao aspecto de opacidade muscular verificou-se que 40% dos indivíduos apresentavam no primeiro mês de cultivo opacidade muscular difusa acometendo toda extensão do corpo do animal (GS 3) (Figura 2). Corroborando com Morales-Covarrubias (2008) na afirmação que a vibriose afeta principalmente pós-larvas e camarões juvenis e que a doença na sua fase inicial é comum observar organismos com opacidade muscular e trato digestivo vazio.

Os sinais clínicos macroscópicos encontrados estão de acordo com os mostrados por Mendes et al. (2005) em que os camarões com vibriose sistêmica apresentavam opacidade muscular, coloração avermelhada e melanizações nos apêndices.

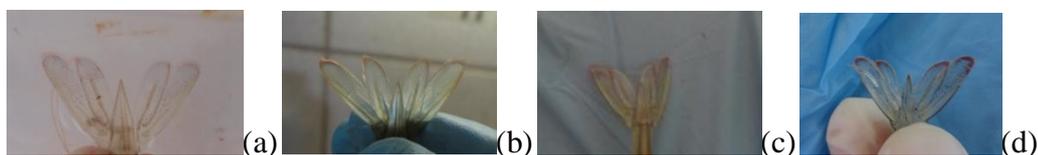


**Figura 2.** *L. vannamei* com diagnóstico de vibriose sistêmica apresentando diferentes graus de opacidade muscular. (a) Pouca opacidade muscular (GS 1), (b) Moderada opacidade muscular (GS 2), (c) Opacidade difusa muscular (GS 3). \*GS - Grau de Severidade

Os animais apresentaram 30% de cromatóforos expandidos de coloração avermelhada nos urópodos e de 30% nos pereiópodos (Figura 3), semelhantes aos resultados apresentados por Morales-Covarrubias (2008) e Barbieri Júnior; Ostrensky Neto (2001). Para estes autores, os camarões afetados por vibriose sistêmica apresentam apêndices melanizados com expansão dos cromatóforos.

Chanratchakool (1995) em estudo sobre a patologia em *Penaeus monodon* revelou que a doença conhecida como “coloração vermelha” instalada no cultivo foi acompanhada

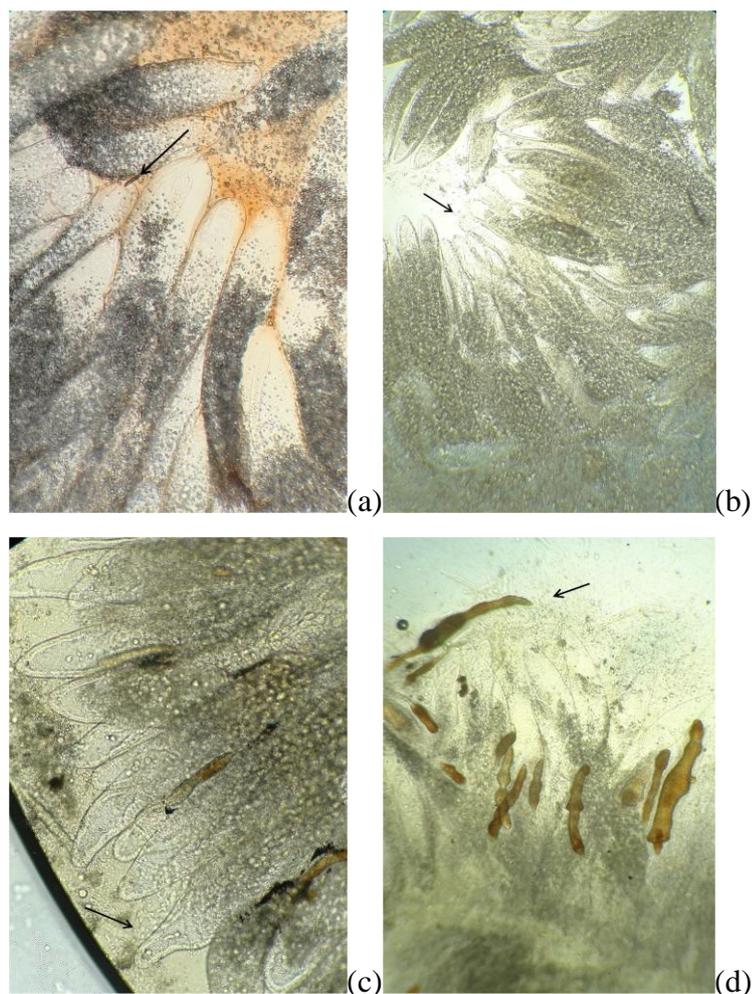
por uma expressiva presença de *Vibrios* em amostras de hepatopâncreas dos camarões doentes com cromatóforos expandidos no corpo do animal e seus apêndices, fato que se confirma neste trabalho.



**Figura 3.** Expansão dos cromatóforos nos urópodos do *L. vannamei* submetidos ao cultivo oligohalino com diagnóstico de vibriose sistêmica. (a) Pigmentação normal do *L. vannamei* (GS 0), (b) Pouca pigmentação do *L. vannamei* (GS 1), (c) Muita pigmentação do *L. vannamei* (GS 2), (d) Bastante pigmentação do *L. vannamei* (GS 3). \*GS= Grau de Severidade

Microscopicamente, observou-se uma ocorrência de 60% de indivíduos com muito pouco teor de lipídios, caracterizado por níveis abaixo de 25% de lipídios nos túbulos (GS 1). Essas características assemelham-se as descritas por Morales-Covarrubias (2008) e Lightner (1996) para camarões afetados por vibriose sistêmica.

Para o grau de deformidade dos túbulos do hepatopâncreas, 65% dos indivíduos com vibriose apresentaram túbulos atrofiados com elevada incidência de túbulos necrosados e deformados (GS 4). O grau de severidade quanto a deformidades nos túbulos aumenta com progressão da doença. As lesões observadas no estudo foram caracterizadas como a forma crônica da vibriose (Figura 4). Essas lesões são similares às descritas por Jiravanichpaisal et al. (1994); Morales-Covarrubias (2008) e Lightner (1996) para camarões afetados por vibriose sistêmica.



**Figura 4.** Diferentes graus de deformidades dos túbulos do hepatopâncreas do *L. vannamei* submetidos ao cultivo oligohalino com diagnóstico de vibriose sistêmica. (a) Alguns túbulos atrofiados (GS 1), (b) Túbulos apresentando pontas duplas (GS 2), (c) Túbulos enrugados, atrofiados e alguns necrosados (GS 3). (d) Numerosos túbulos necrosados e deformados (GS 4). \*GS= Grau de Severidade

A quantificação de *Vibrio* no hepatopâncreas dos camarões do sistema oligohalino variou entre  $3,0$  a  $3,1 \times 10^3$  UFC/g, valores considerados menores do que os relatados por Lima et al. (2004) em 14 fazendas nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte com variação de  $15 \times 10^4$  a  $43 \times 10^6$  UFC/g nas amostras de hepatopâncreas do camarão.

Conforme metodologia de Gómez-Gil (2005) estabelece que a quantificação de UFC/g no hepatopâncreas de camarões juvenis e adultos deve ser menor que  $10^5$  considerando valores acima de  $10^5$  elevados. Portanto, a quantificação de *vibrio* encontradas no presente estudo está de acordo com os parâmetros considerados normais pelo autor, não desconsiderando a instalação da enfermidade no animal.

Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com relatados por Rodriguez et al. (2010) que encontraram proliferação de bactérias do gênero *Vibrio* no hepatopâncreas associadas a doença bacteriana, em torno de  $10^5$  UFC/g no que concerne a instalação da vibriose mesmo estando os níveis de quantificação dentro dos valores considerados normais.

Foi identificado no hepatopâncreas dos camarões em água oligohalina o *Vibrio fluvialis*. Resultados similares também foram relatados por Gaméz et al. (2004) em estudo sobre *Vibrios* no cultivo do *L. vannamei* em Sonora no México no ano de 2003 que isolou 6 espécies de *Vibrio* no hepatopâncreas, sendo 30% de *V. fluvialis*, 27% de *V. damsela*, 12,5% de *V. vulnificus*, 12,5% de *V. parahaemolyticus*, 11% de *V. alginolitycus* e 7% de *V. harveyi*. Segundo Vieira et al. (2000) *V. fluvialis* foi encontrado em 50% das amostras de pós-larvas de *L. vannamei* em uma larvicultura, sendo registrados neste período casos de mortalidades dos animais. Apesar da ampla diversidade de espécies confirmadas nas amostras de água e dos camarões relatados, não se pode precisar qual espécie é mais ou menos maléfica ao cultivo de peneídos, uma vez que a virulência desse gênero bacteriano é muito variável. No entanto, a doença vibriose só poderá ser desenvolvida nos peneídos se os mesmos forem cultivados em condições estressantes e desfavoráveis ao cultivo.

## CONCLUSÃO

- Presuntivamente, os camarões com vibriose sistêmica apresentaram macroscopicamente lesões melanizadas na cutícula, opacidade difusa da musculatura, cromatóforos expandidos principalmente nos apêndices pereiópodos e urópodos. Microscopicamente, os hepatopâncreas infectados por *Vibrio* apresentaram redução significativa nos níveis de lipídios, túbulos atrofiados, deformados e necrosados.
- As Unidades Formadoras de Colônias variaram entre 3,0 a  $3,1 \times 10^3$  UFC/g associada à doença bacteriana. A espécie de *Vibrio* isolada no hepatopâncreas dos camarões foi o *Vibrio fluvialis* ocasionado a vibriose sistêmica.

## AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio ao projeto, cultivado no Rio Grande do Norte do Brasil, que possibilitou a execução deste estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO–ABCC. **Boas Práticas de Manejo e Biossegurança para a Carcinicultura Marinha Nacional**. Natal, 2012. 78p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO (ABCC). 2013. Censo da Carcinicultura Nacional 2011. Disponível em: [http://www.cbccam.com.br/abcc/images/stories/publicacoes/TABELAS\\_CENSO\\_SITE.pdf](http://www.cbccam.com.br/abcc/images/stories/publicacoes/TABELAS_CENSO_SITE.pdf). Acesso em 24 Abril de 2013.

AGUIRRE-GUZMÁN, G. et al. Differences in the susceptibility of the american White shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 78, n. 4, p. 215-219, 2001.

AGUIRRE-GUZMÁN, G.; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. G. Análisis en fresco de camarón, un proceso rápido para el diagnóstico presuntivo de enfermedades. **Panorama Acuicola Magazine**. v. 19, n. 4, p. 59-65, 2005.

BARBIERI, J. R. C.; OSTRENKY, N. A. **Camarões marinhos: maturação, reprodução e larvicultura**. Viçosa – Minas Gerais: Aprenda Fácil Editora. v. 1, 2001. 233 p.

BARRACCO, M, A. Mecanismo de resistência a doenças em crustáceos. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. **Sanidade de Organismos Aquáticos**, São Paulo: Varela, p. 51-74, 2004.

CHANRATCHAKOOL, P. White patch disease of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **AAHRI Newsletter Article**, v. 4, n. 1, 1995.

COCK, J. M. et al. Breeding for disease resistance of Penaeid shrimps. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 286, n. 1-2, p. 1-11, 2009.

ESCOBEBO-BONILLA, C. M. **Susceptibilidad a un inóculo viral del síndrome de Taura en lotes de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* Boone 1931) y camarón azul (*Litopenaeus stylirostris* Stimpson 1874) y su evaluación por histopatología y**

**hibridación in situ.** Tesis de Maestría. Centro de Investigación em Alimentación y Desarrollo, Mazatlán, Sinaloa, México, 1999.

GALLI, L. et al. **I Curso básico de bacteriología.** 2001. 42 p.

GÓMEZ-GIL, B. Técnicas de bacteriología. Centro de Investigaçãõ em Alimentação e Desenvolvimento. **Manual de curso de bacteriología,** p. 3-8. 2005.

GÁMEZ, C. I. et al. Deteccion y prevalencia de *Vibrio* spp em cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* em Sonora durante o ciclo 2003. **Revista Salud Pública y Nutrición.** Edición Especial, n. 6, 2004.

JIRAVANICHPAISAL, P. et al. Histopathology, biochemistry, and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger prawn *Penaeus monodon*. **Journal of Aquatic Animal Health,** v. 6. p. 27-35, 1994.

LIGHTNER, D. V. Diseases of penaeid shrimp. In: MCVEY, J. P. (Eds.). **Handbook of mariculture: crustacean aquaculture.** Boca Raton: CRC Press, p. 393-486, 1996.

LIMA, A. S. *Vibrio* spp em amostras de camarões, solo e águas de fazendas de camarão nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. In: ANAIS DO IX ENCONTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 2004. Natal. **Anais...**, 2004.

MACFADDIN, J. F. **Biochemical testes for identification of medical bacteria.** 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

MENDES, E. S. et al. Os víbrios na carcinicultura. **Revista Panorama da Aquicultura,** p. 26-29, set-out, 2005.

MORALES-CAVARRUBIAS, M. S. Enfermidades bacterianas. In: MORALES, V.; CUÉLLAR-ANJEL, J. (Eds.). **Guia Técnica – Patologia e imunologia de camarones penaeidos.** Panamá: Resp. de Panamá, p. 117-134, 2008.

MOSS, S. M. et al. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. **Journal of Invertebrate Pathology,** v. 110, p. 247-250, 2012.

NUNES, A. J. P.; MARTINS, P. C. Avaliando o estado de saúde de camarões marinhos na engorda. **Panorama da Aquicultura,** v. 12, n. 72, p. 23-33, 2002.

PANICKER, G. et al. Deteccion of pathogenic species in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarray. **Applied and Enviromental Microbiology,** v. 70, p. 7436-7444, 2004.

PEREIRA, A. M. L; SANTOS, M. L. **Relatório do treinamento em patologia de camarões marinhos,** realizado no Instituto Tecnológico de Sonora, Obregón – México, Parnaíba, 2003.

RODRIGUEZ, S. A. S. et al. Density of vibrios in hemolymph and hepatopancreas of diseased pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*, from Northwestern México. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, n. S1, 2010.

ULUSARAC, O.; CARTER, E. Varied clinical presentations of *Vibrio vulnificus* infections: a report of four unusual cases and review of the literature. **South East Asian Medical Journal**, v. 97, p. 163–168, 2004.

VIEIRA, R. H. S. F. et al. *Vibrio spp.* e suas complicações sobre larviculturas de camarões marinhos. **Arquivo Ciências Marinhas**, v. 33, p. 107-112, 2000.

VIEIRA, R. H. S. F. et al. *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, p. 141-149, 2009.

# CAPÍTULO IV

Trabalho submetido à revista:

REVISTA DA CAATINGA

Página eletrônica:

<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema>

ISSN: 1983 – 2125 (on line)

ISSN: 0100-316X (Impresso)



35 **PATHOGENIC VIBRIOS IN THE SHRIMP FARMING IN RIO GRANDE DO**  
36 **NORTE**

37  
38 **ABSTRACT** - This paper had as its goal the quantifying through the Standard Pour Plate  
39 Counting Technique (CPP) and to identify the species of the *Vibrio* sort found in farms, in  
40 the samples of shrimp and euhaline and oligohaline water. The samples of hepatopancreas  
41 and water of the euhaline and oligohaline had been collected and carried in isothermal  
42 boxes to the Microbiology Laboratory of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido -  
43 UFERSA. The microorganisms of the *Vibrio* sort had been quantified following the  
44 methodology of plating the surface and identified according to the orientation of  
45 MacFaddin. The counting of the number of forming Units of Colonies (UFC/mL) in the  
46 water of oligohaline culture was relatively superior to the euhaline culture, presenting  $8,5 \times$   
47  $10^3$  UFC/mL and  $4,5 \times 10^3$  UFC/mL, respectively; the hepatopancreas of the cultivated  
48 shrimp had presented values from, 3,0 to  $3,1 \times 10^3$  UFC/g in euhaline and oligohaline  
49 water. The species of *Vibrio* that was isolated in the euhaline culture was *V. vulnificus*,  
50 whereas in the oligohaline culture they had been identified as *V. fluvialis* and *V. vulnificus*,  
51 considered pathogenic species that can eventually be related to some infections in shrimp  
52 and human beings, representing a risk for the shrimp Farming and public health.

53  
54 **Key Words:** Marine shrimp, Standard Pour Plate Counting (CPP), *Vibrio* spp., public  
55 Health.

56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66

## 67 INTRODUÇÃO

68

69 A aquicultura no Brasil cresceu 43,8% entre 2000 e 2009 em comparação no mesmo  
70 período com suinocultura (12,9%), avicultura (9,2%) e bovinocultura (8,2%). Em 2010, a  
71 produção da aquicultura no Brasil foi de 479.398,6t e a pesca de 69.422,4t (MPA, 2012). A  
72 produção brasileira de camarões cultivados em 2003 atingiu 90.180t, declinando em 2004  
73 para 76.000t (ROCHA, 2007).

74 Este decréscimo entre os períodos de 2003 a 2004 ocorreu devido o surgimento de  
75 doenças com conseqüente diminuição nas exportações (SALES et al., 2005). A partir de  
76 então, as enfermidades passaram a ser vistas como um obstáculo econômico e uma ameaça  
77 à viabilidade da atividade (NUNES; MARTINS, 2002).

78 As doenças resultam de uma interação entre o camarão (hospedeiro), o meio de  
79 cultivo (ambiente) e os agentes patogênicos. O grau de patogenicidade de uma doença  
80 infecciosa dependerá diretamente do número de patógenos encontrados no ambiente de  
81 cultivo, o grau de virulência do patógeno e nível de defesa imunológica do camarão. Do  
82 ponto de vista do ambiente, este pode variar de inóspito a ideal para o camarão cultivado,  
83 favorecendo ou não o agente causador da doença (LIGHTNER; REDMAN, 1998).

84 Dentre as doenças causadas por agentes biológicos, as mais comuns são as  
85 ocasionadas por microorganismos oportunistas encontrados na água e sedimento, podendo  
86 também fazer parte da microbiota intestinal de muitas espécies aquáticas, inclusive do  
87 camarão destacando-se as do gênero *Vibrio* (LIGHTNER, 1983).

88 Segundo Lightner (1993), os víbrios são bactérias de maior relevância na aquicultura,  
89 devido a sua capacidade de infectar organismos aquáticos, entre estes os camarões  
90 peneídos. Morfologicamente, as bactérias do gênero *Vibrio* são gram-negativas, possui  
91 forma de bastonete curvo ou reto, suas células podem chegar a medir 1µm de largura e  
92 entre 2-3µm de comprimento; quando móveis possuem no mínimo um flagelo polar,  
93 mesófilas e anaeróbicas facultativas (FARMER; HICKMAN-BRENNER, 1992).

94 Lightner (1996) classificou mundialmente as principais espécies do gênero *Vibrio*  
95 que apresentam risco para o cultivo dos peneídos: *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V.*  
96 *campbellii*, *V. carchariae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. ordalli*, *V. parahaemolyticus*, *V.*  
97 *salmonicida*, *V. splendidus* e *V. vulnificus*.

98 Do gênero *Vibrio*, mais de 20 espécies estão associadas à saúde pública, as mais  
99 importantes são *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*, que clinicamente podem  
100 manifestar quadros de gastroenterites, septicemias e infecções de feridas (ULUSARAC;  
101 CARTER, 2004) e septicemia em humanos (PANICKER et al., 2004).

102 As fazendas de carcinicultura utilizam a água dos estuários para o cultivo sendo  
103 reservatórios para espécies de *Vibrio*. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo  
104 quantificar através da técnica de contagem padrão em placas (CPP) e identificar as  
105 espécies do gênero *Vibrio* presentes em fazendas nas amostras de camarão e água euhalino  
106 e oligohalino.

107

## 108 MATERIAL E MÉTODOS

109

110 As coletas foram realizadas em dois sistemas de cultivo de *Litopenaeus vannamei*:  
111 sistema 1, fazenda euhalina em condições de salinidade média de 34‰, localizada no  
112 estuário do rio Apodi – Mossoró/RN (5°05'08.53"S e 37°17'35.60"O) e sistema 2, cultivo  
113 oligohalino com salinidade média de 3‰ com água de poço na área experimental do  
114 Laboratório de Sanidade Aquática (LASA) da Universidade Federal Rural do Semi – Árido  
115 (UFERSA). As variáveis de temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram avaliadas através  
116 de termômetro digital e métodos colorimétricos, respectivamente.

117 Entre Agosto a Outubro de 2012, coletaram-se amostras de hepatopâncreas de  
118 camarões em tubos com água peptonada salina e de água nos cultivos oligohalino e  
119 euhalino em garrafas de 1 litro previamente esterilizadas. As amostras de hepatopâncreas e  
120 de água de cultivo foram transportadas em caixas isotérmicas para o Laboratório de  
121 Microbiologia da UFERSA.

122 Os microorganismos do gênero *Vibrio* foram quantificados, seguindo a metodologia  
123 de plaqueamento de superfície proposta pela ABCC (2012). Para diluição das amostras se  
124 utilizou água peptonada alcalina. Em seguida, transferiram-se alíquotas de 0,1mL das  
125 diluições de cada amostra ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) para placas de Petri contendo Ágar tiosulfato  
126 citrato saís de bile (TCBS), sendo invertidas e incubadas a 35-37°C por 18-24 horas. As  
127 colônias características no Ágar TCBS foram contadas e repicadas para o Tryptone Soya  
128 Ágar (TSA) suplementado com 2,0% de cloreto de sódio para estoque dos isolados. Após

129 esse período, foram feitas contagens das placas que apresentaram crescimento presuntivo  
130 de *Vibrio*.

131 Os resultados das Unidades formadoras de Colônias (UFC) do hepatopâncreas foram  
132 calculados pela expressão:  $\text{UFC/ml} = \text{Total de colônias de bactérias} \times 10\text{ml} \div \text{Peso do}$   
133  $\text{hepatopâncreas} \div \text{Volume inoculado}$ . E para as UFC da água de cultivo através da  
134 expressão:  $\text{UFC/ml} = \text{Total de UFC} \div \text{Volume inoculado}$ .

135 Posteriormente, realizou-se o estudo do perfil bioquímico das colônias para  
136 identificação da espécie: motilidade, H<sub>2</sub>S, indol, produção de ácido a partir de maltose,  
137 sacarose, nitrato, citrato, hidrólise da esculina e produção de oxidase conforme a  
138 orientação de MacFaddin (2000).

139

## 140 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

141

142 Nos dois sistemas foi constatada a presença de bactérias do gênero *Vibrio*, tanto na  
143 água de cultivo quanto no hepatopâncreas dos camarões analisados. A contagem do  
144 número de UFC/mL encontrado na água de cultivo do sistema 1 (euhalino) foi de  $4,5 \times 10^3$   
145 UFC/mL colônias verdes. No sistema 2 (oligohalino) a contagem de UFC/mL foi de  $8,5 \times$   
146  $10^3$  UFC/mL colônias verdes e de  $2,2 \times 10^3$  UFC/mL colônias amarelas. O número de  
147 *Vibrio* no hepatopâncreas dos camarões do sistema 1 e 2, variou entre 3,0 a  $3,1 \times 10^3$   
148 UFC/g.

149 O CONAMA (2005), na Resolução N° 375, estabelece as diretrizes ambientais para  
150 o enquadramento dos tipos de água, não contempla limite para víbrios em águas salobras  
151 (0,50‰ - 30‰) e salinas (acima de 30‰) destinadas à aquicultura. Desse modo, os  
152 resultados da pesquisa no que concerne à quantificação de *Vibrio* não pode ser comparados  
153 a um padrão legal vigente, impossibilitando a classificação dos valores obtidos em baixos  
154 ou elevados.

155 No Brasil, os padrões microbiológicos do pescado e de produtos derivados de  
156 pescado são definidos pela ANVISA (2001), na Resolução N° 12, no que concerne a  
157 *Vibrio*, para esta resolução no item 22, estabelece um limite de  $10^3$  de *V.*  
158 *parahaemolyticus*/g para pratos prontos para o consumo à base de pescado.

159 A quantificação de víbrios nas amostras de água do cultivo (sistema 1 e 2) e das  
160 amostras do hepatopâncreas do presente trabalho foi considerada menor do que as relatadas

161 por Lima et al. (2004) em que verificaram até  $1,3 \times 10^4$  UFC/mL na água do cultivo e  $4,3 \times$   
162  $10^6$  UFC/g nas amostras de hepatopâncreas do camarão.

163 No sistema 2 a quantificação de vibrios nas amostras de água do cultivo foi  
164 relativamente maior e menor para o hepatopâncreas que as registradas por Mendes et al.  
165 (2009) em três fazendas marinhas situadas no litoral de Pernambuco com valores de  $6,2 \times$   
166  $10^3$  UFC/mL na água de cultivo e  $1,1 \times 10^6$  UFC/g no hepatopâncreas do *L. vannamei*.

167 Segundo Riquelme e Herrera (2003) o aumento na contagem no número de *Vibrio* na  
168 água dos cultivos deve-se a um maior aporte de matéria orgânica no viveiro, devido à  
169 oferta de ração e fertilizantes e, conseqüentemente ao aumento de detritos, fitoplâncton e  
170 bactérias.

171 Em relação à identificação das espécies de vibrios na água de cultivo foram  
172 encontrados *V. vulnificus* no sistema 1 e no sistema 2 foram identificadas *V. vulnificus* e *V.*  
173 *fluvialis*. No hepatopâncreas foram identificados *V. vulnificus* no sistema 1 e *V. fluvialis* no  
174 sistema 2.

175 Pfeffer et al. (2003) em seu estudo sobre a ecologia do *V. vulnificus* em águas  
176 estuarinas obtiveram o isolamento dessa espécie apenas quando a temperatura ficou entre  
177  $15 - 27^\circ\text{C}$ , afirmando que o índice foi controlado pela temperatura, turbidez e nível de  
178 oxigênio da água. Esses resultados podem ser comparados com o presente estudo, onde a  
179 cepa de *V. vulnificus* isolada da água foi com temperatura variando de  $27$  a  $29^\circ\text{C}$  para  
180 sistema 1 e 2, respectivamente. Motes et al. (1998), relata que *V. vulnificus* apresenta forte  
181 influência por baixas salinidades ( $5 - 25\%$ ) e altas temperaturas ( $> 20^\circ\text{C}$ ). No presente  
182 estudo *V. vulnificus* também foi isolado em salinidades relativamente altas ( $34\%$ ). Lake et  
183 al. (2003) consideram um pH ótimo para o crescimento de todas as espécies de *vibrio*  
184 situando-se entre  $7,8$  e  $8,5$  o que está de acordo com pH  $8,0$  encontrado no presente estudo.

185 As espécies *V. vulnificus* e *V. fluvialis* isoladas neste estudo são consideradas  
186 patogênicas para o homem. Conforme relatam Nishigushi e Nair (2003), os vibrios podem  
187 causar doenças entéricas em humanos, destacando-se *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V.*  
188 *vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. cincinnatiensis*, *V. metschnikovii* e *V. mimicus*.  
189 Daniels et al. (2000) relataram gastroenterites, infecções em feridas e septicemia como  
190 quadros de infecções provocadas por *V. parahaemolyticus* nos Estados da Flórida,  
191 Alabama, Louisiana e Texas.

192 Conforme Thompson et al. (2003) acrescentaram que a espécie *V. cholerae* é  
193 abundante em ambientes aquáticos, principalmente nas áreas costeiras, estuários e rios  
194 afirmando que essa espécie de *Vibrio* provocou consideráveis mortes no Brasil na última  
195 década e que as suas cepas vêm adaptando-se com sucesso à mudanças nas condições  
196 ambientais.

197 Barbieri et al. (1999) alertaram para o perigo de algumas cepas toxigênicas do *V.*  
198 *cholerae* podem provocar danos para a saúde pública, variando de gastroenterites até  
199 quadros graves de septicemia.

200 A habilidade das cepas de *V. cholerae* de aderir e colonizar exoesqueletos de  
201 crustáceos representa um meio de sobrevivência em ambientes aquáticos, em que as  
202 concentrações de víbrios na carapaça podem representar problemas para saúde pública  
203 (CASTRO-ROSAS; ESCARTIN, 2002).

204 Segundo Vieira et al. (2000) *V. fluvialis* foi encontrado em 50% das amostras de pós-  
205 larvas de *L. vannamei* em uma larvicultura, sendo registrados neste período casos de  
206 mortalidades dos animais. Gaméz et al. (2004) em estudo sobre *Vibrios* no cultivo do *L.*  
207 *vannamei* em Sonora no México no ano de 2003 isolou 6 espécies de *Vibrio* no  
208 hepatopâncreas, sendo 30% de *V. fluvialis*, 27% de *V. damsela*, 12,5% de *V. vulnificus*,  
209 12,5% de *V. parahaemolyticus*, 11% de *V. alginolyticus* e 7% de *V. harveyi*.

210 Cabe resaltar, que *V. vulnificus* destaca-se epidemiologicamente na saúde pública,  
211 isolado com relativa frequência em ambientes aquáticos e diversas espécies de pescado.  
212 Sua relevância em Saúde Pública está fortemente associada ao consumo de alimentos  
213 marinhos in natura ou cozidos inadequadamente (NASCIMENTO et al., 2001). A espécie  
214 pode causar infecções cutâneas a partir de ferimentos em pacientes imunologicamente  
215 comprometidos e lesões superficiais expostas ao meio ambiente aquático (PARVATHI et  
216 al., 2004).

217 Longyant et al. (2008) ao verificarem através da imuno-histoquímica as estirpes de  
218 víbrio de camarões *L. vannamei*, citaram que o *V. vulnificus* e o *V. parahaemolyticus* foram  
219 as espécies mais identificadas no hepatopâncreas.

220 Em estudos realizados por Pereira et al. (2007) isolaram algumas espécies do gênero  
221 *Vibrio* em mexilhões in natura, com predominância de *V. alginolyticus*, *V. cholerae* não  
222 O1, *V. parahaemolyticus*, *V. carchariae*, *V. vulnificus* e *V. damsela*. Entretanto, o que  
223 chama mais atenção é o fato de que algumas espécies como *V. vulnificus*, *V. fluvialis* e *V.*

224 *furnisii* apresentaram uma frequência de isolamento significativa a partir das amostras pré-  
225 cozidas, o que pode significar problemas referentes à manutenção do binômio tempo-  
226 temperatura durante a fase de pré-cozimento ou recontaminação do produto pré-cozido.

227 Segundo Hua et al. (2011) especificamente mais do que 74,3% das amostras de  
228 camarões coletadas nas cidades do Sul da China também foram contaminadas com o *V.*  
229 *vulnificus*.

230 *V. vulnificus* é frequentemente encontrada em camarões e ostras, podendo ser  
231 considerados como fonte de contaminação de outros alimentos e nos mercados durante a  
232 fase de processamento (CHEN et al., 2010). A presença de espécies patogênicas de *Vibrio*  
233 em camarões pode significar um risco à saúde dos consumidores, especialmente nas  
234 regiões onde os mesmos são consumidos crus (NORIEGA-OROZCO et al., 2007).

235

## 236 CONCLUSÃO

237

- 238 • A espécie de *Vibrio* isolada no cultivo euhalino foi *V. vulnificus* na água e no  
239 hepatopâncreas. Na água de cultivo oligohalino foram identificados *V. fluvialis* e *V.*  
240 *vulnificus*, enquanto que *V. fluvialis* no hepatopâncreas. Ambas as espécies de  
241 *Vibrio* são consideradas patogênicas que podem eventualmente estar relacionadas a  
242 infecções no humano e nos camarões, representando um risco para a saúde pública  
243 e para carcinicultura;
- 244 • O número de víbrios na água de cultivo oligohalino foi relativamente superior ao  
245 cultivo euhalino apresentando  $8,5 \times 10^3$  UFC/mL e  $4,5 \times 10^3$  UFC/mL,  
246 respectivamente; o hepatopâncreas dos camarões cultivados apresentaram valores  
247 entre 3,0 a  $3,1 \times 10^3$  UFC/g em água euhalina e oligohalina.

248

## 249 AGRADECIMENTOS

250

251 A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio a  
252 execução deste estudo no Rio Grande do Norte do Brasil.

253

254

255 **REFERÊNCIAS**

256

257 AGUIRRE-GUZMÁN, G. et al. Differences in the susceptibility of the american White  
258 shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species. **Journal of**  
259 **Invertebrate Pathology**, v. 78, n. 4, p. 215-219, 2001.

260

261 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **ANVISA**: Resolução nº12 de  
262 02 de Janeiro de 2001. Brasil, 2001.

263

264 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO–ABCC. **Boas Práticas**  
265 **de Manejo e Biossegurança para a Carcinicultura Marinha Nacional**. Natal, 2012. 78  
266 p.

267

268 BARBIERI, E. et al. Occurrence, diversity, and pathogenicity of halophilic *Vibrio* spp. and  
269 non-O1 *Vibrio cholerae* from estuarine waters along the Italian Adriatic Coast. **Applied**  
270 **and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2748-2753, 1999.

271

272 BARRACCO, M, A. Mecanismo de resistência a doenças em crustáceos. In: \_\_\_\_\_.  
273 **Sanidade de Organismos Aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. p. 51-74.

274

275 BELL, T. A.; LIGHTNER, D. V. An outline of penaeid shrimp culture methods including  
276 infectious disease problems and priority drugs treatments. **Veterinary and Human**  
277 **Toxicology**, v. 29, suplemento 1, p. 37-43, 1987.

278

279 CASTRO-ROSAS, J.; ESCARTIN, E. F. Adhesion and colonization of *Vibrio cholerae* O1  
280 on shrimp and crab carapaces. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 3, p. 492-498, 2002.

281

282 CHEN, Y. et al. Foodborne pathogens in retail oysters in south China. **Biomedical and**  
283 **Environmental Sciences**, v. 23, n. 1, p. 32-36, 2010.

284

- 285 CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **CONAMA**: Resolução n° 357 de 17  
286 de março de 2005. Brasil, 2005.
- 287
- 288 DANIELS, N. A. et al. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-  
289 1998. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, p. 1661-1666, 2000.
- 290
- 291 FARMER III, J. J.; HICKMAN-BRENNER, F. W. The genera *Vibrio* and photobacterium.  
292 In: BALOWS, A. et al. (Ed.). **The Prokaryotes**. New York, NY: Springer Verlag, 1992. v.  
293 2, p. 2952-3011.
- 294
- 295 GÁMEZ, C. I. et al. Detección y prevalencia de *Vibrio* spp em cultivo de camarón  
296 *Litopenaeus vannamei* em Sonora durante o ciclo 2003. **Revista Salud Pública y**  
297 **Nutrición**. Edición Especial, n. 6, 2004.
- 298
- 299 GOMEZ-GIL et al. Species of *Vibrio* isolated from hepatopâncreas, haemolymph and  
300 digestive tract of a population of healthy juveniles *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v.  
301 163, p. 1-9, 1998.
- 302
- 303 HUA, J. et al. Occurrence and characteristics of *Vibrio vulnificus* in retail marine shrimp in  
304 China. **Food Control**, v. 22, p. 1935-1940, 2011.
- 305
- 306 LAKE, R.; HUDSON, A.; CRESSEY, P. **Risk profile: *Vibrio parahaemolyticus* in**  
307 **seafood**. Christchurch: Crown Research Institute, 2003. 54 p.
- 308
- 309 LIGHTNER, D. V. Diseases of cultured penaeid shrimp. In: J.P. McVEY. (Ed.). **CRC**  
310 **Handbook of mariculture. Crustacean aquaculture**. Baton Rouge: CRC Press, 1993. v.  
311 1, p. 393-486.
- 312
- 313 LIGHTNER, D. V. Diseases of cultured penaeiid shrimp. In: J. P. McVEY. (Ed.). **CRC**  
314 **Handbook of Mariculture: Crustacean aquaculture**. Boca Raton: CRC Press, 1983. v.  
315 1, p. 239-320.
- 316

- 317 LIGHTNER, D. V. Diseases of penaeid shrimp. In: McVEY, J. P. (Ed.). **Handbook of**  
318 **mariculture: crustacean aquaculture**. Boca Raton: CRC Press, 1996. p. 393-486.  
319
- 320 LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M. Shrimp diseases and current diagnostic methods.  
321 **Aquaculture**, Amsterdam, v. 164, [s.n], p. 201-220, 1998.  
322
- 323 LIMA, A. S. *Vibrio spp.* em amostras de camarões, solo e águas de fazendas de camarão  
324 nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. In: IX Encontro Nacional de  
325 Microbiologia Ambiental. **Anais...**[S.l.], 2004.  
326
- 327 LONGYANT, S. et al. Identification of *Vibrio spp.* in vibriosis *Penaeus vannamei* using  
328 developed monoclonal antibodies. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 63-68,  
329 2008.  
330
- 331 MACFADDIN, J. F. **Biochemical testes for identification of medical bacteria**. 3. ed.  
332 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.  
333
- 334 MENDES, E. S. et al. *Vibrio spp.* isolados de camarão e água de cultivo de fazenda  
335 marinha em Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 1191-1199, 2009.  
336
- 337 MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **MPA**: Boletim Técnico e Estatístico da  
338 Pesca e Aquicultura. Brasília, 2012. 128 p.  
339
- 340 MOTES, M. L. et al. Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in  
341 Northern Gulf and Atlantic Coast oysters (*Crassostrea virginica*). **Applied and**  
342 **Environmental Microbiology**, v. 64, n. 4, p. 1459-1465, 1998.  
343
- 344 NASCIMENTO, S. M. M. et al. *Vibrio vulnificus* as a health hazard for shrimp consumers.  
345 **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 263-266, 2001.  
346

- 347 NISHIGUSHI, M. K.; NAIR, V. S. Evolution of symbiosis in the Vibrionaceae: a  
348 combined approach using molecules and physiology. **International Journal of**  
349 **Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 2019-2026, 2003.
- 350 NORIEGA-OROZCO, L. et al. Pathogenic and non pathogenic *Vibrio* species in  
351 aquaculture shrimp ponds. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v. 49, n. 3, p. 60-  
352 67, 2007.
- 353
- 354 NUNES, A. J. P.; MARTINS, P. C. Avaliando o estado de saúde de camarões marinhos na  
355 engorda. **Panorama da Aquicultura**, v. 12, n. 72, p. 23-33, 2002.
- 356
- 357 PANICKER, G. et al. Deteccion of pathogenic species in shellfish by using multiplex PCR  
358 and DNA microarray. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 7436-7444,  
359 2004.
- 360
- 361 PARVATHI, A. et al. Detection and enumeration of *Vibrio vulnificus* in oysters from two  
362 estuaries along the southwest coast of India, using molecular methods. **Applied and**  
363 **Environmental Microbiology**. v. 70, p. 6909-6913, 2004.
- 364
- 365 PEREIRA, C. S. et al. *Vibrio spp.* isolados a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e  
366 pré-cozidos de Estação Experimental de Cultivo, Rio de Janeiro, RJ. **Ciência Tecnológica**  
367 **de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 387-390, 2007.
- 368
- 369 PFEFFER, C. S. et al. Ecology of *Vibrio vulnificus* in estuarine waters of Eastern Northth  
370 Carolina. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 6, p. 3526-3531, 2003.
- 371
- 372 RIQUELME, C. E.; AVENDAÑO-HERRERA, R. E. Interacción bacteria-microalga em el  
373 ambiente marino y uso potencial em acuicultura. **Revista Chilena de Historia Natural**, v.  
374 76, p. 725-736, 2003.
- 375
- 376 ROCHA, I. Panorama da Aquicultura Brasileira – **ABCC**, 2007.
- 377

378 RODRIGUEZ, S. A. S. et al. Density of vibrios in hemolymph and hepatopancreas of  
379 diseased pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*, from Northwestern México.  
380 **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, n. 1, 2010.

381

382 SALES, D. S. et al. O desenvolvimento recente da aquicultura brasileira. In: ANUÁRIO  
383 DA PECUÁRIA BRASILEIRA – ANUALPEC, 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba:  
384 Livroceres, 2005. p. 252-256.

385

386 THOMPSON, F. L. et al. Genomic diversity of clinical and environmental *Vibrio cholerae*  
387 strains isolated in Brazil between 1991 and 2001 as revealed by fluorescent amplified  
388 fragment length polymorphism analysis. **Journal Clinical Microbiology**, v. 41, n. 5, p.  
389 1946-1950, 2003.

390

391 ULUSARAC, O.; CARTER, E. Varied clinical presentations of *Vibrio vulnificus*  
392 infections: a report of four unusual cases and review of the literature. **South East Asian**  
393 **Medical Journal**, v. 97, p. 163–168, 2004.

394

395 VIEIRA, R. H. S. F. et al. *Vibrio spp.* e suas complicações sobre larvicultura de camarões  
396 marinhos. **Arquivo Ciências Marinhas**, v. 33, p. 107-112, 2000.

397

398

O artigo está escrito nas normas da REVISTA DA CAATINGA