

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA**

Contribuição para o desenvolvimento de uma proposta de monitoramento e certificação sanitária em cultivo de camarão marinho no Estado de Santa Catarina

MARIA LUIZA TOSCHI MACIEL

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Aqüicultura.

Florianópolis, Santa Catarina, Brasil
Fevereiro de 2002

MACIEL, Maria Luiza Toschi

Contribuição para o desenvolvimento de uma proposta de monitoramento e certificação zoosanitária em cultivo de camarão marinho no Estado de Santa Catarina.

35 páginas

Dissertação de mestrado em Aquicultura. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. 2002.

Orientador: Prof.(a) Dr.(a) Maria Risoleta Freire Marques

Palavras chaves: camarão, certificação zoosanitária, vírus, diagnóstico.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	v
Resumo	vi
Abstract	vii
I. Introdução	1
II. Manuscrito 1	11
Resumo	12
Introdução	13
Material e Métodos	14
Estabelecimentos avaliados	14
Avaliação dos estabelecimentos	14
Resultados	15
Perfil da estação de reprodução de camarão marinho	15
Perfil dos estabelecimentos de cultivo de camarão	17
Discussão	18
Referências	20
III. Manuscrito 2	21
Resumo	23
Introdução	24
Material e Métodos	25
Resultados	26
Discussão	27
Referências	28
IV. Considerações Gerais	30
V. Referências Bibliográficas	33

LISTA DE ABREVIATURAS

AQIS	Australian Quarantine and Inspection Service
ASSCP	Australian Shellfish Sanitation Control Program
BP	<i>Baculovirus penaei</i>
CIDASC	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola do Estado de Santa Catarina
EPA	Environmental Protection Agency
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FAO	Food and Agriculture Organization
HPV	Hepatopancreatic Parvovirus
IHHNV	Infectious hypodermal hematopoietic necrosis virus
JSA	Joint Subcommittee on Aquaculture Shrimp Virus Work Group
LCM	Laboratório de Camarões Marinhos
MBV	<i>Monodon baculovirus</i>
PCR	Polymerase Chain Reaction
TSV	Taura syndrome virus
WSSV	White spot syndrome virus
WTO	World Trade Organization
YHV	Yellow head virus
OIE	Office International des Epizooties

RESUMO

A prevenção e o controle das enfermidades que atacam os cultivos estão diretamente relacionados com a pesquisa em diferentes áreas, como a patologia, a epidemiologia, a genética e, ainda a ecotoxicologia. No Brasil, a produção de camarões cultivados tem apresentado um crescimento significativo na última década, de modo que estas questões tornam-se também relevantes para a carcinicultura nacional. O presente estudo foi desenvolvido dentro desta perspectiva, visando obter informações, caracterizar o perfil e identificar alguns aspectos relacionados a estruturação do cultivo de camarão em Santa Catarina. Procurou-se ainda identificar os fatores de risco associados a esses cultivos, uma vez que o conhecimento e a avaliação dos mesmos é fundamental para a estruturação de um sistema de acompanhamento epidemiológico e vigilância sanitária. Com este objetivo, nesta etapa do estudo foram realizadas entrevistas estruturadas e não estruturadas junto aos produtores com visitas realizadas às propriedades. Paralelamente, foi iniciada a primeira etapa de padronização do diagnóstico do vírus da síndrome da mancha branca (White Spot Syndrome Vírus – WSSV), através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se iniciadores descritos na literatura. Foram utilizados pós-larvas e adultos de *Litopenaeus vannamei*, provenientes do Laboratório de Camarões Marinhos da UFSC. Não foi detectada reação positiva em nenhuma das amostras analisadas. Este estudo preliminar deve ser retomado, visando aumentar o número de amostras analisadas e, principalmente, utilizar a técnica de PCR *nested* que apresenta uma maior sensibilidade de amplificação quando comparada a PCR de um passo único, e que tem sido comumente utilizada no diagnóstico do WSSV.

ABSTRACT

The prevention and control of diseases that threaten shrimp culture are directly related to progress in different research areas such as shrimp pathology, epidemiology, genetics and also ecotoxicology. In Brazil, shrimp farming has shown a significant growth in the last decade. Consequently, the issues pointed out above are also relevant to national aquaculture. The present study was undertaken within this perspective in order to obtain information and also characterize some aspects concerning the organization of shrimp culture facilities in Santa Catarina. An attempt to identify risk factors associated to the cultures was included in the study as well since their knowledge and evaluation are of fundamental importance in establishing a program of epidemiological and sanitary surveillance. This part of the study was based in interviews carried out with the producers while visiting the farms. Along with this investigation, the first step involving the standardization of the conditions for the laboratory diagnosis of the White Spot Syndrome Virus (WSSV) was initiated, using the Polymerase Chain Reaction (PCR) with primers established in the literature. Both, pos-larvae and adults of *Litopenaeus vannamei* from the Laboratório de Camarões Marinhos - UFSC were used. No positive reaction was detected in either of the samples. This preliminary study must be further continued, in order to increase the number of samples to be analysed and particularly important, use the nested PCR which displays a higher sensitivity of amplification as than one-step PCR and has been currently used for the diagnosis of WSSV.

I - INTRODUÇÃO

No agronegócio aqüicultura, o cultivo de camarão é um dos segmentos que apresenta importância socioeconômica para muitos países. A Ásia, conforme registros da FAO (1996), contribuiu com 75% da produção mundial, destacando-se a Tailândia, Indonésia, China, Índia, Vietnã, Bangladesh, Filipinas, Malásia e Sri-Lanka. No Hemisfério Ocidental, o Equador liderou a produção, contribuindo com cerca de 69,5% do camarão cultivado na região, seguido do México, Honduras, Peru e Nicarágua. No Equador, o cultivo de camarão marinho contribuiu para a geração de 160.000 empregos diretos, ou seja, 6% da força economicamente ativa do país, enquanto na Tailândia, líder mundial na produção de camarões cultivados, esta atividade está associada à geração de aproximadamente 200.000 empregos diretos, superando, inclusive, o turismo na captação de divisas (ROCHA, 1997).

Relatos de MADRID (2001) afirmam que a década de oitenta está associada ao auge da produção mundial de camarão cultivado, passando de 97.000 ton. em 1980 para 686.000 ton. em 1990, o que representou um incremento de 607,2%. Segundo o mesmo autor, em 1992, o cultivo de camarão marinho apresentou seu pico máximo, atingindo uma produção de 840.400 ton.. Contudo, enfermidades virais assolaram os cultivos, sendo que até os dias atuais o setor não se recuperou totalmente, produzindo não mais que 804.000 ton.. É o caso de países asiáticos como a China, na época o maior produtor mundial, cuja produção foi reduzida de 220.000 ton. para 55.000 ton. no ano seguinte e, a Indonésia que de 150.000 ton. passou para não mais de 80.000 ton.. De modo similar, mais recentemente nas Américas, o Equador tendo alcançado em 1998 a cifra de 155.000 ton., em 2000 não atingiu ainda o equivalente a 40.000 ton..

A Associação Brasileira de Criadores de Camarões relata que no Brasil, a década de 70 representou o marco na tentativa de produção de camarão marinho em cativeiro. Nos anos 80, teve início a atividade empresarial com a exploração da espécie exótica *Penaeus japonicus*. Esta espécie, no entanto, não se adaptou a condição de alta salinidade fazendo com que os produtores tentassem o cultivo das espécies

nativas *Farfantepenaeus subtilis*, *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus paulensis* e *Litopenaeus schmitti*. Entretanto, as condições de baixa produtividade e reduzida lucratividade inviabilizaram o cultivo das mesmas. Em 1993, registros apontam a reintrodução do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei* que revolucionou a atividade, trazendo reflexos positivos para a aqüicultura nacional.

Em 1997, com uma produção ainda incipiente, o Brasil contribuiu com apenas 0,5% da produção mundial, ocupando a 18ª posição entre os países produtores e a 8ª entre os países latino-americanos. Conforme registros do Ministério da Agricultura, em 2000, a produção nacional alcançou 25.000 ton., ou seja, apresentou um incremento de 594% em quatro anos, passando a contribuir com 3,11% da produção mundial, sendo suplantada no continente americano apenas pelo Equador e o México. A extraordinária expansão que o cultivo de camarão vem registrando no país, especialmente na região nordeste, conta com parâmetros naturais equiparáveis ou mesmo superiores aos das demais regiões produtoras do mundo (ROCHA, 2000).

O cultivo de camarão no Brasil não se resume apenas a mega projetos. Atualmente, treze Estados participam da atividade e existe grande interesse do Governo Federal em expandir o cultivo de camarão marinho como opção também para os pequenos produtores. Em abril deste ano, o Governo do Estado de Santa Catarina beneficiou pescadores e pequenos agricultores com cartas de crédito do Banco da Terra. O Programa Estadual de Camarões Marinhos, desenvolvido numa tríplice parceria entre União, Estado e produtores vem beneficiando famílias de pescadores artesanais, bem como pequenos e médios produtores. Atualmente, os cultivos concentram-se no Complexo Lagunar Sul, compreendendo os municípios de Laguna, Imarui, Imbituba e Jaguaruna, estendendo-se para regiões próximas a grande Florianópolis, Bacia da Foz do Tijucas e litoral norte catarinense. Dados da Empresa de Pesquisa Agropecuária (EPAGRI) registram uma produção de camarão de cultivo no Estado de Santa Catarina no ano de 2000 de 174 ton., distribuídas em 108 ha de viveiros, com uma previsão de 600 ton. em 300 ha na safra 2001 (ROZANSKI *et al.*, 2000).

O incremento no cultivo de camarão marinho e o impacto negativo potencial das enfermidades não podem ser subestimados ou simplesmente negligenciados. O ingresso de uma enfermidade representa perdas inestimáveis, desde o ponto de vista do produtor que perde sua renda até as campanhas de controle e erradicação que oneram os cofres públicos. Qualquer enfermidade representa aumento no custo de produção e decréscimo em produtividade. Como exemplo atual entre os animais terrestres podemos citar a febre aftosa, que teve seu ingresso no Brasil em 1879, isto é, antes da abolição da escravatura. Portanto, há mais de um século esta enfermidade assola o rebanho susceptível e reflete em outros setores da economia. A prevenção e o controle das enfermidades representam importantes recursos com que os Serviços Veterinários de Defesa Sanitária fazem uso no propósito de reduzir os danos sócio-econômicos resultantes de desastres sanitários, devendo ser salientado que o custo da prevenção é muito inferior ao custo do controle e da erradicação das enfermidades.

Diferentemente das espécies terrestres, o conhecimento relativo às enfermidades de animais aquáticos é ainda limitado. Além disso, a sensibilidade dos diferentes métodos de diagnóstico não foi ainda suficientemente estudada e há pouca capacidade de erradicação das enfermidades, uma vez tenham sido as mesmas estabelecidas em áreas de cultivo. Conseqüentemente, programas de prevenção e controle das enfermidades tornam-se de fundamental importância a nível mundial, de modo a manter o cultivo de camarão marinho como uma atividade ecológica e economicamente sustentável (KESTEMONT, 1995; ROCH, 1999; BACHÈRE, 2000; RODRIGUEZ e MOULLAC, 2000; PÁEZ-OSUNA, 2001).

Com a finalidade de evitar o ingresso de enfermidades que cursam em países latino-americanos e outros, o Ministério da Agricultura, através da Instrução Normativa Nº 39, da Secretaria de Defesa Agropecuária, publicada no Diário Oficial da União em 8 de novembro de 1999, suspende temporariamente o ingresso, em todo o território nacional, de todas as espécies de crustáceos de água doce ou salgada, em qualquer estágio de seu ciclo biológico, tanto frescos como congelados.

Fazendas e viveiros são susceptíveis à invasão de protozoários, fungos e bactérias, mas as enfermidades causadas por vírus são aquelas que provocam atualmente as maiores perdas e prejuízos (PÁEZ-OSUNA, 2001). De acordo com LIGHTNER *et.al* (1998), mais de vinte vírus podem infectar os peneídeos, entre eles o vírus da mancha branca (White Spot Syndrome Virus - WSSV), o *Monodon baculovirus* (MBV), o *Baculovirus penaei* (BP), o vírus da cabeça amarela (Yellow Head Virus - YHV), a virose hepatopancreática (Hepatopancreatic Parvovirus - HPV) e o vírus da necrose hipodermal hematopoiética infecciosa (Infectious Hypodermal Hematopoietic Necrosis Virus - IHHNV), os quais representam importantes agentes patogênicos para a Ásia e a o Indo-Pacífico. Nas Américas, os principais agentes estão representados pelos vírus IHHNV, BP e pelo vírus da Síndrome de Taura (Taura Syndrome Virus - TSV).

A Organização Mundial do Comércio (WTO) procura ampliar as oportunidades de negócios entre países, sem, no entanto, oportunizar risco à saúde pública, animal, ambiental ou vegetal. Direitos e obrigações básicas requeridas aos países membros da WTO são regulamentados através da aplicação de medidas sanitárias baseadas em princípios e evidências científicas descritas no Acordo de Medidas Sanitária e Fitosanitárias (SPS Agreement), acrescidos do Acordo de Barreiras Técnicas de Comércio (TBT Agreement) e com a participação da Organização Internacional de Epizootias (OIE), no propósito de disciplinar o comércio internacional de animais e minimizar o risco de disseminação de enfermidades (THIERMANN, 1997). A OIE estabelece normas e procedimentos sanitários para animais aquáticos inspirados em textos homólogos consagrados para animais terrestres. Estes textos estão publicados no Código Sanitário Internacional para Animais Aquáticos (OIE, 1995), acompanhado do Manual de Diagnóstico de Enfermidades em Animais Aquáticos (OIE, 1995) que são o resultado do trabalho de vários anos desenvolvido pela comissão de especialistas e de médicos veterinários dos serviços oficiais de defesa sanitária dos países membros da Organização Internacional de Epizootias.

A movimentação de animais e de produtos de origem animal envolve o risco de introdução de enfermidades para o importador. Este risco pode estar representado por uma ou várias enfermidades ou infecções. Conforme SNIESZKO (1973), a expressão da enfermidade como processo mórbido é o resultado de uma complexa interação entre o agente patogênico, o hospedeiro e o ambiente. Animais em sistemas de cultivo apresentam maior contato entre si, restrição de movimento, estão sujeitos muitas vezes a baixa qualidade da água, mudanças repentinas, manipulação e transporte; fatores estes que promovem o estresse dos animais podendo favorecer a ação dos agentes patogênicos (MISCIATTELLI *et al*, 1999).

O Código Sanitário reconhece que a presença de um agente infeccioso não implica necessariamente na presença da enfermidade clínica, isto é, o Código Sanitário reconhece que a detecção da infecção na ausência da enfermidade clínica pode ser suficiente para constituir um caso que necessite ser declarado. Esta situação é particularmente relevante em se tratando de animais aquáticos, onde o hospedeiro e o meio ambiente influenciam de maneira significativa o grau em que uma infecção subclínica poderá tornar-se clínica ou, ainda, onde os animais que sobrevivem a uma infecção poderão tornar-se veículos do agente por toda sua vida. Dentro deste enfoque, a Comissão Internacional propõe equiparar a identificação de fragmentos genômicos com a presença de um agente infeccioso viável no hospedeiro e com a presença de um processo infeccioso em uma determinada população (OIE, 2001).

O Código Sanitário sugere medidas que dependem do estado sanitário do país importador, baseado no princípio de que a movimentação de animais aquáticos deveria efetuar-se unicamente entre países/zonas/estabelecimentos de aquicultura de um estado sanitário mais elevado para outro mais baixo ou entre entidades com estados equivalentes. Este entendimento serve para a aprovação e a manutenção do estado sanitário dos países, zonas ou estabelecimentos de aquicultura “livres” de uma determinada enfermidade de declaração obrigatória. Dentro do enfoque de equivalência comercial promulgado no Acordo da Ronda do Uruguai (1994) não existe

nenhuma disposição para que os países infectados por uma enfermidade em particular exijam que os animais aquáticos importados estejam livres desta enfermidade.

O documento da reunião da Comissão Internacional da OIE realizada em setembro de 2001 menciona uma preocupação com as disposições do reconhecimento denominado “avô” quanto a ausência de uma enfermidade, ou seja, o reconhecimento baseado na ausência histórica da enfermidade. Os requisitos atuais propostos pelo Código Sanitário para o estabelecimento ou a manutenção de estado “livre” de uma enfermidade de declaração obrigatória (vide abaixo) é a vigilância ativa específica. A manutenção de estado “livre” compreende a combinação de provas, com amostragem e métodos consagrados, medidas de biossegurança destinadas a prevenir a introdução da enfermidade, bem como a presença de um sistema de vigilância sanitária que garanta que toda a suspeita de enfermidade dê origem a uma imediata investigação.

A principal finalidade da análise de riscos, associada ao ingresso de animais aquáticos e de produtos de animais aquáticos, é proporcionar um método objetivo e fundamentado para avaliar estes riscos, o qual é preferível à atitude de considerar “risco zero”, pois permite tomar decisões mais objetivas ao mesmo tempo em que viabiliza ao Serviço Veterinário de Defesa Sanitária Animal a possibilidade de discutir quaisquer desacordos sobre os riscos potenciais. O Serviço de Defesa Sanitária Animal deve identificar todas as situações que possam apresentar riscos, caso um agente patogênico seja introduzido através do ingresso de mercadorias e, ainda, se os animais aquáticos já existentes e/ou as pessoas forem expostos a este agente e infectados por ele. Cada situação deve incluir uma série de fatores, exames, provas e complementos que são identificados para avaliar a possibilidade do risco (HUESTON e WALKER, 1993; VOSE, 1997). Estes riscos podem estar associados ao local de origem, a mercadoria em si, aos fatores de exposição e aos fatores de redução de riscos. O número de unidades de animais aquáticos a ingressar influi consideravelmente na avaliação dos riscos. Portanto, é indispensável a descrição detalhada dos animais aquáticos e dos produtos de animais aquáticos, completando a descrição com dados sobre os tempos de tratamento, a temperatura, o pH e as condições de transporte e

armazenamento (OIE, 1995; LIGHTENER *et. al.* 1997; ASSCP, 1997; JSA, 1997; EPA, 1997; EPA, 1999).

Entre as diferentes medidas adotadas internacionalmente para diminuir os riscos com enfermidades, está a certificação de populações e estabelecimentos de cultivo, que, conjuntamente com a aplicação de quarentenas, permite assegurar a ausência de determinadas enfermidades e, por conseguinte, evitar sua introdução ou dispersão. As enfermidades para certificação são de notificação obrigatória ao Serviço Oficial de Defesa Sanitária Animal e correspondem àquelas de alto risco, constantes das regulamentações nacional e internacional, com especial atenção àquelas para as quais não existem tratamentos eficazes conhecidos ou que são de difícil controle. No caso de crustáceos, as enfermidades de notificação obrigatória a OIE são representadas por aquelas causadas pelo WSSV, YHV e TSV.

Cabe ao Governo regulamentar medidas para evitar a introdução de enfermidades, listar enfermidades de declaração obrigatória e/ou de importância socioeconômica, impedir a transmissão dentro de seu território e lutar contra as já existentes. São elementos jurídicos essenciais, definir procedimentos de atuação frente às enfermidades, tais como planos emergenciais, princípios de zonificação, estudos epidemiológicos, métodos de controle e/ou erradicação, além daqueles relacionados ao comércio nacional e internacional, à quarentena, ao transporte, ao saneamento, bem como procedimentos de desinfecção, relacionados com a água de abastecimento, com a água residual, com as instalações para a aqüicultura, com os equipamentos de uso individual e coletivo e, ainda com os locais de deposição de dejetos, entre outros.

Experiências internacionais relatam que o estabelecimento de um programa de defesa sanitária para animais aquáticos requer aproximadamente de oito a dez anos para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico, com especial importância para o desenvolvimento de técnicas de microbiologia e linhagens celulares específicas para invertebrados. Associado a estes procedimentos, requer o estabelecimento de um banco de dados confirmando o real estado sanitário existente, com o objetivo de

relacionar as enfermidades prevalentes e os locais de ocorrência destas enfermidades e preconizar sistemas de prevenção, controle e erradicação quando possível, implantar protocolos, normas e certificação de propriedades e de áreas de cultivo, além de desenvolver e implantar códigos de manejo sanitário e de boas praticas de cultivo. E ainda, constituir protocolos e normas quanto ao uso de drogas na alimentação e na terapêutica de animais aquáticos (AQIS,1998).

O Governo do Estado de Santa Catarina em sua Secretaria de Estado do Desenvolvimento Rural e da Agricultura, por delegação de competência, atribui à Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola do Estado de Santa Catarina (CIDASC), executar o projeto de sanidade aquícola no estado, visando o desenvolvimento de medidas de vigilância, profilaxia, controle e erradicação das enfermidades inerentes a aquicultura.

O estado sanitário em empreendimentos aquícolas só poderá ser garantido através da certificação zoosanitária, a qual compreende inspeções profissionais periódicas, consolidada através de diagnósticos laboratoriais em consonância com as exigências da OIE.

Assim, considerando o crescimento da aquicultura e o impacto negativo potencial que as enfermidades representam para a atividade, o presente estudo teve por objetivo trazer uma contribuição inicial para a institucionalização de um programa de defesa sanitária para animais aquáticos para o Estado de Santa Catarina. Com base neste estudo, foram elaborados dois artigos (manuscrito 1 e manuscrito 2). O manuscrito 1 apresenta os resultados obtidos, através de entrevistas estruturadas, com a avaliação do grau de conhecimento, da atitude e do comportamento dos produtores frente a saúde dos animais, os tratamentos utilizados e os possíveis danos a saúde pública e ao ambiente. Estes dados foram complementados através de entrevistas não-estruturadas, onde se buscou obter informações complementares com base nas observações do cultivo e no comportamento dos produtores. Procurou-se avaliar, individualmente, cada estabelecimento, quanto aos vários aspectos da planta física,

incluindo fontes de abastecimento de água, instalações do laboratório de reprodução e dos estabelecimentos de cultivo, áreas de acesso e entorno dos viveiros, manipulação dos animais, práticas de manejo e destino das águas. Este manuscrito será submetido para publicação no periódico A Hora Veterinária. O manuscrito 2 apresenta os resultados relativos à primeira etapa dos experimentos de laboratório, realizados com o objetivo de padronizar as condições para o diagnóstico do vírus WSSV, através do método da reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction) em amostras obtidas de camarão (*Litopenaeus vannamei*) utilizado para cultivo no Estado de Santa Catarina. Este manuscrito será submetido para publicação no periódico Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. As normas para a publicação em cada um dos periódicos mencionados encontram-se em anexo.

II - MANUSCRITO 1

**Avaliação de riscos sanitários potenciais em cultivos do camarão marinho
Litopenaeus vannamei no Estado de Santa Catarina**

**Evaluation of potencial sanitary risks in shrimp culture of *Litopenaeus vannamei*
in the State of Santa Catarina**

MACIEL, MLT. ^{1*} ANDREATTA, ER. ²; COSTA, SW.³; MACIEL, CT.⁴ e MARQUES, MRF.⁵

¹Médica Veterinária Coordenadora do Programa de Sanidade em Animais Aquáticos no Estado de Santa Catarina/CIDASC. Rodovia Admar Gonzaga, 1588. 88034-900 Florianópolis/SC

² Zootecnista, Professor Adjunto Doutor, Departamento de Aqüicultura/CCA/UFSC. C.P. 476. 88040-900 Florianópolis/SC

³ Oceanógrafo do Subprojeto de Cultivo de Camarões Marinhos/EPAGRI. Rodovia Admar Gonzaga, 1188 88.034-901 Florianópolis/SC

⁴ Acadêmica de Direito/UNISUL e Letras Inglês/UFSC. Av. Lédio João Martins, 421/404. 88102-000 São José/SC

⁵ Bióloga. Professor Adjunto Doutora, Departamento de Bioquímica/CCB/UFSC. C.P. 476. 88040-900 Florianópolis/SC

* Endereço eletrônico para correspondência: luiza50@yahoo.com

RESUMO

O incremento no cultivo de camarão marinho influencia o aumento na movimentação de animais e de produtos de origem animal, favorecendo o risco de introdução ou difusão de agentes patogênicos. Esta condição requer um competente serviço oficial de vigilância e de monitorização sanitária, através da estruturação de um sistema de acompanhamento epidemiológico que assegure ao mesmo tempo a vigilância sobre os agentes patogênicos, o monitoramento de seus hospedeiros e do ambiente aquático. A identificação dos fatores de risco associados aos cultivos é etapa fundamental para atingir este objetivo. A certificação zoonitária dos estabelecimentos e das populações representa uma medida de garantia sanitária para o comprador.

RESUMEN

El incremento en la cultura del camarón marino asociado al movimiento de animales o de productos del origen animal son mecanismos que plantean el riesgo de introducción y diseminación de patógenos. Esta condición implica en la necesidad de un servicio oficial competente con fines de vigilancia y de monitoraje de la sanidad animal. Las autoridades responsables necesitan estructurar un sistema epidemiológico de acompañamiento que asegure en el mismo tiempo vigilancia de los patógenos, en monitoraje de sus huéspedes y del ambiente acuático. La identificación de los factores de riesgo asociados a los cultivos es una etapa fundamental para obtener de los objetivos. La certificación zoonitaria de los establecimientos y de las poblaciones representa una medida de seguridad sanitaria para el comprador.

SUMMARY

The increment in the culture of marine shrimp increases the movement of animals and products of animal origin and brings the risk of introducing and broadcasting pathogenic agents. This condition supports the assessment of a competent official service for the surveillance and monitoring of animal health. The responsible authorities need an epidemiological delivery system that incorporates the surveillance of pathogenic agents, the monitoring of their hosts and aquatic environment. The identification of risk factors associated to shrimp culture constitutes a fundamental task in order to achieve this goal. The zoonitary certification of both the facilities and populations represents a measure of sanitary guarantee for the purchaser.

RÉSUMÉ

L'incrément de crevettes d'élevage lié aux transferts des animaux vivants et des produits d'origine animale favorisent le risque d'introduction ou la dissémination des agents pathogènes. Cette condition demande la nécessité d'un service officiel compétent pour la surveillance et le contrôle de la santé animale. Les autorités responsables ont besoin de mise au point un système épidémiologique d'accompagnement qui doit assureré la fois la surveillance des agents pathogènes, le contrôle des hôtes et l'étude de l'environnement aquatique. La certification zoonitaire des établissements et des populations représente une mesure de garantie sanitaire pour l'acheteur.

PALAVRAS CHAVES : camarões – enfermidades – certificação zoonitária

PALABRAS CLAVE : camarones – enfermedad - certificación zoonitaria

KEYWORDS : shrimp – disease – zoonitary certification

MOTS-CLES : crevettes - maladie – certification zoonitaire

INTRODUÇÃO

A criação intensiva de organismos aquáticos, onde um grande número de animais é mantido num espaço limitado, associado às condições das instalações, manejo e abastecimento de água, entre outros fatores, favorece o aparecimento de enfermidades (SUBASINGHE *et al.*, 1998; BACHÈRE, 2000). Bactérias, vírus, fungos ou parasitos podem ter origem em animais de vida livre introduzidos através da água de abastecimento, podem ser provenientes de outra propriedade através da aquisição de náuplios, larvas, pós-larvas, juvenis ou mesmo animais adultos e podem, ainda, ser transportados de um cultivo para outro, através da movimentação de homens e veículos (BUENO, 1997).

A movimentação de crustáceos em ausência de sólidas garantias sanitárias apresenta grande risco de disseminação de enfermidades entre países, estados e regiões. Experiências têm mostrado que a negligência em relação às garantias sanitárias está associada a perdas financeiras substanciais (NEWMAN, 1999; MISCIATTELLI *et al.*, 1999).

As doenças de origem bacteriana, principalmente as vibrioses causadas por bactérias do gênero *Vibrio* sp e as pasteureloses causadas pelo *Photobacterium damsela*, resultam em alta mortalidade e significativas perdas econômicas (LIGHTNER, 1988; RUANGPAN & KITAO, 1991; RODGERS & FURONES, 1998; GOARANT *et al* 1998). LIGHTNER & VANPATTEN (2001) registram que a enfermidade causada pelo vírus da mancha branca (White Spot Syndrome Virus - WSSV) promoveu na Ásia, no ano de 1992, perdas equivalentes a bilhões de dólares, enquanto que nas Américas, no ano de 1999, as perdas foram de pouco menos de um bilhão de dólares. Por sua vez, o vírus da síndrome de Taura (Taura Syndrome Virus – TSV) e o vírus da cabeça amarela (Yellow Head Syndrome Virus - YHSV), no ano de 1992, também representaram catástrofes econômicas com importantes reflexos socioeconômicos.

O planejamento de qualquer atividade sanitária requer necessariamente o conhecimento dos resultados que ela representa, isto é, um perfil de seu histórico, situação atual e perspectivas. Para o desenvolvimento de um programa de defesa sanitária para o cultivo de camarões é necessário conhecer a situação socioeconômica e cultural dos produtores e investigar os sistemas de produção, as práticas de manejo e a ocorrência de enfermidades, considerando fatores biológicos e econômicos com vistas a minimizar problemas sanitários.

Todo controle sanitário está alicerçado no conhecimento do estado de saúde dos animais na área de cultivo, baseado em inspeções e padronização de procedimentos de amostragem, seguidas de diagnóstico laboratorial conduzido de acordo com normas internacionais. Deve ainda promover ações preventivas visando impedir o ingresso de agentes patogênicos nos cultivos ou promover ações para a erradicação de enfermidades, sempre que possível.

Um programa de sanidade para crustáceos somente poderá lograr êxito em situações onde o esforço do controle oficial esteja associado à educação sanitária, esclarecendo a população sobre os riscos inerentes e as maneiras de evitar transtornos e perdas econômicas. Muitas das ameaças estão associadas a procedimentos que ocorrem fora do controle legal, tais como cultivos não licenciados, movimentação não autorizada, ingressos clandestinos, entre outros. De acordo com

BORDENAVE (1985) a educação é um processo participativo e a participação não é um conteúdo que se possa transmitir, mas uma mentalidade e um comportamento com ela coerente.

O presente estudo foi desenvolvido dentro deste contexto, visando fornecer subsídios para o estabelecimento do Programa de Sanidade para Crustáceos no Estado de Santa Catarina. O objetivo fundamental foi identificar alguns fatores de risco associados à atividade de cultivo de camarão marinho na região, como esta atividade está estruturada na comunidade e os fatores determinantes do conhecimento comunitário, uma vez que a cultura é uma forma de linguagem coletiva que encontra sua legitimidade na preocupação social contextualizada. Desta forma, buscou-se contribuir para o delineamento de estratégias de ação para um trabalho educativo sanitário compatível com a realidade socioeconômica e cultural dos produtores, ponderando a realidade estrutural de cada estabelecimento.

MATERIAL E MÉTODOS

1- Estabelecimentos avaliados

Todos os estabelecimentos avaliados no presente estudo são acompanhados pelo serviço de extensão rural da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e por profissionais do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Foi avaliado um total de trinta e nove unidades, compreendendo um estabelecimento de reprodução e trinta e oito estabelecimentos de produção de camarão marinho, com dominação absoluta da espécie exótica *Litopenaeus vannamei*. O estabelecimento de reprodução está localizado na Barra da Lagoa, no município de Florianópolis e pertence ao Departamento de Aqüicultura da UFSC. Este estabelecimento possui ainda uma fazenda experimental localizada no município de Barra do Sul, onde estão alojados os reprodutores utilizados durante os períodos de reprodução. Os estabelecimentos de produção avaliados neste estudo estão localizados nos municípios de Laguna, Imbituba e Jaguaruna. O estudo foi realizado no período de agosto a dezembro de 2001.

2- Avaliação dos estabelecimentos

Os dados iniciais referentes ao cadastramento dos produtores, área de viveiros e densidade de povoamento foram obtidos através de consulta a EPAGRI e ao LCM. Para a complementação das informações, considerando o ponto de vista da sanidade animal, foram realizadas entrevistas estruturadas e não-estruturadas, bem como visitas às propriedades. Com o objetivo de obter maior consistência das informações as entrevistas foram conduzidas junto aos responsáveis pelos estabelecimentos e complementadas pelos técnicos da extensão rural da EPAGRI.

No caso do estabelecimento de reprodução de camarões marinhos, procurando atender as exigências do regulamento técnico sobre a fiscalização e o controle sanitário de estabelecimentos de reprodução de animais aquáticos, a entrevista constou de questionamentos referentes à espécie

em reprodução, movimentação anual dos últimos três anos, mecanismos de biossegurança utilizados, insumos locais e/ou importados usados em todas as etapas do processo produtivo, com identificação de procedência e a apresentação de um mapa de risco do estabelecimento.

Nas entrevistas estruturadas, realizadas junto aos estabelecimentos de cultivo de *L.vannamei*, procurou-se avaliar cada estabelecimento quanto à origem e o destino do camarão cultivado e quanto aos vários aspectos da planta física, incluindo fontes de abastecimento de água, áreas de acesso, práticas de manejo e destino dos efluentes. As entrevistas não-estruturadas foram baseadas nas observações feitas *in loco* e na observação do comportamento do produtor.

Posteriormente, ainda em relação aos estabelecimentos produtores, foram realizadas reuniões de orientação técnica referente aos riscos inerentes a movimentação de animais e da importância do produtor prestar ao Serviço Oficial de Defesa Sanitária Animal as informações referentes à mortalidade dos animais, a causa da morte, bem como à presença de enfermidades ou de agentes infecciosos, objetivando deter a propagação dos agentes etiológicos e das enfermidades entre os animais aquáticos e, com o propósito de facilitar o controle em casos de emergências. Nesta oportunidade, também foram esclarecidas as penalidades cabíveis no caso de omissão e/ou sonegação de informações. Foram esclarecidos aspectos referentes aos fatores de risco relacionados com o local de origem dos animais, considerando os aspectos de zonificação, da vigilância sanitária e dos planos emergenciais. Igualmente foram abordados aspectos referentes aos fatores de risco relacionados com a mercadoria em si, com o transporte, com o armazenamento, bem como os fatores relacionados com a redução dos riscos e das perdas na produção, especialmente quando não se dispõe de tratamentos efetivos de controle, salientando ainda, os prejuízos socioeconômicos decorrentes da introdução de uma enfermidade. Objetivando minimizar os riscos de ingresso de enfermidades nos cultivos de camarões marinhos foi enfatizada a importância da certificação zoonitária dos estabelecidos e das zonas de cultivo como garantia de saúde animal e a necessidade de quarentena de animais adquiridos fora da região de produção.

RESULTADOS

1- Perfil da estação de reprodução de camarões marinhos

a- LCM

O estabelecimento apresenta uma unidade de larvicultura e uma unidade de pré-berçário ou setor de recria com capacidade de produção de 40 milhões de indivíduos por mês, em sete ciclos anuais. O setor de maturação apresenta capacidade de carga de 1.200 reprodutores para uma produção mensal de aproximadamente 100 milhões de indivíduos.

Com a introdução do camarão *Litopenaeus vannamei* e os resultados animadores obtidos através do domínio cada vez maior do ciclo reprodutivo e da produção de pós-larvas, o LCM tornou-se estrategicamente auto-suficiente para o suprimento da demanda estadual. Os registros de importações de náuplios datam de 1998 com a introdução de indivíduos procedentes da Venezuela e, nos anos seguintes procedentes da região nordeste do Brasil. Atualmente o LCM é

responsável pelo abastecimento de larvas e pós-larvas de camarão marinho para todos os estabelecimentos de cultivo no Estado de Santa Catarina. O período médio de quarentena utilizado é de dez dias, com água de origem oceânica e vazão para um tanque de estabilização que recebe tratamento a base de cloro.

Nos últimos três anos a produção de náuplios e pós-larvas tiveram destino para o abastecimento dos estabelecimentos de produção em Santa Catarina e também para produtores nos Estados do Paraná e São Paulo.

No que se refere a alimentação, o setor de maturação faz uso de alimento não processado, com origem na indústria pesqueira de Santa Catarina, bem como ração peletizada importada dos Estados Unidos da América e biomassa de *Artemia sp.* procedente do nordeste brasileiro. Para a larvicultura, a ração comercial e a *Artemia sp.* têm procedência americana, enquanto que no pré-berçário faz-se uso apenas de ração comercial.

Com base nas entrevistas realizadas, foi constatado elevado grau de conscientização sobre potenciais fontes de contaminação e cuidados quanto à conservação e a higienização das instalações e dos equipamentos, com procedimentos de pulverização e desinfecção diária dos materiais utilizados no transporte de larvas. Os procedimentos de limpeza e cloração de tubulações e reservatórios são realizados semanalmente no setor de maturação e produção de microalgas, enquanto que na larvicultura e no berçário ocorrem nos intervalos dos ciclos de produção. Os materiais de construção das diferentes instalações e as tubulações permitem desinfecção sempre que necessário.

O único registro de ocorrência de mortalidade significativa foi observado em 1999 e estava associado a uma possível contaminação bacteriana, resultando na completa eliminação do lote e desinfecção através da aplicação de cloro. Os fatores predisponentes para o aparecimento de mortalidade observados no estabelecimento estavam vinculados a quebra de rotinas de assepsia ou quando da introdução de reprodutores e náuplios com estado sanitário desconhecido.

O estabelecimento apresenta instalações independentes e adequadas ao embarque de animais, com piso e paredes resistentes a desinfecções e mantém ações de pulverização dos veículos utilizados para o transporte dos animais, bem como restrição na movimentação de veículos e de pessoas estranhas ao serviço. Nas demais instalações o uso de pedilúvios é constante, havendo, igualmente restrições quanto à movimentação de pessoas estranhas.

Outras medidas profiláticas e de controle de agentes etiológicos, tanto para os setores de maturação, microalgas, larvicultura, pré-berçário e na despesca e embalagem, compreende procedimentos de vazão sanitário, filtração diária da água, limpeza e cloração de tubulações e reservatórios, bem como a higienização do pessoal, materiais e equipamentos. Na maturação é realizada a desinfecção de ovos e dos náuplios. Na larvicultura são realizadas análises microscópicas da qualidade, efetuada duas vezes ao dia, com observações predominantes quanto a presença de necroses, visualização do trato intestinal, formação branquial, pesquisa de protozoários epicomensais, formação dos apêndices e evolução das espécies larvais.

b- Fazenda experimental

No que se refere a fazenda experimental, esta apresenta uma área alagada de 23 hectares, distribuída em 17 viveiros e com capacidade de produção de 30 toneladas por ciclo. A fazenda foi ativada em 2000 e o povoamento teve início com animais procedentes do LCM da própria UFSC. Nesta fazenda, como medida profilática no controle de agentes etiológicos são realizados o vazio sanitário, bem como o revolvimento do solo e a aplicação de carbonato de cálcio. Da mesma maneira, é realizada a raspagem das comportas, higienização das bandejas de fornecimento de alimentos, bem como a higienização periódica das instalações de armazenamento da ração. Foi constatada igualmente a preocupação quanto ao controle diário de circulação de pessoas e veículos no estabelecimento.

Casos de mortalidade foram observados pelos entrevistados com maior ocorrência quando de manejo insuficiente dos parâmetros físico-químicos de qualidade da água e da alimentação. Também devido ao incorreto manejo na renovação da água e no uso de aeradores. Nenhuma mortalidade significativa foi observada deste o início das atividades na fazenda, ocorrendo apenas a suspeita de alguns casos de vibriose, contudo sem confirmação laboratorial.

O tipo de alimento utilizado para os reprodutores consiste em matéria não processada, com origem na indústria pesqueira de Santa Catarina e ração comercial procedente da região nordeste do Brasil, para os cultivos experimentais. O alimento é fornecido no sistema de bandejas.

Biometrias semanais são realizadas em amostras colhidas em três diferentes pontos equidistantes nos viveiros. Os indivíduos amostrados são observados através de visualização macroscópica, com especial atenção para a uniformidade de tamanho dos indivíduos, aspectos do trato intestinal, brânquias, coloração, aspecto dos urópodos, presença de necroses no cefalotórax, abdômen e apêndices. Na visualização por microscopia são realizadas a pesquisa de gregarinas no trato intestinal e a presença de protozoários epicomensais.

2- Perfil dos estabelecimentos de produção de camarões marinhos

Após consulta à EPAGRI, constatou-se que para a primeira etapa do cultivo de 2001, compreendida entre agosto e novembro, vinte e nove estabelecimentos receberam pós-larvas para a produção de camarão, distribuídas na região de Laguna, compreendendo os municípios de Laguna, Imbituba e Jaguaruna.

A área total povoada até novembro/2001 foi de 527,60 ha, com uma média de 13,43 ha de área alagada por estabelecimento e um tamanho médio de viveiros entre 3-5 ha. Todos os estabelecimentos estão com situação regularizada junto ao órgão de fiscalização do meio ambiente e recebem assistência através de profissionais da EPAGRI, da UFSC ou contratados.

O povoamento total foi de 89.514.698 pós-larvas, com idade de semeadura de PL20 e uma densidade média de 20 a 30 indivíduos/m². São praticados anualmente dois ciclos de produção, com duração média de 90 dias por ciclo e um período de vazio de 10 dias no verão. Os índices médios obtidos de sobrevivência por ciclo estão entre 50 e 80%, com um tamanho médio do

camarão na colheita de 12 a 15 gramas. O sistema predominante de distribuição de alimentos é o sistema em bandejas e o alimento utilizado é a ração comercial.

No que se refere a biossegurança foi observado que nenhum estabelecimento utiliza pedilúvio e/ou rodolúvio, nem mesmo o sistema de pulverização dos veículos com soluções desinfetantes. No entanto, existe a movimentação de veículos e de pessoas estranhas ao serviço próximo às áreas de cultivo. A captação da água de abastecimento dos viveiros é feita diretamente da natureza e os efluentes são liberados num canal coletivo com vazão a jusante dos cultivos. Observou-se ainda, que os estabelecimentos não apresentam locais adequados para a destruição de animais enfermos ou mortos, ficando os mesmos expostos sobre o solo.

DISCUSSÃO

O Programa de Cultivo de Camarões Marinhos para o Estado de Santa Catarina tem como meta a implantação de 2.500 hectares de cultivo, com a geração de 3.000 empregos e de recursos equivalentes a R\$ 50 milhões/ano (SEIFFERT *et al.* 2001). Contudo sua rápida expansão e os riscos inerentes ao aparecimento de enfermidades devido ao cultivo intensivo e a movimentação animal não devem ser negligenciados.

Durante o estudo foi observado que o Estado não registrou até o momento a ocorrência de qualquer das enfermidades consideradas de notificação obrigatória. No entanto, foram citados pelos entrevistados alguns casos de mortalidade em camarões cultivados, contudo sem identificação laboratorial do provável agente etiológico e sem a devida comunicação dos fatos ao Serviço Oficial de Defesa Sanitária Animal.

Neste estudo foi constatado que nenhum estabelecimento possui a certificação zoosanitária e que o Serviço Oficial de Defesa Sanitária Animal, no que se refere aos crustáceos, teve seu envolvimento primeiro em junho de 2000 e que, portanto, ainda não possui um banco de dados com a identificação e o histórico da real situação sanitária dos cultivos. Verificou-se, no entanto, a existência apenas do cadastro dos estabelecimentos de reprodução e cultivo.

Os programas de sanidade são alicerçados em fundamentos que dizem respeito a vigilância e ao monitoramento sanitário permanente, atendendo às exigências constante do Regulamento de Defesa Sanitária Animal. Entretanto, observamos que mesmo com a existência de um Decreto datado de 1934 (Decreto nº 24.548), no que se refere à obrigatoriedade de notificar o Serviço Veterinário Oficial da ocorrência de enfermidades em animais isto não constitui uma realidade entre os produtores de camarões.

O princípio básico da biossegurança é o de prevenir a introdução ou a disseminação de enfermidades nos cultivos (SYLVIA *et al.*, 1999). Neste contexto estão envolvidos procedimentos como minimizar as trocas de águas dos viveiros, minimizar o risco de contaminação causado pelo uso de alimentos vivos. A introdução de novos indivíduos ao cultivo, deve sempre ser acompanhada da certificação zoosanitária do estabelecimento de origem, emitido pelo Serviço Oficial de Defesa Sanitária Animal e manter os indivíduos recém adquiridos sob observação em viveiros isolados. Em outras palavras, evitar qualquer procedimento que envolva risco real ou potencial de causar enfermidade nos animais.

Embora não tenha sido observado a prática da adoção de um local adequado para eliminação de animais mortos, a simples remoção dos enfermos ou mortos para locais onde possam ser cremados ou enterrados auxilia na redução do número de agentes patogênicos existentes no ambiente. Esta prática é válida, principalmente em se tratando de espécies que praticam o canibalismo e cuja via de transmissão ocorre através da ingestão do agente patogênico. Por outro lado, a exposição de animais mortos representa importante fonte de disseminação de agentes patogênicos através de aves, que podem percorrer vários estabelecimentos. O vírus da WSS pode sobreviver no intestino de pássaros e estes pássaros podem defecar em viveiros de outros estabelecimentos ou de qualquer maneira, movimentar o material infectado de um local para outro (CEI, 1999).

A melhor maneira de evitar perdas na produção e nos lucros da atividade é implementar medidas preventivas para deixar os agentes patogênicos fora do sistema de produção. Estas medidas incluem a desinfecção dos viveiros e a eliminação de fontes potenciais de contaminação, o uso de telas e filtros para a água de abastecimento, objetivando remover a possibilidade de ingresso do agente ou de seus vetores, remover o excesso de matéria orgânica nos viveiros, utilizar apenas alimentos processados, isto é, que sofreram processo de aquecimento em seu preparo, com temperatura e tempo suficiente para a destruição ou inativação do agente etiológico.

Santa Catarina apresenta no cultivo de camarões marinhos o privilégio de não possuir registro de ocorrência de enfermidades de notificação obrigatória. Esta condição confere maiores vantagens na exploração da atividade e na conquista de mercados. Isto se deve, principalmente porque as pós-larvas adquiridas pelos estabelecimentos de produção são quase que exclusivamente procedentes do LCM e os estabelecimentos contam com o serviço de extensão rural para as orientações e a assistência técnica.

Concluimos, diante das observações, que devemos desencadear uma campanha educativo sanitária visando minimizar fatores de risco externo e ambientais e implantar a certificação zoosanitária, visando garantias sanitárias aos plantéis. Como estratégia complementar, sugerimos desenvolver junto aos produtores de camarões marinhos e a rede escolar, uma atividade de orientação quanto a prevenção e o controle de enfermidades, objetivando diminuir os possíveis danos sócioeconômicos resultantes do aparecimento das mesmas. A estratégia da seleção e produção de reprodutores de alta qualidade genética, suficiente para suprir a demanda do Estado, deve ser incentivada como forma de reduzir o trânsito de animais procedentes de outras regiões ou países, minimizando os riscos de introdução de enfermidades.

Concluimos ainda, que existe a necessidade de implantação de um laboratório de diagnóstico de enfermidades, a partir das interações entre as diversas entidades, tanto públicas como privadas. Esta iniciativa permitirá o monitoramento dos estabelecimentos e das populações existentes no Estado, representando para os produtores um diferencial qualitativo de seu produto através da certificação sanitária dos mesmos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACHÉRE,E. Shrimp immunity and disease control. **Aquaculture**, v.191, p. 3-11, 2000
- BORDENAVE,J.E.D. *O que é participação*. São Paulo, Ed. Brasiliense, 73 pg, 1985.
- BUENO, S.L. Enfermedades de Camarones Peneidos: uma aproximación introductoria y bibliografía seleccionada. Dep. Zoología, Inst. Biociencias, USP, 1997.
- CEI – CENTER FOR EMERGING ISSUES. Outbreak of shrimp viral disease in Central America: situation report. Veterinary Services, June 1999.
- GOARANT,C., REGNIER,F.,BRIZAARD,R.,MARTEAU,A.L. *Acquisition of susceptibility to Vibrio penaeicida in Penaeus stylirostris postlarvae and juveniles*. **Aquaculture**, v. 169 (3-4), p. 291-296, 1998.
- LIGHTNER,D. *Diseases of cultured penaeid shrimps and prawns*. Elsevier, p. 8-133, 1988.
- LIGHTNER,D.V. & VANPATTEN,K. *Laboratory Procedures and Services*. Global Shrimp OP. Dep. Veterinary Sci. & Microbiology. Universidade do Arizona, Tucson, 2001
- MISCIATTELLI,N, JONES, D.A, LATCHFORD,J.W. Potencial of several different methods of combating bacterial disease in shrimp aquaculture with special emphasis on quorum sensing in V Congreso Ecuatoriano de Acuicultura, Guayaquil, Ecuador, 1999.
- NEWMAN, SG. A review of the use of non specific immune-stimulants to reduce the impact of the WSSV. V Congreso Ecuatoriano de Acuicultura. Guayaquil, Ecuador, 1999.
- RODGERS,C.F., FURONES,M.D. *Disease problems in cultured marine fish in the Mediterranean*. **Fish Pathology**, v.33(4), p. 157-164, 1998
- ROSENBERRY,B. *World Shrimp Farming*. Annual Buyer's Guide Articles, 1999
- RUANGPAN,L, KITAO,T. *Vibrio bacteria isolated form black tiger shrimp, Penaeus monodon*. **Journal of Fish Diseases**, v. 14 (3), p. 383-388, 1991.
- SEIFFERT,W.; DERNER,R.; PETERSEN,R.; BELTRAME,E. O cultivo de camarões marinhos no Estado de Santa Catarina. <http://www.lcm.ufsc.br/trabalho/index.html>
- SYLVIA, PC.; BELLE,S.; SMART,A. THE DEVELOPMENT OF A BIOSECURITY PROGRAM DESIGNED FOR TUNA AQUACULTURE OPERATIONS. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society, Sidney, Australia, 743 pp., 1999.
- SUBASINGHE,RP.; BARTLEY,DM; McGLADDERY,S.; BARG,U. Sustainable shrimp culture development: bacteriological issues and challenges. In: *Advances in shrimp biotechnology*. Tailândia, p. 13-18, 1998.

III - MANUSCRITO 2

Avaliação da ocorrência do vírus da síndrome da mancha branca (*White Spot Syndrome Virus* – WSSV) em camarão de cultivo (*Litopenaeus vannamei*), através da Reação em Cadeia da Polimerase: investigação preliminar.

Screening for White Spot Syndrome Virus (WSSV) in cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using Polymerase Chain Reaction: a preliminary report.

MACIEL, MLT.^{1*} e MARQUES, MRF.²

Endereço para correspondência:

Maria Luiza Toschi Maciel. Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola do Estado de Santa Catarina. Rodovia Admar Gonzaga, 1588. 88.034-900 Florianópolis/SC.

Endereço eletrônico para correspondência:
luiza50@yahoo.com

-
- Trabalho subvencionado pela Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola do Estado de Santa Catarina/CIDASC

¹ Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola do Estado de Santa Catarina/CIDASC, Florianópolis/SC

² Departamento de Bioquímica/CCB/UFSC, Florianópolis/SC.

RESUMO

A síndrome da mancha branca (WSS) é uma doença viral que afeta a maior parte dos cultivos de camarão marinho a nível mundial. O agente etiológico da WSS, o vírus da síndrome da mancha branca (*White Spot Syndrome Virus – WSSV*), é extremamente virulento, apresenta uma gama ampla de hospedeiros e têm sido associados a impactos econômicos devastadores no cultivo de camarão em diferentes regiões. No presente estudo, a ocorrência do WSSV foi investigada em *Litopenaeus vannamei* cultivado, utilizando-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Foram utilizados pós-larvas (PL20) e indivíduos adultos (ADL) provenientes do mesmo local de origem. Não foi detectada reação positiva em nenhuma das amostras analisadas (PL e brânquias, pleópodo e hemolinfa de ADL), nas condições utilizadas. Esta investigação preliminar deverá ser complementada com a análise de um número maior de amostras e com a utilização da PCR *nested*.

UNITERMOS: WSSV; mancha branca; camarão; PCR

ABSTRACT

White spot syndrome (WSS) is a viral disease that affects most of the commercially cultivated marine shrimp globally. The causative agent of WSS, white spot syndrome virus (WSSV), is extremely virulent, has a wide host range and has been associated to devastating economic impact in shrimp farming in different regions. In the present study, the occurrence of WSSV was investigated in cultured *Litopenaeus vannamei*, using the Polymerase Chain Reaction (PCR). The individuals, post-larvae (PL20) and adults (ADL) were all from the same origin. No positive reaction was detected in the samples (PL and gills, pleopods and haemolymph from ADL), under the test conditions. This investigation will be further undertaken with the analysis of a greater number of samples and using nested PCR.

UNITERMS: WSSV; white spot; shrimp; PCR

Introdução

As enfermidades virais têm comprometido severamente a indústria de cultivo de camarões em todo o mundo, causando grandes perdas na produção e, conseqüentemente, prejuízos econômicos significativos. Entre estas enfermidades, epizootias devido ao vírus da síndrome da mancha branca (*White Spot Syndrome Virus – WSSV*) foram primeiramente relatadas pela China, em 1993, no cultivo de *Fenneropenaeus chinensis*⁹. Relatos posteriores foram registrados no Japão, Korea, Tailândia, Taiwan, Indonésia e Índia em cultivos de *F.chinensis*, *Penaeus monodon*, *Marsupenaeus japonicus* e *Fenneropenaeus indicus*^{4,7,16,18,25,26}. Nos Estados Unidos, LIGHTNER *et al.*¹¹ registraram, no ano de 1995, a ocorrência do WSSV no Texas e na Carolina do Sul, em cultivos de *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus stylirostris* e *Litopenaeus setiferus*. Mais recentemente, MAGBANUA *et al.*¹⁵ registraram a ocorrência do vírus nas Filipinas.

A presença de manchas brancas no exoesqueleto de camarões infectados representa o principal sinal clínico da enfermidade, sendo as mesmas produzidas pelo depósito anormal de sais de cálcio¹⁰. No entanto, WANG *et al.*²⁴ também registram a presença de pontos brancos semelhantes em *P. monodon* infectado por bactérias. Na ausência de condições de cultivo que causem estresse aos animais, camarões infectados e que apresentam as manchas brancas podem sobreviver indefinidamente. Entretanto, em sendo também observada letargia, alteração de coloração de rosa a marrom-avermelhado, anorexia e/ou presença de animais na superfície da água durante o dia, uma alta taxa de mortalidade pode ser esperada dentro de algumas horas ou poucos dias, a partir da detecção dos sinais mencionados. O vírus causa lesões severas no estômago, brânquias, células epiteliais subcuticulares, órgãos linfóides, glândula antenal e hemócitos.

No Golfo do México, as espécies *L.setiferus*, *Farfantepenaeus duorarum* e *Farfantepenaeus aztecus* são referenciadas como hospedeiros do WSSV. Quarenta e quatro espécies de organismos, entre as quais várias freqüentemente identificadas nos cultivos, são citadas por MOORE e POSS¹⁷, como hospedeiros para o WSSV, representando vetores potenciais. MAEDA *et al.*¹⁴ sugerem que, em água do mar a 25°C, o WSSV mantém sua infectividade por mais de 60 dias enquanto que a uma temperatura de 4°C o período é de pelo menos 120 dias. A transmissão da enfermidade pode ocorrer tanto de forma horizontal como vertical, através de oócitos infectados. ALDAY e FLEGEL¹ sugerem que os oócitos infectados não maturam, sendo muito provável que partículas virais liberadas pelo tecido ovariano durante a desova possam infectar estágios larvais precoces.

Diferentes estratégias estão sendo aplicadas no propósito de controlar a enfermidade, incluídas entre elas as boas práticas de manejo. Despesas de emergência são praticadas logo que os primeiros sinais da enfermidade são identificados, no propósito de salvar os cultivos¹⁵. Esta prática leva a

comercialização de camarões congelados como iscas para a pesca desportiva, favorecendo a disseminação do agente patogênico em águas distantes¹⁹. O congelamento não inativa a infectividade do vírus. TANG E LIGHTNER²² registram que muitos estabelecimentos de processamento despejam os resíduos sólidos como cabeça, carapaça e vísceras em águas naturais. A localização destes estabelecimentos, próximos às áreas de cultivo representa uma potencial fonte de contaminação.

Num esforço de prevenção e controle não só da síndrome da mancha branca, como de outras viroses, várias pesquisas têm sido realizadas e vários métodos de diagnósticos têm sido avaliados^{2,15,20}. Os métodos de detecção utilizados para o diagnóstico do complexo WSSV incluem a identificação de pontos cuticulares brancos por microscopia direta, observações histológicas, hibridização *in situ* e *dot blot*, através de sondas específicas para o WSSV, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com iniciadores específicos para o WSSV e bioensaio. O método de *wet-mount* é recomendado para uso em campo como instrumento de diagnóstico presuntivo. No entanto, a não visualização de pontos cuticulares brancos não exclui a possibilidade de WSSV, sendo necessária à confirmação laboratorial através de métodos mais sensíveis.

A metodologia da PCR tem sido a mais utilizada devido à sua sensibilidade quando comparada a outros métodos moleculares, sendo a quantificação do número de cópias do genoma viral em animais infectados indicada como o principal meio de monitorar enfermidades em camarões, especialmente em casos de infecção assintomática¹². Este método tem sido também indicado para monitorar a larvicultura, os reprodutores e a população de invertebrados que compartilham o mesmo habitat¹³.

Material e Métodos

Foram utilizados pós-larvas e adultos de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, procedentes do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). As pós-larvas (PL 20) foram coletadas no momento do embarque para distribuição aos produtores, tendo sido realizadas três coletas distintas. As amostras (aproximadamente 150 pós-larvas por coleta) foram congeladas inicialmente em nitrogênio líquido. No caso dos animais adultos (n=10), foram coletadas brânquias e amostras de hemolinfa, além de um pleópodo por animal. As brânquias foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, enquanto que os pleópodos foram fixados em etanol 95% (1:6 v/v) ou congelados em nitrogênio líquido imediatamente após colheita. A hemolinfa foi coletada em citrato de sódio 10% (1:1 v/v). As amostras congeladas em nitrogênio líquido foram mantidas em freezer a – 80° C até o processamento.

Com exceção das amostras de hemolinfa, a extração de DNA das demais amostras foi realizada com o Wizard® Genomic DNA Purification Kit^a, de acordo com as especificações do fabricante, utilizando-se

proteínase K. Antes de serem submetidas ao procedimento de extração, as amostras fixadas em etanol foram lavadas em TE 1x (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0) gelado, centrifugadas por 1 minuto a 10 000 rpm, sendo o sobrenadante descartado. Este procedimento foi repetido três vezes. No caso dos pleópodos, após a lavagem nas condições descritas acima, a cutícula foi removida com o auxílio de uma lâmina de bisturi estéril, sendo o tecido, em seguida, colocado na solução de lise^a. As amostras de hemolinfa foram tratadas a 85°C por 10 minutos e, em seguida, centrifugadas a uma velocidade de 15.000 rpm a 4°C por 10 minutos¹⁰. O sobrenadante foi coletado em um tubo limpo e usado diretamente nas etapas posteriores. De modo alternativo, a extração de DNA das amostras foi também realizada em TE 1x, contendo SDS 1% e Proteínase K (concentração final 200µg/mL) a 65°C por 120 minutos¹⁶. Após a adição de NaCl e CTAB na concentração final de 0.7 M e 1%, respectivamente, as amostras foram incubadas a 55°C por 60 minutos. Após tratamento das amostras com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) (1 volume), seguido de centrifugadas a 14 000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi coletado. Esta última etapa do procedimento foi repetida três vezes, sendo seguida de precipitação com isopropanol (1:1 v/v). O DNA foi lavado com etanol 70% e o precipitado foi resuspendido em TE 1x.

Após determinação da absorbância a 260 nm, a integridade das amostras foi avaliada através de eletroforese em gel de agarose a 1% em TBE (Tris 10 mM, Ácido Bórico 85mM, EDTA 1 mM, pH 8,0), por intercalação de brometo de etídio (0,5 µg/mL) e visualização a 280nm em transiluminador.

Como controle, foram realizadas reações de amplificação, utilizando-se iniciadores sintetizados^b com base na seqüência do gene que codifica a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) de *Penaeus monodon*²². As reações foram realizadas com PCR SuperMix^c em um volume final de 50µl, contendo 1µl de DNA e uma concentração final de 0.3µM dos iniciadores (GAPDH298F:5'-TCACCGTCTTCAACGAGATG-3';GAPDH298R:5'-ACCCTCCAGGATCTCGAAGT-3'), com desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 52°C por 30 segundos e extensão a 68°C por 1.5 minutos por 35 vezes. A extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos. No caso da reação de amplificação da seqüência específica do WSSV, foram utilizados iniciadores^c descritos por Lo *et al.*²³ (WS146F1:5'-ACTACTTTTCAGCCTATCTAG3'; WS146R1:5'TAATGCGGGTGTAAATGTTCTTACGA-3'). Os mesmos foram utilizados na concentração final de 1µM, em uma mistura contendo 1µL de DNA, 200µM de dNTPs e 1U de Taq polimerase^b. Após uma desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos, as amostras foram submetidas a 39 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 40 segundos. A extensão final foi realizada a 72°C por 5 minutos. Para a avaliação dos resultados, alíquotas de 10 µl das reações foram submetidas à eletroforese em gel de agarose (1 ou 1.6%) ou em gel de poliacrilamida (PAGE) (5 ou 8,4 %) e a visualização foi realizada conforme descrito acima.

Resultados

A análise das reações de PCR por eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida não revelou a presença de uma banda equivalente a 1447 pares de base, correspondente a amplificação de um fragmento específico do WSSV, utilizando-se os iniciadores descritos. A ausência deste fragmento foi observada tanto nos animais adultos analisados (amostras de brânquias, pleópodo e hemolinfa), quanto nas amostras de pós-larvas. Neste último caso, foram analisadas cinco amostras de cada uma das coletas realizadas.

Por outro lado, um fragmento correspondente a 298 pares de base foi observado nas amostras de brânquias, pleópodo e hemolinfa dos indivíduos adultos (Figura 1). O tamanho deste fragmento está de acordo com aquele esperado para a seqüência correspondente ao gene da enzima GAPDH de camarão. Nas amostras de hemolinfa, esta banda foi de difícil visualização ou ausente em algumas amostras. No entanto, a reamplificação nas mesmas condições, a partir de 1µL da primeira reação, permitiu visualizar o *amplicon* esperado neste último caso.

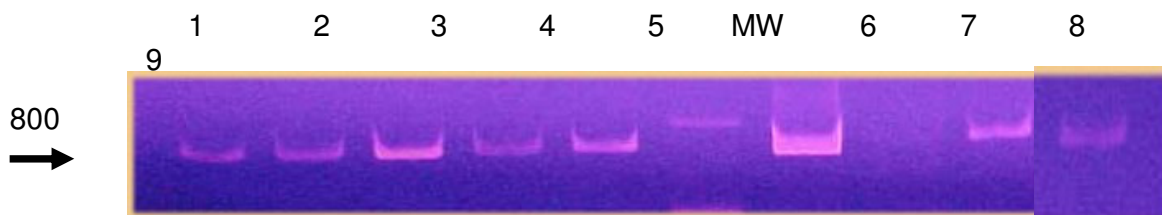


Figura 1: Eletroforese (PAGE 8,4%) de *Penaeus vannamei*. 1. pleiópodo fixado; 2. brânquia; 3. pleiópodo fixado; 4. hemolinfa; 5. brânquia; 6. pós-larva; 7. brânquia; 8. pleiópodo fixado; 9. pós-larva; MW. Marcador de peso molecular (Promega)

Discussão

A não detecção do fragmento de 1447 pares de base nas amostras analisadas parece indicar a ausência do WSSV, uma vez que nenhuma outra banda foi detectada (inclusive no controle negativo da reação, ou seja, uma reação onde não foi adicionado DNA). Além disso, a partir das amostras processadas foi possível amplificar uma seqüência específica do genoma de peneídeos (da enzima GAPDH), de acordo com TANG *et al.*¹⁷, o que indica a qualidade do DNA utilizado.

No entanto, devemos salientar que nas condições utilizadas nesta etapa do nosso estudo, o fragmento de 1447 pares de base do WSSV pode ser considerado como sendo relativamente grande, quando comparado, por exemplo, com aquele de 643 pares de base, correspondente a uma outra seqüência do

genoma deste vírus²³. Recentemente, a utilização de iniciadores específicos para a amplificação deste fragmento menor em uma reação de PCR única (um passo) foi relatada por HAMEED *et al.*⁶, para investigar a susceptibilidade de duas espécies de caranguejos de água doce ao WSSV, uma vez que as mesmas estão presentes nos cultivos da Índia e são utilizadas como alimento nos mesmos. A amplificação de fragmentos menores é considerada como mais eficiente por diversos autores. No caso do WSSV, a amplificação de *amplicons* específicos em PCR de dois passos, ou PCR *nested*, aumentou a sensibilidade da técnica na ordem de 10^3 a 10^4 vezes²³ e, conseqüentemente seu potencial diagnóstico e seu valor como ferramenta laboratorial, quando associada a técnicas de manejo adequado dos cultivos e a programas de sanidade sanitária.

Desta forma, a presença do vírus pode ser detectada com o emprego do PCR *nested* na fase pré-patente da infecção, referida como fase latente, persistente ou assintomática. Da mesma forma, pode detectar a presença do vírus na fase de transição e na fase patente da infecção. Indivíduos na fase persistente da infecção somente apresentam resultado positivo em PCR *nested* e podem ou não apresentar sinais clínicos da infecção. Indivíduos no estágio de transmissão da enfermidade apresentam PCR (um passo) positivo e podem apresentar discretos pontos brancos no exoesqueleto, porém sem sinais clínicos mais evidentes. Enquanto a fase latente da infecção pode persistir durante vários meses, a fase de transmissão dura apenas algumas horas, seguida da caracterização da infecção. Uma vez o indivíduo apresente PCR (um passo) positivo, a morte certamente ocorrerá dentro de poucas horas³.

A utilização da técnica de PCR, associada a outras metodologias de diagnóstico, pode contribuir para o monitoramento de rotina dos cultivos dentro de uma perspectiva mais eficiente. Além disso, é indicada para monitorar também a larvicultura, reprodutores e população de invertebrados que compartilham o mesmo habitat^{8,13}. No entanto, a técnica deixa de ser efetiva em populações muito grandes ou quando apenas um pequeno número de indivíduos da população está infectado²⁰.

Assim sendo, esta etapa preliminar do nosso estudo deve ser complementada, inicialmente, com a análise de um número maior de indivíduos, tanto adultos como pós-larvas. Além disso, pretendemos realizar uma segunda reação de amplificação, ou seja, PCR *nested*, utilizando-se as condições e os iniciadores descritos por Lo *et. al.*¹².

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDAY, V.; FLEGEL, T. Diagnosis of shrimp disease with emphasis on the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. **FAO and Multimedia Asia Co.** CD, 2000.
2. CHANG, P.; LO, C.; WANG, Y.; KOU, G. Identification of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) target organs in the shrimp *Penaeus monodon* by in situ hybridization. **Dis. Aquat. Org.**, v.27, p. 131-139, 1996.
3. CHANRATCHAKOOL, P. Management of white spot disease in Thailand. **Aquat. Ani. Health Res. Inst.**, Thailand, 2001.
4. CHOU, H.Y.; HUANG, C.Y.; WANG, C.H.; CHIANG, H.C.; LO, C.F. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. **Dis. Aquat. Org.** v.23, p. 165-173, 1995
5. FLEGEL, T.W. Swimming through troubled water. Proc. Of the Special Session on Shrimp Farming, Browdy and Hopkins (eds). **Aquaculture '95**. World Aquaculture Society, p. 76-83, 1995.
6. HAMEED, A. S.; YOGANANDHAN, K.; SATHISH, S.; RASHEED, M.; URUGAN, V.; JAYARAMAN, K. White spot syndrome virus (WSSV) in two species of freshwater crabs (*Paratelphusa hydrodomus* and *P. pulvinata*). **Aquaculture**, 201:179-186, 2001.
7. HEO, M.; JU, J.; JUNG, C. Viral disease of the cultured *Penaeus chinensis* and *Penaeus japonicus*. **J. Korean Soc. Microbiology**, v.33, p. 381-389, 1998.
8. HOUSSAIN, S.; OTTA, S. K.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Detection of white spot syndrome virus (WSSV) in wild captured shrimp and in non-cultured crustaceans from shrimp ponds in Bangladesh by Polymerase Chain Reaction. **Fish Pathology**, 36:93-95, 2001
9. HUANG, J.; SONG, X.L.; YU, J.; YANG, C.H. Baculoviral hypodermal and hematopoietic necrosis study on the pathogen and pathology of the shrimp explosive epidemic disease of shrimp. **Mar. Fish Res.**, v.16(1), p. 1-10, 1995
10. LIGHTNER, D. V. **A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedure for disease of cultured penaeid shrimp**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 1996.
11. LIGHTNER, D.; REDMAN, R.; POULOS, B.; NUMAN, L.; MARI, J.; HASSON, K. Risk of spread of penaeid shrimp viruses in the Americas by the international movement of live and frozen shrimp. **Rev. Sci. Tech.**, OIE, v.16, p. 146-160, 1997.
12. LO, C.; HO, C.; CHEN, C.; LIU, K.; CHIU, Y.; YEH, P.; PENG, S.; HSU, H.; LIU, H.; CHANG, C.; SU, M.; WANG, C.; KOU, G. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with special emphasis on reproductive organs. **Dis. Aquat. Org.**, v.30, p. 53-72, 1997.
13. LO, C.; HSU, H.; HO, C.; TSAI, M.; KOU, G.; LIGHTNER, D. Specific genomic DNA fragment analysis of different geographical isolates of shrimp white spot syndrome associated virus. **Dis. Aquat. Org.** 1998.
14. MAEDA, M.; KASORNCHANDRA, J.; ITAMI, T.; SUZUKI, N.; HENNING, E.; KONDO, M.; ALBALADEJO, J.; TAKAHASHI, Y. Effect of various treatments on white spot syndrome virus (WSSV) from *Penaeus japonicus* (Japan) and *P. monodon* (Thailand). **Fish Path.**, v.33 (4), p. 381-387, 1998.
15. MAGBANUA, F.; NATIVIDAD, K.; MIGO, V.; ALFAFARA, C.; DE LAPENA, F.; MIRANDA, R.; ALBALADEJO, J.; NADALA, E.; LOH, P. White spot syndrome virus (WSSV) in cultured *Penaeus monodon* in the Philippines. **Dis. Aquat. Org.**, v.42, p. 77-82, 2000.
16. MOHAN, C.; SHANKAR, K.; KULKARNI, S.; SUDHA, P. Histopathology of cultured shrimp showing gross signs of yellow head syndrome and white spot syndrome during 1994 Indian epizootics. **Dis. Aquat. Org.**, v. 34, p. 9-12, 1998.
17. MOORE, A.; POSS, S. Species summary for white spot syndrome virus. annemarie.moore@usm.edu, 1999.
18. NAGANO, H.; KOUBE, H.; UMEZAWA, S.; MOMOYAMA, K.; HIROAKA, M.; INOUE, K.; OSEKO, N. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: epizootiological survey and infection trials. **Fish Path.**, v. 29, p. 135-139, 1994
19. NUMAN, L.; POULOS, B.; LIGHTNER, D. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and

- yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. **Aquaculture**, v.160, p. 19-30, 1998.
20. NUMAN, L.; POULOS, B.; LIGHTNER, D. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. **Aquaculture**, v.160, p. 19-30, 1998.
 21. SUTMOLLER, P. Office International des Epizooties, Rev. Sci. et technique vol.16(1), p.146-156, 1997.
 22. TANG, K.J.; LIGHTNER, D.V. Quantification of white spot syndrome virus DNA through a competitive polymerase chain reaction. **Aquaculture**, v. 189, p. 11-21, 2000.
 23. TAKAHASHI,Y.; ITAMI,T.; MAEDA,M.; SUSUKI,N.; KASORCHANDRA,J.; SUPAMATTAYA,K. KHONGPRATIT, R. KONDO,M.; KAWAI,K.;KUSDA, R.;HIRONO,I.;AOKI,T. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of bacilliform virus (RV-PJ) DNA in *Penaeus japonicus* Bate and systemic ectodermal and mesoderm baculovirus (SEMBV)DNA in *Penaeus monodon* Fabricius. **J. Fish Disease**, 19:399-403, 1996
 24. WANG, Y.; LEE, K.; NAJIAH, N.; SHARIFF, M.; HASSAN, M. A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. **Dis. Aquat.Org.**, v. 41, p. 9-18, 2000.
 25. WINARO, B. Shrimp aquaculture in Indonesia. In: Browdy CL. Hopkins JS (eds). **Swimming through troubled water**. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, p. 24-28, 1995.
 26. WONGTEERASUPAYA, C.; VICKERS, J.; SRIURAIRATANA, S.; NASH, G.L.; AKARAJAMORN, A.; BOONSAENG, V.; PANYIM, S.; TASSANAKAJON, A.; WITHYACHUMNARNKUL, B.; FLEGEL, T. A nonoccluded systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. **Dis. Aquat.Org.**, v. 21, p. 69-77, 1995.

IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prevenção quanto à introdução, o estabelecimento e a difusão de agentes patogênicos tanto para os indivíduos em cultivo como para aqueles em estado natural será atingido quando o esforço social for participativo. Somente a combinação de ações voluntárias da indústria de produção, do comércio, do processamento e da distribuição alicerçados nas regulamentações existentes e naquelas a serem efetivadas serão capazes de manter a sustentabilidade da atividade.

Após a formulação do problema torna-se necessário a execução de um plano de análise onde deverá ponderar os riscos existentes e potenciais, explicitando as maneiras de resolve-los, as medidas e os métodos para conduzir a análise dos riscos. O plano de análise deve identificar os principais portais de ingresso dos agentes patogênicos e especificar as relações mais críticas que possibilitem avaliar o risco. O plano deve, igualmente, identificar as medidas a serem adotadas, os fatores de exposição, as características do ecossistema que possam contribuir para analisar o risco. Também considerar a confiabilidade dos dados obtidos.

Na etapa inicial do planejamento é importante estabelecer os objetivos, definir a aplicação das decisões e estabelecer claramente os meios para avaliar o sucesso, incluindo os resultados esperados, as técnicas a serem empregadas bem como o suporte financeiro necessário para a aplicação do plano.

Embora alguns países como Estados Unidos e México não tenham um programa oficial para a certificação de propriedade, os compradores de pós larva exigem a certificação de que a propriedade fornecedora tenha um histórico de pelo menos seis meses como livre dos agentes patogênicos específicos como TSV, IHHNV, WSSV e YHV.

Implementar boas práticas de manejo (BPMs) na carcinicultura inclui o uso de pós larvas procedentes de estabelecimentos oficialmente certificados como livres dos agentes específicos, a adoção de práticas de biossegurança como medidas de controle

de veículos e trânsito de pessoas, monitoramento de enfermidades, uso de desinfetantes autorizados pelo Ministério da Agricultura, tratamento dos efluentes e descarte de rejeitos sólidos de maneira a não permitir o acesso por animais de qualquer espécie entre outros.

Para as estratégias de controle e estratégias emergenciais é necessário identificar fontes relevantes de agentes patogênicos virais, seu modo de tratamento e seu potencial de introdução. Identificar e avaliar não somente as perdas decorrentes da mortalidade dos animais, mas também as conseqüências da infecção na reprodução e no desenvolvimento dos camarões, incluindo conversão alimentar e tempo para o tamanho comercial. Dados do EPA (1999) citam a observação de significativas diferenças nas taxas de mortalidade, crescimento e reprodução quando da ocorrência de BV, WSSV, IHHNV e YHV em relação.

Na elaboração de estratégias emergenciais quando da ocorrência de um surto infeccioso ou mesmo de alta mortalidade dos camarões devido a transtornos ambientais é necessário identificar os locais para o processamento dos animais bem como a capacidade operacional destes estabelecimentos. Quais os meios de transporte disponíveis, capacidade de carga e como localiza-los para atuação imediata. Em havendo necessidade de enterramento de grande volume de animais, quais as áreas previamente autorizadas pelos órgãos ambientais, disponibilização dos equipamentos como tratores, retroescavadeiras e outros. Disponibilização de recursos financeiros para a atuação emergencial e para a indenização dos produtores. Em havendo comprometimento do estoque natural, com declínio da pesca em decorrência do surgimento de enfermidades nos cultivos, definir os procedimentos legais para indenizar os pescadores. O JSA (1997) discute o severo declínio observado na pesca do camarão, no Golfo da Califórnia, associado à ocorrência da IHHNV.

O presente estudo permitiu identificar as lacunas onde são necessárias pesquisa e informações referentes ao real estado sanitário nos cultivos, com ênfase especial em programas de investigação e monitoramento, identificando a presença de agentes

virais tanto em camarões de cultivo, importados e outras possíveis fontes de contaminação. Estudos epidemiológicos objetivando o conhecimento da prevalência e dos efeitos potenciais das viroses.

Estratégias de prevenção estão não apenas relacionadas com a manutenção de condições ambientais favoráveis, mas principalmente, em manter o vírus fora do sistema de cultivo, eliminando vetores potenciais e promovendo um adequado tratamento da água de abastecimento.

Por fim, salientamos a necessidade de estruturação de um laboratório oficial para diagnóstico e análises clínicas de enfermidades de camarões, bem como a padronização de outras metodologias para o diagnóstico das enfermidades e para o monitoramento dos estabelecimentos e ds populações de camarão. Da mesma forma, expressamos a necessidade de capacitação permanente dos profissionais envolvidos com a certificação zoosanitária.

V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSCP - AUSTRALIAN SHELLFISH SANITATION CONTROL PROGRAM. **Operation Manual of the Australian shellfish sanitation control program.** National Capital Printing, 1997.
- AQIS - AUSTRALIAN QUARANTINE AND INSPECTION SERVICE **Import Risk Analysis Process Handbook.** National Capital Printing, 1998
- BACHÉRE, E. Shrimp immunity and disease control. **Aquaculture**, v. 191, p. 3-11, 2000.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Stakeholder Meetings on the Report of the JSA Shrimp Virus Work Group.** National Center for Environmental Assessment, Washington, 1997.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Report on the shrimp virus peer review and risk assessment workshop.** National Center for Environmental Assessment. Washington, 1999.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The State of World Fisheries and Aquaculture.** <http://www.fao.org> , 1996.
- HUESTON,W.D.; WALKER,K.D. Macroepidemiological contributions to quantitative risk assessment. **Rev. Sci. Tech.** OIE, v.12(4), p. 1197-1202, 1993.
- JSA - JOINT SUBCOMMITTEE ON AQUACULTURE. **An evaluation of potential shrimp virus impacts on cultured shrimp and on wild shrimp populations in the Gulf of Mexico and Southeastern U.S. Atlantic Coastal Waters,** National Marine Fisheries Service, Washington, 1997.
- KESTEMONT, P. Different systems of carp production and their impacts on the environment. **Aquaculture**, v.129, p.347-372, 1995. Apud: ARANA,L.V. Aqüicultura e desenvolvimento sustentável. C.1, p. 79, Ed. UFSC, Florianópolis, 1999.
- LIGHTNER,D.V.; REDMAN,R.M.; POULOS,B.T.; NUNAN, LM.; MARY, J.L.; HASSON. Risk of spread of penaeid shrimp viruses in the Americas by the international movement of live and frozen shrimp. **Rev. Sci. Tech.** OIE, v.16(1),

p.146-160, 1997.

LIGHTNER,D.V.; REDMAN,R.M.; POULOS,B.T.; NUNAN, LM.; MOHNEY,L.H.; MARY, J.L.; HASSON, K.W.; PANTOJA, C.R. NELSON, K.T.; ZHOU, J.L.; WANG, Q.; GARZA, J.; WHITE, B.L. In press: Vírus disease of shrimp in the Américas: diagnosis, distribution and control strategies. In: D.E. Jory (editor), **Memórias del Primer Congreso Latinoamericano de Camaricultura**. Panamá, 1998.

MADRID, R. Como está o agronegócio “camarão marinho”, **Rev. Bras. Agropecuária**, Ano I, Nº 11,p. 66-80, Ed. Escala, São Paulo, 2001.

MISCIATTELLI,N, JONES, D.A, LATCHFORD,J.W. Potencial of several different methods of combating bacterial disease in shrimp aquaculture with special emphasis on quorum sensing in **V Congreso Ecuatoriano de Acuicultura**, Guayaquil, Ecuador, 1999.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **International Aquatic Animal Health Code**. 1º ed., Ed. OIE, Paris, 1995.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases**. 1º ed., Ed. OIE, Paris, 1995.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Informe de la Reunión de la Comisión de la OIE para las Enfermedades de los Peces**, Septiembre, Paris, 2001

PÁEZ-OSUNA, F. The environmental impact of shrimp aquaculture: a global perspective. **Env. Poll.**, v.112, p. 229-231, 2001.

ROCH, P. Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. **Aquaculture**, v.172, p.125-145, 1999.

ROCHA, I.P. Aqüicultura. I Workshop Internacional de Aqüicultura, **IFA'97**, São Paulo, 1997.

ROCHA, I.P. Aqüicultura: um excelente negócio. **Rev. Bras. Agropecuária**, Ano I, Nº 11, p. 6-12, Ed. Escala, São Paulo, 2001.

ROCZANSKI,M.; COSTA, S.W.; BOLL,M.G.; OLIVEIRA NETO,F.M. A evolução da aqüicultura no Estado de Santa Catarina – Brasil. In: Aqüicultura Brasil 2000: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 11; Encontro Sulbrasileiro de Aqüicultura, 4;

Encontro Catarinense de Aqüicultura, 5; Festival Nacional da Ostra e da Cultura Açoriana, Florianópolis, SC. **Anais ABRAq**, 2000.

RODADA DO URUGUAI. Acordo sobre a aplicação de medidas sanitárias e fitosanitárias. In **Resultado das negociações comerciais multilaterais da Ronda do Uruguai: textos jurídicos**, Genebra, GATT, 72-88, 1994.

RODRIGUEZ, J.; MOULLAC, G.L. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. **Aquaculture**, v.191, p. 109-119, 2000.

SNIESZKO.S.F, Disease of fishes and their control in the USA. In **The Two Lakes Fifth Fishery Management Training Course Report**, Jansen, London, pp 55-66, 1973.

THIERMANN,A.B. The relationship between the World Trade Organisation and the Office International des Epizooties. **Rev. Sci. Tech.** OIE, v. 16(1), p. 13-16, 1997.

VOSE,D.J. Risk analysis in relation to the importation and exportation of animal products. **Rev. Sci. Tech.** OIE, v. 16 (1), p. 17-29, 1997.

WTO - WORLD TRADE ORGANIZATION. **The WTO dispute settlement procedures: a collection of the legal texts**. WTO, Genebra, 95 pp., 1995.