

HEPATOPANCREATITE NECROSANTE (NHP) EM CAMARÃO MARINHO

Giana Bastos GOMES^{1*}, Emiko Shinozaki MENDES², Verônica Arns da SILVA³

RESUMO: A hepatopancreatite necrosante (NHP) é uma enfermidade bacteriana grave, que acomete os camarões marinhos. É causada por uma bactéria intracelular obrigatória, pleomórfica, gram-negativa, do tipo *Rickettsia*, que ataca as células do hepatopâncreas (glândula digestiva). A NHP está associada a períodos prolongados de elevadas temperaturas e salinidades, ocorrendo principalmente em animais juvenis e adultos, não sendo observados sinais clínicos em pós-larvas. Pode acometer várias espécies, mas principalmente *Litopenaeus vannamei*. A transmissão ocorre através da ingestão de animais mortos contaminados ou de material contaminado. Os camarões afetados apresentam-se letárgicos, anoréxicos, exoesqueleto amolecido, corpo flácido, cutícula frouxa, brânquias escurecidas, hepatopâncreas atrofiado e pálido. O controle físico-químico da água é de extrema importância na profilaxia da doença. As técnicas mais usadas para o diagnóstico da NHP são: o exame a fresco (análise presuntiva), a histopatologia, hibridização *in situ* e principalmente Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Drogas como a oxitetraciclina têm demonstrado bons resultados, tanto na prevenção como no tratamento desta enfermidade. Contudo, objetivou-se ampliar os conhecimentos sobre a hepatopancreatite necrosante em camarões marinhos buscando mostrar a necessidade de mais pesquisas e discussão sobre este assunto.

Termos para indexação: bactéria intracelular, diagnóstico, *Litopenaeus vannamei*, rickettsia.

NECROTIZING HEPATOPANCREATITIS (NHP) IN MARINE SHRIMP

ABSTRACT: Necrotizing hepatopancreatitis (NHP) is a serious bacterial disease which affects cultured shrimp. It is caused by *Rickettsia*-like, pleomorphic, gram-negative, obligatory intracellular bacteria that attack hepatopancreas' cells. NHP prevalence is associated with high temperatures and salinity periods, occurring mainly in juveniles and adults, not being observed clinical signs in post-larval stages. It attacks several penaeid species; however NHP in *Litopenaeus vannamei* is most reported. Ingestion of infected dead animals or material of is the most probable mean of contamination. NHP affected shrimp may become lethargic, anorexic, soft-shelled, flaccid body with loose cuticle, darkened gills and atrophic and pale hepatopancreas. Water quality control is very important in the prophylaxis of the disease. The techniques mostly used for the diagnosis of NHP are wet mounts of hepatopancreas, histology, *in situ* hybridization and most accurately, PCR. Drugs as oxytetracyclin have demonstrated good results in the prevention and in the treatment of NHP. However, it was aimed to

¹ Médica Veterinária - Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária (PPGCV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Rua Pedro Fonseca Filho, 8889. Ponta Negra. CEP: 59090-080. Natal/RN. Tel: (84) 3219 2740 - gianabg@hotmail.com *Autor para correspondência.

² Professora Adjunta - Departamento Medicina Veterinária - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

³ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária (PPGCV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

enlarge the knowledge of necrotizing hepatopancreatitis in marine shrimp and show the need of more researches and discussion on this subject.

Index terms: Diagnosis, intracellular bacteria, *Litopenaeus vannamei*, rickettsia.

INTRODUÇÃO

A inflamação e necrose do hepatopâncreas, denominada Hepatopancreatite Necrosante (NHP), é uma doença bacteriana severa que acomete camarões marinhos brancos. Muitas perdas na produção de camarões marinhos nas Américas ocorreram devido a esta enfermidade, o que limitou gravemente a produção desses animais no Texas, onde ocorreram mortalidades entre 20-95%, nas Américas Central e do Sul, como exemplo Tumbes/Peru, onde ocorreram mortalidades entre 70-90% (FRELIER et al., 1992; LOY et al., 1996)

Infecções por Rickettsia, que causam NHP, têm causado sérios prejuízos econômicos também na carcinicultura brasileira, principalmente em cultivos com condições ambientais inadequadas (BUCHELI et al., 2004). Dentre as regiões do Brasil, o nordeste destaca-se como pólo produtor de camarões marinhos. Entretanto, nos últimos anos, os Estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba e principalmente o Rio Grande do Norte vêm enfrentando grandes perdas devido a esta enfermidade.

A NHP é causada por uma bactéria da ordem Rickettsia, que compreende um largo e diverso grupo de organismos, sendo freqüentemente patogênicos para uma ou mais espécies hospedeiras, podendo causar apenas alterações benignas, em muitas das espécies acometidas (FRYER e LANNAN, 1994). Desta forma, objetivou-se ampliar os conhecimentos a respeito desta doença que tem ocasionado tantas perdas à criação de camarões marinhos, principalmente no nordeste brasileiro, assim como mostrar a necessidade de mais pesquisas e discussão sobre este assunto.

CARACTERÍSTICAS ETIOLÓGICAS

Esta enfermidade é causada por uma

bactéria intracelular obrigatória pequena, membro das α -Proteobacteria, do tipo Rickettsia, que reside e se multiplica nas células epiteliais dos túbulos do hepatopâncreas (HP) de camarões marinhos infectados (BRADLEY-DUNLOP et al., 2004). As rickettsias são bactérias Gram-negativas, pleomórficas, ou seja, podem variar em forma e tamanho. São microrganismos que lembram morfológicamente indivíduos da ordem Rickettsiales (FRELIER et al., 1992; LOY et al., 1996).

As α -Proteobactérias foram descritas inicialmente como três microrganismos: uma bactéria do tipo rickettsia, pleomórfica com forma de bastão, outra bactéria com forma helicoidal e outra sendo uma bactéria filamentosas. Análises morfológicas mais recentes evidenciaram a presença de uma bactéria simples presente em duas formas distintas. A forma predominante é a de bastão, do tipo rickettsia, sem flagelos e ocasionalmente exibindo uma zona de constricção transversa, indicativa de replicação por fissão binária (VINCENT et al., 2004). A outra forma é a helicoidal que possui oito flagelos no ápice basal e um ou possivelmente dois flagelos na crista. Uma forma confusa, intermediária, exibindo morfologia de ambas variantes é observada ocasionalmente nas células epiteliais de hepatopâncreas infectados, o que sugere a replicação da forma de bastão na forma helicoidal. Segundo Frelier et al. (1992) e Loy et al. (1996), esta forma intermediária apresenta uma membrana citoplasmática trilaminar com ondulações e um envelope externo.

As Rickettsias são bactérias que só se reproduzem dentro das células, porque necessitam de um sistema enzimático que gere energia suficiente para sua reprodução. Esta característica dificulta seu diagnóstico, pois é difícil cultivá-las pelos métodos microbiológicos rotineiros (OSUNA,

2001). Segundo Lightner (1996), as tentativas de cultivo desta bactéria pelos métodos bacteriológicos tradicionais não têm apresentado bons resultados.

Segundo Mauel e Miller (2002), durante a década de 90 membros de um grupo de bactérias intracelulares obrigatórias, do tipo *Rickettsia* (RLO-rickettsia like organism) foram reconhecidos como importantes patógenos de peixes. Este tipo de bactéria ocorre globalmente tanto em peixes de águas doce quanto salgada. A mais antiga identificação de RLO, em peixes, foi na espécie *Tetrodon fohaka* encontrada no Rio Nilo, no Egito.

Outra identificação de RLO em peixes foi feita por Davies (1986) quando o mesmo observou bactérias coccoides encontradas em vacúolos ligados a membranas, em linfócitos de peixes da espécie *Callinymus lyra* L., em águas costeiras da região de Wales.

Estes microrganismos ocorrem frequentemente em brânquias e epitélio digestivo de moluscos marinhos sendo, nestes casos, benignas (FRYER e LANNAN, 1994). Existem muitos relatos de que as *Rickettsias* são diretamente responsáveis pela mortalidade em moluscos marinhos e têm um papel importante na doença destes animais. Além disso, sabe-se que as mesmas não matam as células do hospedeiro pela produção de toxinas, mas a penetração das mesmas nas células hospedeiras causa danos, podendo destruí-las. (WU e PAN, 2000).

EPIDEMIOLOGIA

Um aspecto muito importante da NHP em camarões marinhos é que esta doença está associada a condições de elevada salinidade e temperatura. Períodos prolongados de altas temperaturas (acima de 29° C) e mudanças na salinidade (entre 20-40%) precederam o desenvolvimento de NHP no Texas (FRELIER et al., 1992; LIGHTNER, 1996; LOY et al., 1996).

De acordo com Vincent et al. (2004), há transferência oral do agente etiológico

em camarões sadios, havendo mortalidade induzida por NHP a partir dos 18 até 41 dias após exposição ao agente, não havendo recuperação dos animais infectados. Além disso, os sintomas da enfermidade já podem ser visíveis 2 ou 3 semanas após infecção.

Frelier et al. (1992) constataram que a transmissão da NHP através da água não é eficiente, sendo necessário um reservatório para a transmissão desta bactéria intracelular. Segundo Leclercq et al. (2004), diversas espécies de crustáceos como caranguejos, copépodes, *Callinasa* spp, podem ser consideradas como reservatórios de espécies da bactéria de NHP, especialmente o *Lepidophthalmus* spp. que pode mover-se profundamente nos sedimentos de viveiros e persistir por longos períodos de secagem.

Esta doença afeta tanto animais em estágio juvenil quanto adulto, não sendo registrados casos em pós-larvas. Segundo Lightner (1996), a enfermidade pode desenvolver-se em *Litopenaeus setiferus*, *L. stylirostris*, *Farfantepenaeus aztecus*, *F. californiensis*, mas principalmente em *Litopenaeus vannamei*, sendo a espécie *Litopenaeus stylirostris* menos susceptível. Vincent et al. (2004) citaram que a transmissão da doença não ocorre de forma satisfatória quando se utiliza inoculação parenteral do agente. No entanto, a transmissão através da ingestão de material infectado ou canibalismo de camarões mortos infectados, parecem ser as formas de infecção natural.

A bactéria causadora de NHP infecta as células do hepatopâncreas, que é a maior glândula digestiva do camarão. Este órgão contém muitos tipos de células, incluindo células do tipo E, R, F e B. As células E caracterizam-se pela atividade mitótica, sendo a fonte de formação dos outros tipos de células, e estão localizadas na porção mais distal do hepatopâncreas. As células do tipo R armazenam lipídeos e glicose, sendo as células encontradas em maior quantidade. Existem ainda, as células tipo F que secretam enzimas digestivas e são

encontradas em menor quantidade, e as células do tipo B, que realizam a digestão intracelular, acumulam e transportam nutrientes (VOGT, 1994).

Vicent e Lotz (2005) relataram que é possível observar um aumento no número de células hepatopancreáticas contendo a bactéria da NHP, no desenvolvimento da infecção, o que sugere que deve haver multiplicação e dispersão bacteriana associada com os danos causados ao tecido, apesar dos escassos estudos sobre a patogênese desta bactéria. Além disso, nas células já maduras pode-se observar a bactéria da NHP, ainda no início da infecção. Isso não sugere que estes microrganismos tenham preferência por um tipo de célula. No entanto, observa-se que as células do tipo E são menos suscetíveis a infecção que os outros tipos celulares.

Fatores exógenos (como temperatura e salinidade) interagem com fatores internos (como alterações hormonais), no desenvolvimento da epizootia da NHP (VINCENT, 2004). De acordo com Morales-Covarrubias (2004), no México, a NHP tem afetado tanto animais nos viveiros, assim como reprodutores nos laboratórios de maturação, especialmente em fêmeas abladadas. A mortalidade de fêmeas abladadas foi maior quando comparada com aquelas que receberam aplicações de hormônio e do grupo controle. Isto sugere que um fator estressante adicional, como uma ablação, pode agravar a infecção por NHP, resultando na doença e nas mortalidades observadas (MORALES-COVARRUBIAS et al., 2006).

No México, tem-se observado que a doença manifesta-se principalmente nos meses de abril, maio, junho, julho, agosto, mas sua alta prevalência é observada nos meses de setembro e outubro, causando altas mortalidades em camarões cultivados (MORALES-COVARRUBIAS, 2004)

Morales-Covarrubias et al. (2006) mostraram que, mesmo em laboratórios com ótimas condições de maturação e onde o aspecto sanitário apresenta-se como ponto de controle importante, pode ser obser-

vada a presença do vírus da necrose infecciosa hipodermal e hematopoiética (IHHNV), além de altas mortalidades em fêmeas submetidas à ablação.

Tem-se observado, também, que mudanças ambientais, juntamente com ablação, induzem as alterações da resposta imune em crustáceos, tanto em termos de número de hemócitos, como na fagocitose e na ativação do sistema profenoloxidase (LE MOULLAC e HAFFNER, 2000)

SINAIS CLÍNICOS

Devido à inflamação crônica que ocorre nas células do epitélio do hepatopâncreas, este órgão torna-se pálido e atrofiado. As células hepatopancreáticas aparecem hipertrofiadas e com grande aglomerado bacteriano no citoplasma. As células infectadas perdem a funcionalidade e tornam-se necróticas, gerando uma forte resposta inflamatória, que resulta na formação de múltiplas lesões granulomatosas no hepatopâncreas. Este quadro causa severos problemas no camarão, pois o hepatopâncreas tem um papel muito importante na realização das funções digestivas, como absorção e metabolismo de nutrientes. Esta disfunção pode alterar significativamente o desenvolvimento do animal (OSUNA, 2001).

Os camarões afetados apresentam-se letárgicos, anoréxicos, com baixo crescimento e elevada conversão alimentar. O exoesqueleto encontra-se amolecido, corpo flácido, cutícula frouxa, brânquias escuras, aspecto escuro devido à expansão dos cromatóforos nas bordas dos urópodos e pleópodos, resultando em mortalidade. O trato digestivo encontra-se vazio devido ao processo inflamatório crônico (LIGHTNER e REDMAN, 1998).

Segundo Frelie et al. (1992), pode-se classificar a infecção de NHP em três estágios. Estágio 1: caracterizado por dispersão dos túbulos hepatopancreáticos exibindo grupos de células contendo bactéria intracelular, mas sem infiltração hemocítica. Estágio 2: caracterizado por numerosos

túbulos hepatopancreáticos enrugados, hipertróficos ou com epitélio atenuado com ectasia tubular, poucos túbulos necróticos, alguma descamação luminal das células epiteliais e, ocasionalmente, infiltração hemocítica. Estágio 3: caracterizado por numerosos túbulos hepatopancreáticos necróticos dispersos, com falta de epitélio intacto e descamação das células epiteliais, densa infiltração hemocítica, melanização e fibrose. Uma diminuição na quantidade de lipídeos no hepatopâncreas é progressivamente observada do estágio 1 ao 3 de NHP.

DIAGNÓSTICO

Segundo Lightner (1996), a NHP pode ser detectada através de análises a fresco do tecido do hepatopâncreas, onde a ausência ou uma quantidade reduzida de gotículas de lipídeos fica evidente ao longo dos túbulos do hepatopâncreas, que se encontram atrofiados, melanizados e necrosados, podendo também ser encontrado massas citoplasmáticas da bactéria de NHP no interior dos túbulos.

Outra forma muito comum de diagnóstico para detecção do agente causal da doença é a histopatologia, onde é possível verificar a intensidade das lesões, podendo ser utilizado também sondas moleculares ou genéticas, como Dot Blot ou hibridização *in situ*. Alterações histopatológicas em camarões positivos por NHP incluem atrofia do HP com moderada ou severa atrofia da mucosa dos túbulos, além de lesões granulatomas multifocais envolvendo um ou mais túbulos (BRIÑEZ et al., 2003).

Atualmente, o método de diagnóstico utilizado, com resultados mais precisos e eficientes, vem sendo a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e exame do tecido afetado através da microscopia eletrônica. Estas duas últimas técnicas ainda têm custo elevado, principalmente por necessitarem de material e equipamentos específicos, além de mão-de-obra especializada (OSUNA, 2001). Anticorpos monoclonais também têm sido desenvolvidos para de-

tecção de NHP (BRADLEY-DUNLOP et al., 2004).

Segundo Lightner e Redman (1998), os métodos de detecção de patógenos e de diagnóstico de doenças mais utilizados pelos patologistas e por laboratórios de diagnóstico têm sido atualmente revisados, porque as técnicas utilizadas ainda se baseiam nos métodos clássicos. Entre os mais importantes destacam-se a observação de sinais clínicos característicos, além de testes laboratoriais como, exames diretos ao microscópio, microbiologia clássica com isolamento dos agentes etiológicos, histopatologia e histoquímica.

Especificamente em relação à NHP, os métodos laboratoriais de diagnóstico mais utilizados são a histopatologia, sondas gênicas (LOY et al., 1996; LIGHTNER, 1996), hibridização *in situ* e, mais recentemente, a PCR. Esta última técnica, tem tido aplicação no diagnóstico de muitas enfermidades de camarões, principalmente nas viroses. Mas esta técnica também tem sido muito utilizada para a detecção de patógenos como a bactéria do NHP (LOY et al., 1996).

A técnica de hibridização *in situ* também tem sido utilizada como forma de proporcionar a classificação filogenética, assim como, distinguir espécies de bactérias sem especificar grupos genômicos (LOY et al., 1996).

CONTROLE E PROFILAXIA

O monitoramento físico-químico da água é um fator de extrema importância para a profilaxia de muitas enfermidades, tendo grande relevância para a epidemiologia da NHP. Outro ponto importante é o vazio sanitário dos viveiros entre ciclos (secagem completa do solo) e a correta preparação dos viveiros para o próximo cultivo, o que inclui a oxidação da camada superficial através de gradeamento, a desinfecção de áreas úmidas com cal virgem e o controle do teor de matéria orgânica do solo com nitrato de sódio e/ou adição de bactérias redutoras de matéria orgânica (LIGHTNER, 1996).

Atualmente, não há nenhuma droga aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration) e pelo MAPA (Ministério do Abastecimento, Pecuária e Agricultura) para o tratamento de infecções em camarões cultiváveis, embora alguns estudos estejam em andamento para melhorar o controle e tratamento de doenças desses animais (REED et al., 2004). De acordo com Reed et al. (2004), a oxitetraciclina (OTC), devido a seu amplo espectro antimicrobiano e alta potência, é muito utilizada como antibiótico de eleição contra infecções bacterianas em cultivos de peixes, e tem apresentado bons resultados quando usada em cultivos de camarão para o tratamento de infecções como a vibriose e a NHP. A OTC foi o primeiro antimicrobiano aprovado pela FDA para cultivos de peixes e foi aprovada nos Estados Unidos para uso em lagostas, e tem demonstrado bons resultados em cultivos de crustáceos.

De acordo com Frelier et al. (1994), o tratamento com oxitetraciclina na ração contendo uma proporção de 1,5g /kg de alimento e usado por 14 dias foi efetivo no tratamento da doença, se administrada quando há diagnóstico precoce da infecção. No entanto, ainda se sabe pouco sobre a disposição e a farmacocinética da OTC no organismo de crustáceos (REED et al., 2004).

Além disso, à medida que a indústria da aquicultura cresce, aumenta também a preocupação com o uso indiscriminado dessas drogas e possíveis riscos para a saúde humana, assim como aos impactos ambientais ocasionados pelos resíduos das mesmas (REED et al., 2004).

Espera-se que novas drogas sejam desenvolvidas em breve e possam ser eficientes no tratamento desta enfermidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Hepatopancreatite Necrosante (NHP) é uma doença que já existe há pelo menos 20 anos nos cultivos de camarão marinho. No entanto, os estudos sobre a doença e principalmente em relação a seu diagnóstico, são pouco eficientes.

O maior problema em relação à detecção da bactéria causadora da NHP é o fato de ser um microrganismo exclusivamente intracelular, ou seja, não pode ser cultivada *in vitro* pelos meios de cultivo convencionais, sendo necessário, ainda, muita pesquisa em relação ao diagnóstico desta enfermidade.

Atualmente, o único tratamento utilizado para esta enfermidade, é a terapia com oxitetraciclina. No entanto, o tratamento com antibiótico não é recomendado por não existir droga antimicrobiana aprovada no Brasil, além dos riscos para a saúde humana e os impactos ambientais ocasionados pelos resíduos das mesmas.

Dessa forma, é possível considerar que o controle da NHP fica restrito ao manejo das fazendas, principalmente ao controle da qualidade da água utilizada nos cultivos e do monitoramento de seus parâmetros, de forma que se mantenha o conforto desses animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRADLEY-DUNLOP, D.J.; PANTOJA, C.; LIGHTNER., D.V. Development of monoclonal antibodies for the detection of necrotizing hepatopancreatitis in penaeid shrimp. **Diseases of Aquatic Organisms**, Oldendorf/Luhe, [s.n.], v. 60, p. 233-240, 2004.

BRIÑEZ, B.; ARANGUREN, F.; SALAZAR, M. Fecal samples as DNA source for the diagnosis of necrotizing hepatopancreatitis (NHP) in *Penaeus vannamei* broodstock. **Diseases of Aquatic Organisms**, Oldendorf/Luhe, [s.n.], v.69, p.55-72, 2003.

BUCHELI, P.; SAMPAIO, J.; GARCIA, F. et al. A Necrose Hepatopancreática (NHP) do *Litopenaeus vannamei*: caracterização e diagnóstico preliminar pelo método de avaliação da deterioração de tecidos (ADT). **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, n.86, P.31-38, 2004.

DAVIES, A.J. A rickettsia-like organism from dragonets, *Callionymus lyra* L. (Teleostei: Callionymidae) in Wales. **European Association of Fish Pathologists**, [s.n.], v. 6, p. 103, 1986.

FRELIER, P.F.; SIS, R.F.; BELL, T.A. et al. Microscopic and ultrastructural studies of Necroti-

- zing Hepatopancreatitis in pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Texas. **Veterinary Pathology**, Baltimore, [s.n.], v. 29, p. 269-277, 1992.
- FRYER, J.L.; LANNAN, C.N. Rickettsial and chlamydial infection of freshwater and marine fishes, bivalves and crustaceans. **Zoological Studies**, Taipei, [s.n.], v. 33, p. 95-107, 1994.
- LECLERCQ, G.; ZAMBRANO, D.; ESCOBAR, A. et al. Analysis, prevention of NHP in Panama, Ecuador, Peru shrimp farms. **Global Aquaculture** advocate, St. Louis, [s.n.], v.8, p. 86-87, 2004.
- LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting the immune responses in Crustacea. **Aquaculture**, Amsterdam, [s.n.], v.191, p.121-131, 2000.
- LIGHTNER, D. V. A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. **World Aquaculture Society**, L.A., Baton Rouge, 304p. 1996.
- LIGHTNER, D.V.; REDMAN, R.M. Shrimp diseases and current diagnostic methods. **Aquaculture**, Amsterdam, [s.n.], v.164, p. 201-220, 1998.
- LOY, J.K.; FRELIER, P.F.; VARNER, P. et al. Detection of the etiologic agent of necrotizing hepatopancreatitis in cultured *Penaeus vannamei* from Texas and Peru by polymerase chain reaction. **Diseases of Aquatic Organisms**, Oldendorf/Luhe, [s.n.], v.25, p. 117-122, 1996.
- LUNA, L.G. **Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology**. New York, [s.n.], v. 1, p. 258, 1968.
- MAUEL, M.J.; MILLER, D.L. Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: a review. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, [s.n.], v. 87, p. 279-289, 2002.
- MORALES-COVARRUBIAS, M.S. **Enfermedades del camarón: detección mediante análisis en fresco e histopatología. (Diseases shrimp detection by means of gross analysis and histopathology)**. Mexico City, Ed. Trillas, 2004.
- MORALES-COVARRUBIAS, M.S.; OSUMA, A.G.D.; GARCIA, A.G. et al. Prevalence of Necrotizing Hepatopancreatitis in female broodstock of white shrimp *Penaeus vannamei* with unilateral eyestalk ablation and hormone injection. **Journal of Aquatic Animal Health**, Bethesda, [s.n.], v. 18, p. 19-25, 2006.
- OSUNA, F.P. Camaronicultura y medio ambiente. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. México, [s.n.], v.1, p.284-285, 2001.
- REED, L.A.; SIEWICKI T. C.; SHAH J. C. Pharmacokinetics of oxytetracycline in the white shrimp, *Litopenaeus setiferus*, **Aquaculture**, Amsterdam, [s.n.], v. 232, p. 11-28. 2004.
- VINCENT, A.; BRELAND, V.M.; LOTZ, J.M. Experimental infection of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* with Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP) bacterium by per os exposure. **Diseases of Aquatic Organisms**, Oldendorf/Luhe, [s.n.], v. 61, p. 227-233, 2004.
- VINCENT, A. G.; LOTZ, J.M. Time course of necrotizing hepatopancreatitis (NHP) in experimentally infected *Litopenaeus vannamei* and quantification of NHP-bacterium using real-time PCR. **Diseases of Aquatic Organisms**, Oldendorf/Luhe, [s.n.], v. 67, p. 163-169, 2005.
- VOGT, G. Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea: Decapoda). **Zoomorphology**, Berlin, [s.n.], v. 114, p. 83-101, 1994.
- WU, X.Z.; PAN, J.P. An intracellular prokaryotic microorganism associated with lesion in the oyster, *Crassostrea ariakensis* Gould. **Journal of Fish Diseases**, Edinburgh, [s.n.], v. 23, p. 409-414, 2000.