

# Um novo método diagnóstico para o IMNV, capaz de detectar clinicamente variantes de isolados asiáticos e latino-americanos em ambientes laboratoriais

Thales P. D. Andrade<sup>1</sup>, Hung N. Mai<sup>2</sup>, Roberto Cruz Flores<sup>3</sup> e Arun K. Dhar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Patologia e Nutrição de Organismos Aquáticos e Laboratório de Diagnóstico de Enfermidades de Crustáceos, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, 1000 Tirirical, São Luís - MA, 65055-970, Brasil. <https://laqua.uema.br>  
[thalesandrade@professor.uema.br](mailto:thalesandrade@professor.uema.br).

Acreditado ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017, Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio do INMETRO / *International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC)* e *Interamerican Accreditation Cooperation (IAAC)*

<sup>2</sup> Aquaculture Pathology Laboratory, School of Animal and Biomedical Sciences, The University of Arizona, 1117 E Lowell St., Tucson, AZ 85705, USA  
<https://aquapath.cales.arizona.edu/>; [adhar@arizona.edu](mailto:adhar@arizona.edu)

USDA approved, ISO/IEC 17025:2017 and 17043:2010 accredited, and OIE/WOAH-approved reference laboratory

<sup>3</sup> Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, (CICESE), Carretera Ensenada-Tijuana No. 3918, Zona Playitas, 22860 Ensenada, Baja California, México. <https://www.cicese.edu.mx/> [robertocruz@cicese.mx](mailto:robertocruz@cicese.mx)





# Roteiro da Apresentação

“Um novo método diagnóstico para o IMNV, capaz de detectar clinicamente variantes de isolados asiáticos e latino-americanos em ambientes laboratoriais”

## 1. Contexto e Desafios Atuais:

IMNV: uma ameaça global e persistente na carcinicultura.

## 2. Objetivo do Estudo:

Desenvolver e validar um novo método de RT-qPCR para detecção de variantes do IMNV.

## 3. Metodologia:

Desenho do ensaio TaqMan com primers direcionados ao gene MCP/RdRP

## 4. Resultados-Chave:

1. Sensibilidade e especificidade
2. Comparação com o método anterior (SET0 vs. SET1)

## 5. Impacto na Indústria:

## 6. Conclusões e mensagem



**Uema**  
UNIVERSIDADE ESTADUAL  
DO MARANHÃO



**LAQUA**  
Laboratório de Diagnóstico  
de Enfermidades de Crustáceos



# Disseminação Global do Virus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) 2002 - Presente

- Doença listada pela OMSA (Organização Mundial de Saúde Animal).
- Aumentando Genótipos e variantes
- Países suspeitos
- **Impacto Econômico**  
**Estimado:** Perdas cumulativas globais > US\$ 3,6 bilhões (até 2024)
- Ameaça à carcinicultura global



# 1.Contexto e Desafios Atuais:

## IMNV: uma ameaça global e persistente na carcinicultura

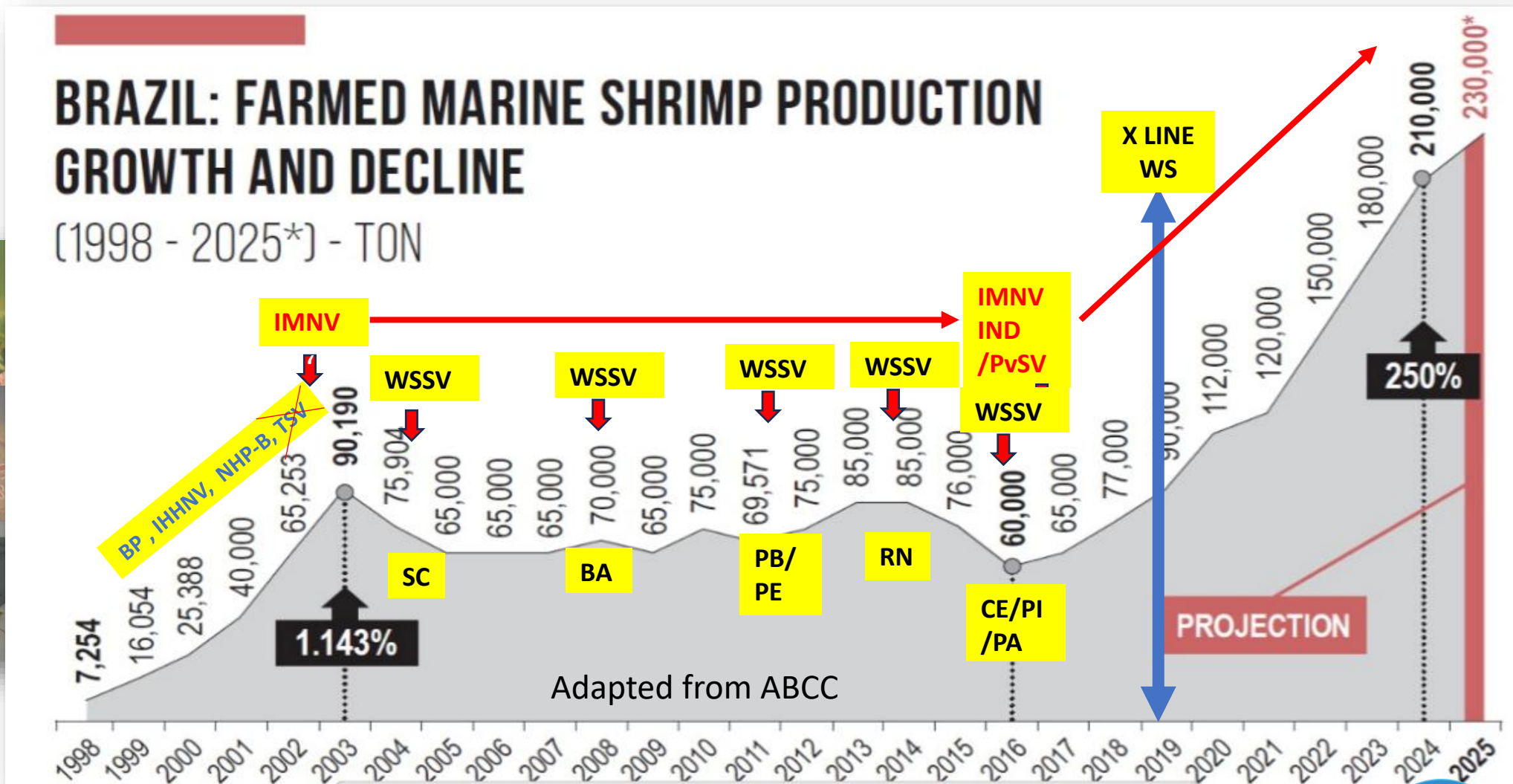
The screenshot displays the WAHIS (World Animal Health Information System) interface for event management. The page title is "Events management". The filters applied are "Animal type: AQUATIC" and "Disease: Infectious myonecrosis virus (Inf. with)(2008-)". The table below lists three reports:

Event ID	Country	Report number	Disease	Genotype/ Serotype/ Subtype	Reason	Start date	Report date	
	Malaysia	IN	Infectious myonecrosis virus (Inf. with)(2008-)		First occurrence in a zone or a compartment	2024/07/31	2025/07/30	🗨️ ⋮
	Malaysia	IN	Infectious myonecrosis virus (Inf. with)(2008-)		Recurrence	2018/06/04	2018/09/14	🗨️ ⋮
	Brazil	FUR_1	Infectious myonecrosis virus (Inf. with)(2008-)		First occurrence in a zone or a compartment	2008/01/24	2009/03/25	🗨️ ⋮

At the bottom of the page, there is a QR code on the left and a row of logos for partner institutions: Uema (Universidade Estadual do Maranhão), LAQUA (Laboratório de Diagnóstico de Enfermidades de Crustáceos), ILAG-MRA, CRL 1799, Lapnoa (Laboratório de Patologia e Nutrição de Organismos Aquáticos), CICESE, THE UNIVERSITY OF ARIZONA, and a circular logo for XXI FENACAM'25 (11 a 14 de novembro de 2025).

# 1.Contexto e Desafios Atuais:

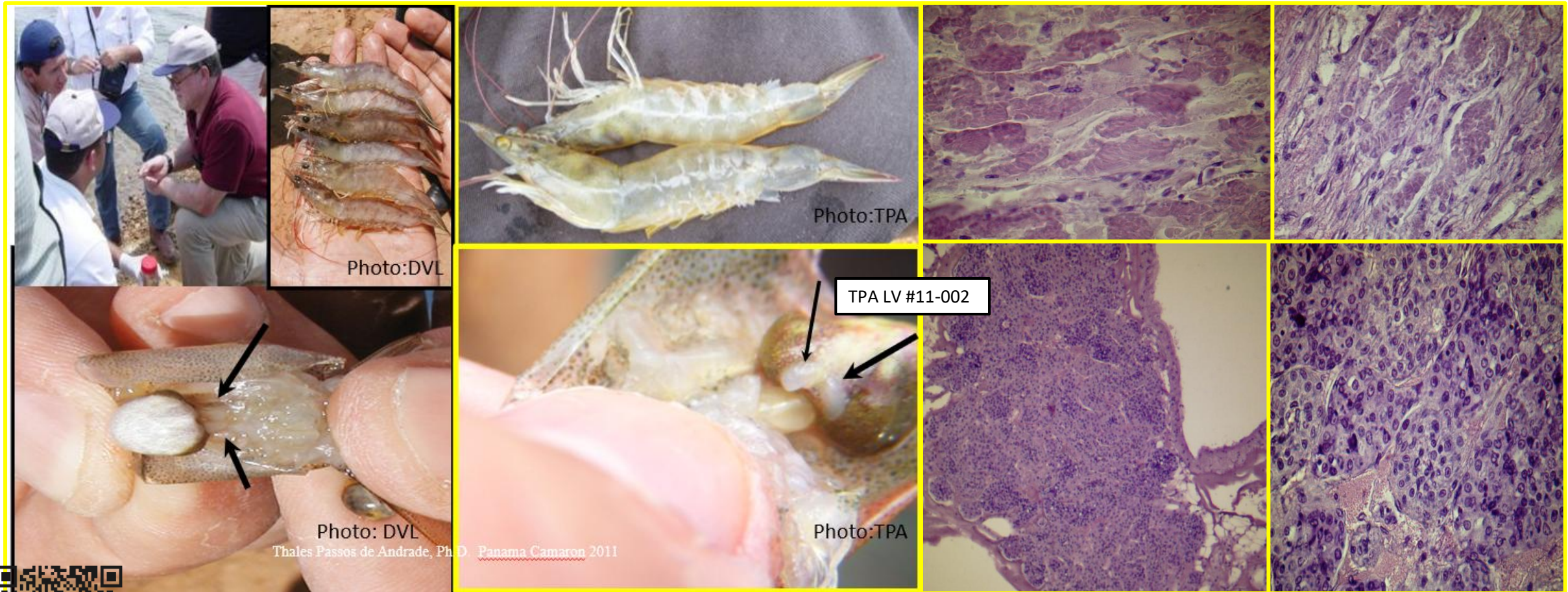
IMNV: uma ameaça global e persistente na carcinicultura



# Sinais clínicos da doença da mionecrose infecciosa ocasionada pelo vírus da mionecrose infecciosa (IMNV)



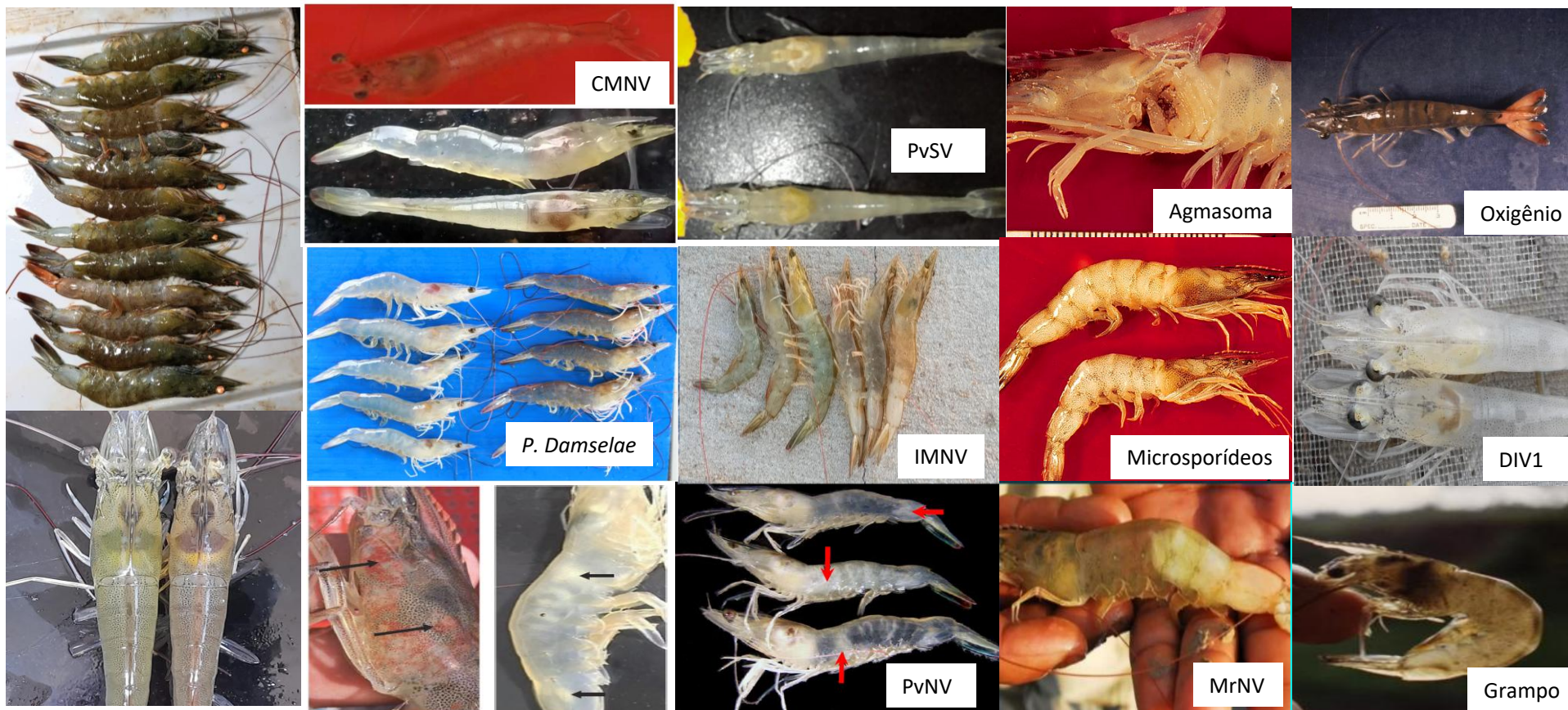
# Sinais clínicos da doença da mionecrose infecciosa ocasionada pelo vírus da mionecrose infecciosa (IMNV)





# Músculo branco

## Sinais clínicos similares a IMNV (NIM)



O sinal macroscópico proeminente de corpo pálido ou músculo branco pode ser causado por vários patógenos, incluindo:

## Vírus:

- Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) (Lightner et al., 2004ab; Poulos et al., 2006),
- Nodavírus de *Penaeus vannamei* (PvNV) (Tang et al., 2007),
- Nodavírus de *Macrobrachium rosenbergii* (MrNV) (Qian et al., 2003),
- Nodavírus da Mortalidade Encoberta (CMNV) (Zhang et al., 2014).

Existem exemplos de vírus que também infectam o músculo do camarão, mas que resultam em sintomas clínicos diferentes:

- Vírus iridiscente de decápodes tipo 1 (DIV1 [SHIV]),
- Solinvírus de *Penaeus vannamei* (PvSV) (Cruz-Flores et al., 2022).

**Bacterioses** como *Vibrio harveyi*, *Lactococcus* e *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* (anteriormente conhecida como *Vibrio damsela*) (Gan et al., 2022; Wang et al., 2008; Singaravel et al., 2020; Alolod et al., 2024; Chuchird et al., 2024) e

**Micose** que causa a “doença do algodão” ou “doença do leite”, devida à microsporidiose associada aos gêneros *Agmasoma*, *Amerson*, *Perezia*, *Pleistophora* e *Thelohania* (Lightner, D.V., 1996; Han et al., 2016), também estão associadas à doença do músculo branco.

**Natureza não infecciosa:** A mionecrose que causa a doença do músculo branco também pode estar relacionada a causas não infecciosas, como exposição prolongada a baixos níveis de oxigênio ou nutrição desequilibrada, como observado na síndrome da “doença do cãibra”, entre outros (Lightner, D.V., 1996).



# "Os erros de diagnóstico do IMNV são frequentes e multifatoriais"



1. Considerando que sinais de palidez ou músculo branco pode ser causado por vários patógenos e não somente IMNV
2. Diferentes genótipos e/ou variantes variantes do IMNV.
3. Realização frequente de diagnósticos por laboratórios não acreditados na ISO 17025.
4. Relatos de falsos negativos por meio do uso do protocolo recomendado pela OMSA
5. Expansão da carcinicultura

## 2. Objetivo do Estudo:

Desenvolver e validar um novo método de RT-qPCR para detecção de variantes do IMNV.



# **3. Metodologia**

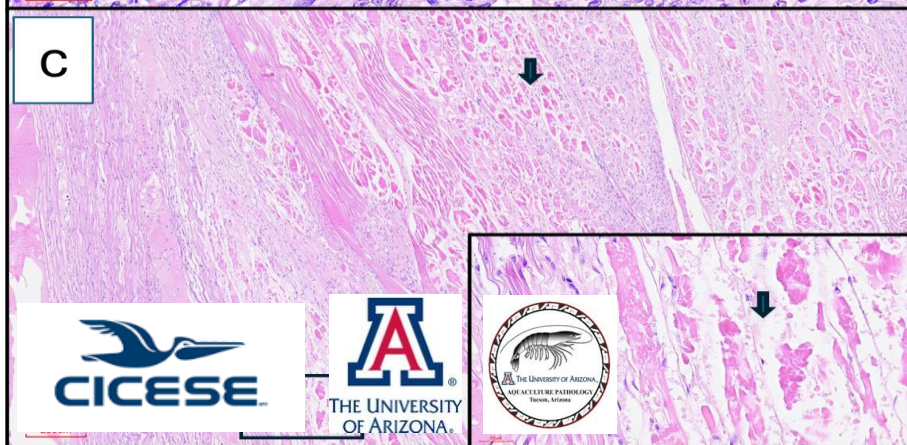
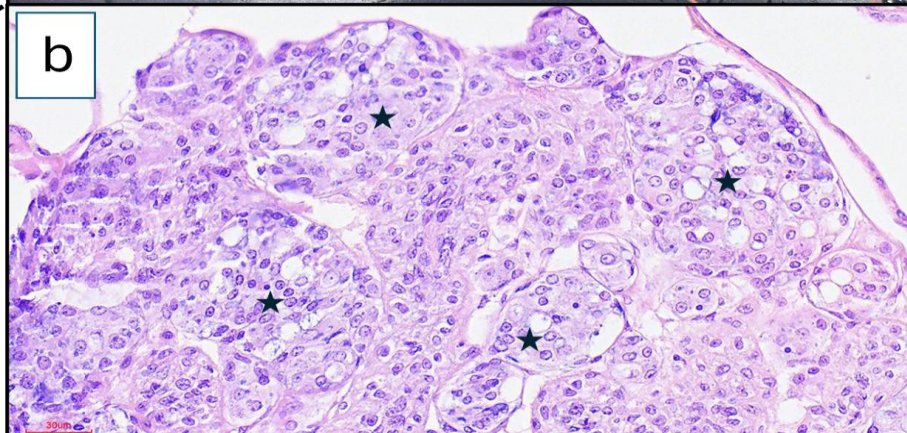


# Amostras

Entre 2022 e 2025, onde foram relatadas mortalidades relacionadas ao IMNV.

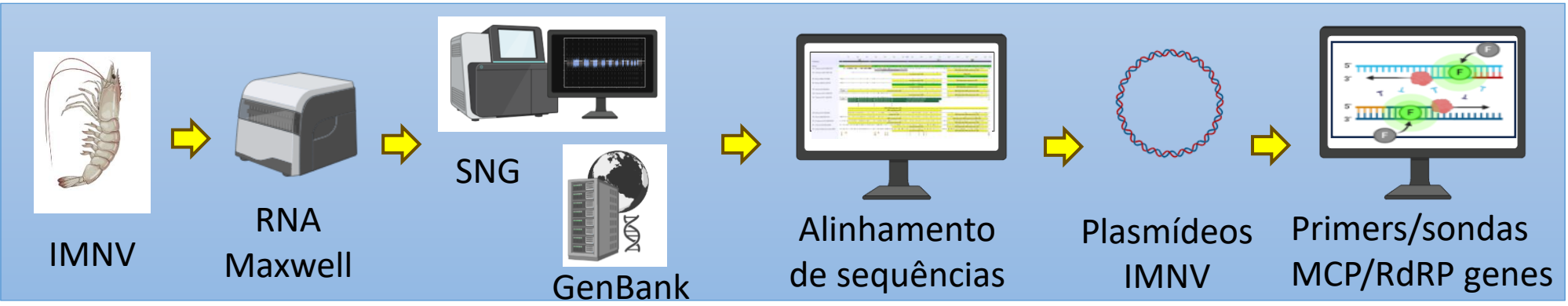
Diagnóstico de Enfermidades de Crustáceos da Universidade Estadual do Maranhão (LAQUA-UEMA).

Estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro



# Desenvolvimento do RT-qPCR usando TaqMan para o IMNV (NIM)

Desenvolvimento do ensaio



Design do estudo e protocolo

Validação do ensaio

Teste analítico de especificidade

Teste analítico de sensibilidade

Estágio 1 indicadores analíticos

Teste de diagnóstico de acurácia (Dse/DSp e precisão intermediária)

Estágio 2 indicadores Diagnóstico

## **4. Resultados**

# Alinhamento global dos 13 genomas completos do IMNV, isolados no Brasil, Indonésia e China e sequência nucleotídica dos primers e sondas desenhados para a detecção de todos os genótipos circulantes do IMNV



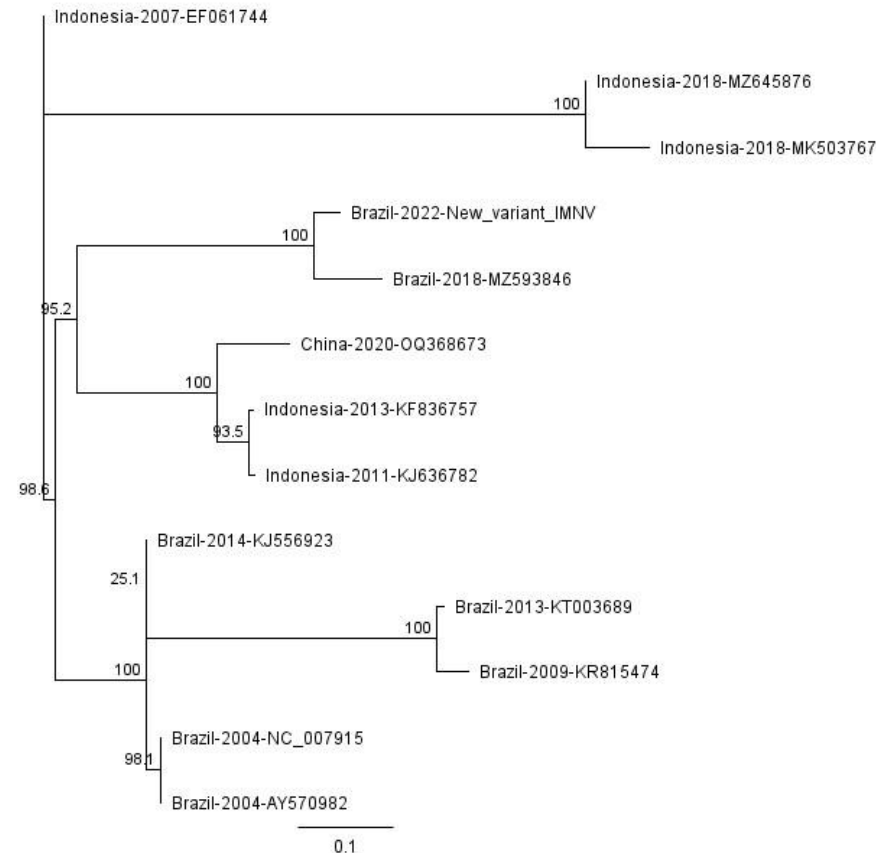
Set	Primer/Sonda	Sequência (5' to 3')	Tamanho (pb)	Fonte
0	IMNV 412 F	GGACCTATCATACATAGCGTTGCA	134	Andrade et al. (2007)
	IMNV 545 R	AACCCATATCTATTGTCGCTGGAT		
	IMNV p1	[FAM]-CCACCTTTACTTTCAATACTACATCATCCCCGG-[TAM]		
1	IMNV MCP- R	AXXXXXXXXXXXXXXGG	78	Este estudo
	IMNV MCP- F	XXXXXXXXXXCXXXAAXXXCG		
	IMNV MCP- P	[FAM]-AXXGTTGXXXXXGGXXTXXXX-[TAM]		
2	IMNV RdRp- R	AAGXXXXXXXXXXXXXXXXXC	85	Este estudo
	IMNV RdRp- F	TCCXXXXXXXXXXXXXXXXXA		
	IMNV RdRp- P	[FAM]-XXCGXXXXXXXXXXXXXXXXXA-[TAM]		

“Confidential – under publication review”



A árvore foi enraizada com a cepa brasileira de referência **AY570982**. O novo variante apresentou maior identidade com cepas da **Indonésia** e alta similaridade com a variante brasileira de **2018 (MZ593846.1)**. (*análise ClipKIT + PhyML, Geneious 2025*).

### 3.1. Sequenciamento do genoma completo e análise filogenética



“(R<sup>2</sup> = 0,981) indica que o ensaio é altamente preciso na quantificação do RNA. Eficiência = 109,5% mostra que a reação teve ótimo desempenho, com amplificação dentro do ideal”

### 3.4. Sensibilidade e Reprodutibilidade da RT-PCR (IMNV)

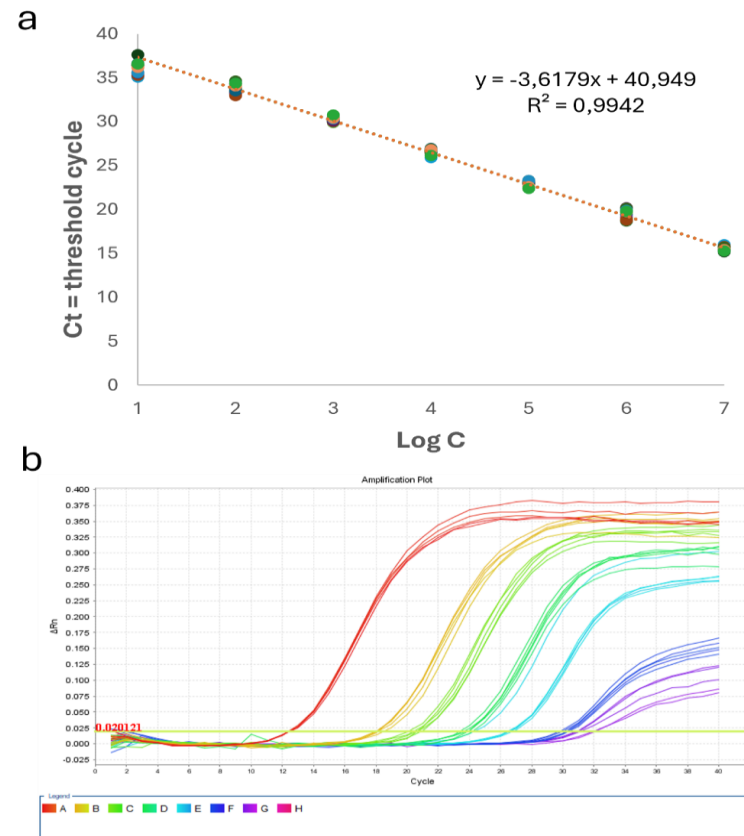
O método TaqMan RT-PCR em tempo real foi utilizado para detectar o gene da proteína do capsídeo do IMNV.

Observou-se uma forte correlação linear entre os ciclos limiars (Ct) e a quantidade de RNA ( $r^2 = 0,9942$ ), em uma faixa dinâmica ampla de 10<sup>7</sup> a 10<sup>1</sup> cópias por reação (Fig. 2A, B).

Para avaliar a reprodutibilidade, foram comparadas 5 curvas-padrão variando de 10 a 10<sup>8</sup> cópias do RNA padrão do IMNV.

O conjunto de primers/sondas SET 1 detectou até 10 cópias de RNA por reação, com Ct = 36,52.

O coeficiente de regressão e a eficiência da RT-PCR foram, respectivamente, R<sup>2</sup> = 0,981 e Eficiência = 109,5% (Fig. 4A, B).



“O CV entre diferentes execuções foi de 1,47% para 10<sup>8</sup> cópias e 3,23% para 10 cópias, demonstrando que o ensaio apresentou **baixa variação e alta reprodutibilidade**”.

### 3.4. Sensibilidade e Reprodutibilidade da RT-PCR (IMNV) - CV: coeficiente de variação; CT: ciclo limiar.

O coeficiente de variação (CV) dentro de cada ensaio variou entre 0,74% e 2,79% para 10<sup>8</sup> cópias, e entre 0,79% e 3,25% para 10 cópias (Tabela 2).

IMNV-SET1 cópias/μl	Intra-ensaio CV (%) (media CT de triplicatas)					Inter-ensaio CV (%) (média CT)
	1	2	3	4	5	
10 <sup>7</sup>	1.75(15.54)	1.15(15.79)	2.79(15.50)	1.03(15.51)	0.74(15.36)	1.47(15.55)
10 <sup>6</sup>	1.87(19.09)	1.56(19.01)	0.62(19.48)	0.84(20.09)	0.21(19.75)	2.65(19.45)
10 <sup>5</sup>	0.52(22.97)	0.15(23.09)	0.25(23.08)	0.13(23.29)	0.62(22.52)	4.78(22.75)
10 <sup>4</sup>	1.13(26.62)	1.49(26.33)	0.57(26.60)	0.19(26.87)	1.76(26.49)	4.36(26.30)
10 <sup>3</sup>	0.35(30.06)	0.50(30.05)	0.75(30.24)	0.76(30.30)	0.75(30.59)	3.49(29.96)
10 <sup>2</sup>	0.43(33.32)	1.21(33.46)	1.09(33.38)	0.52(34.44)	0.54(34.22)	3.29(33.48)
10 <sup>1</sup>	1.97(36.06)	2.19(35.97)	3.25(36.52)	1.41(35.84)	0.79(36.36)	3.23(35.89)



**Uema**  
UNIVERSIDADE ESTADUAL  
DO MARANHÃO



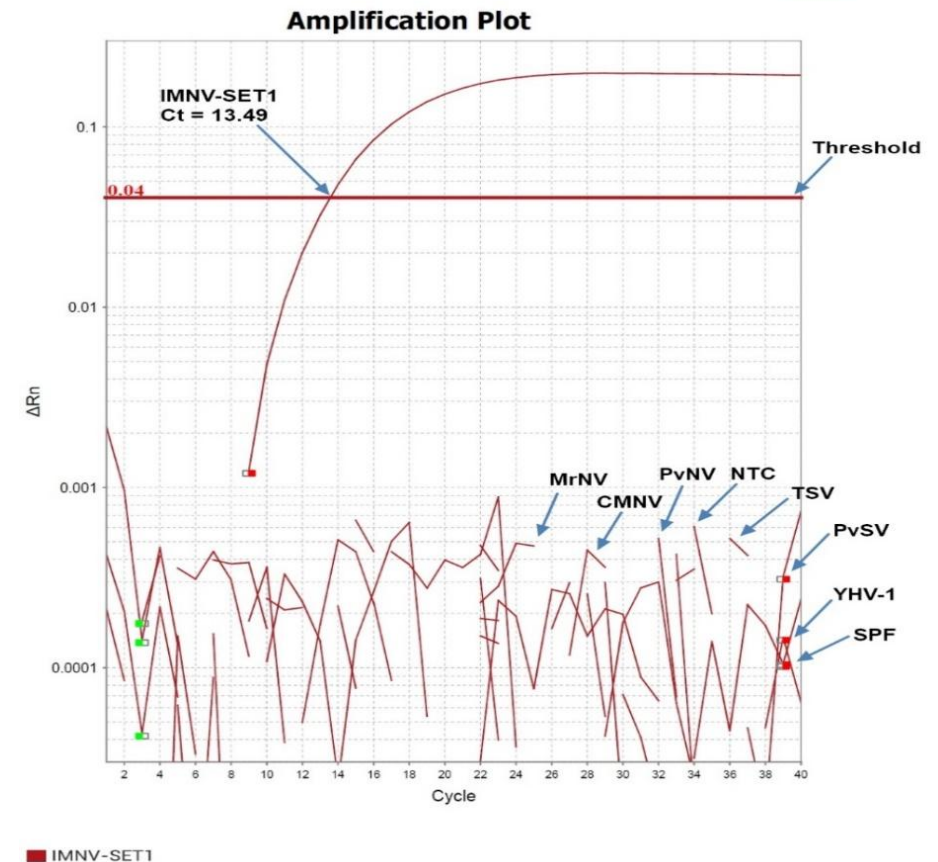
**LAQUA**  
Laboratório de Diagnóstico  
de Enfermidades de Crustáceos



O conjunto de primer/sonda 1 mostrou-se altamente específico para amplificação do IMNV, uma vez que não houve amplificação quando o RNA de camarões infectados com outros patógenos foi testado, incluindo TSV, YHV, PvNV, MrNV e CMNV.

O teste de especificidade dos primers e sondas apresentou resultados negativos para:

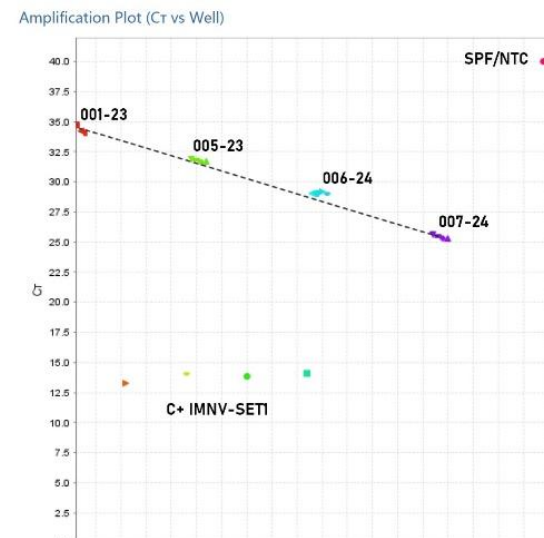
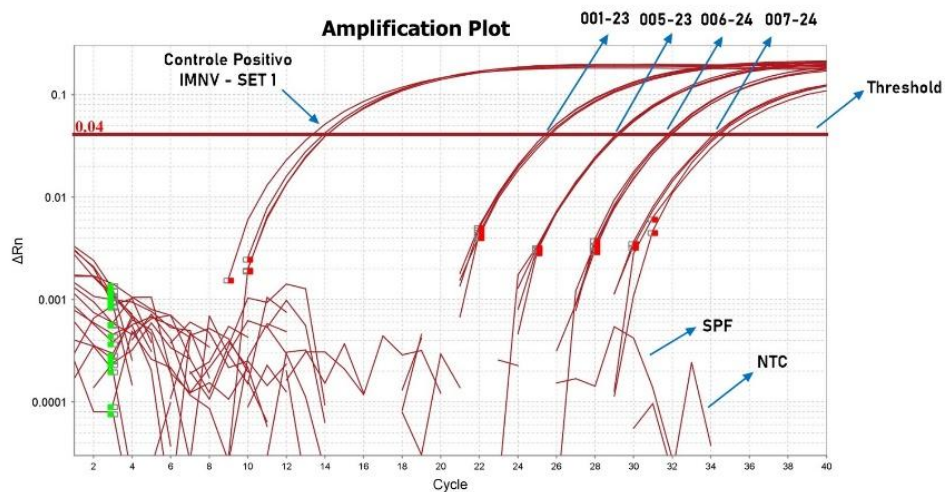
- TSV = *Taura syndrome virus*
- YHV = *Yellow head virus* tipo 1
- IMNV = *Infectious myonecrosis virus*
- PvNV = *Penaeus vannamei nodavirus*
- MrNV = *Macrobrachium nodavirus*
- CMNV = *Covert mortality nodavirus*
- NTC = controle sem molde (*non-template control*)
- SPF = livre de patógenos específicos (*Specific Pathogen Free*)



“O teste de precisão intermediária do método qualitativo apresentou **100% de acurácia, sensibilidade, especificidade e precisão**. O desvio-padrão entre réplicas técnicas de uma mesma amostra foi baixo (0,12–0,48 ciclos), demonstrando **consistência e robustez do desempenho do ensaio**”

## Precisão intermediária em amostras de campo e diagnósticos de rotina

O teste foi conduzido com amostras de camarões comerciais infectados por IMNV, provenientes dos casos OS 001-23, OS 005-23, OS 006-24 e OS 007-24



Result Confirmed	Presumptive result			Results (%)				
	Positive	Negative	Result	Sensitivity	Specificity	Precision	False positive rate	False negative rate
Positive	16	0	16	100	100	100	0	0
Negative	0	2	2					
Total	16	2	18					



**Uema**  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO



**LAQUA**  
Laboratório de Diagnóstico de Enfermidades de Crustáceos



# Eficiência Comparativa de Primers (SET0 vs. SET1) na Detecção do IMNV no Brasil (2022-2025) - Vantagem do SET1, a situação epidemiológica por ano/região e o impacto na detecção da doença

Ano	Estado	Amostras Totais	Amostras Positivas SET0	Amostras Positivas SET1	Amostras que Só SET1 Detectou	Faixa de Ct (SET1)	Observações
2022	Ceará, Piauí, RN	24	24	24	0	14,6 - 34,76	Alta carga viral. SET1 equivalente ou melhor.
2023	Ceará	16	16	16	0	23,26 - 39,04	Carga viral variável, incluindo baixos níveis (Ct>38).
2024	PE, RJ, RN, BA, CE	23	9	23	14	21,56 - 38,96	SET1 demonstra superioridade crítica, detectando 100% dos casos.
2025	RJ, CE	8	4	8	4	22,41 - 39,03	Confirma a tendência de maior sensibilidade do SET1.
<b>TOTAL</b>	<b>6 Estados</b>	<b>71</b>	<b>53</b>	<b>71</b>	<b>18</b>	14,6 - 39,04	<b>SET1 aumentou a detecção em 25.4% (18/71 amostras)</b>

**Ct (Cycle Threshold):** Valor mais baixo = maior quantidade de vírus na amostra.

O novo primer SET1 é **significativamente mais sensível** que o SET0, sendo crucial para a vigilância epidemiológica, especialmente em casos de baixa carga viral.

**Recomendação:** A adoção rotineira do novo protocolo usando o SET1 é essencial para diagnósticos precisos, controle de surtos e monitoramento da dispersão do IMNV





## Principais Conclusões:

**1. Superioridade do SET1:** O primer SET1 demonstrou sensibilidade superior ao SET0. Isso é evidenciado por:

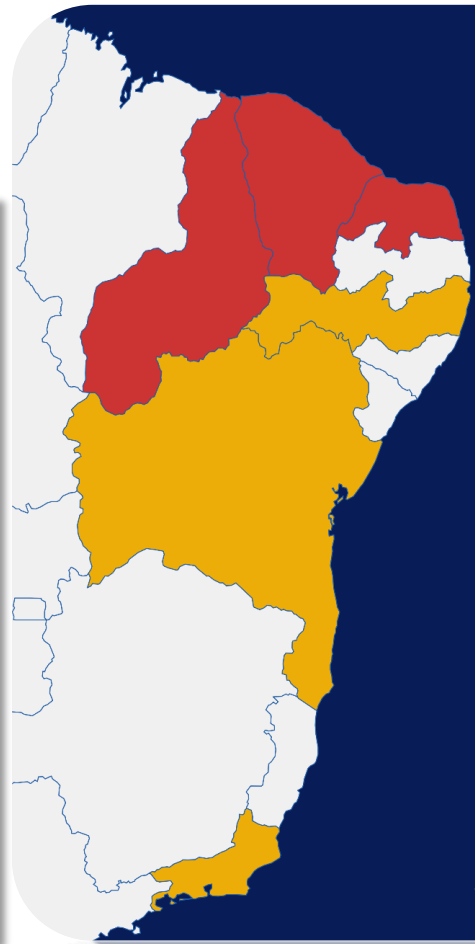
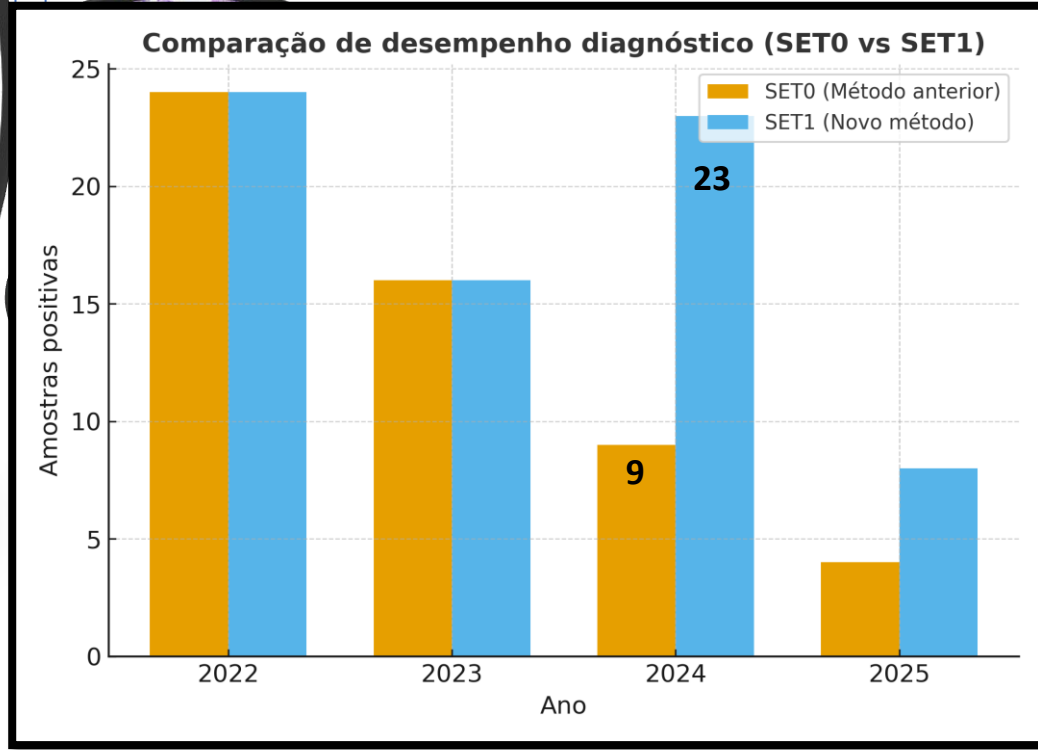
- 1. 14 Falsos Negativos do SET0:** Em 14 amostras (principalmente de Pernambuco, Bahia, Rio Grande do Norte e Rio de Janeiro entre 2024-2025), o SET0 não detectou o vírus (resultado ND - Não Detectado), enquanto o SET1 retornou valores de Ct positivos (entre 32,50 e 39,03).
- 2. Ct Mais Baixos:** Em muitos casos onde ambos os primers detectaram o vírus, o SET1 apresentou valores de Ct iguais ou ligeiramente mais baixos, indicando uma detecção mais precoce e, portanto, uma maior eficiência na amplificação.

## 2. Distribuição Geográfica e Carga Viral:

- 1. Alta Carga Viral (Ct < 30):** Os estados do **Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte** apresentaram as cargas virais mais altas (Ct variando de 14,6 a 29,82), confirmando serem regiões de alta endemicidade e transmissão ativa.
- 2. Baixa Carga Viral (Ct > 30):** Os estados de **Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro** apresentaram predominantemente cargas virais baixas (Ct > 30) ou resultados negativos apenas no SET0. Isto sugere infecções recentes, de baixo nível ou uma disseminação mais recente do vírus para estas regiões.



# Eficiência Comparativa de Primers (SET0 vs. SET1) na Detecção do IMNV no Brasil (2022-2025) - Vantagem do SET1, a situação epidemiológica por ano/região e o impacto na detecção da doença



## Carga viral de IMNV (6 estados) segundo Ct médio (2022-2025)

- Alta Carga Viral (Ct < 30): (14,6 a 29,82), confirmando serem regiões de alta endemicidade e transmissão ativa
- Baixa Carga Viral (Ct > 30): Os estados de Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro ou resultados negativos apenas no SET 0. Isto sugere infecções de baixo nível

IMNV= 28-30° C melhor temperatura de replicação



40°C

“TEMPERATURA: Fatores de risco significativos para propagação de IMNV, em temperaturas de água variando de 25°C a 31°C, além de possibilidade de coinfeção com outros patógenos exóticos e/ou endêmicos tais como WSSV, NHP-B, IHNV e vibrioses”

40ppt

Atualmente, problemas presentes em vários estados do Brasil devido a sazonalidade e ou variação de temperatura no cultivo:

30°C

Temperatura
Víbrio spp.
Hepatobacter penaei (NHP-B)
Mionecrose Infecciosa (IMNV)
Mortalidade encoberta (CMNV)
<i>Chattonella</i> spp.

IMNV

Salinidade

Hepatobacter penaei (NHP-B)
Víbrio spp.
Mionecrose Infecciosa (IMNV)
Gregarina
Microsporideos (EHP e outros)
<i>Chattonella</i> spp.

30ppm

20°C

20ppm

10°C

Mancha branca (WSSV)
Nanismo (IHNV)
Síndrome de Taura (TSV)

WSSV

Spiroplasma penaei

pseudomonas
Vibrio spp
nematodos

10ppm

0°C

0°ppm



# 5. Aplicações Práticas para a Indústria

## •Monitoramento de Reprodutores e Pós-Larvas:

Identificação precoce de IMNV antes da introdução em fazendas.

## •Suporte a Programas de Melhoramento Genético:

Teste de resistência/tolerância ao IMNV em linhagens de camarão.

## •Validação de Programas de Biossegurança:

- **Em fazendas e laboratórios** de produção de reprodutores e pós-larvas.
- Identificação em insumos (Lula, artêmia, probiótico, etc).
- Identificação das **rotas de entrada e disseminação** de patógenos

## •Assistência no Desenvolvimento e Avaliação de Novos Insumos:

- **Rações, aditivos, inibidores, imunoestimulantes, probióticos, prebióticos, simbiotes.**
- Determinação de concentrações ótimas frente a desafios com variantes de patógenos.
- **Suporte de diagnóstico** para fornecedores e seus clientes

## Vigilância Epidemiológica Regional:

Deteção de novas variantes e monitoramento da dispersão geográfica.

## Certificação Sanitária :

Atendimento a requisitos nacional/internacional com resultados confiáveis.



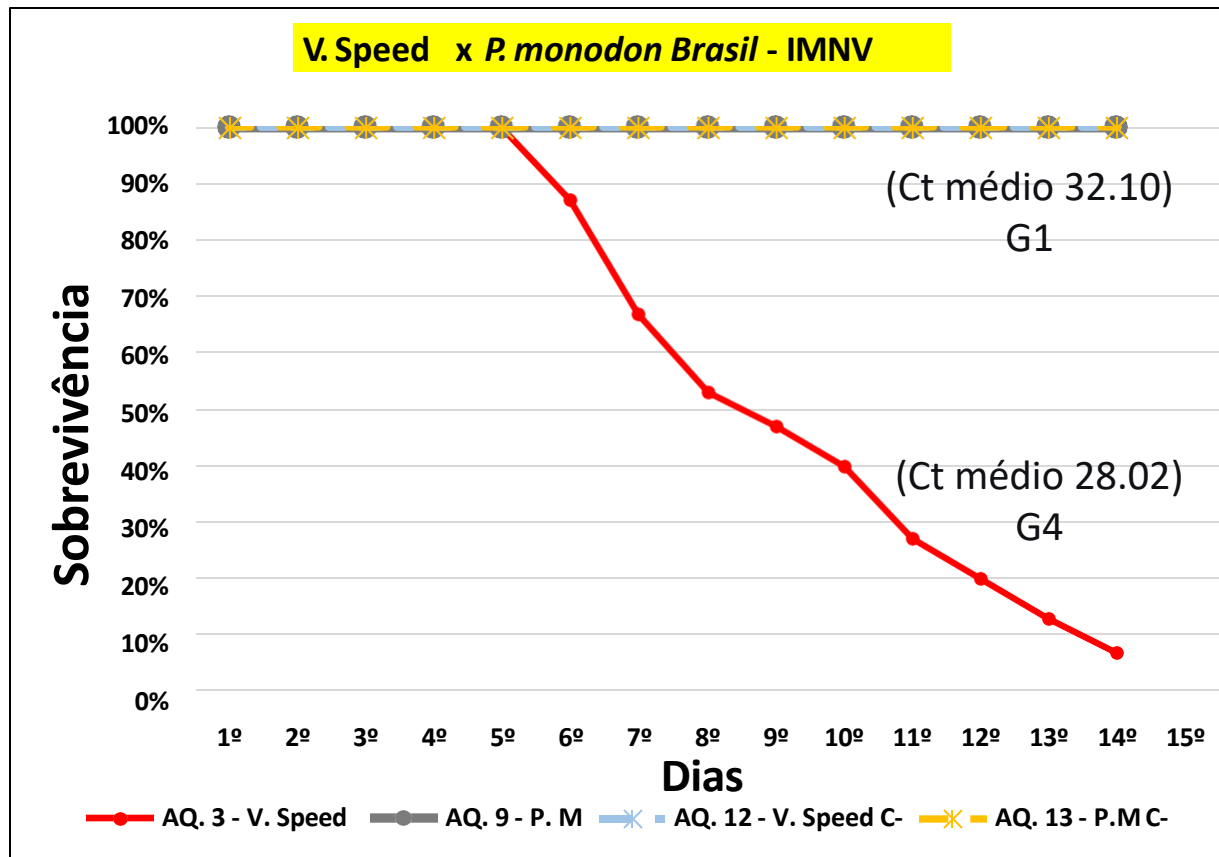
# •Suporte a Programas de Melhoramento Genético:

Teste de resistência/tolerância ao IMNV em linhagens de camarão. Usando o novo método RT-qPCR IMNV

PLANO DE AÇÃO (Etapa 2) - Aquacrusta e Sabores da Costa

Sanidade, genética e mercado aplicados ao camarão marinho *X Line* e *Penaeus monodon* da Costa Negra

**Iniciativas em andamento:** “*Penaeus monodon* brasileiro demonstra tolerância impressionante ao IMNV”



**Penaeus monodon Brasil**



GENICS



# • Suporte na Validação de Programas de Biossegurança:

- Em fazendas e laboratórios de produção de reprodutores e pós-larvas **Usando o novo método RT-qPCR IMNV**

Sistema de Gestão de Qualidade  
 Acreditado ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017  
 Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro  
 Reconhecimento Mútuo da International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) e da Interamerican Accreditation Cooperation (IAAC)

**Uema**  
 UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

**LAQUA**  
 Laboratório de Diagnóstico de Enfermidades de Crustáceos

**LAQUA – UEMA**  
 Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão  
 São Luís – MA - Brasil CEP 65.055-970  
 Tel: +55 99 98545-2882 laqua@ccm.uema.br  
 Site: <https://laqua.uema.br> Instagram: @laqua\_uema

CRL 1799

Código RTE-180825011      Relatório Técnico      Emissão 20/08/2025

SOLICITANTE

SERVIÇOS

Método: - Extração de DNA e RNA utilizando extrator automático de tecidos Maxwell MDX (Promega).  
 - PCR em Tempo Real (qPCR/RT-qPCR) com sonda de hidrólise @TaqMan para IMNV, WSSV e PvsV.

Amostra(s): 1 amostra de Pós-Larva (1), 2 amostras de Pleópodos (2 e 4), 2 amostras de Hepatopâncreas (3 e 5) de camarões da espécie *Penaeus vannamei* e 1 amostra de

Sistema de Gestão de Qualidade  
 Acreditado ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017  
 Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro  
 Reconhecimento Mútuo da International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) e da Interamerican Accreditation Cooperation (IAAC)

**Uema**  
 UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

**LAQUA**  
 Laboratório de Diagnóstico de Enfermidades de Crustáceos

**LAQUA – UEMA**  
 Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, 1000, Jardim São Cristóvão  
 São Luís – MA - Brasil CEP 65.055-970  
 Tel: +55 99 98545-2882 laqua@ccm.uema.br  
 Site: <https://laqua.uema.br> Instagram: @laqua\_uema

CRL 1799

Código RTE-0807251      Relatório Técnico      Emissão 23/07/2025

SOLICITANTE

SERVIÇOS

DNA e RNA utilizando extrator automático de tecidos Maxwell MDX (Promega).  
 Tempo Real (qPCR/RT-qPCR) com sonda de hidrólise @TaqMan para IMNV, WSSV, PvsV e NHP-B.

Amostras de 3 sacos (V21, V22 e V37A) contendo 1Kg de camarões e (3) amostras de hepatopâncreas e (3) amostras de pleópodos de *Penaeus vannamei*, coletadas sob a responsabilidade do solicitante e identificadas conforme descrição, com recipiente íntegro.

Data do ensaio: 08/07/2025

**Detectado**  
**Ct: 21.04**  
**1x10<sup>6</sup>**

**IMNV:**  
**Carga viral alta**  
**1 milhão**

**IMNV<sup>TM</sup>**  
**Detectado**  
**Ct: 31.49**  
**1x10<sup>3</sup>**  
**Detectado**  
**Ct: 35.80**  
**77.59**  
**Detectado**  
**Ct: 38.59**  
**12.12**

**IMNV:**  
**Carga viral baixa**  
**>12 a 1000**

Tabela 1. Sumário complementar das observações encontradas nas análises

ID# de amostras	CTs de PCR em Tempo Real (qPCR/RT-qPCR) com <sup>®</sup> TaqMan Nº Cópia/Reação/µl		
	WSSV <sup>TM</sup>	IMNV <sup>TM</sup>	PvsV <sup>TM</sup>
Pós-Larva Bergário 8 (1)	ND	ND	ND
V8 Pleópodos (2)	ND	ND	--
V8 Hepatopâncreas (3)	--	ND	ND
V9 Pleópodos (4)	ND	Detectado Ct: 21.04 1x10 <sup>6</sup>	--
V9 Hepatopâncreas (5)	--	--	Detectado Ct: 29.69 4x10 <sup>3</sup>

Este relatório técnico registra, exclusivamente, os resultados do estudo de análise molecular destas amostras, conforme recebidas.  
 O relatório deve ser reproduzido integralmente em relação a seu conteúdo.

Sumário complementar das observações encontradas nas análises

ID# de amostras	CTs de PCR em Tempo Real (qPCR/RT-qPCR) com <sup>®</sup> TaqMan Nº Cópia/Reação/µl				
	IHHNV <sup>TM</sup>	WSSV <sup>TM</sup>	IMNV <sup>TM</sup>	PvsV <sup>TM</sup>	NHP-B <sup>TM</sup>
V21 Hepatopâncreas (1)	Detectado Ct: 22.75 4x10 <sup>3</sup>	ND	Detectado Ct: 31.49 1x10 <sup>3</sup>	--	--
V22 Hepatopâncreas (2)	Detectado Ct: 27.86 1x10 <sup>4</sup>	ND	Detectado Ct: 35.80 77.59	--	--
V22 Hepatopâncreas (3)	Detectado Ct: 19.22 4x10 <sup>6</sup>	ND	Detectado Ct: 38.59 12.12	--	--
V21 Hepatopâncreas (4)	--	--	--	Detectado Ct: 37.10 32.66	Detectado Ct: 25.13 9x10 <sup>4</sup>
V22 Hepatopâncreas (5)	--	--	--	ND	ND

Este relatório técnico registra, exclusivamente, os resultados do estudo de análise molecular destas amostras, conforme recebidas.  
 O relatório deve ser reproduzido integralmente em relação a seu conteúdo.

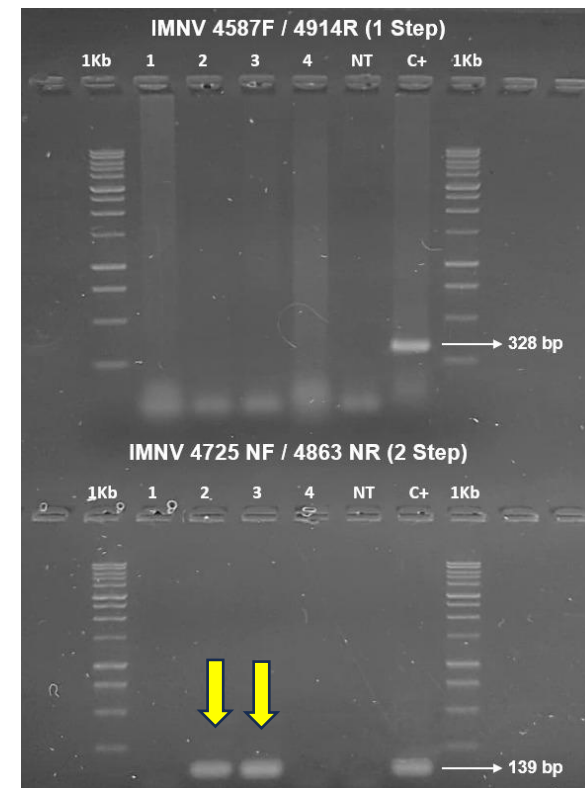


- **Suporte na Vigilância Epidemiológica Regional e Internacional:**  
 Detecção de novas variantes e monitoramento da dispersão geográfica.

## Usando o novo método RT-qPCR IMNV : Primeira confirmação de IMNV em outro país da América Latina

**Tabela 1.** Sumário complementar das observações encontradas nas análises dos camarões (OS – 3110251)

ID# <sup>(I)</sup> de amostras			CTs do PCR em Tempo Real (qPCR/RT-qPCR) com <sup>®</sup> TaqMan e RT-PCR Padrão						
(OS – 3110251)	LAQUA-UEMA	WSSV <sup>(II)</sup>	IMNV <sup>(III)</sup>				CMNV <sup>(VIII)</sup>	PvSV <sup>(V)</sup>	PvNV <sup>(VI)</sup>
			SET-0 WOA	SET-1 cap	SET-2 RdRp	IMNV NESTED 4725NF/4863NR			
PL 17	(1)	Detectado 31.01	ND	Detectado 38.88	ND	ND	ND	ND	ND
1	(2)	Detectado 15.12	ND	Detectado 36.49	ND	Detectado	ND	ND	ND
23	(3)	Detectado 14.40	Detectado 37.43	Detectado 35.39	Detectado 39.08	Detectado	ND	ND	ND
25	(4)	Detectado 12.75	Detectado 39.69	Detectado 39.07		ND	ND	ND	ND
TOTAL DE ANÁLISES POR PATÓGENO		8	8	8	8	8	8	8	8
TOTAL DE ANÁLISES			64						



“A adoção do novo protocolo IMNV SET1 é crucial para um diagnóstico preciso e para o controle contínuo do IMNV no Brasil, América Latina e Ásia.”

## Conclusões – Mensagem Principal

### 1. Novo RT-qPCR (SET1) é superior:

1. 100% de acurácia diagnóstica
2. Detecta até 10 cópias de IMNV-RNA
3. Amplifica variantes asiáticas e latino-americanas

### 2. Aumento de 25,4% na detecção em comparação com o método anterior (SET0)

### 3. Falso-negativos foram reduzidos:

SET1 detectou 18 amostras que SET0 não identificou

### 4. Ferramenta essencial para:

1. Diagnóstico precoce
2. Vigilância de variantes
3. Sustentabilidade da carcinicultura

“O LAQUA-UEMA é o único laboratório brasileiro com RT-qPCR validado para variantes latino-americanas de IMNV e acreditação ISO 17025”





“Um novo método diagnóstico para o IMNV, capaz de detectar clinicamente variantes de isolados asiáticos e latino-americanos em ambientes laboratoriais”

# Agradecimentos



**Uema**  
UNIVERSIDADE ESTADUAL  
DO MARANHÃO



**LAQUA**  
Laboratório de Diagnóstico  
de Enfermidades de Crustáceos



<https://laqua.uema.br>  
[thalesandrade@professor.uema.br](mailto:thalesandrade@professor.uema.br)

Thales P. D. Andrade<sup>1</sup>, Hung N. Mai<sup>2</sup>, Roberto Cruz  
Flores<sup>3</sup> e Arun K. Dhar<sup>2</sup>

