

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG LÂY NHIỄM CỦA VI BÀO TỬ TRÙNG *Enterocytozoon hepatopenaei* TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Trương Minh Út^{1*}, Lê Minh Khôi²,
Nguyễn Trọng Nghĩa³, Từ Thanh Dung^{2*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định khả năng lây nhiễm của vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) trên tôm thẻ chân trắng. Kết quả kiểm tra bằng phương pháp RT-PCR cho thấy EHP có khả năng lây nhiễm trong điều kiện nuôi nhốt chung giữa tôm bệnh và tôm khỏe. EHP trong nguồn nước có mật độ 2×10^5 bào tử/lít và trong thức ăn có 2×10^5 bào tử/gram thức ăn sau 14 ngày thí nghiệm. Tôm thí nghiệm nhiễm EHP biểu hiện một số dấu hiệu bệnh lý đặc trưng như tôm bỏ ăn, mềm vỏ, còi cọc, gan tụy tôm teo dai, ruột rỗng, ít thức ăn hoặc ruột ngất quăng, phân tôm bị xoắn lò xo, xuất hiện bọt khí, có chứa dịch màu vàng nhạt đến vàng nâu và nâu đỏ. Phân tích mô bệnh học các mẫu tôm gây nhiễm EHP cho thấy, ống gan tụy mất cấu trúc hình sao; giảm số lượng tế bào B, R; tế bào biểu mô bong tróc, rơi vào lòng ống và các tế bào máu tập trung xung quanh các ống gan tụy; đồng thời phát hiện cấu trúc plasmodium và các bào tử EHP trưởng thành trong tế bào chất tế bào biểu mô.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, *Enterocytozoon hepatopenaei*, lây nhiễm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) là vi bào tử trùng microsporidian kí sinh nội bào bắt buộc thuộc họ Enterocytozoonidae được mô tả và phát hiện lần đầu tiên tại Thái Lan, sau đó bùng phát trên tôm sú (*Penaeus monodon*), tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi trên nhiều nước châu Á và châu Mỹ Latin. Ở nước ta, EHP được tìm thấy trên tôm sú bệnh phân trắng vào năm 2009 và hiện nay đã trở thành một trong những bệnh truyền nhiễm phổ biến, ảnh hưởng nghiêm trọng đến nghề nuôi tôm (Cục Thú y, 2021). EHP không gây chết cấp tính với tỉ lệ cao cho tôm nuôi trong ao, tuy nhiên chúng kí sinh trong gan tụy tôm, sử dụng dinh dưỡng, năng lượng dự trữ trong gan tụy khiến tôm nuôi không đủ dinh dưỡng cho sự tăng trưởng và lột xác. Tôm nhiễm EHP thường có biểu hiện còi cọc, chậm lớn và phân đàn. Trong một số nghiên cứu còn cho thấy, EHP liên quan đến bệnh phân trắng trên tôm (Thitamadee *et al.*, 2016). Theo nhận định của Aranguren và cộng tác viên (2017) khi gan tụy tôm bị yếu tố ban đầu làm tổn thương sẽ tạo điều kiện cho các *Vibrio* cơ hội gây bệnh.

Bào tử EHP nhiễm trên tôm bệnh được thải

ra môi trường theo đường phân, sau đó tồn tại trong nguồn nước, bùn và lây nhiễm cho các cá thể khác trong ao. Khả năng lây nhiễm của EHP đã được xác định trong một số nghiên cứu tại Ấn Độ, Mỹ, Thái Lan với kết quả xác nhận về khả năng lây truyền bệnh của EHP từ việc nuôi nhốt chung, nuôi trong nguồn nước nhiễm EHP, ăn nhau (Kesavan Karthikeyan and Raja Sudhakaran, 2018). Ở Việt Nam, khả năng lan truyền theo chiều dọc của EHP từ tôm bố mẹ sang tôm được chứng minh bởi Hung Vu-Khac và cộng tác viên (2018). Việc nghiên cứu về cơ chế và con đường lan truyền bệnh là rất cần thiết trong đặc điểm gây bệnh, lan truyền bệnh và xác định khả năng chịu đựng/đề kháng của các dòng tôm nuôi. Tuy nhiên, cho đến nay các nghiên cứu về sự lây nhiễm EHP trên tôm thẻ chân trắng ở nước ta vẫn còn nhiều hạn chế. Do đó, để cung cấp thêm thông tin khoa học về khả năng lây truyền bệnh của EHP trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại nước ta, nhằm góp phần xây dựng quy trình phòng bệnh EHP trong ao nuôi nên “Nghiên cứu khả năng lây nhiễm của vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*)” được thực hiện.

¹ Nghiên cứu sinh khóa 2016, Khoa Thủy sản (CAF), Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Thủy sản (CAF), Trường Đại học Cần Thơ

³ Công ty TNHH Một thành viên APC

* Tác giả liên hệ: E-mail: ttdung@ctu.edu.vn

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn tôm thí nghiệm: Tôm thẻ chân trắng sạch bệnh, trọng lượng 10 - 12 gram, sản xuất từ Bộ môn Kỹ thuật nuôi Hải sản, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ.

Nguồn tôm bệnh: Tôm thẻ chân trắng (*Litopennaeus vannamei*) tại tỉnh Sóc Trăng, Trà Vinh, có dấu hiệu đặc trưng của tôm bệnh chậm lớn do EHP và được kiểm tra nhiễm EHP bằng phương pháp PCR.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị dịch EHP

Dung dịch EHP được chuẩn bị theo phương pháp của Hung Nam Mai và cộng tác viên (2020). Gan tụy (HP) tôm bị nhiễm EHP được thu và cân trọng lượng, sau đó nghiền trong nước dung dịch đệm phosphate 1X (PBS) pH 7,4, tiếp tục pha loãng với dung dịch nước muối vô trùng 2% theo tỉ lệ 1 : 4 bằng và ly tâm ở tốc độ 2.200 vòng/phút trong 1 phút. Thu lấy phần dung dịch phía trên và xác định mật độ EHP ban đầu trên buồng đếm Neubauer theo phương pháp của Munlongwongsiri và cộng tác viên (2021).

2.2.2. Thí nghiệm khả năng lây nhiễm của EHP

Bố trí thí nghiệm: Xác định khả năng lây nhiễm EHP bao gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, bao gồm (1) đối chứng âm (không cảm nhiễm EHP), (2) nuôi nhốt chung với tôm nhiễm bệnh theo tỉ lệ tôm bệnh: tôm khỏe (1 : 10), (3) nguồn nước bổ sung EHP mật độ $3,25 \times 10^5$ bào tử/L và (4) thức ăn nhiễm trộn EHP mật độ $0,5 \times 10^5$ bào tử/gram, tôm được bố trí trong bể nhựa (60 L), các dụng cụ được khử trùng bằng chlorine. Bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên mật độ bố trí 40 tôm/bể.

Theo dõi thí nghiệm: Thí nghiệm được theo dõi trong thời gian 14 ngày. Trong quá trình thí nghiệm tôm được cho ăn theo nhu cầu, tần suất 4 lần/ngày trong suốt thời gian thí nghiệm. Các bể thí nghiệm được theo dõi hàng ngày ghi nhận tỉ lệ chết, quan sát dấu hiệu bệnh lý và kiểm tra một số chỉ tiêu môi trường (nhiệt độ, oxy hoà tan, pH, độ kiềm-kH, NO_2 , $\text{NH}_4/\text{NH}_3^+$).

Mẫu được thu vào ngày 7 và 14 cho xác định sự lây nhiễm EHP trên tôm bằng phương pháp RT-PCR.

Kết thúc thí nghiệm, thu tất cả các mẫu tôm trong bể thực hiện phân tích mô học và RT-PCR.

2.2.3. Phương pháp tiêu bản phết kính mẫu tươi

Kính phết mô gan tụy được thực hiện với một ít mẫu gan tụy quét nhẹ và đều lên lame sạch. Để khô tự nhiên, sau đó cố định lame bằng dung dịch methanol trong 1 phút, nhuộm Wright và Giemsa theo phương pháp của Humason (1979). Quan sát và đọc kết quả dưới kính hiển vi ở vật kính 100X.

2.2.4. Phương pháp mô học

Các mẫu tôm được cố định trong dung dịch Davidson's trong 24 giờ và sau đó tiến hành phân tích mô học thông qua các bước tủa mẫu, xử lý mẫu, đúc khối, cắt mỏng và nhuộm mẫu với thuốc nhuộm Hematoxylin và Eosin. Kết quả mô học được đọc dựa theo nghiên cứu của Caro và cộng tác viên (2021) nhằm đánh giá mức độ và giai đoạn tác động của EHP lên mô gan tụy tôm thẻ chân trắng sau cảm nhiễm.

2.2.5. Phương pháp RT-PCR

Mẫu gan và ruột tôm được thu và trữ trong dung dịch ethanol 100% (Merck) để tiến hành cố định và vận chuyển đến nơi phân tích sự hiện diện của EHP bằng phương pháp Real-time PCR tại Phòng chẩn đoán xét nghiệm bệnh tôm, Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Cà Mau.

2.2.6. Phương pháp kiểm tra môi trường nước

Nhiệt độ nước các bể thí nghiệm được đo bằng nhiệt kế; các chỉ tiêu pH, độ kiềm, $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ và NO_2 được kiểm tra bằng bộ KIT SERA (Đức) theo hướng dẫn của Nhà sản xuất.

2.2.7. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo tỷ lệ (%) phân tích từ phần mềm Excel. Tỷ lệ tôm chết được tính dưới dạng tích lũy.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 5 đến tháng 6 năm 2021 tại Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chất lượng nước

Trong suốt quá trình thí nghiệm nhiệt độ luôn dao động ở mức 28 - 30°C, pH từ 7 - 8, độ kiềm

nằm trong khoảng 100 - 125 mg CaCO₃/L và không ghi nhận có sự xuất hiện của NH₃/NH₄⁺ cùng với NO₂⁻. Khi so sánh với các chỉ tiêu môi trường nuôi tôm của Chanratchakool và cộng tác viên (1995) cho thấy, các chỉ tiêu của môi trường thí nghiệm nằm trong ngưỡng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của tôm, do đó không làm ảnh hưởng đến tôm trong quá trình thí nghiệm.

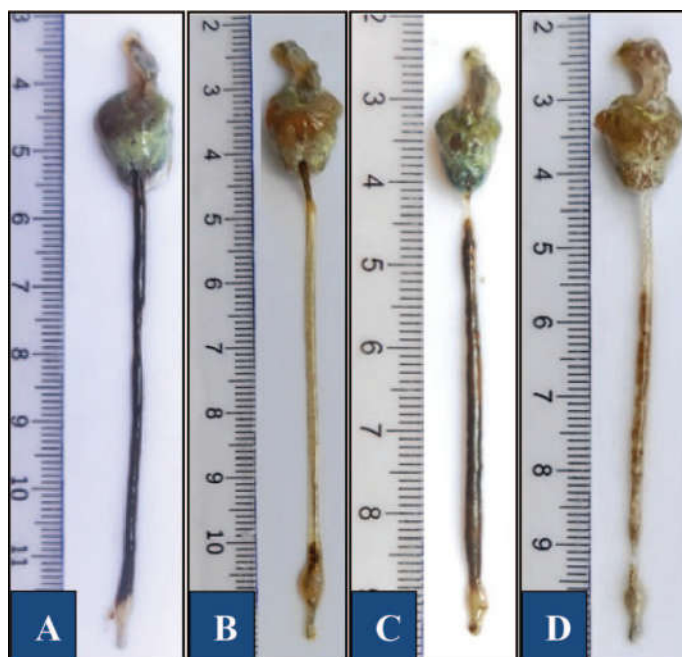
3.2. Khả năng lây nhiễm của *E. hepatopenaei* trên tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*)

Phương pháp RT-PCR được sử dụng để kiểm định khả năng lây nhiễm của EHP ở các thời điểm

ngày 7 và 14 sau bố trí. Ở nghiệm thức đối chứng âm, các mẫu thu đều cho kết quả âm tính ở cả hai lần thu mẫu, thể hiện tính ổn định của hệ thống thí nghiệm và không có sự nhiễm chéo giữa các nghiệm thức. Kết quả âm tính với EHP cũng được ghi nhận ở các nghiệm thức ở lần thu mẫu ở ngày 07, tuy nhiên sau đó được phát hiện trên các mẫu tôm ở tất cả các nghiệm thức lấy nhiễm trong lần thu mẫu ở ngày 14 (Bảng 1). Qua nghiên cứu cho thấy EHP có khả năng lây nhiễm trong quá trình nuôi nhốt chung, bào tử EHP có trong nguồn nước và cho ăn thức ăn bổ sung bào tử EHP.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra PCR sau 7 ngày và 14 ngày cảm nhiễm

Nghiệm thức	Kết quả PCR sau cảm nhiễm	
	7 (ngày)	14 (ngày)
NT1 (đối chứng âm)	(-)	(-)
NT2 (EHP + thức ăn)	(-)	(+)
NT3 (EHP + nước)	(-)	(+)
NT4 (nuôi nhốt chung)	(-)	(+)



Hình 1. Gan tụy và ruột tôm thẻ chân trắng (*L. vannamei*) trong thí nghiệm cảm nhiễm EHP sau 14 ngày

Ghi chú: (A) Tôm nghiệm thức đối chứng, gan tụy màu nâu đậm và ruột đầy thức ăn, (B) gan tụy tôm màu nâu đậm, ruột rỗng thức ăn chứa dịch màu vàng đoạn nối với gan tụy, (C) gan tụy tôm có màu xanh rêu và teo dai, ruột chứa dịch màu đỏ không liên tục và (D) gan tụy tôm nhạt màu và teo dai, phần ruột trước có chứa bọt khí, ruột giữa và ruột sau xoắn lò xo và đứt quãng.

Kết quả từ nghiệm thức cảm nhiễm bằng phương pháp nuôi nhốt chung đồng nhất với nghiên cứu của Salachan và Sritunyalucksana (2017) về chứng minh lây truyền theo chiều ngang của EHP giữa tôm nhiễm bệnh và tôm khỏe trong điều kiện nuôi nhốt chung với khả năng lấy nhiễm EHP được xác định sau 14 ngày thí nghiệm. Các bào tử EHP theo phân của tôm bệnh được thải ra môi trường nước, tiếp xúc và gây nhiễm lên tôm khỏe được nuôi chung trong bể (Chaijarasphong *et al.*, 2020). Theo Hung Nam Mai và cộng tác viên (2020), rất khó để có sự đồng nhất về thời gian lây nhiễm của EHP khi thực hiện bằng phương pháp này do sự khác biệt về mật độ bào tử EHP có trong nước tại thời điểm gây cảm nhiễm và giai đoạn tôm cảm nhiễm. Mật độ bào tử càng cao, thời gian lây nhiễm của EHP trên tôm sẽ càng nhanh. Điều này được thể hiện rõ khi thời gian phát hiện lây nhiễm EHP ở nghiệm thức bổ sung bào tử trực tiếp vào nước ở mật độ $3,25 \times 10^5$ bào tử/L là ở ngày 14, trong khi Pattarayingsakul và cộng tác viên (2022) cảm nhiễm tôm thẻ chân trắng giai đoạn PL-12 ở mật độ bào tử cao hơn 10^6 bào tử/L, thời gian phát hiện lây nhiễm chỉ sau 4 ngày cảm nhiễm.

Qua nghiên cứu cũng đã chứng minh được EHP còn có thể lây nhiễm thông qua nguồn thức ăn được bổ sung bào tử EHP sau 14 ngày. Munkongwongsiri và cộng tác viên (2021) nghiên cứu tính lây nhiễm của EHP cũng ghi nhận kết quả tương tự khi cho ăn ở liều 2×10^5 CFU/g. Tuy nhiên, sự lây nhiễm không xảy ra khi cho tôm ăn mẫu thức ăn đã nhiễm EHP mà chỉ xảy ra khi cho ăn thức ăn được bổ sung dung dịch bào tử.

3.3. Khả năng gây bệnh của EHP trên tôm thẻ chân trắng

3.3.1. Dấu hiệu bệnh lý và tỉ lệ chết

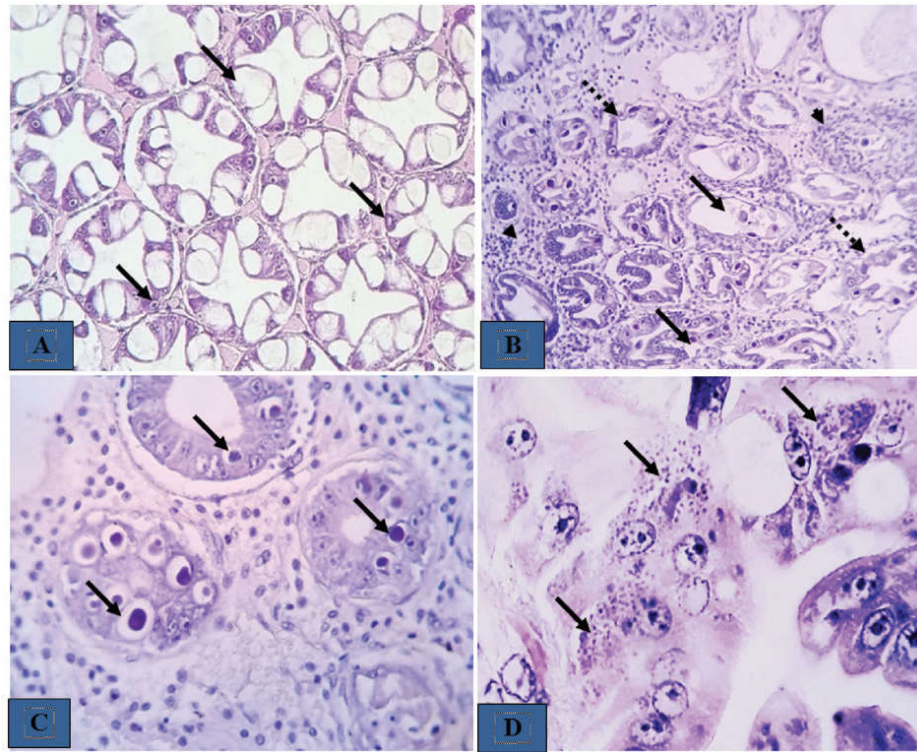
Dấu hiệu bệnh lý được phát hiện trên tôm sau 10 ngày thí nghiệm với các biểu hiện ban đầu tôm ít bơi lội, phản ứng chậm với tiếng động, giảm hoặc bỏ ăn khi so với đối chứng. Sau 14 ngày thí nghiệm, nghiên cứu đã ghi nhận được một số bệnh lý đặc trưng trên tôm ở tất cả các nghiệm thức lây nhiễm như bỏ ăn, mềm vỏ, còi cọc, mất đi độ sáng, bắt xuất hiện nhiều điểm sắc tố. Khối gan tụy tôm chuyển sang màu nâu nhạt, nhũn, xanh rêu, trắng sữa hoặc teo dai, đường ruột tôm thường rỗng, chứa ít thức ăn hoặc ruột ngắt quãng, phân

tôm bị xoắn lò xo, xuất hiện bọt khí, có chứa dịch màu vàng nhạt đến vàng nâu và nâu đỏ (Hình 1). Các dấu hiệu ghi nhận được tương tự với mô tả của Kathy và cộng tác viên (2016) với các mức độ biểu hiện khác nhau, tuy nhiên quan sát rõ nhất ở các mẫu tôm ở nghiệm thức lây nhiễm EHP bằng phương pháp nuôi nhốt chung giữa tôm bệnh và tôm khỏe. Theo Newman (2015) và Suresh và cộng tác viên (2018), EHP sử dụng dinh dưỡng của tôm cản trở quá trình tiêu hóa và hấp thu dưỡng chất làm tôm chậm phát triển, tuy tôm không chết ngay nhưng tôm sẽ dễ mắc cảm với vi khuẩn *Vibrio* spp. dẫn đến chết. Có thể nhận thấy các dấu hiệu đặc trưng nhất của tôm nhiễm EHP là chậm phát triển, dẫn đến sự thay đổi về kích thước sau 14 ngày do chúng sử dụng dinh dưỡng và năng lượng trong gan tụy (Suresh *et al.*, 2018). Tuy nhiên, không có trường hợp tôm chết nào được ghi nhận trong suốt thời gian thí nghiệm.

3.3.2. Kết quả mô học tôm thẻ chân trắng cảm nhiễm EHP

Phân tích mô học được thực hiện nhằm quan sát, đánh giá mức độ biến đổi trên mô gan tụy tôm thẻ chân trắng ở mức độ tế bào trong các nghiệm thức bố trí sau thí nghiệm. Kết quả phân tích cho thấy các ống gan tụy ở nghiệm thức đối chứng âm hoàn toàn bình thường với cấu trúc “hình sao” đặc trưng, hiện diện đầy đủ của các tế bào biểu mô gan tụy bao gồm B (không bào lớn), tế bào R (không bào nhỏ) và tế bào F (Hình 2A).

Ở các nghiệm thức thí nghiệm lây nhiễm EHP đều cho thấy có sự khác biệt về biến đổi cấu trúc, cũng như sự ảnh hưởng của EHP ở mức độ tế bào với một số biểu hiện mô bệnh học đặc trưng như ống gan tụy mất cấu trúc hình sao, giảm số lượng tế bào B, R, tế bào biểu mô bong tróc rơi vào lòng ống và sự tập trung của các tế bào máu xung quanh các ống gan tụy (Hình 2B). Theo Rajendran và cộng tác viên (2016), khi tôm nhiễm EHP cấp tính, các biểu hiện như bong tróc lòng ống gan tụy hay việc tích tụ các tế bào trong lòng ống cũng là một dấu hiệu điển hình, cho thấy mức độ nhiễm trùng EHP nghiêm trọng ở một số tế bào biểu mô ống gan tụy bị hoại tử. Kết quả này còn cho thấy thời gian ủ bệnh khá dài của vi bào tử trùng EHP trên tôm thẻ chân trắng, khi sau 14 ngày cảm nhiễm việc quan sát được các thể nhiễm EHP dày đặc dưới dạng bào nang có thể cho thấy đây là giai đoạn cuối G2 và đầu G3 (Hình 2C). Caro và cộng tác viên (2021)



Hình 2. Mô học tôm thẻ chân trắng cảm nhiễm EHP sau 14 ngày.

Ghi chú: (A) Gan tụy tôm khỏe, ống gan tụy cấu trúc hình sao hiện diện các tế bào biểu mô (→), (B) ống gan tụy mất cấu trúc hình sao, giảm số lượng tế bào biểu mô B, R (--->), tế bào bong biểu mô bong tróc rơi vào lòng ống (→) và tế bào máu tập trung xung quanh các ống gan tụy (→), (C) plasmodia EHP (→) và (D) bào tử EHP trưởng thành (→)

phân chia các hình thái nhiễm EHP trên tôm thẻ chân trắng bao gồm nhiễm dưới dạng các bào nang, plasmodium, hay ở dạng bào tử trưởng thành ở tế bào chất. Kết quả mô bệnh học này tương tự với kết quả ghi nhận việc nhiễm EHP ở mức độ G1, G2 và giai đoạn cận G3 khi nuôi tôm ở độ mặn 15 ppt (Caro *et al.*, 2021). Ngoài ra, một số vùng trên gan tụy tôm ghi nhận tập trung các cụm bào tử EHP (Hình 2D). Các bào tử trưởng thành có cấu trúc ưa acid nằm trong tế bào chất của các ống, tế bào biểu mô gan tụy và có thể quan sát tồn tại tự do bên trong các lòng ống gan tụy, thường được bao quanh bởi các tế bào máu (Narayanan Biju *et al.*, 2016).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

EHP có khả năng lây truyền sang tôm thẻ chân trắng thông qua điều kiện nuôi nhốt chung, nước nhiễm bào tử EHP và thức ăn trộn dung dịch bào tử EHP.

Sau 10 ngày thí nghiệm, tôm nhiễm bào tử EHP có biểu hiện một số dấu hiệu bệnh lý và dấu hiệu mô bệnh học đặc trưng của tôm bệnh chậm lớn do EHP trong ao nuôi. Không có trường hợp tôm chết ở tất cả các nghiệm thức trong suốt thời gian thí nghiệm.

4.2. Đề nghị

Xác định một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng lây nhiễm của EHP trên tôm thẻ chân trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Cục Thú y, 2021. Báo cáo nhiệm vụ, giải pháp phòng, chống dịch bệnh trên tôm nuôi nước lợ năm 2021. Bộ Nông nghiệp & PTNT 2021. Trong *Tài liệu Hội nghị trực tuyến “Giải pháp phát triển ngành tôm năm 2021”*: 32-52.

Aranguren L.F., Jee Eun Han and Kathy F.J. Tang., 2017. *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) is a risk factor for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and septic hepatopancreatic necrosis (SHPN) in the Pacific white shrimp *Penaeus*

- vannamei*. *Aquaculture*, 471: 37-42.
- Caro, L.A., Alghamdi, F., De Belder, K., Lin, J., Mai, H.N., Millabas, J., Dhar, A.K.**, 2021. The effect of salinity on *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in *Penaeus vannamei* under experimental conditions. *BMC Veterinary Research*, 17: 1-8.
- Chaijarasphong T., Natthinee Munkongwongsiri, Grant D. Stentiford, Diva J. Aldama-Cano, Kwanta Thansa, Timothy W. Flegel, Kallaya Sritunyalucksana and Orchuma Itsathitphaisarn**, 2020. The shrimp microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP): Biology, pathology, diagnostics and control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 186: 107458.
- Chanratchakool P., F. Turnbull, C. Funge-Smith and C. Limsuwan**, 1995. *Health Management in Shrimp Ponds*. 2nd Edition. Aquatic Animal Health Research Institute. Dept. of Fisheries. Bangkok 10900, Thailand. Ill pp.
- Humason, G.L.**, 1979. *Animal tissue techniques*. The 3rd Edition. San Francisco, USA: WH Freeman and Company: 111-131.
- Hung Nam Mai, Roberto Cruz-Flores, Luis Fernando Aranguren Caro, Brenda Noble White and Arun K. Dhar**, 2020. A comparative study of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) challenge methods in *Penaeus vannamei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 171: 1-7.
- Hung Vu-Khac, Thuy Nguyen Thi Thanh, Giang Nguyen Thi Thu, Chi Hieu Le and Van Duy Nguyen**, 2018. Vertical Transmission and Early Diagnosis of the Microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* in Whiteleg Shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12 (3): 1-7.
- Kathy F.J., Luis Fernando, Tang Han and Jee Eun, White Noble, Brenda; Schmidt, Margeaux M. Piamsomboon, Patharapol. Risdiana, Eris. Hanggono, Bambang**, 2016. Dense populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in feces of *Penaeus vannamei* exhibiting white feces syndrome and path ways of their transmission to healthy shrimp. *Journal of Invertebrates Pathology*, 140: 1-7.
- Kesavan Karthikeyan and Raja Sudhakaran**, 2018. Experimental horizontal transmission of *Enterocytozoon hepatopenaei* in post-larvae of white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fish Diseases*, 42 (3): 1-8.
- Munkongwongsiri N., Aldama-Cano D.J., Suebsing R., Thaiue D., Prasartset T., Itsathitphaisarn O., Sritunyalucksana K.**, 2021. Microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) spores are inactivated in 1 min at 75°C. *Aquaculture*, 533: 736178. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736178>.
- Narayanan Biju, Ganesan Sathiyaraj, Mithun Raj, Venu Shanmugam, Babu Baskaran, Umamaheswari Govindan, Gayathri Kumaresan, Karthick Kannan Kasthuriraju and Thampi Sam Raj Yohannan Chellamma**, 2016. High prevalence of *Enterocytozoon hepatopenaei* in shrimps *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* sampled from slow growth ponds in India. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120: 225-230.
- Newman S.G.**, 2015. *Microsporidian Impacts shrimp production-industry efforts address control, not eradication*. Global Aquaculture Advocate. <https://www.globalseafood.org/advocate/microsporidian-impacts-shrimp-production/>
- Pattarayingsakul W., Natthinee Munkongwongsiri, Siripong Thitamadee, Kallaya Sritunyalucksana and Diva J. Aldama-Cano**, 2022. Shrimp microsporidian EHP spores in culture water lose activity in 10 days or can be inactivated quickly with chlorine. *Aquaculture*, 548(2): 737665.
- Rajendran K.V., Shivam S., Praveena P.E., Rajan J.J.S., Kumar T.S., Avunje S. and Vijayan K.K.**, 2016. Emergence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus*) in India. *Aquaculture*, 454: 272-280. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.12.034.
- Salachan P.V, Sritunyalucksana K.**, 2017. *La hepatopancreatic microsporidiosis* (HPM) *hepatopenaei* (EHP). *BMC Veterinary Research*, 13 (9): 1-7.
- Suresh K., Srinu R., Devika P. and Gadasu R.**, 2018. Hepatopancreatic Microsporidiasis (HPM) in Shrimp Culture: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7 (1): 3208-3215.
- Thitamadee S., Prachumwat A., Srisala J., Sritunyalucksana K., Flegel T.W. and Itsathitphaisarn O.**, 2016. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture*, 452: 69-87.

Study on infection possibility of *Enterocytozoon hepatopanaei* in white shrimp (*Litopennaeus vannamei*)

Truong Minh Ut, Le Minh Khoi,
Nguyen Trong Nghia, Tu Thanh Dung

Abstract

The study was carried out to determine the infectivity of *Enterocytozoon hepatopanaei* (EHP) microspores in white leg shrimp. The tested results by the RT-PCR method showed that EHP was capable of infecting the general condition of the diseased shrimp and healthy shrimp. EHP in water had a density of 2×10^5 spores/liter and in feed with 2×10^5 spores/gram of feed after 14 days of experiment. Experimental shrimp infected with EHP showed some typical pathological signs such as anorexia, soft shell, stunted growth, atrophy of the hepatopancreas, empty intestines, little food or broken intestines, twisted faeces, gas bubbles appearing, containing a pale yellow to yellow-brown and red-brown fluid. Histopathological analysis of shrimp samples infected with EHP showed that the hepatopancreas tubules lost their stellate structure; reduce the number of B and R cells; epithelial cells slough off, fall into the lumen, and blood cells gather around the hepatopancreatic tubules; simultaneously detected plasmodium structures and mature EHP spores in the epithelial cell cytoplasm.

Keywords: White leg shrimp, *Enterocytozoon hepatopanaei*, infection

Ngày nhận bài: 07/3/2022
Ngày phản biện: 13/3/2022

Người phản biện: TS. Đinh Thị Thủy
Ngày duyệt đăng: 30/3/2022