



# INFECCIÓN POR ENTEROCYTOZON HEPATOPANAEI (EHP)

## INFORMACIÓN SOBRE EL AGENTE PATÓGENO

### 1. AGENTE CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD

#### 1.1. Tipo de agente patógeno

Hongo.

#### 1.2. Nombre de la enfermedad y sinónimos

Infección por *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP).

#### 1.3. Nombres comunes del agente patógeno y sinónimos

Microsporidiosis hepatopancreática.

#### 1.4. Categoría taxonómica

El EHP es un parásito microsporidio, una espora que forma un parásito unicelular perteneciente a la familia Enterocytozoonidae y Phylum Microsporidia. El agente patógeno tiene cuatro etapas de vida intracelular en las células infectadas. El EHP produce esporas monocariotas, de forma ovalada, con 5-6 espirales del filamento polar en un extremo y un disco de anclaje o áncora en el otro (Tourtip et al., 2009).

#### 1.5. Autoridad (primera descripción científica, referencia)

El EHP se descubrió por primera vez en *Penaeus monodon* en Tailandia en 2004 (Chayaburakul et al., 2004) y, posteriormente, se designó con un nombre y se describió en detalle (Tourtip, 2005; Tourtip et al., 2009).

#### 1.6. Entorno del agente patógeno (agua dulce, de mar y agua salobre)

Aguas salobres (> 2 ppt) y marinas. La infección por EHP tiene posibilidades de aparición con una salinidad baja, del 2 ppt. Sin embargo, la prevalencia y la gravedad de la infección por EHP es mayor con una salinidad de 30 ppt (Aranguren et al., 2021).

## 2. MODOS DE TRANSMISIÓN

### 2.1. Vías de transmisión (horizontal, vertical, indirecta)

Se ha demostrado la transmisión horizontal del EHP entre los camarones a través del

canibalismo y la cohabitación en los estanques de cría (Tangprasittipap et al., 2013), lo que significa que las infecciones pueden propagarse progresivamente a medida que el cultivo continúa.

El EHP tiene un ciclo vital relativamente simple (o directo) en comparación con otros microsporidios, con un único tipo de espora que facilita la transmisión horizontal entre un número limitado de especies de camarones peneidos.

### 2.2. Reservorio

Poblaciones infectadas de camarones, de cultivo o silvestres.

### 2.3 Factores de riesgo (temperatura, salinidad, etc.)

Se notificó que los poliquetos, las artemias, los moluscos, los calamares y otros animales utilizados como alimentos vivos o frescos para los camarones son positivos a la prueba PCR para el EHP y pueden infectar cuando se alimentan de ellos.

La infectividad del EHP es mayor cuando existe una salinidad mayor a 30 ppt que en niveles bajos de salinidad (Aranguren et al., 2021).

Se han notificado múltiples coinfecciones con el virus del síndrome de las manchas blancas y el EHP (Thamizhvanan et al., 2019).

## 3. GAMA DE HOSPEDADORES

### 3.1. Especies susceptibles

El langostino tigre (*Penaeus monodon*) (Chayaburakul et al., 2004), el camarón patiblanco (*Penaeus vannamei*) (Tangprasittipap et al., 2013) y la gamba azul (*Penaeus stylirostris*) (Tang et al., 2015) han demostrado ser susceptibles a la infección por EHP.

Se ha informado de un microsporidio no caracterizado con una ultraestructura que se asemeja al EHP en el langostino japonés (*Penaeus japonicus*) (Hudson et al., 2001).

### 3.2. Etapas del ciclo de vida afectadas por la enfermedad

Se afectan todas las etapas de la vida. Si bien los signos clínicos causados por la infección por EHP en la etapa temprana de la vida no son tan claros, la infección puede causar pérdidas económicas muy graves durante la etapa de crecimiento.

### 3.3. Comentarios adicionales

El EHP aumenta la susceptibilidad de los camarones a *Vibrio parahaemolyticus*, lo que causa la enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (Aranguren et al., 2017).

El EHP no debe confundirse con el *Agmasoma penaei*, otro microsporidio que infecta el tejido muscular y el tejido conectivo de *P. monodon*, *P. merguensis* y *P. vannamei* en Asia provocando los signos macroscópicos de la “enfermedad del camarón de algodón” o “White back” (Laisutisan, et al., 2009; NACA, 1994; Pasharawipas, et al., 1994).

## 4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Se han notificado casos de infección por EHP en China (Rep. Pop. de) (Liu et al., 2016), Taipéi Chino (NACA, 2021), India (NACA, 2016), Filipinas (NACA, 2021), Tailandia (Chayaburakul et al., 2004; Tourtip, 2005; Tourtip et al., 2009) y Viet Nam (Ha et al., 2010a; Ha et al., 2010b; Tang et al., 2015).

Se han notificado microsporidios no caracterizados similares a EHP en Malasia (Anderson et al., 1989) y Australia (Hudson et al., 2001).

Se han notificado hallazgos no publicados de resultados positivos a la prueba PCR para la infección por EHP en Indonesia (Tang et al., 2016).

## 5. SIGNOS CLÍNICOS Y DESCRIPCIÓN DE CASO

### 5.1. Tejidos hospedadores y órganos infectados

El principal órgano donde se observa la patología es el tejido hepatopancreático.

### 5.2. Observaciones generales y lesiones macroscópicas

Los signos clínicos externos visibles son escasos, aparte del retraso en el crecimiento a lo largo del tiempo. Los hilos fecales blancos existen solo en algunos casos, lo que indica que la relación entre EHP y el síndrome de las heces blancas depende especialmente de los casos de animales infectados con proliferación bacteriana (Ha et al., 2010a; Rajendran et al., 2016). La tasa de conversión de alimentos (FCR) es alta (Geetha et al., 2022).

Se ha propuesto utilizar los signos macroscópicos del síndrome de las heces blancas, como los hilos fecales blanquecinos flotantes, como indicador de la presencia de EHP en los países donde la enfermedad es endémica (Aranguren et al., 2020).

### 5.3. Lesiones microscópicas y anormalidad del tejido

En secciones de tejido hepatopancreático (HP) teñidas con hematoxilina y eosina (H&E), las células epiteliales de los túbulos de HP muestran la presencia de inclusiones basófilas citoplasmáticas que contienen grupos de esporas elípticas a ovoides de  $1,1 \pm 0,2$  por  $0,6-0,7 \pm 0,1 \mu\text{m}$  (Tourtip et al., 2009).

A veces, existen casos en que se observan esporas separadas de las células lisas en los lúmenes del túbulo.

### 5.4. Situación actual en la OMSA

Se considera que la infección por EHP se ajusta a la definición de “enfermedad emergente” de la OMSA y, como tal, debe notificarse a la OMSA, de conformidad con el Artículo 1.1.4. del Código Acuático.

## 6. IMPORTANCIA SOCIAL Y ECONÓMICA

Si bien la infección por EHP no causa mortalidad significativa en los camarones, afecta su producción debido al retraso del crecimiento y a su posible asociación con el síndrome de las heces blancas (Ha et al., 2010a; Rajendran et al., 2016).

Las cargas de EHP en el hepatopáncreas están negativamente correlacionadas con la tasa de crecimiento de los camarones. Las cargas de EHP superiores a 103 copias/(ng HP DNA) indican un riesgo alto (Liu et al., 2016).

En las poblaciones infectadas, se observan diferentes tasas de crecimiento, los tamaños de los individuos dentro del mismo grupo son desiguales y la tasa de conversión de alimentos (FCR) es alta (Geetha et al., 2022). Las infecciones por EHP han alcanzado proporciones epidémicas en la industria acuícola del camarón asiático.

## 7. IMPORTANCIA ZONÓTICA

Ninguna.

## 8. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

### 8.1. Definición de caso sospechoso

En ausencia de signos claros de enfermedad, sospecha de infección cuando se produce un retraso inusual en el crecimiento.

### 8.2. Métodos de prueba presuntivos

Para la detección de las esporas del microsporidio del EHP se puede utilizar una

tinción fluorescente, el blanco de calco flúor (CFW) (Zhao *et al.*, 2020).

### 8.3. Métodos de prueba confirmatorios

La infección por EHP puede confirmarse mediante métodos moleculares.

Existen técnicas moleculares sensibles como la PCR de un paso, la PCR anidada, LAMP, la PCR cuantitativa y la RPA (Tourtip *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2015; Koiwai *et al.*, 2017; Tangprasittipap *et al.*, 2013; Jaroenlak *et al.*, 2016; Suebsing *et al.*, 2013; Sathish *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2018; Kanitchinda *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2021).

La PCR de un paso tiene límites de detección de 1000-10 000 copias por reacción y puede no ser lo suficientemente sensible como para detectar infecciones en estado de portador (Tourtip *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2015).

Se ha desarrollado la PCR anidada con un límite de detección de 10 copias por reacción (Tangprasittipap *et al.*, 2013; Jaroenlak *et al.*, 2016).

## 9. MÉTODOS DE CONTROL

Se recomienda el uso de reproductores y postlarvas (PL) libres de EHP.

Es importante aplicar las medidas de bioseguridad adecuadas en los establecimientos de acuicultura antes y después de la repoblación con el fin de prevenir la introducción del EHP. Esto incluye la desinfección para inactivar las esporas de EHP, en particular en los estanques o criaderos con antecedentes de infección por EHP.

Los animales vivos capturados (por ejemplo, poliquetos vivos, almejas, ostras, etc.) procedentes de entornos silvestres no deben utilizarse como alimento para los reproductores. Los piensos frescos deben someterse a un tratamiento previo de -20°C durante al menos 48 h o 70°C durante 15 minutos antes de ser suministrados a los reproductores.

Se recomienda la vigilancia específica de la infección por EHP en las primeras etapas de la vida de las especies susceptibles cultivadas, especialmente antes de la transferencia a los estanques.

## 10. RIESGO DE TRANSMISIÓN

La inactivación de las esporas purificadas de EHP se logró mediante la exposición a la congelación a -20°C durante al menos dos horas (Aldama-Cano *et al.*, 2018).

## 11. OTRA INFORMACIÓN DE UTILIDAD

Desde 2015, la enfermedad es de declaración obligatoria a la red ANCA.

Red de Centros de Acuicultura de Asia-Pacífico (NACA). Ficha de la enfermedad basada en: FLEGEL T.W. (2015) *Hepatopancreatic microsporidiosis caused by Enterocytozoon hepatopenaei*.

Para una revisión reciente de la EHP, véase:

CHAIJARASPHONG T, MUNKONGWONGSIRI N, STENTIFORD GD, ALDAMA-CANO DJ, THANSA K, FLEGEL TW, SRITUNYALUCKSANA K, ITSATHITPHAISARN O. 2021 The shrimp microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP): Biology, pathology, diagnostics and control. *J Invertebr Pathol.* 186: 107458. doi: 10.1016/j.jip.2020.107458. Epub 2020 Sep 1. PMID: 32882232.

## REFERENCIAS

- ANDERSON, I. G., SHARIFF, M. & NASH, G. (1989). A hepatopancreatic microsporidian parasite in pond-reared tiger shrimp, *Penaeus monodon*, from Malaysia. *Journal of Invertebrate Pathology*, **53**, 278-280.
- ALDAMA-CANO, DJ, SANGUANRUT, P, MUNKONGWONGSIRI, N, IBARRA-GÁMEZ, JC, ITSATHITPHAISARN, O, VANICHVIRIYAKIT, R, FLEGEL, TW, SRITUNYALUCKSANA, K & THITAMADEE, S. 2018. Bioassay for spore polar tube extrusion of shrimp *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). *Aquaculture* **490**: 156-61
- ARANGUREN CARO, L. F., ALGHAMDI, F., De BELDER, K., LIN, J., MAI, H. N., MILLABAS, J., ALREAHILI, Y., ALAZWARI, A., ALGETHAM, S. & DHAR, A. K. (2021). The effect of salinity on *enterocytozoon hepatopenaei* infection in *Penaeus vannamei* under experimental conditions. *BMC Veterinary Research*, **17**(1), 65.
- CHAYABURAKUL, K., NASH, G., PRATANPIPAT, P., SRIURAIRATANA, S. & WITHYACHUMNARNKUL, B. (2004). Multiple pathogens found in growth-retarded black tiger shrimp *Penaeus monodon* cultivated in Thailand. *Diseases of Aquatic Organisms*, **60**, 89-96.
- GEETHA, R., AVUNJE, S., SOLANKI, H.G., PRIYADHARSHINI, R., VINOTH, S., ANAND, P.R., RAVISANKAR, T. & PATIL, P. K. (2022). Farm-level economic cost of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) to Indian *Penaeus vannamei* shrimp farming. *Aquaculture*, **548**(2), 737685. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737685>
- HA, N.T., HA, D.T., THUY, N.T. & LIEN, V.T.K. (2010a). Occurrence of microsporidia *Enterocytozoon hepatopenaei* in white feces disease of cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Vietnam. *Aquatic Animal Health*, <http://hadong86.wordpress.com/>.
- HA, N.T.H., HA, D.T., THUY, N.T. & LIEN, V.T.K. (2010b). *Enterocytozoon hepatopenaei* parasitizing on tiger shrimp (*Penaeus monodon*) infected by white feces culture in Vietnam, has been detected (In Vietnamese with English abstract). *Agriculture and rural development: science and technology* (Google translation from Vietnamese), **12**, 45-50.
- HUDSON, D.A., HUDSON, N.B. & PYECROFT, S.B. (2001). Mortalities of *Penaeus japonicus* prawns

- associated with microsporidean infection. *Australian Veterinary Journal*, **79**, 504-505.
- JAROENLAK, P., SANGUANRUT, P., WILLIAMS BRYONY, A. P., STENTIFIRD, G. D., FLEGEL, T. W., SRITUNYALUCKSANA, K. & ITSATHITPHAISAM, O. (2016). A Nested PCR Assay to Avoid False Positive Detection of the Microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in Environmental Samples in Shrimp Farms. *Plos One*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166320>
  - KANITCHINDA, S., SRISALA, J., SUEBSING, R., PRACHUMWAT, A. & CHAIJARASPHONG, T. (2020). CRISPR-Cas fluorescent cleavage assay coupled with recombinase polymerase amplification for sensitive and specific detection of *Enterocytozoon hepatopenaei*. *Biotechnology Reports*, **27**, e00485.
  - KIOWAI, K., KODERA, T., THAWONSUWAN, J., KAWASE, M., KONDO, H. & HIRONO, I. (2017). A rapid method for simultaneously diagnosing four shrimp diseases using PCR-DNA chromatography method. *Journal of Fish Diseases*, **41**, 395-399.
  - LAISUTISAN, K., PRASERTSRI, S., CHUCHIRD, N. & LIMSUWAN, C. (2009). Ultrastructure of the microsporidian *Thelohania (Agmasoma) penaei* in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Kasetsart University Fisheries Research Bulletin (Thailand)*, **33**, 41-48.
  - LIU, T., YANG, B., LIU, S., WAN, X., WANG, X. & HUANG, J. (2014). PCR detection and studies on the prevalence of hepatopancreatic parvovirus (HPV). *Progress in Fishery Sciences* (in Chinese with English abstract), **4**, 66-70.
  - LIU, Y.M., ZHANG, Q., WAN, X.Y., MA, F. & HUANG, J. (2016). Development of real-time PCR assay for detecting microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* and the application in shrimp samples with different growth rates. *Progressive Fisheries Science*, **37**, 119-126.
  - LIU, Y. M., QIU, L., SHENG, A. Z., WAN, A. Z., WAN, X. Y., CHENG, D. Y. & HUANG, J. (2018). Quantitative detection method of *Enterocytozoon hepatopenaei* using TaqMan probe real-time PCR. *Journal of Invertebrate Pathology*, **151**, 191-196.
  - MA, C., FAN, S., WANG, Y., YANG, H., QIAO, Y., JIANG, G., LYU, M., DONG, J., SHEN, H. & GAO, S. (2021). Y, Rapid Detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* Infection in Shrimp With a Real-Time Isothermal Recombinase Polymerase Amplification Assay. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.631960>
  - Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA). Disease card based on: FLEGEL T.W. (2015) Hepatopancreatic microsporidiosis caused by *Enterocytozoon hepatopenaei*.
  - Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA). (2016). Quarterly Aquatic Animal Disease Report, January - March 2016. <https://enaca.org/?start=10&id=8>
  - Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA). (2021). Quarterly Aquatic Animal Disease Report, January - June 2021. <https://enaca.org/?id=1183&title=reported-aquatic-animal-diseases-in-the-asia-pacific-region-during-the-first-and-second-quarters-of-2021>
  - PASHARAWIPAS, T. & FLEGEL, T.W. (1994). A specific DNA probe to identify the intermediate host of a common microsporidian parasite of *Penaeus merguensis* and *P. monodon*. *Asian Fisheries Science*, **7**, 157-167.
  - PASHARAWIPAS, T., FLEGEL, T.W., CHAIYAROJ, S., MONGKOLSUK, S. & SIRISINHA, S. (1994). Comparison of amplified RNA gene sequences from microsporidian parasites (*Agmasoma* or *Thelohania*) in *Penaeus merguensis* and *P. monodon*. *Asian Fisheries Science*. **7**, 169-178.
  - RAJENDRAN, K. V., SHIVAM, S., EZHIL PRAVEENA, P., JOSEPH SAHAYA RAJAN, J., SATISH KUMAR, T., SATHEESHA AVUNJE, JAGADEESAN, V., PRASAD BABU, S. V. A. N. V., ASHISH PANDE, NAVANEETH KRISHNAN, A., ALAVANDI, S. V. & VIJAYAN, K. K. (2016). Emergence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* in India. *Aquaculture*, **454**, 272-280.
  - SUEBSING, R., PROMBUN, P., SRISALA, J. & KIATPATHOMCHAI, W. (2013). Loop-mediated isothermal amplification combined with colorimetric nanogold for detection of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* in penaeid shrimp. *Journal of Applied Microbiology*. **114** 1254-1263.
  - LIU, Z., ZHANG, Q., WAN, X., MA, F. & HUANG, J., (2016). Development of Real-time PCR assay for detecting microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* and the application in shrimp samples with different growth rates. *Progress in Fishery Sciences*, **37(2)**, 119-126
  - TANG, K.F.J., HAN, J.E., ARANGUREN, L.F., WHITE-NOBLE, B., SCHMIDT, M.M., PIAMSOMBOON, P., RISDIANA, E. & HANGGONO, B. (2016). Dense populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in feces of *Penaeus vannamei* exhibiting white feces syndrome and pathways of their transmission to healthy shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, **140**, 1-7.
  - TANG, K.F.J., PANTOJA, C.R., REDMAN, R.M., HAN, J.E., TRAN, L.H. & LIGHTNER, D.V. (2015). Development of in situ hybridization and PCR assays for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, **130**, 37-41.
  - TANGPRASITTIPAP, A., SRISALA, J., CHOUWDEE, S., SOMBOON, M., CHUCHIRD, N., LIMSUWAN, C., SRISUVAN, T., FLEGEL, T.W. & SRITUNYALUCKSANA, K. (2013). The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp

- Penaeus (Litopenaeus) vannamei*). *BMC Veterinary Research*, **9**, 139.
- THAMIZHVANAN, S., SIVAKUMAR, S., SANTHOSH KUMAR, S., VINOTH KUMAR, D., SURYAKODI, S., BALAJI, K., RAJKUMAR, T., VIMAL, S., ABDUL MAJEED, S., TAJU, G. & SAHUL HAMEED A. S. (2019). Multiple infections caused by white spot syndrome virus and *Enterocytozoon hepatopenaei* in pond-reared *Penaeus vannamei* in India and multiplex PCR for their simultaneous detection. *Journal of Fish Diseases*, **48:3**, 447-454.
  - TOURTIP, S. (2005). Histology, ultrastructure and molecular biology of a new microsporidium infecting the black tiger shrimp *Penaeus monodon*, Department of Anatomy, Faculty of Science. Mahidol University, Bangkok.
  - TOURTIP, S., WONGTRIPOP, S., STENTIFORD, G.D., BATEMAN, K.S., SRIURAIRATANA, S., CHAVADEJ, J., SRITUNYALUCKSANA, K. & WITHYACHUMNARNKUL, B. (2009). *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microsporida: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): Fine structure and phylogenetic relationships. *Journal of Invertebrate Pathology*, **102**, 21-29.
  - WEN GAO, XIAO-MENG GUO, HAI-LIANG WANG, RUO-HENG ZHAO, GUO-SI XI, CHEN LI & JIE HUANG (2020). A double staining method using calcofluor white and acridine orange to differentiate life stages of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) on hepatopancreatic sections. *Aquaculture*, **528**, 735628.
  - ZHOU, S., WANG, M., LIU, M., JIANG, K., WANG, B. & WANG, L. (2020). Rapid detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* in shrimp through an isothermal recombinase polymerase amplification assay. *Aquaculture*, **521**, 734687. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734987>