



INFECTION À ENTEROCYTOZON HEPATOPANAEI (EHP)

INFORMATIONS SUR L'AGENT PATHOGÈNE

1. AGENT CAUSAL

1.1. Type d'agent pathogène

Champignon.

1.2. Nom de la maladie et synonymes

Infection à *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP).

1.3. Noms vernaculaires de l'agent pathogène et synonymes

Microsporidiose hépatopancréatique.

1.4. Affiliation taxonomique

EHP est une microsporidie, parasite unicellulaire formant des spores, appartenant à la famille des Enterocytozoonidae et à la division des Microsporidia. Cet agent pathogène se développe dans les cellules de l'hôte qu'il infecte, selon un cycle de développement en quatre stades. EHP produit des spores monocaryotiques, de forme ovale, avec un filament polaire enroulé sur 5 à 6 tours de spire à une extrémité et un disque d'ancrage à l'autre extrémité (Tourtip *et al.*, 2009).

1.5. Autorité (première description scientifique, référence)

EHP a été découvert en Thaïlande en 2004, chez *Penaeus monodon* (Chayaburakul *et al.*, 2004). Par la suite, il a été décrit de façon détaillée puis nommé (Tourtip, 2005; Tourtip *et al.*, 2009).

1.6. Environnement de l'agent pathogène (eau douce, eau saumâtre ou eau de mer)

Eau saumâtre (> 2 ppt) et eau de mer. Si l'infection à EHP peut être observée à une salinité aussi faible que 2 ppt, la prévalence et la sévérité de la maladie sont plus importantes à une salinité de 30 ppt (Aranguren *et al.*, 2021).

2. MODES DE TRANSMISSION

2.1. Modes de transmission (horizontale, verticale, indirecte)

Dans les bassins d'élevage de crevettes, les possibles modes de transmission horizontale d'EHP sont le cannibalisme et la cohabitation (Tangprasittipap *et al.*, 2013), ce qui signifie que les infections pourront se propager aussi longtemps que l'élevage perdurera.

Le cycle d'EHP est relativement simple (direct) comparé à celui d'autres microsporidies. Elle ne produit qu'un seul type de spores, facilitant ainsi la transmission horizontale parmi un nombre limité d'espèces de crevettes pénéides.

2.2. Réservoir

Les populations de crevettes infectées, qu'elles soient d'élevage ou sauvages.

2.3 Facteurs de risque (température, salinité, etc.)

Il a été rapporté que des tests PCR de dépistage d'EHP réalisés sur les polychètes, artémies, mollusques et calmars ainsi que sur les autres espèces animales utilisées, vivantes ou fraîches, pour nourrir les crevettes, ont présenté des résultats positifs. Les crevettes nourries avec ces espèces ont développé l'infection.

L'infectiosité d'EHP est plus importante à une salinité de 30 ppt qu'à des salinités basses (Aranguren *et al.*, 2021).

De multiples co-infections d'EHP avec le virus du syndrome des points blancs ont été rapportées (Thamizhvanan *et al.*, 2019).

3. ESPÈCES HÔTES

3.1. Espèces sensibles

Il a été démontré que la crevette géante tigrée (*Penaeus monodon*) (Chayaburakul *et al.*, 2004), la crevette à pattes blanches (*Penaeus vannamei*) (Tangprasittipap *et al.*, 2013) et la

crevette bleue (*Penaeus stylirostris*) (Tang et al., 2015) étaient sensibles à l'infection à EHP.

Il a été rapporté qu'une microsporidie non caractérisée présentant une ultrastructure similaire à celle d'EHP avait été isolée chez la crevette Kuruma (*Penaeus japonicus*) (Hudson et al., 2001).

3.2. Stades de développement de l'hôte affectés par la maladie

Tous les stades de développement sont affectés. Les signes cliniques associés à l'infection à EHP sont peu prononcés pendant les premiers stades de développement alors que l'infection cause des pertes économiques sévères chez les crevettes en phase de grossissement.

3.3. Commentaires additionnels

La présence d'EHP augmente la sensibilité des crevettes à *Vibrio parahaemolyticus*, qui est l'agent pathogène responsable de la maladie de nécrose hépatopancréatique (AHPND) (Aranguren et al., 2017).

EHP ne doit pas être confondu avec *Agmasoma penaei*, une autre microsporidie qui infecte le tissu musculaire et le tissu conjonctif de *P. monodon*, *P. merguensis* et *P. vannamei* en Asie, et qui cause les signes macroscopiques associés à la maladie des crevettes duvetées (dénommée « cotton shrimp disease » ou « white back ») (Laisutisan et al., 2009 ; NACA, 1994 ; Pasharawipas et al., 1994).

4. DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE

La présence d'infection à EHP a été rapportée en République populaire de Chine (Liu et al., 2016), dans le Taipei chinois (NACA, 2021), en Inde (NACA, 2016), aux Philippines (NACA, 2021), en Thaïlande (Chayaburakul et al., 2004 ; Tourtip, 2005 ; Tourtip et al., 2009) et au Vietnam (Ha et al., 2010a ; Ha et al., 2010b ; Tang, et al., 2015).

La présence de microsporidies non caractérisées mais semblables à EHP a été rapportée en Malaisie (Anderson et al., 1989) et en Australie (Hudson et al., 2001).

L'obtention de résultats positifs au test de dépistage PCR de l'infection à EHP a été rapportée en Indonésie mais non publiée (Tang et al., 2016).

5. SIGNES CLINIQUES ET DESCRIPTION DE CAS

5.1. Tissus issus de l'hôte et organes infectés

Le principal organe où est observée la pathologie est l'hépatopancréas.

5.2. Observations et lésions macroscopiques

À l'exception des retards de croissance constatés au fil du temps, les signes cliniques externes visibles sont le plus souvent absents. Des traînées fécales blanches ont été observées dans certains cas mais pas dans tous, ce qui indique que l'association entre EHP et le syndrome des fèces blancs est conditionnée par la présence concomitante d'une infection bactérienne chez l'hôte (Ha et al., 2010a ; Rajendran et al., 2016). Le taux de conversion alimentaire (FCR) est élevé (Geetha et al., 2022).

Il est proposé d'utiliser les signes associés au syndrome des fèces blancs et observables à l'examen macroscopique, telles que les traînées fécales blanchâtres flottantes, comme indicateur de la présence d'EHP dans les pays où cette microsporidie est endémique (Aranguren et al., 2020).

5.3. Lésions microscopiques et anomalies tissulaires

Des coupes de l'hépatopancréas (HP) ont été réalisées. Les tissus ont été colorés à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E). Leur examen a révélé la présence, dans les cellules épithéliales des tubules de l'HP, d'inclusions cytoplasmiques basophiles contenant des amas de spores de forme elliptique ou légèrement ovoïde, et mesurant 1.1 ± 0.2 par $0.6-0.7 \pm 0.1 \mu\text{m}$ (Tourtip et al., 2009).

Parfois, des spores libérées par les cellules lysées peuvent être observées dans la lumière tubulaire.

5.4. Statut de la maladie reconnu par l'OMSA

L'infection à EHP est définie comme une maladie émergente par l'OMSA et, à ce titre, sa présence doit être notifiée conformément à l'article 1.1.4. du Code aquatique.

6. IMPORTANCE ÉCONOMIQUE ET SOCIALE

Bien que l'infection à EHP ne cause pas de mortalités significatives chez les crevettes, elle en affecte la production en raison des retards de croissance qu'elle induit et de sa possible association avec le syndrome des fèces blancs (Ha et al., 2010a ; Rajendran et al., 2016).

Il y a une corrélation négative entre la concentration en ADN d'EHP présente dans l'hépatopancréas et le taux de croissance des crevettes. Au-delà de 103 copies / (ng HP DNA), le risque est élevé (Liu et al., 2016).

Les populations infectées présentent des taux de croissance différents, les tailles des individus au sein d'un même groupe d'animaux sont hétérogènes et le taux de conversion alimentaire (FCR) est élevé

(Geetha et al., 2022). Les infections à EHP sont devenues épidémiques dans le secteur de la pénéculture en Asie.

7. IMPORTANCE ZONOTIQUE

Aucune.

8. MÉTHODES DE DIAGNOSTIC

8.1. Définition d'un cas suspect

L'infection peut être suspectée en cas de retard de croissance inhabituel, en l'absence d'autres signes macroscopiques de la maladie.

8.2. Tests de présomption

Un colorant fluorescent, le blanc de calcofluor (CFW), peut être utilisé pour la détection des spores de la microsporidie EHP (Zhao et al., 2020).

8.3. Tests de confirmation

L'infection à EHP peut être confirmée au moyen de méthodes moléculaires.

Des techniques moléculaires sensibles telles que la PCR en une étape, la PCR nichée, la LAMP, la qPCR et la RPA sont disponibles (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).

L'intervalle de détection de la PCR en une étape est compris entre 1000 et 10 000 copies par réaction. Cette technique peut donc être insuffisamment sensible pour détecter le portage (Tourtip et al., 2009 ; Tang et al., 2015).

Une technique de PCR nichée présentant une limite de détection de 10 copies par réaction a été développée (Tangprasittipap et al., 2013 ; Jaroenlak et al., 2016).

9. MÉTHODES DE CONTRÔLE

L'utilisation de géniteurs et de post-larves indemnes d'EHP est à encourager.

Dans les établissements aquacoles, la mise en œuvre de mesures de sécurité biologique appropriées avant et après le peuplement est importante pour prévenir l'introduction d'EHP. Parmi ces mesures figure la désinfection pour inactiver les spores d'EHP, en particulier dans les bassins ou les éclosiers ayant déjà été touchés par la maladie.

Les animaux vivants prélevés dans l'environnement naturel (par exemple, les polychètes, les palourdes, les huîtres, etc.) ne doivent pas être utilisés pour nourrir les géniteurs. Avant d'être distribués aux géniteurs, les aliments frais doivent subir un prétraitement thermique soit à -20°C pendant au moins 48 heures soit à 70°C pendant 15 minutes.

Il est recommandé de mettre en place une surveillance ciblée de l'infection à EHP chez les premiers stades de développement des espèces d'élevage sensibles, en particulier avant le transfert dans les bassins.

10. RISQUE DE TRANSMISSION

L'inactivation des spores d'EHP purifiées a été obtenue en les exposant à une température de surgélation de -20°C pendant au moins 2 heures (Aldama-Cano et al., 2018).

11. AUTRES INFORMATIONS UTILES

La maladie doit être notifiée à NACA depuis 2015 :

Réseau des centres d'aquaculture en Asie-Pacifique (NACA). Fiche maladie basée sur l'élément suivant : FLEGEL T.W. (2015) Hepatopancreatic microsporidiosis caused by *Enterocytozoon hepatopenaei*.

Une synthèse récente des connaissances sur le CEV peut être consultée. Il s'agit de :

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.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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-GAMEZ, 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 microsporidian 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., VINOOTH 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. & WITYACHUMNARNKUL, 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.2020.73498>