



(<https://debug.globalseafood.org>).



Health &  
Welfare

## 对虾肠胞虫病 (EHP) 的新管理方法

22 July 2016

By Jee Eun Han, Ph.D. , Kathy F.J. Tang, Ph.D. and Donald V. Lightner, Ph.D.

### 针对对虾肠胞虫病的新管理方法

*Editor's note: This article was originally published on the Advocate in English on **April 15, 2016***



对虾肠胞虫病正导致世界各地虾农产量的严重损失，本文描述的最新检测方法和和管理方法对应对该疾病将起到关键作用。

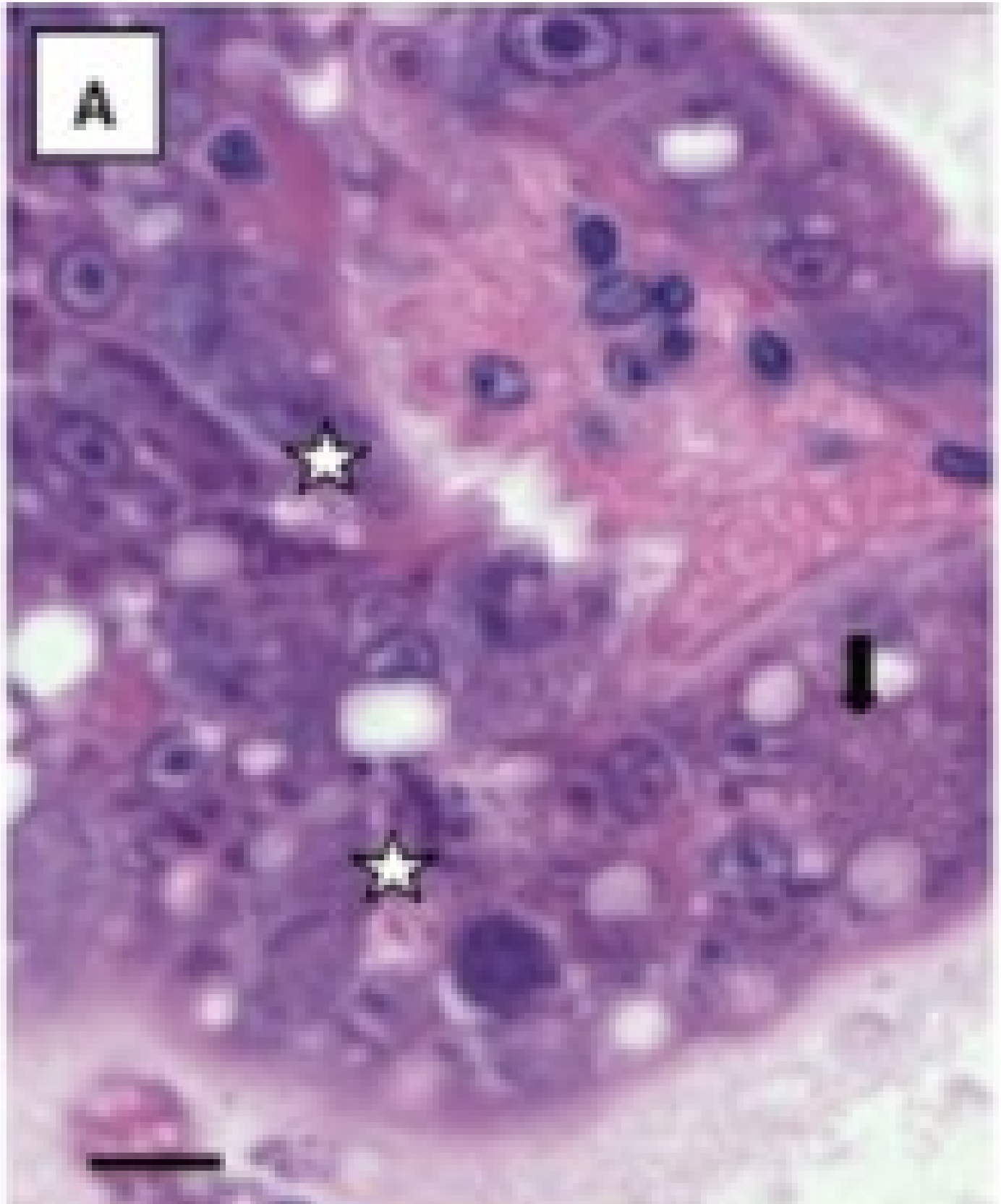
[https://www.aquaculturealliance.org/advocate/new-management-tools-for-ehp-in-penaeid-shrimp/?hstc=236403678.b333d21d4533ef1cd69c48792918b3d4.1683485229329.1683485229329.1683485229329.1&\\_hssc=236403678.1.1683485229329&\\_hsi](https://www.aquaculturealliance.org/advocate/new-management-tools-for-ehp-in-penaeid-shrimp/?hstc=236403678.b333d21d4533ef1cd69c48792918b3d4.1683485229329.1683485229329.1683485229329.1&_hssc=236403678.1.1683485229329&_hsi)

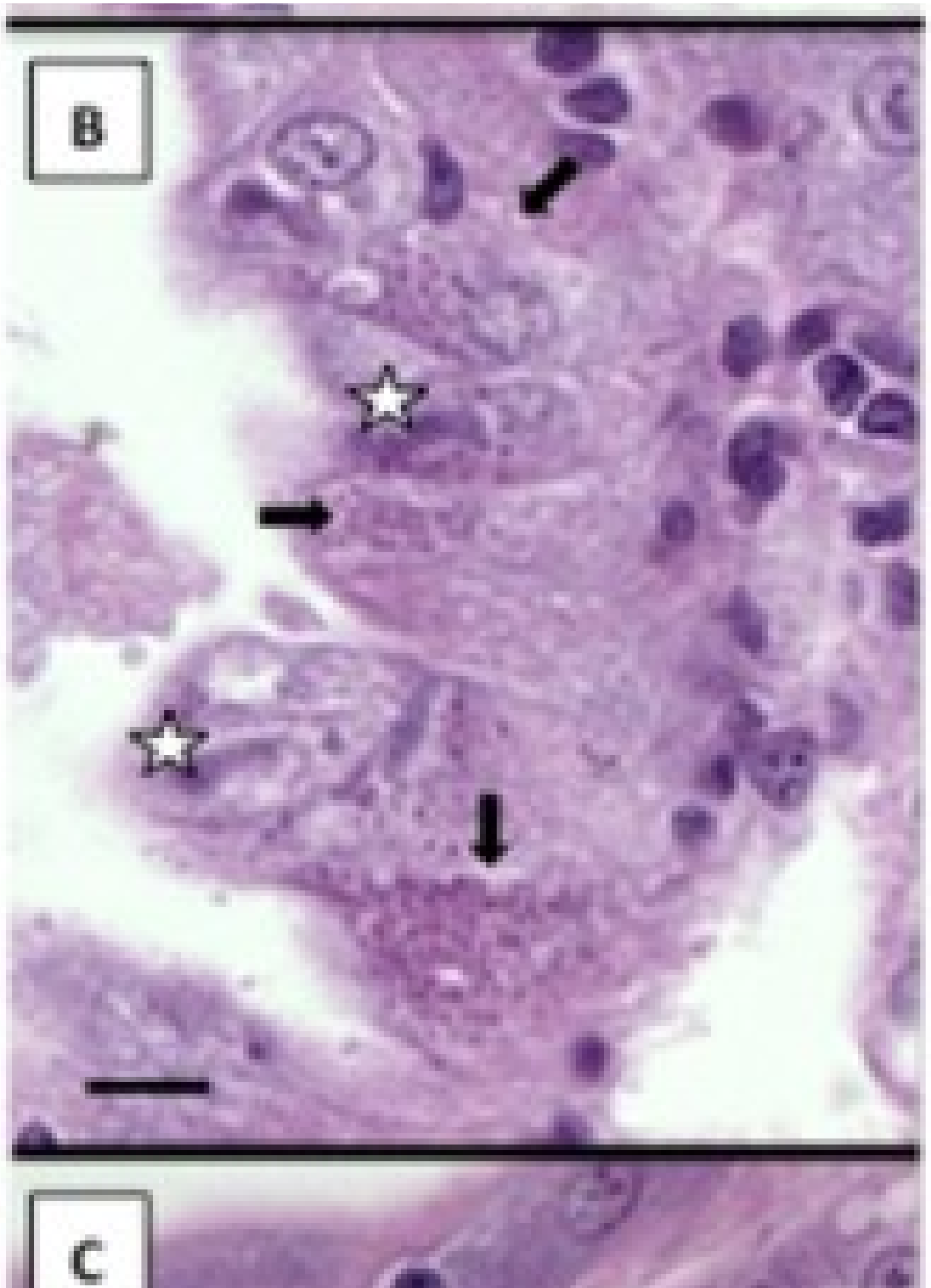
不同种类的微孢子虫会对对虾的肌肉组织，心脏，性腺，鳃，肝胰脏，和神经节产生感染。对虾微孢子虫被视为对虾群体一个潜在威胁，并且会对水产养殖业的经济效益造成影响。近期，一种叫对虾肠胞虫病(EHP)的微孢子被发现存在于对虾的肝胰脏中的小管上皮细胞的细胞质中。在一些东南亚国家，例如越南，泰国，马来西亚，印度尼西亚，中国和印度的对虾养殖场已经相继发现此类微孢子的存在。对虾肠胞虫病(EHP)的临床症状还未具体化，但已发现与对虾发育迟缓有关联。

### 对虾肠胞虫病(EHP)的组织病理学

在检查被对虾肠胞虫病 (EHP) 感染的来自越南的南美白对虾 (2014) 样本中发现肝胰腺小管上皮细胞的细胞质中存在嗜碱细胞内含物 (图1A&1B)。在这实验中, 孢虫呈现出原形体阶段, 成熟嗜碱性的孢子也被检测到。被对虾肠胞虫病 (EHP) 感染的来自文莱的蓝对虾 (2006) 也发现微孢子虫存在于肝胰腺 (图1C)。这些结果显示对虾肠胞虫病 (EHP) 早在2006年就存在在亚洲。

### 对虾肠胞虫病的聚合酶链反应





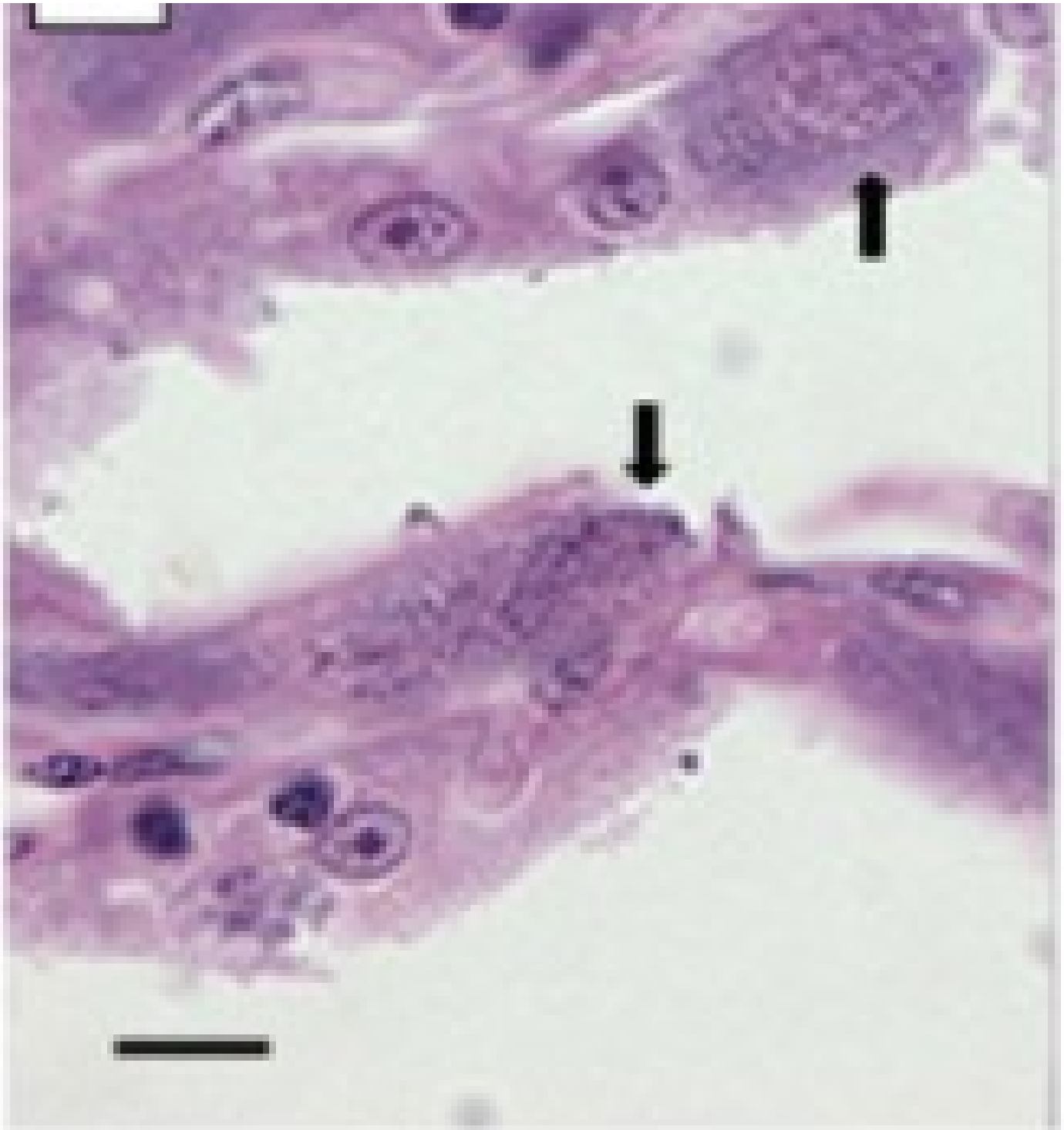
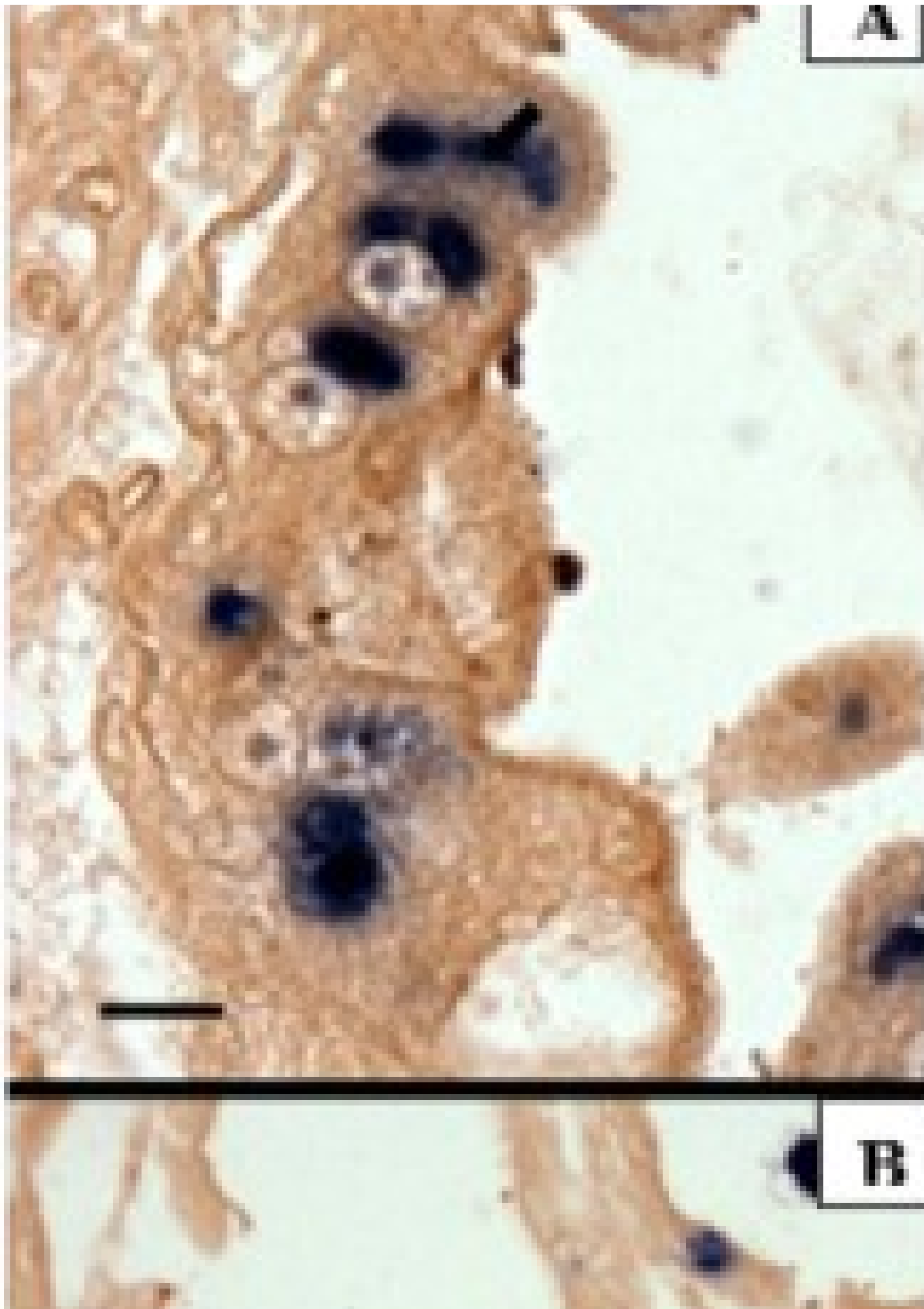
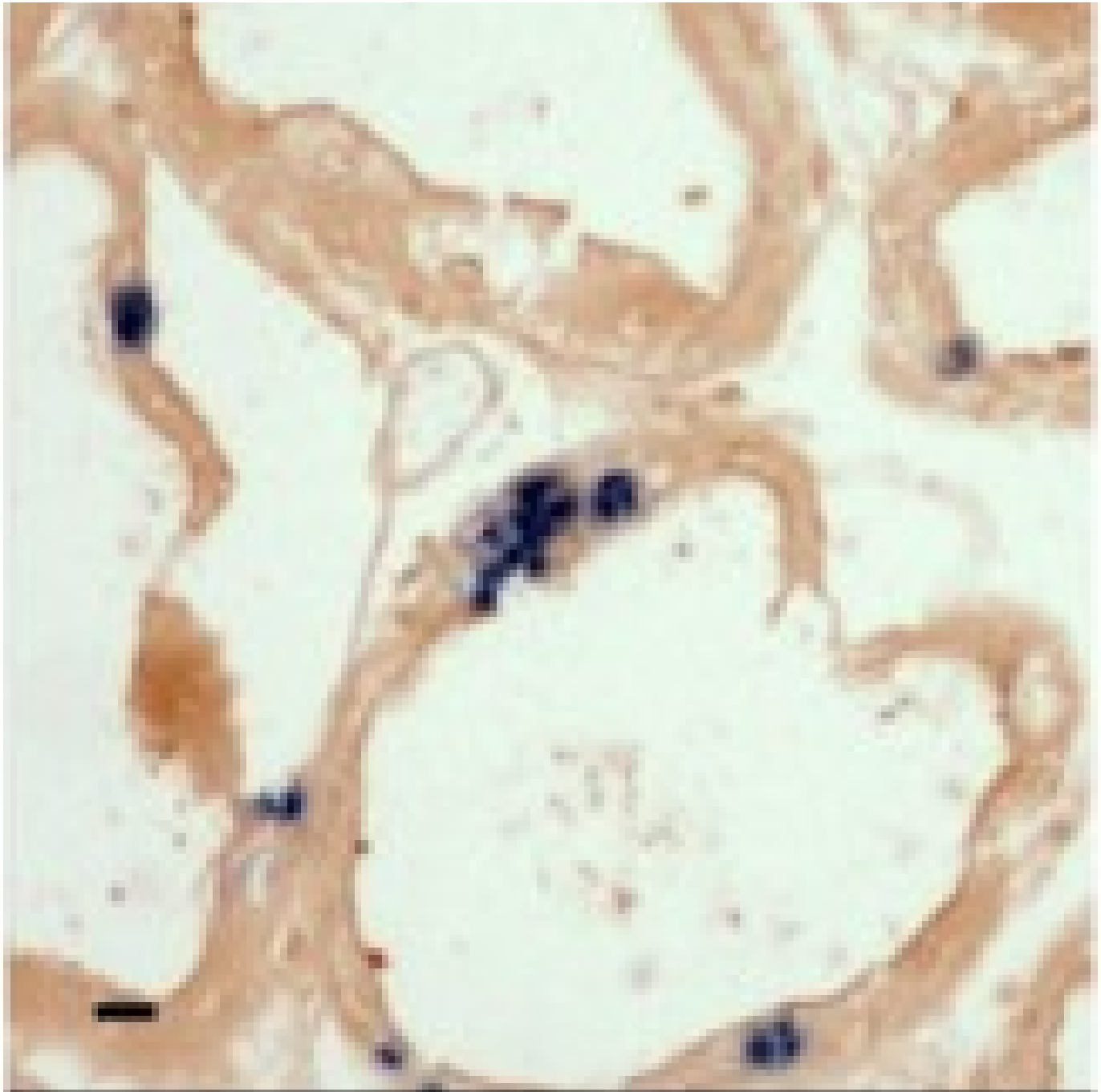


图1：对虾肠胞虫病(EHP)组织病理学显示在感染的对虾上。(A&B)南美白对虾的肝脏胰组织，(C)蓝对虾。箭头代表成熟的孢子；星星代表原形体阶段。(比例=25µm.)

我们选择用来检测对虾肠胞虫病 (EHP) 的染色体底物包括EHP-510F (5'-GCCTGAGAGATGGCTCCCACG) 和 EHP-510R (5'-GCGTACTATCCCCAGAGCCCG)。用已经受感染的对虾DNA提取物实施聚合酶链反应 (PCR)。结果显示这个聚合酶链反应能够检测出已受感染的对虾 (图2, 1-3行)；染病对虾的排泄物以及水质样本均被检测出感染对虾肠胞虫 (EHP) (图2, 4-5行)。同时我们也检测了另外两种寄生虫病原体：阿米巴虫和虾白肉病微孢子虫，然而这些对虾肠胞虫病 (EHP) 底物并没有与这两种病虫发生交叉反应 (图2, 6-7行)。







C

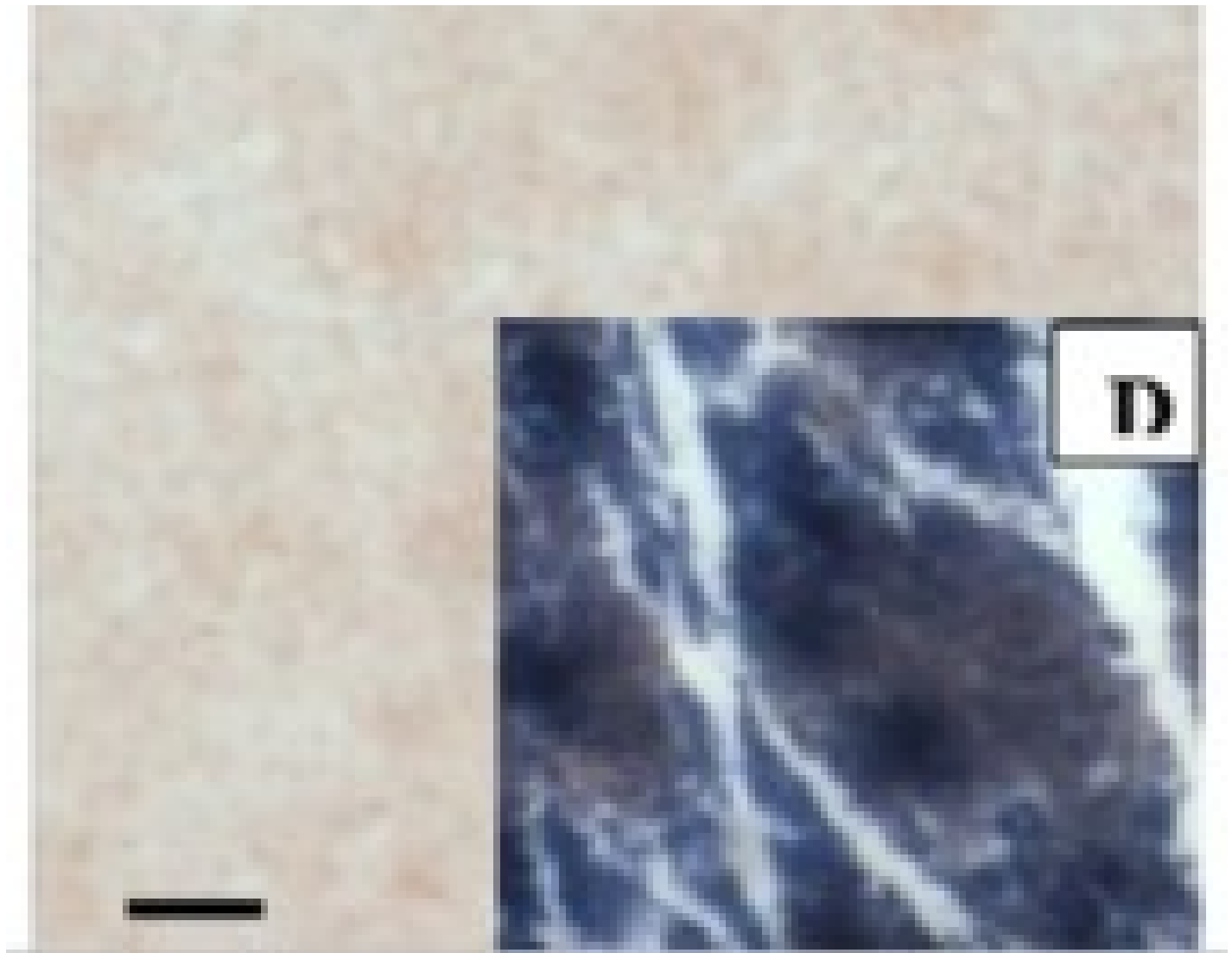


图4. 用地高辛标记法标记的对虾肠孢虫病(EHP)探针在对连续部位进行原位杂交。深蓝色沉淀物表示对虾肠孢虫病(EHP)的出现 (A) 用对虾肠孢虫病(EHP)探针在南美白对虾(越南)进行原位杂交; (B) 蓝对虾(文莱); (C) 斑节对虾表现出了白肉病症状(马达加斯加), 插入图片(D): 使用Perezia penaei探针的原位杂交。比例条 = 25  $\mu$ m。

令人意外的是, 我们从4/9的冷冻卤虫生物样本中检测出对虾肠孢虫病(EHP) (图2, 9行, 一个非常具有代表性的样本)。在这些对对虾肠孢虫病(EHP)呈阳性的样本中, 18S rRNA基因被扩充和重新排列。这个被修改的序列与来自越南的对虾肠孢虫病样本有99.9%的相似, 也就是说卤虫中所带有的对虾肠孢虫病病毒(EHP)很可能源自东南亚。

## 对虾肠孢虫病传播的研究

以上三个生物测定均使用来自泰国的已感染对虾肠孢虫病的对虾样本。在第一个生物测定(共栖组)中, 染病对虾被转移到实验缸中与用高弹性体标记的无特定病原体的对虾一起生活。35天后, 无特定病原体的对虾感染对虾肠孢虫病毒(图3A)。在第二个生物测定(水生感染组)中, 用曾饲养过染病对虾的水体转移到无特定病原体的对虾实验缸中。42天以后, 无特定病原体的对虾依旧没有感染病毒(图3A)。在第三个生物测定中, 用染病对虾的肝胰腺喂养无特定病原体的对虾, 每隔五天用聚合酶链反应(PCR)分析样本; 15天后, 无特定病原体的对虾感染病毒(图3B)。实验结果显示, 对虾肠孢虫病毒(EHP)可以通过嗜食同类传播。

## 原位杂交 (ISH)

通过用地高辛标记法标记的对虾肠孢虫病进行原位杂交, 染病的南美白对虾(图4A)和蓝对虾(图4B)显示微孢子(嗜碱性的内含物)存在于肝胰腺小管的上皮细胞中。实验中的探针具有非常高的识别敏锐性, 在已感染虾白肉病的斑节对虾中, 该探针无任何反应显示(图4C)。

## 结语

对虾肠孢虫病(EHP)在养殖对虾中的传播可能还会继续, 需要通过建立有效的方法来监控这种寄生虫的发病和传播。所以通过用敏锐的分子生物学方法去检测对虾, 活饵料和虾塘环境的对虾肠孢虫病(EHP)会非常有效。感染对虾肠孢虫病(EHP)的对虾通常不能被肉眼识别, 因为EHP不会呈现临床症状。本研究表明基于聚合酶链反应(PCR)和原位杂交(ISH)的检测方法和诊断步骤具有具体性和灵敏性, 可作为有效的常规诊断方法去检测对虾养殖群体, 池塘环境和对虾产品。

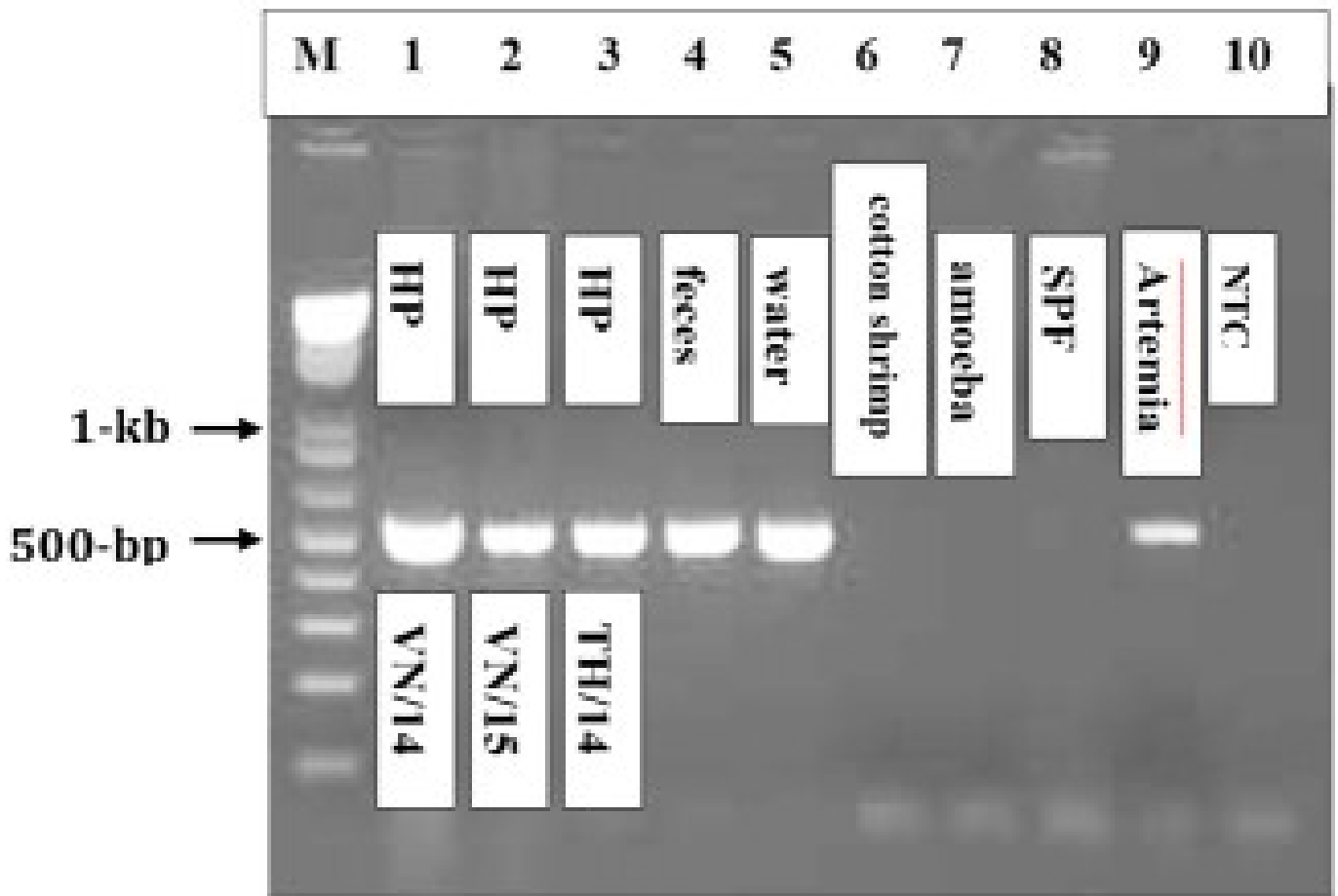


图2. 对虾肠胞虫病毒聚合酶链反应 (PCR) 检测对虾肠胞虫病毒 (EHP)。M: 1 kb 以上的阶梯型分子量标准。从越南收集来的南美白对虾样本 (第一行, 2014年样本; 第二行, 2015年样本) 和来自泰国 (3-5行, 无特定病原体对虾, 排泄物和水), 感染白肉病的斑节对虾 (第六行), 感染阿米巴虫的南美白对虾 (第七行), 无特定病原体的南美白对虾 (第八行), 卤虫生物样本 (第九行), 无操作对照组 (第十行)。

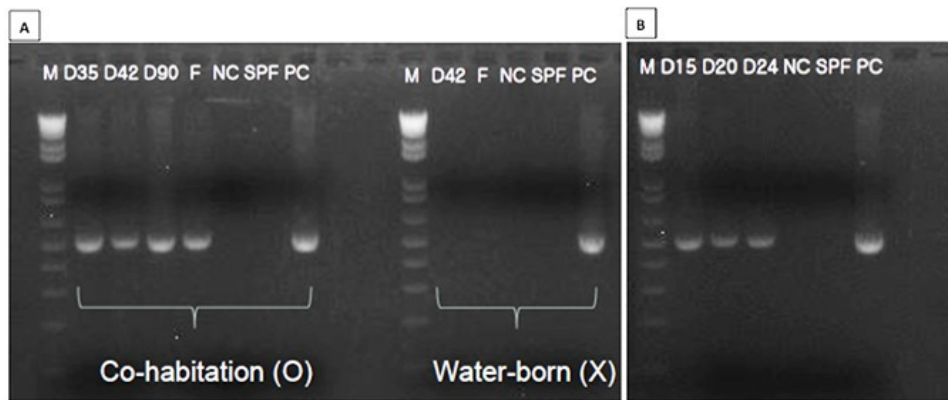


图3: 聚合酶链反应生物检测1, 生物检测2, 以及生物检测3的肝胰腺样本。(A) 35天后检测出共栖组存在EHP, 但是不能检测到水生感染组。(B) 15天后, EHP在 (嗜食同类) 被检测到。

Authors





**JEE EUN HAN, PH.D.**

Postdoctoral Research Associate  
School of Animal and Comparative Biomedical Sciences  
University of Arizona  
Tucson, AZ 85721 USA

[jeehan@u.arizona.edu](mailto:jeehan@u.arizona.edu) (<mailto:jeehan@u.arizona.edu>).



**KATHY F.J. TANG, PH.D.**

Associate Research Professor  
School of Animal and Comparative Biomedical Sciences  
University of Arizona  
Tucson, AZ 85721 USA

[fengjyu@email.arizona.edu](mailto:fengjyu@email.arizona.edu) (<mailto:fengjyu@email.arizona.edu>).



**DONALD V. LIGHTNER, PH.D.**

Professor Emeritus  
School of Animal and Comparative Biomedical Sciences,  
University of Arizona,  
Tucson, AZ 85721 USA

[dvl@u.arizona.edu](mailto:dvl@u.arizona.edu) (<mailto:dvl@u.arizona.edu>).

Copyright © 2023 Global Seafood Alliance

All rights reserved.