



ศึกษาการติดเชื้อร่วมระหว่าง *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) และเชื้อก่อโรคตายด่วน (EMS/AHPND) ต่อสภาวะความรุนแรงของโรคในกุ้งขาวแวนนาไม (*Penaeus vannamei* Boone, 1931)

อัมรา สันประเสริฐพร^{1*} จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ¹ อรอนงค์ คงทวี¹ และกิตติชนม์ อุเทนพะนันธุ์²

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา

² คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

รหัสทะเบียนวิทยากรประมง 61-1-0805-61022

บทคัดย่อ

การทดลองศึกษาการติดเชื้อร่วมระหว่าง *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) และเชื้อก่อโรคตายด่วน (EMS/AHPND) ต่อสภาวะความรุนแรงของโรคในกุ้งขาวแวนนาไม (*Penaeus vannamei*) โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 1 เป็นชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 เป็นกุ้งที่ติดเชื้อ EHP และชุดการทดลองที่ 3 เป็นกุ้งที่ติดเชื้อ EHP และเชื้อ Vp_{AHPND} เก็บตัวอย่างหลังแช่เชื้อ Vp_{AHPND} ที่ 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อตรวจปริมาณสปอร์ของเชื้อ EHP ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ปริมาณแบคทีเรียไวรัสโอ ปริมาณเชื้อ EHP ด้วยเทคนิค real time PCR การแสดงออกของยีนและอัตราการรอดตายหลังได้รับเชื้อ Vp_{AHPND} จากผลการทดลองพบว่า เมื่อนำกุ้งทั้ง 3 ชุดการทดลองมาตรวจปริมาณสปอร์ของเชื้อ EHP พบว่ากุ้งที่ติดเชื้อ EHP ร่วมกับเชื้อ Vp_{AHPND} มีปริมาณของสปอร์มากกว่าชุดที่ติดเชื้อ EHP เพียงอย่างเดียว และมีปริมาณสปอร์เพิ่มสูงขึ้นหลังรับเชื้อที่ระยะเวลานานขึ้น นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มไวรัสโอในกุ้งที่ติดเชื้อ EHP ร่วมกับเชื้อ Vp_{AHPND} มีปริมาณสูงกว่าชุดที่ติดเชื้อ EHP เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อนำมาตรวจสอบการติดเชื้อ EHP ด้วยเทคนิค real time PCR พบว่าในกุ้งกลุ่มควบคุมไม่พบเชื้อ EHP ส่วนกุ้งที่ติดเชื้อ EHP ร่วมกับเชื้อ Vp_{AHPND} ตรวจพบปริมาณเชื้อ EHP สูงขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ติดเชื้อ EHP เพียงเชื้อเดียว ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง จากการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real time PCR ทั้ง 3 ชุดการทดลองพบว่า ในชุดควบคุมมีระดับของยีน Trypsin, Chymotrypsin-A สูงกว่าชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ระดับการแสดงออกของยีน Prophenol oxidase, Penaeidin-3a และ Superoxide dismutase ในชุดที่ติดเชื้อ EHP มีระดับของยีนสูงกว่าชุดควบคุมและชุดที่ติดเชื้อร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่ากุ้งชุดควบคุมไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของตับและตับอ่อนสำหรับกุ้งชุดที่ติดเชื้อ EHP เพียงอย่างเดียว พบการหลุดลอกของเซลล์ตับและตับอ่อน R-cell ถูกทำลาย พบสปอร์ของ EHP ในตับและตับอ่อนเป็นจำนวนมาก และในชุดที่ติดเชื้อ EHP ร่วมกับเชื้อ Vp_{AHPND} พบการหลุดลอกของเซลล์ตับ พบ ATM (Aggregated transformed microvilli) และพบแบคทีเรียในเซลล์ตับเป็นจำนวนมาก

คำสำคัญ: กุ้งขาวแวนนาไม ไมโครสปอริเดียน โรคตับวายเฉียบพลัน ภูมิคุ้มกัน

*ผู้รับผิดชอบ: 130/2 หมู่ 8 ต. พะวง อ. เมือง จ. สงขลา 90100 โทร 074335245

E-mail: naphanang@gmail.com



Study of Co-infection between *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and EMS/AHPND on Diseases Conditions of White Shrimp (*Penaeus vannamei* Boone, 1931)

Ammara Sinpraseartporn¹ Jumroensri Thawonsuwan¹ Orn-anong Kongtawee¹ and Kittichon U-taynapun²

¹ Songkhla Aquatic Animal Health Research and Development Center

² Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya

Research ID: 61-1-0805-61022

Abstract

This study aimed to examine the impact of co-infection between *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and *Vibrio parahaemolyticus* (Vp_{AHPND}) causing Early Mortality Syndrome or Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (EMS/AHPND) on the severity of disease in White shrimp (*Penaeus vannamei*). White shrimp were co-challenged with EHP and combinations of EHP and Vp_{AHPND} under laboratory conditions. Hepatopancreas (HP) were collected on 0, 12, 24, 48 and 72 h post Vp_{AHPND} inoculation for EHP screening using microscopic examination, Vp_{AHPND} and EHP detection using Real time PCR, total vibrio count and histopathological analysis. Immune responses to EHP and Vp_{AHPND} infection were also assessed by analyzing the expression of immune related genes and antioxidant related genes were also examined using Real time PCR. We found that the co-infection between EHP and Vp_{AHPND} resulted in a significant increase in the number of EHP spores and total vibrio count compared to those only infected with EHP. We also revealed that the number of EHP spores under microscope and the EHP loads in the hepatopancreas from the co-infected shrimp significantly ($p<0.05$) increased with increasing Vp_{AHPND} inoculation period when compared to single EHP infected at 24 and 48 h. The expressions of immune genes revealed a significant ($p<0.05$) high levels of Trypsin and Chymotrypsin-A in the control shrimp compared to the EHP-infected shrimp and coinfecting shrimp while there was a significant high ($p<0.05$) levels of Prophenol oxidase, Penaeidin-3a and Superoxide dismutase in the EHP-infected shrimp compared to the control shrimp and coinfecting shrimp. Histopathological analysis revealed sloughing of HP tubule epithelial cells, absence of normal epithelia containing R-cells and presence of high number of EHP spores in HP of EHP-infected shrimp and sloughing of HP tubule epithelial cells, aggregated transformed microvilli (ATM) and a high level of bacterial load in HP of coinfecting shrimp. And it was also found that shrimp infected with single EHP infected higher survival rate than shrimp infected with co-infection between EHP and Vp_{AHPND} .

Keywords: *Penaeus vannamei*, Microsporidian (*Enterocytozoon hepatopenaei*), Vp_{AHPND} , immunity

*Corresponding author: 130/2 Tinnasulanon Rd., Pawong, Muang, Songkhla 90100 Tel. +6674335244-5

E-mail: naphanang@gmail.com