

آشنایی با میکروسپوریديازيس هپاتوپانکراس (سندروم مدفوع سفید میگو)

مریم میربخش و بابک قائدنيا

maryam.mirbakhsh@gmail.com

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

نوپدید در صنعت میگوی پرورشی می باشد که تهدیدی جدی در کشورهای جنوب شرق آسیا محسوب می گردد و هرروزه شاهد افزایش گزارش این سندروم همراه با ضرر اقتصادی ناشی از آن هستیم (Ha et al., 2010; Thitamadee et al., 2016).

عامل سندروم:

عامل عفونی برای این سندروم هنوز گزارش نشده است ولی بر اساس انتشار سریع آن، احتمال یک عامل واگیر وجود دارد. باکتری های ویبریو، اجتماع میکروویلی های تغییر شکل یافته (ATM^۲) و گرگارین مانند توام با این سندروم در تایلند گزارش شده است و تک یاخته انگلی به نام انتروسایتوزون هپاتوپنیی از میگوهای پنئوس مونودون و لیتوپنئوس وانامی در کشورهای ویتنام، تایلند و هند گزارش شده است. این تک یاخته از شاخه میکروسپوریديازيس بوده و انگل های اجباری درون سلولی می باشد (Wittner and Weiss 1999). انتروسایتوزون هپاتوپنییتک یاخته انگلی اسپوردار درون سلولی است که در محوطه سیتوپلاسمی سلول های مجاری اپیتلیال هپاتوپانکراس تکثیر می نماید (Tourtip et al., 2009; Tangprasittipap et al., 2015; Tang et al., 2013) و در چرخه زندگی دو فرم ظاهری دارد: مرحله مرون^۳ و مرحله اسپور (تصویر ۱). مرون ساختار سلولی ساده ای دارد. غشای پلاسمایی در ارتباط مستقیم با سیتوپلاسم میزبان است و شواهدی وجود دارد که انگل از اندامک های درون سلولی میزبان

انتروسایتوزون هپاتوپنیی^۱ انگل اجباری اسپوردار درون سلولی از شاخه میکروسپوریديازيس و عامل سندروم نوپدید میکروسپوریديازيس هپاتوپانکراس یا سندروم مدفوع سفید میگو^۲ در صنعت میگوی پرورشی خانواده پنائیده می باشد که در بسیاری از کشورهای آسیایی جنوب شرقی مانند چین، ویتنام، تایلند، اندونزی، هند و مالزی از میگوهای پرورشی جداسازی و گزارش شده است و امکان آلوده کردن لیتوپنئوس وانامی، مارسوپنئوس ژاپونیکوس و پنئوس مونودون را دارد. عفونت صرفا با انجام مطالعات آسیب شناسی و مشاهده اینکلوزن بازوفیلیک به همراه مقادیر زیاد اسپور بیضی شکل و روش های مولکولی تأیید می شود. در این سندروم علائم بالینی خاصی مشاهده نمی شود ولی افزایش ضریب تبدیل غذایی، تنوع سائز در هنگام برداشت میگوها و مدفوع سفید در کناره استخرهای درگیر گزارش شده است و احتمال حضور عوامل باکتریایی به همراه این تک یاخته وجود دارد. به دلیل آثار اقتصادی این بیماری نوپدید، آگاهی از علائم هشدار دهنده و روش های تشخیص برای پرورش دهندگان ضروری است.

واژگان کلیدی: میگو، بیماری نوپدید، سندروم مدفوع سفید، انتروسایتوزون هپاتوپنیی، میکروسپوریديازيس هپاتوپانکراس

مقدمه

سندروم میکروسپوریديازيس هپاتوپانکراس یا سندروم مدفوع سفید میگو، یک بیماری

سندروم
میکروسپوریديازيس
هپاتوپانکراس یا
سندروم مدفوع
سفید میگو، یک
بیماری نوپدید
در صنعت میگوی
پرورشی می باشد
که تهدیدی جدی
در کشورهای جنوب
شرق آسیا محسوب
می گردد.

1. (EHP) Enterocytozoonhepatopenaei,
2. WFS, White Feces Syndrome

3. Aggregated Transformed Microvilli
4. meront



گونه‌های حساس به بیماری

پنئوس مونودون، مارسوپنئوس ژاپونیکوس، لیتوپنئوس وانامی

روش تشخیص

۱- مشاهده مستقیم

تهیه اسمیر از هیاتوپانکراس میگوی مشکوک در محلول حاوی کلرید سدیم ۲/۸ درصد و فرمالین ۱۰ درصد و مشاهده اسپورها توسط میکروسکوپ

نوری

مقایسه مدفوع میگوی سالم با مدفوع سفید:

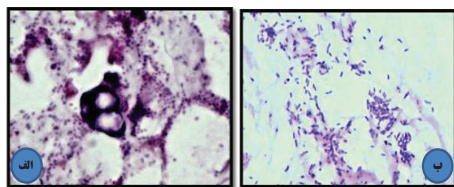
مدفوع سفید مشاهده شده در آب استخر، مدفوع واقعی نیست و در واقع مجموعه ای از اسپورهای انتروسایتوزون هیاتوپنئی، مخاط روده، باکتری‌های میله‌ای شکل (شبهه گون‌های ویبریو) و سلول‌های اپیتلیال نکروز شده مجاری هیاتوپانکراس است. همچنین مدفوع سفید راحت‌تر از مدفوع نرمال قطعه قطعه می‌شود.

۱. علائم آسیب شناسی

۱. آزمایشات آسیب شناسی نمونه مدفوع

سفید:

بسته های حاوی اسپورهای متراکم، رسیده و بازوفیل که با محتویات شبه موکوسی مخلوط است در نمونه ها قابل مشاهده است علاوه بر اسپورها مقادیر زیادی باکتری نیز دیده می‌شود (تصویر ۳- الف و ب)

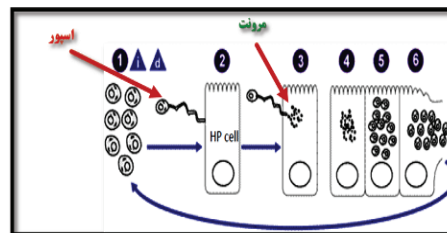


شکل ۳- الف- اسپورهای رسیده بازوفیل (بزرگنمایی X ۶۰) ب- وجود باکتری در مدفوع سفید (Kathy (F.J., et al., 2016

۲- آزمایشات آسیب شناسی هیاتوپانکراس:

در رنگ آمیزی همتاکسیلین-آئوزین، اینکلوزن بازوفیلیک مربوط به انتروسایتوزون هیاتوپنئی به همراه مقادیر زیاد اسپور بیضی شکل، مشاهده

به عنوان منبع غذایی استفاده می‌نماید. اسپور دارای دیواره ضخیم و مقاومی است که سبب بقای انگل در محیط خارج می‌گردد همچنین دارای ابزار خارج شونده‌ای است که سبب تهاجم و انتقال مستقیم اسپور و پلاسم به سیتوپلاسم میزبان می‌گردد.



شکل ۱- چرخه زندگی انتروسایتوزون هیاتوپنئی

در این سندروم اگرچه هیاتوپانکراس به صورت مستقیم سیستم ایمنی را درگیر نمی‌کند اما کاهش مواد غذایی و مصرف انرژی ناشی از عفونت EHP سبب تضعیف سیستم دفاعی کل میگو می‌گردد (Pascual et al., 2006).

علائم بالینی

استخرهای میگوی درگیر این سندروم علائم زیر را دارند:

۱. رشد کم
۲. افزایش ضریب تبدیل غذایی
۳. رشد منفی
۴. تنوع زیاد سایز میگوها زمان برداشت و مشاهده مدفوع سفید در استخر (تصویر ۲ الف و ب)



شکل ۲- الف- تنوع زیاد سایز میگوها در زمان برداشت ب- مشاهده مدفوع سفید در استخر (Srinivas, D., et al., 2016)

اسپور دارای دیواره ضخیم و مقاومی است که سبب بقای انگل در محیط خارج می‌گردد همچنین دارای ابزار خارج شونده‌ای است که سبب تهاجم و انتقال مستقیم اسپور و پلاسم به سیتوپلاسم میزبان می‌گردد.

۳- تشخیص مولکولی:

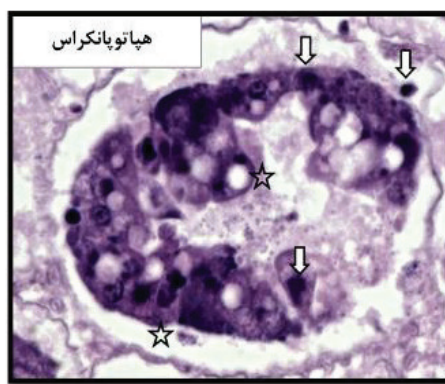
تکنیک‌های واکنش زنجیره ای پلیمرز^۱ و هیبریدیزاسیون در جایگاه^۲ (ISH) اولین بار در سال ۲۰۰۹ برای تشخیص این سندروم ارائه شد. امروزه تکنیک های Nested PCR، Real time PCR و LAMP^۳ برای تشخیص این سندروم توصیه می‌شوند (Kathy F.J., et al., 2016).

فهرست منابع

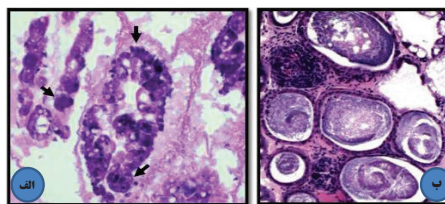
1. Ha, N.T., Ha, D.T., Thuy, N.T., Lien, V.T.K., 2010. Enterocytozoon hepatopenaei parasitizing on tiger shrimp (Penaeus monodon) infected by white feces culture in Vietnam, has been detected (in Vietnamese with English abstract). Agric. Rural Dev. Sci. Technol. 12, 45-50.
2. Kathy F.J. Tang, JeeEun Han, Luis Fernando Aranguren, Brenda White-Noble, Margeaux M. Schmidt, Patharapol Piamsomboon, Eris Risdiana, Bambang Hanggono., 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.
3. Kmmari., S., Rathlavath., S., Pillai., D., R., Gadasu., 2018. Hepatopancreatic Microsporidiasis (HPM) in Shrimp Culture: A Review. Int.J.Curr. Microbiol.App.Sci. 7(01): 3208- 3215.
4. Rajendran, K.V., Shivam, S., EzhilPraveena., P., Joseph SahayRajana., J., Sathish Kumar., T., Avunje., S., Jagadeesan, V., Prasad Babu., S.V.A.N.V., Pande.,

می‌شود. در برخی موارد اسپورهای آزاد شده از سلول‌های لیز شده در مجاری دیده می‌شود. به دلیل ساینز کوچک اسپورها توصیه می‌شود از لنز روغنی و بزرگنمایی ۱۰۰X استفاده شود (تصویر ۴).

سلول‌های اپیتلیال مجاری هیاتوپانکراس حجیم شده و با تعداد زیادی از سلول‌های اسپور پر می‌شوند و از غشای پایه جدا می‌شوند همچنین آلودگی سلول‌های روده نیز دیده شده است. در بسیاری از موارد نکروز عفونی هیاتوپانکراس (SHPN) نیز مشاهده می‌شود (تصویر ۵ - الف و ب)



شکل ۴- مقطع آسیب شناسی بافت هیاتوپانکراس آلوده به EHP، ستاره: اسپور رسیده، فلش: اینکلوزن‌های درون سیتوپلاسمی (Kathy F.J., et al., 2016)



شکل ۵- الف- جدا شدن سلول‌های اپی تلیال هیاتوپانکراس از غشای پایه با فلش نمایش داده شده است، ب- وجود باکتری و انکلوزن بازوفیلیک در هیاتوپانکراس (Kathy F.J., et al., 2016)

سلول‌های اپیتلیال مجاری هیاتوپانکراس حجیم شده و با تعداد زیادی از سلول‌های اسپور پر می‌شوند و از غشای پایه جدا می‌شوند.

1. polymerase chain reaction
2. in situ hybridization

3. Loop-Mediated Isothermal Amplification



9. Tourtip, S., Wongtripop, S., Stentiford, G.D., Bateman, K.S., Sriurairatana, S., Chavadej, J., Sritunyalucksana, K., Withyachumnarkul, B., 2009. *Enterocytozoonhepatopenaei* sp. nov. (Microsporida: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): fine structure and phylogenetic relationships. *J. Invertebr. Pathol.* 102, 21–29.
10. Wittner, M., Weiss, L.M., 1999. *The Microsporidia and Microsporidiosis*. ASM Press; 371 Washington, DC.
- Navaneeth Krishnan., Alavandi., S.V., Vijayan., K.K., 2016. Emergence of *Enterocytozoonhepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* in India., *Aquaculture* 454, 272–280.
5. Srinivas, D., Venkatrayalu, Ch., Laxmappa, B., 2016. Identifying diseases affecting farmed *Litopenaeusvannamei* in different areas of Nellore district in Andhra Pradesh, India., *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*; 4(2): 447- 451.
6. 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 *Enterocytozoonhepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *J. Invertebr. Pathol.* 130:37- 41.
7. Tangprasittipap, A., Srisala, J., Chouwdee, S., Somboon, M., Chuchird, N., Limsuwan, C., Srisuvan, T., Flegel, T.W., Sritunyalucksana, K., 2013. The microsporidian *Enterocytozoonhepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. *BMC Vet. Res.* 9:139–9,148.
8. Thitamadee, S., Prachumwat, A., Srisala, J., Jaroenlak, P., Salachanb, P.V., Sritunyalucksana, K., Flegel, T.W., Itsathitphaisarn, O., 2016. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture* 452, 69–87.