

草鱼出血病病毒人工感染稀有鮡鲫 出血病鱼的组织病理观察

王铁辉 易咏兰 陈宏溪 刘汉勤 郭 文
(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

草鱼出血病病毒人工感染稀有鮡鲫出血病病鱼组织病理切片观察, 发现肌肉系统血外渗, 出现微血栓, 红血球浸润于肌纤维之间; 鳃小片上皮细胞增生和肥大导致相互融合, 血外渗和红血球裂解, 形成微血栓和血泡; 肠上皮细胞脱落, 红血球散布于整个肠壁; 肝细胞肥大和细胞实质空泡化, 细胞间隙增大; 脾组织黄褐色的“小结”增多。而对照鱼未出现上述变化, 说明这些病理变化确由 GCHV 感染所致。

关键词 稀有鮡鲫, 出血病, 草鱼出血病病毒, 组织病理观察

草鱼出血病是危害我国淡水渔业的严重的病毒性疾病, 该病由草鱼出血病病毒 (Hemorrhagic virus of Grass carp, GCHV) 引起。为了加速抗病毒育种研究的进程, 我们选用稀有鮡鲫 (*Gobiocypris rarus* Ye et Fu) 作为草鱼抗出血病育种研究的实验模型动物。这种鱼具有个体小、世代周期短、连续产卵、易于饲养和对 GCHV 敏感等特点。稀有鮡鲫的繁殖生物学、对 GCHV 的敏感性、感染方法及稀有鮡鲫出血病的细胞病理学观察等已有报道^[1-4], 本文报道稀有鮡鲫出血病病鱼的组织病理学观察。

1 材料和方法

稀有鮡鲫为本组人工繁殖并饲养于室内水箱的 4—6 月龄鱼, 体表健康, 无传染病史。草鱼出血病病毒为 GCHV-861 株^[1]。病毒感染用浸泡或高渗浸泡法^[2]。感染后, 饲养于 28℃ 的去氯自来水中, 实验鱼在 5—12d 内出现典型的出血病症状, 发病死亡率高峰在 6—8d。取临近死亡或刚死亡的病鱼进行临诊观察, 并解剖取其肌肉、鳃、肠道、肝、脾、肾组织, 用 Bouin's 液固定, 石蜡包埋, 5—7μm 切片用 H. E 染色。

2 结果

2.1 临诊病理观察

经人工感染后的病鱼, 肌肉一般呈点状或斑块状充血, 且充血块逐渐增大, 病鱼身体

发黑,离群独游,直至死亡。濒死或刚死的病鱼,鱼体肌肉、鳃盖、鳍基部和吻端等部位充血或呈红色,鳃丝充血或苍白,病鱼的内脏一般苍白或淡黄;脾肿大,有的还有腹水;肠道呈红色或紫红色,明显有别于正常鱼。

2.2 病理观察

病鱼的肌肉、鳃、肠道、肝脏、脾脏、肾脏等组织切片鉴定分析结果表明,在这些组织中除了肾脏组织未见明显的组织病变外,其余组织均有不同程度的病理变化,分述如下。

2.2.1 肌肉 肉眼观察,病鱼的背部肌肉组织斑块状充血或呈红色,组织切片观察,肌肉系统出现血外渗和微血栓,红血球浸润于肌纤维之间;在严重充血的个体上见有因血外渗和红血球裂解形成的大块的血栓和血泡[图版 I:1,2]。

2.2.2 鳃 肉眼观察,临死或刚死的病鱼鳃丝一般都有不同程度的充血,未充血的鳃丝颜色苍白。切片观察,可见鳃小片毛细血管扩张和上皮细胞增生与肥大,导致鳃小片的相互融合,血外渗,红血球浸润于鳃小片之间[图版 I:3,4]。血管里聚集着大量的红血球,形成微血栓,血外渗等使之表现为充血和出血。

2.2.3 肠道 切片观察,肠道早期病变表现为少量上皮细胞脱落,肠腔中有纤维样物质和少量的红细胞。另一种表现为肠道广泛充血,红血球散布于整个肠壁,粘膜层出现轻度的变性[图版 I:5, 6; 图版 II:7]。

2.2.4 肝脏 肉眼观察,有的病鱼肝点状充血,有的颜色泛黄或苍白。切片观察,肝细胞肥大,细胞间隙增大,肝细胞实质空泡化,细胞解体,形成肝细胞的局灶性坏死(图版 II:8—10)。

2.2.5 脾脏 从病鱼的脾组织切片观察结果来看,部分脾组织被含有大量不规则的以黄色为主,并伴有少许棕色的“小结”所占据,这种“小结”无细胞结构而具细胞痕迹。在有的切片上,一个视野中几乎全是这种黄色“小结”,或是在整个切片上成片出现,或者散布于整个脾组织细胞间,其数量要比正常鱼的显著增加,显然,这是造血组织病变的特征(图版 II:11,12)。

3 讨论

GCHV 人工感染稀有鮡鲫,使之发生出血病死亡。其组织病理观察表明,肌肉组织充血,呈现微血栓和血泡;鳃组织血外渗,在鳃小片间充塞着大量的红细胞,鳃小片上皮细胞增生和肥大,导致鳃小片之间的相互融合;肠道组织上皮脱落,血外渗,红血球散布于肠壁,粘膜层败坏;肝细胞实质空泡化,乃至部分肝组织细胞变性坏死;脾组织出血,黄色“小结”的量急增。这些病变特征与 GCHV 感染草鱼后,发生的红肌肉型和肠炎型出血病病鱼的病理变化十分相似^[6],而且这些病变在正常鱼相应组织中基本未观察到。这表明,这些组织病理变化是由于 GCHV 感染所致。

红血球之衰老者(用 H. E 染色,黄色细胞即为衰老者)在脾内破碎,为淋巴细胞(吞噬细胞)所吞噬,以至消失^[6-7]。据此分析,我们在脾组织中观察到的以黄色为主,伴有少许棕色的“小结”,可能是衰老的红血球。脾脏是鱼体的造血和灭血器官,血窦中有红血球和巨噬细胞等,正常脾脏中巨噬细胞也可以吞噬衰老的红细胞,分解血红蛋白后可成黄棕色“小结”。当病鱼脾脏组织局部血外渗后,巨噬细胞便聚集而吞食之,并分解血红蛋白成

黄棕色的混合“小结”。在病鱼脾脏中,这种黄色小结的猛增,可能是脾组织结构破坏和出血的结果。

稀有鮑鲫出血病细胞病理学研究表明:在病鱼的鳃、肠道和肾脏组织细胞中观察到成片的病毒颗粒,它们是 GCHV 侵袭的主要器官;在肝脏和肌肉组织中未见到病毒颗粒;在脾脏中虽然见到散在的病毒颗粒,认为脾脏并非 GCHV 侵袭的主要器官,这些病毒颗粒可能是其中巨噬细胞吞食而来。在病鱼的鳃、肠道、肝脏、脾脏和肌肉组织中观察到明显的组织病理变化,而在肾脏中未见明显的病变,这可能与我们所用的感染方法有关,在浸泡感染时,鱼体首先接触病毒的部位应是鳃、皮肤和肠道。而肾脏是继发感染部位。很明显, GCHV 的感染会导致感染细胞的裂解和组织坏死,从而激活机体的免疫系统消除(异物)病毒和坏死的自身组织。由于病毒的大量繁殖,机体免疫系统不足以清除所有异物,引起血液外渗和造血系统的成分和功能的变化。由于出血过多,形成微血栓和血液的淤积,阻碍血液循环,使正常代谢功能失调,从而引起各脏器的病变,失去造血组织应有的机能,最终导致病鱼的死亡。

参 考 文 献

- [1] 王铁辉等。稀有鮑鲫对草鱼出血病毒敏感性的初步研究。水生生物学报, 1994, **18**(2): 144—149。
- [2] 王铁辉等。草鱼出血病毒高渗浸泡感染稀有鮑鲫的研究。当代微生物研究进展, 武汉, 武汉大学出版社, 1995: 344—349。
- [3] 王铁辉等。草鱼出血病毒人工感染稀有鮑鲫出血病鱼主要器官组织的细胞病理学观察。水生生物学报, 1993, **17**(4): 343—346。
- [4] 王剑伟。稀有鮑鲫的繁殖生物学。水生生物学报, 1992, **16**(2): 165—174。
- [5] 郑德崇等。草鱼出血病的组织病理研究。水产学报, 1986, **10**(2): 151—159。
- [6] W. E. 里贝林, G. 三垣著(华鼎可,李耀祖编译)。鱼类病理学。北京: 农业出版社。1981。
- [7] 秉志。鲤鱼组织。北京: 科学出版社。1983。

HISTOPATHOLOGICAL OBSERVATION ON HEMORRHAGIC RARE MINNOW (*Gobiocypris rarus*) INFECTED ARTIFICIALLY WITH HEMORRHAGIC VIRUS OF GRASS CARP

Wang Tiehui, Yi Yonglan, Chen Hongxi, Liu Hanqin and Guo Wen

(*Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072*)

Abstract

This paper describes the histopathological changes in the tissues of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) with hemorrhage caused by artificial infection of hemorrhagic virus of grass carp (GCHV). Extravasation, microthrombi and erythrocyte infiltration in the myofiber appeared in the muscular system of the diseased fish. In the gill, the hyperplasia and hypertrophy of branchial epithelial cell led to the fusion of the secondary lamellae; the extravasation and rupture of erythrocyte result the formation of thrombi and blood bubble. The intestinal epithelial dropped and erythrocyte scattered all over the mucous membrane and intestinal intima. The hepatic cell hypertrophy, hepatic parenchyma bubbling and enlargement among the gap of hepatic cells were found in the liver section of the diseased fish. Yellow-brownish nods increased in the spleen section. The results above indicate that the histopathological change is the results of GCHV infection, and rare minnow is sensitive to GCHV.

Key words Rare minnow (*Gobiocypris rarus*), Hemorrhage, Hemorrhagic virus of grass carp, Observation on histopathology