



## 中华鳖病毒病的组织病理研究\*

张奇亚 李正秋

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

### HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON VIRAL DISEASE OF SOFT-SHELLED TURTLE *TRIONYX SINENSIS*

Zhang Qiya and Li Zhengqiu

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

**关键词** 中华鳖, 病毒, 组织病理, 病毒病

**Key words** Chinese Soft-shelled turtle, virus, Histopathology, Viral disease

近年来,迅速发展中的中华鳖养殖业,由于遭受原因不明、按常规方法又难以控制的突发性病害袭击而受到重创,此种现象在全国各地均普遍发生<sup>[1,2]</sup>。每年初春和夏末,中华鳖有两次发病高峰期,死亡率极高,经济损失惨重。1995年秋季,我们从患有典型病症、濒于死亡的病鳖中,首次分离出了一种病毒,将其暂称之为“中华鳖病毒”(Trionyx sinensis virus, 缩写为 TSV)。它是一种直径为 30nm 的球形病毒<sup>[3]</sup>,可在培养细胞中增殖引起细胞病变,不产生包涵体。将 TSV 回接感染健康的鳖,可诱发同样的病症并导致鳖的死亡(另文报道)。经初步调查,许多地方和养殖场的中华鳖都不同程度地被病毒所侵染。为了了解 TSV 对中华鳖的致病过程及其致病机理,分别对受 TSV 天然和人工感染了病鳖的肝、脾、肾、心、肠、肺 6 种器官进行了解剖学和组织病理学观察,并与健康鳖的相应器官组织进行了比较。本文报道这一研究结果。

#### 1 材料与方法

**1.1 自然发病的鳖** 取自湖北、湖南、江西等地的养殖场,鳖已有病症表现,体重为 100—1000g。

**1.2 TSV 人工感染发病的鳖** 选择健康、体重为 30—50g 的幼鳖,在本实验室注射 TSV 后,1—3 周内发病的鳖。

**1.3 健康正常鳖** 购自武汉市大东门集贸市场和武汉市的一个中华鳖养殖场。体重在 30—500g 之间。

\* 本研究得到中国科学院院长特别基金、“淡水生态与生物技术”国家重点实验室和湖北省自然科学基金的资助。

1996年8月17日收到;1997年4月21日修回。

**1.4 显微观察** 将病鳖迅速处死后随即解剖,进行病理检查,取出组织,剪成米粒大小的碎块,用 Bouin 氏液固定过夜,石蜡包埋,以  $5\mu\text{m}$  的厚度切片,脱蜡,经苏木精-伊红染色、封片后,对制作好的组织切片进行显微观察<sup>[4]</sup>,同时与正常鳖的组织切片进行比较。

## 2. 结果

**2.1 病鳖的体表症状** 发病之初的病鳖背甲或腹甲有许多小出血点,有的鳖因腹甲布满细小的出血点而呈红色(红底板)。接着,在体表任何部位均可出现出血性溃疡,随病情加重,溃疡由少量,小面积而扩大变多,并向体表深层发展,直至出现穿孔等重症。

**2.2 病鳖的体内症状** 经解剖观察发现:病鳖的肝、脾、肠等充血,在肝的被膜下有大小形状不一的出血区;肝、脾、胆明显肿大,特别是肝肿大后,有的可超过正常等体重鳖肝的 1.5—2 倍;肠腔中空无食物,亦无黄色粘液;肿大充血的肝、脾、肾等组织失去弹性,而且易碎;胆管增生。解剖经人工感染病毒尚未出现体表症状的鳖,发现最早出现病变的器官为肝和脾,肝的最初病症为肝尖被膜下有细小的出血点,随着病情加重,出血点扩大增多,甚至布满整个肝脏表面;脾的起始症状是肿大、充血,病变严重的脾组织失去弹性,易碎。

### 2.3 6 种器官的组织病理变化

**2.3.1 肝** 在正常鳖肝组织的切片中,肝细胞呈多角状,它们排列密集,形成网状,很有规律。在肝细胞网状结构体的中间有毛细血管分布(图版 I :1)。

在病鳖的肝组织内,局部大量炎性细胞浸润,染色加深;肝细胞核浓缩,细胞及细胞索结构模糊不清,排列无序,有些区域的细胞致密堆积,而另一些区域细胞萎缩坏死,排列稀疏,组织的结构发生改变(图版 I :2)。毛细血管壁明显增厚、变硬、内皮和结缔组织受损,微血栓形成,呈玻璃样变(图版 I :3)。

**2.3.2 脾** 脾是造血器官。正常鳖的脾脏组织由规则排列的脾髓组成,其中除淋巴细胞外,有大量红细胞及结缔组织原纤维;由毛细血管形成中空的脾窦,脾窦周围都是分布均匀的脾细胞(图版 I :4)。

在被病毒侵染的鳖脾组织中,观察到两种形式的病变,其一是在脾的结缔组织中,局部形成了类粘液状堆积物,使其它部位的细胞因而变得稀疏,纤维细胞与胶原纤维之间的距离增大,形成空洞(图版 I :5);另一种形式的病变是凝固性坏死,脾中造血组织的细胞发生核固缩、核碎裂,形成许多大小形状不一的坏死灶,随着病情发展,坏死组织进一步凝固崩解,坏死灶增多变大,直至使脾组织完全失去原有的组织结构(图版 I :6)。

**2.3.3 肾** 正常肾中的马氏小体为一圆囊,其壁极薄,是单层扁平细胞所形成的上皮组织。与马氏小体相连的管状物是肾小管,组成肾小管的上皮细胞呈立方状或长方状。在横切或斜切的组织切片中,可见许多或圆或椭圆的腔,围绕着腔的细胞排列有规律,其细胞质稀薄,近于透明。细胞核在细胞的中部,圆状或稍长(图版 I :7)。

对病鳖的肾组织切片观察表明,肾小球毛细血管扩张,有些肾小球萎缩,肾小囊腔的大小发生改变,还有些肾小球坏死解体,近曲小管上皮细胞发生颗粒变性和滴状玻璃样变(图版 I :8);颗粒游走细胞增加(图版 I :9)。

**2.3.4 心** 正常鳖的心脏切片由排列整齐的肌束交织而成。肌细胞的核呈棒状,其周围有少量原生质。肌纤维与肌纤维之间、肌束与肌束之间有复杂的结缔组织相联(图版 I :10)。

对病鳖心脏切片的观察发现:其心肌纤维之间有大量的红细胞浸润(图版 I :11),病变早期心肌纤维肿大;随着病情发展,细胞核消失、肌纤维排列紊乱、断列,呈变形和坏死变化(图版 I :12)。

**2.3.5 肠** 鳖肠约为鳖体长的 4—5 倍。整个肠内部上皮组织大致相似。肠前部较阔,内面褶皱层深,隐窝窄,褶与褶可相连形成网状;肠的中部和后部褶的深度及复杂状况渐减。在正常鳖肠的横切片中,其褶皱层的上皮细胞呈柱状,细胞核椭圆,细胞在褶顶展列如扇状(图版 I:13)。

从病鳖肠的横切片中可看到其肠壁组织的病变以粘膜层最为突出,其它各层组织亦受到损害(图版 I:14)。粘膜褶上皮细胞坏死解体、肠绒毛断裂、固有层的毛细血管扩张充血,肠腔中有大量坏死解体的肠上皮细胞和红细胞(图版 I:15)。

**2.3.6 肺** 肺是鳖的呼吸器官。肺表面为上皮组织所包围,下面是结缔组织,其中有横纹肌,毛细血管很丰富。在正常鳖肺的组织中,细胞呈立方状或多角状,细胞核为圆或椭圆,有粘液细胞分布于上皮组织中。上皮细胞的原生质嗜酸性,经伊红染色着色很深(图版 I:16)。

病鳖肺表面的上皮细胞核碎裂,细胞坏死、消失,组织结构发生改变,肺叶边缘模糊不清(图版 I:17);局部组织钙化,新生肉芽组织可将钙化组织包裹起来(图版 I:18)。

### 3. 讨论

与正常鳖比较,感染了病毒的鳖的肝、脾、肾、心、肠、肺等器官的组织和细胞均不同程度地受损。对近百例病鳖的解剖观察发现,肝和脾发生严重病变的鳖最为常见,约占观察总数的 85% 以上;对 6 种器官的组织病理切片进行显微观察的结果同样证实,肝和脾的病变程度也较其它组织尤为严重。这说明肝和脾是中华鳖病毒(TSV)重要的靶组织。肝和脾的细胞在感染病毒后,复制扩增的病毒可通过血液循环系统扩散到其它组织,造成各个器官都发生严重病变。在观察病鳖 6 种器官病变状况时发现它们都不同程度地表现为出血和水肿,这说明由于病毒的人侵及在宿主细胞内的增殖,使细胞核遭受损害、细胞肿大、坏死;毛细血管扩张,小血管壁广泛受损。并因此激活了凝血因子,产生了弥漫性血管内凝血,形成微血栓。在耗去大量凝血因子的同时,更加重了出血,使循环血量减少,氧和营养物质得不到正常供应,代谢废物也得不到及时运送。正常代谢发生障碍,引起脏器组织梗死样病变,普遍出现坏死,丧失功能,这可能就是病毒感染引起鳖快速死亡的直接原因。

脾作为造血器官,当其组织病变坏死时,势必影响其造血功能,进而造成鳖体内抗病原体的重要防线——细胞免疫系统产生功能缺陷,使病毒在鳖体内增殖有了可乘之机。因此,被感染的鳖一方面不能对已入侵体内的病毒立即作出排除或杀灭反应;另一方面也使细胞免疫应答的信息无法快速有效传递,鳖的体液免疫功能就难以发挥出来。免疫系统遭受破坏、免疫功能就减弱或丧失,这是当鳖一旦被病毒所感染,表现为体力不支,易受菌类及其它病原体复合感染的根本原因之一;同时,病毒在同一水体的鳖群中可迅速扩散,导致病毒病的流行和爆发。

### 参 考 文 献

- [1] 张幼敏、李茵明. 鳖的养殖新技术及其综合利用. 水利渔业, 1993(增刊): 164—189.
- [2] 伍惠生. 鳖类疾病及其防治对策. 河南水产, 1995, (4): 9—11.
- [3] 张奇亚等. 中华鳖病毒病原的发现. 科学通报, 1996, 41(20): 1987—1990.
- [4] 桂建芳等. 静水压休克诱导水晶彩鲤三倍体和四倍体的细胞学机理初探. 水生生物学报, 1995, 19(1): 49—55.

## 图版说明

## 图版 I

1—3. 健康鳖肝(1)和病鳖肝(2,3)组织切片的显微照片; 4—6. 健康鳖脾(4)和病鳖脾(5,6)组织切片的显微照片; 7—9. 健康鳖肾(7)和病鳖肾(8,9)组织切片的显微照片; 10—12. 健康鳖心(10)和病鳖心(11,12)组织切片的显微照片(1—12:  $\times 150$ ); 13—15健康鳖肠(13)和病鳖肠(14,15)组织切片的显微照片; 16—18. 健康鳖肺(16)和病鳖肺(17,18)组织切片的显微照片(13,16,18:  $\times 150$ ; 14,15,17:  $\times 100$ ).

1—3. Microscopical photographs of histological sections of livers from the health turtle (1) and diseased turtles (2,3); 4—6. Microscopical photographs of histological sections of spleens from the health turtle (4) and diseased turtles (5,6); 7—9. Microscopical photographs of histological sections of kidneys from the health turtle (7) and diseased turtles (8,9). 10—12. Microscopical photographs of histological sections of hearts from the health turtle (10) and diseased turtles (11,12), (1—12:  $\times 150$ ). 13—15 Microscopical photographs of histological sections of intestines from the health turtle (13) and diseased turtles (14,15); 16—18 Microscopical photographs of histological sections of lungs from the health turtle (16) and diseased turtles (17,18), (13, 16, 18:  $\times 150$ ; 14, 15, 17:  $\times 100$ ).