

鳗鲡爱德华氏菌病的组织病理学研究

郭琼林 卢全章

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

鳗鲡爱德华氏菌病病变性质为化脓性炎症。病理分型主要有两种: 化脓性肝炎型、混合型(化脓性肝炎+化脓性造血组织炎)。较早发生病变部位主要在肝脏, 其化脓性病灶按病程分为初、中、晚期。肾脏、脾脏、胃粘膜、体表出现散在的脓肿、脓性溃疡、炎性血栓及出血斑。此外, 肝脏、肾脏实质细胞均出现变性(水变性、脂肪变性、玻璃样变)和坏死、血管充血、出血等。本文详细报告了肝脏、脾脏、肾脏的超微结构变化并初步讨论了细胞、组织损伤的过程及细胞病理学、超微病理学意义。

关键词 鳗鲡爱德华氏菌病, 组织病理学

鳗鲡爱德华氏菌病(Edwardsielliasis of the eel) 是流行于广东、福建等省养鳗场的一种常见细菌病, 每年春夏之交、秋季发病达高峰^[1], 其死亡率较高、危害十分严重。目前, 国内外有关此病的研究多限于病原生物学方面。日本学者宫崎照雄、江草周三等曾对日本鳗鲡爱德华氏菌病进行了病理组织学研究^[2], 但仅局限于光学显微镜观察范围。迄今, 国内外尚无病理组织学方面系统研究报告。为此, 作者于 1989、1990 年 3 月至 5 月间曾赴广东省潮州市的一些养鳗场, 共收集 31 尾自然发病鳗鲡材料, 对其进行了病理解剖和病原菌分离鉴定^[3], 同时制备、观察了一批光镜、电镜标本。

1 材料与方法

病鳗标本采自广东省潮州市枫溪、古巷、南门等养鳗场, 体长 30—45 cm。用解剖针或尖锐器械毁坏脑脊髓后即行病理检查。

光镜标本材料以 Bouin 氏液固定, 常规石蜡包埋, 切片厚度 5—7 μm 。苏木精-伊红染色。将肝脏、脾脏、肾脏组织块 (1 cm^3) 先后固定于 2.5% 戊二醛溶液和 1% 锇酸中, 丙酮系列脱水, EPon812 包埋。LKB-5 型超薄切片机切片, 醋酸铀、柠檬酸铅染色。H-300 型透射电镜观察。

2 结果

2.1 病理解剖

1991 年 10 月 12 日收到。1993 年 10 月 4 日修回。

胸鳍、臀鳍充血,后者尤其明显。肛门周围红肿。口腔、下颚充血严重,皮肤某些部位有出血点或出血性溃疡。肝区膨胀、皮肤软化或体壁穿孔,溃烂的肝脏常暴露于体外。一部分病鳗后肾区明显凸出,挤压腹部,有黄色脓性分泌物从皮肤溃烂穿孔处及肛门流出。鳃色淡或暗,有少量脓性分泌物。剪开腹腔,可见大量乳白色混浊脓性分泌物,味臭。胃肠粘膜粘连,腹壁肌、胃肠充血严重。肝脏明显肿大,表面常可见明显的脓性溃疡灶,并伴有血性脓液流出。脾脏肿大或大小正常,呈淤血状。一部分病鳗肾脏肿大,色略淡。一部分病鳗胃部有积液。约 25% 发病鳗胃部有溃疡灶,中心部位常有出血点。剪断尾部,血量少而稀薄色淡。

2.2 主要器官显微结构的病理变化

2.2.1 肝脏的病理变化 镜下可见肝实质结构破坏明显。肝小叶内肝板排列紊乱,肝细胞混浊肿胀,细胞界线不清。许多肝细胞已发生明显的脂肪变性:细胞质内充满一些脂滴(图版 I:5)。脂肪变性程度在每个肝小叶内不一致。一部分肝细胞已经萎缩,也有相当部分肝细胞坏死:肝细胞失去正常结构,核内染色质凝聚深染,亦出现核碎裂、核溶解。肝内有許多大小不等的脓疡灶,其大小与病变程度、过程有关。初期的脓疡灶以坏死的肝细胞为主(图版 I:1)。肝细胞核多呈固缩和碎裂状,嗜酸性较强的细胞质彼此贴近,呈均匀红块状结构,其间有少量白细胞浸润,周围被变性坏死的肝细胞与扩张、充血的血管共同组成的“致密层”包绕。随着坏死进一步加重,白细胞浸润明显。此时的脓疡灶是坏死的肝细胞与大量的白细胞并存(图版 I:2)。周围的“致密层”除了变性坏死的肝细胞外,尚有从破裂的小血管及血窦大量外溢的红细胞。晚期的脓疡灶中心是少数残存的肝细胞与大量的白细胞组成。有的粒细胞吞噬了细菌后其自身亦已发生死亡而呈脓细胞。脓细胞核常较固缩或溶解。最后脓疡中心部分的肝细胞已基本上溶解、液化,白细胞比例增加且渐死亡,至此脓疡灶中心可完全呈液化状态(标本中呈现大片红染均质状)(图版 I:3)。脓疡周围可有浆液性、纤维素样反应。肝内小动、静脉亦发生扩张、充血。尚有一部分血管破裂,血细胞常外溢于肝细胞之间或穿过溃疡化脓灶而溢出于肝脏表面。小叶间胆管变化不明显。

2.2.2 肾脏的病理变化 镜下可见肾小体血管球基底膜肥厚,肾小体高度肿胀,肾小囊腔狭小或消失(图版 I:6)。肾小体血管球充血、扩张甚至破裂。个别肾小体可发生崩解(图版 II:9, 图版 II:10)。

肾小管病变程度不一。一部分肾小管上皮细胞混浊肿胀:上皮细胞明显增大,胞质中有许多细小颗粒状物质。上皮细胞肿胀增厚,以致管腔狭窄与闭塞。一部分肾小管上皮细胞出现明显的玻璃样变:胞质中出现大量空泡,上皮细胞肥大、管腔闭塞严重(图版 II:11)。亦有一小部分肾小管上皮细胞发生坏死,坏死的细胞核呈固缩、碎裂状,严重的肾小管可崩溃解体,解体后的上皮碎片及细胞夹杂于肾间质造血组织中(图版 II:12)。

肾集合小管病理变化基本同肾小管。

肾间质病变严重。在肾间质造血组织中有少数散在的小脓疡灶(图版 I:7)。脓疡中心为濒临坏死的造血组织与结缔组织,其间夹杂着浸润的白细胞,脓疡周围的间质组织一般不见较致密的细胞层。凡肾脏中有小化脓灶的病鳗,其肝脏中均有化脓性病灶;而肝脏中有化脓灶的病鳗,肾脏中不一定都有化脓灶。部分血管发生炎性血栓:管腔中淤积有

大量的白细胞。血管扩张、充血甚至破裂。标本中可见数量不等的濒于死亡的血细胞,其细胞核常呈固缩、碎裂状。另有大量含铁血黄素的沉积。病鳗一些标本的肾间质因造血组织增生或血窦扩张、充血明显而呈条索状(图版 II:10)。

2.2.3 脾脏的病理变化 脾脏白髓及脾索常呈萎缩状,淋巴细胞减少(图版 II:13),网状细胞相对增多。有大量含铁血黄素的沉积(图版 II:15)。血管与脾窦充血、扩张,严重者破裂出血(图版 II:16)。一部分血管出现炎性血栓(图版 II:14),尚有一些血管壁增厚及出现玻璃样变(图版 II:13)。脾脏中有类似肾间质造血组织的化脓性炎症,其脓疡较小,主要为濒于坏死和已经坏死的脾实质结构,有白细胞浸润,周围的细胞致密层不明显。

2.2.4 胃、肠道的病理变化 一部分病鳗胃粘膜溃烂脱落,轻者可残留部分基底膜,严重者溃烂深达肌层(图版 II:17)。肌纤维排列紊乱,甚至扭曲或断裂。胃壁血管充血、扩张极为严重。血管破裂导致大量血细胞外溢到胃壁各层及肌纤维之间。肠壁除血管扩张、充血外,组织结构无明显病理变化。

2.3 主要器官超微结构的病理变化

2.3.1 肝脏的超微结构变化 肝细胞彼此连接疏松,细胞界线不清。胆小管及狄氏间隙面肝细胞表面微绒毛呈肿胀、变短、断裂、紊乱、消失等畸形。肝细胞胞浆内部结构破坏明显:线粒体数量减少,常见的改变为肿大、基质变淡、嵴变短或断裂,甚至消失呈空泡状,有的呈现无定形电子致密物的泡状结构(图版 I:8)。部分粗面内质网扩张,膜上的颗粒呈不同程度的消失,严重时呈大小不等的空泡(图版 I:4)。部分细胞中溶酶体增多,标本中常可见与细胞碎片结合后的次级溶酶体(图版 I:8)。游离核糖体、糖原减少或基本消失;脂滴大得多(图版 I:4)。整个基浆电子密度变淡或增高,细胞器互相离散(图版 I:8)。胞核变化多样:胞核的染色质在核浆内或核膜内层聚集成浓染的,大小不等的团块状,核膜在多处发生断裂,核裂解或致密浓染的碎片,相当一部分细胞中不见细胞核。肝血窦内皮细胞肿胀,胞质中空泡增多。胆小管结构分辨不清,不见细胞连接。狄氏间隙增大。电镜下:在损失的肝细胞区域内,尚可见电子密度高低相间的波浪形条状结构。

2.3.2 肾脏的超微结构变化 肾小球毛细血管内皮细胞增厚、破裂,内含大小不等的空泡。肾小管上皮细胞肿大,细胞界线不清,表面纤毛排列紊乱、断裂、消失。线粒体数量减少、肿胀,嵴断裂或空泡状。粗面内质网呈不同程度扩张。一部分细胞中出现较多的粗大均匀的颗粒(溶酶体)、残余小体和较多的空泡。基浆电子密度增高、细胞器稀少(图版 II:18)。胞核变化明显:一部分上皮细胞核核仁原纤维状成分几乎消失、核仁主要由细颗粒状成分构成(即高颗粒性核仁),胞核内尚可见胞浆性内含物(图版 II:19)。其它核浓缩、碎裂变化同肝细胞(图版 II:18)。残留的造血细胞胞浆中线粒体肿胀明显,核呈浓缩、碎裂趋势或已经溶解,溶酶体、残余小体增多,基浆电子密度极高。在损伤较重部位,亦可见电子密度高低相间的波浪形条状结构(图版 II:18)。

2.3.3 脾脏的超微结构变化 网状细胞、造血细胞及巨噬细胞呈现不同程度的超微结构变化,其共同特征为线粒体肿胀、嵴断裂及空泡化,胞浆中空泡较多,溶酶体增多,基浆电子密度增高,严重时细胞核碎裂、消失(图版 II:20)。巨噬细胞胞浆中溶酶体、次级溶酶体及髓样小体增多。脾血窦超微结构变化同肝血窦。

3 讨论

3.1 病变性质及病理分型

观察结果表明: 鳗鲡爱德华氏菌病的病理变化特征为局部组织的变质(即变性与坏死)、血管内液体和白细胞等渗出和病灶周围细胞增生为致密层等, 从而表明了它的病变性质为炎症。因渗出细胞大多为中性粒细胞, 且常伴有不同程度的组织坏死和脓液, 从炎症分类划分属于化脓性炎症。日本学者宫崎照雄、江草周三^[2]曾报告自然发病的日本鳗鲡爱德华氏菌病有两种不同的病理分型。一种以肝脏中有脓肿形成、脾脏和肾脏的造血组织中仅有增生浸润反应; 另一种以肾脏和脾脏的造血组织中有脓肿形成, 肝脏中仅有脓毒栓塞及实质细胞变性。他们根据炎症发生的主要部位, 将此病划分为化脓性肝炎型和化脓性造血组织炎型。作者在标本观察中注意到: 几乎所有收集的爱德华氏菌病鳗肝脏中均有程度不同的脓肿病灶; 而其中只有一部分病鳗的肾脏和脾脏造血组织中有分散的小脓肿和炎性血栓; 尚有一部分病鳗的肾脏及脾脏中仅有炎性血栓。由此可见, 作者在潮州几个养鳗场收集到的 30 余尾爱德华氏菌病鳗中, 基本上只有化脓性肝炎型和化脓性肝炎和化脓性造血组织炎混合型, 单纯的化脓性造血组织炎型未发现。因此, 作者根据病理观察划分的两种病理分型与宫崎照雄、江草周三的观察报告存在着差异。卢全章^[3]等对该病病原菌分离鉴定结果亦与韩先朴等^[4]对福建省区的养鳗场的鳗鲡爱德华氏菌病病原菌研究结果有差异。这种差异的存在反映了鳗鲡爱德华氏菌病的复杂性。尽管如此, 但从总体上来看其病理变化不外乎是肝脏、肾脏等器官的化脓性炎症、实质细胞变性、坏死、炎性血栓、充血等。鉴于该病病理学特征明显区别于其它鳗鲡病, 作者认为: 从病理角度而言, 鳗鲡爱德华氏菌病可称为“鳗鲡化脓性肝肾炎”或“鳗鲡化脓性肝肾病”。

3.2 炎症发展过程

爱德华氏菌及其毒性产物最初在原发病灶(主要为肝脏)局部增殖并引起实质细胞的变性与坏死, 组织受损伤后, 局部血液循环发生应激性变化, 出现血管扩张、充血, 大量白细胞边移并逐步通过血管壁进入病灶组织(主动过程)。血管壁严重损伤可致管壁破裂, 大量的血细胞亦可漏出(被动过程)。渗出的白细胞在病灶局部发挥吞噬作用和免疫反应。白细胞吞噬细菌后其自身也发生变性、死亡而呈脓细胞。此外, 白细胞崩解释出的酶将坏死组织液化, 形成含有脓液的空腔, 未被吞噬的细菌及其产物继续在病灶中心向周围繁殖扩散, 而炎性病灶周围细胞形成的“细胞致密层”和纤维素样反应在一定程度上可起局限并阻止病灶扩展的作用。但由于细菌及其产物的毒性作用致使损伤性变化占优势, 炎性病灶逐渐向周围蔓延, 深部的脓肿可向表面甚至体表穿破。感染严重的病灶, 细菌及其毒性产物最终可侵入血循环或被吸收入血, 进一步引起全身的脓毒败血症, 导致皮肤、粘膜多发性出血斑点, 同时在其它器官(肾、脾造血组织; 胃粘膜等处)形成散在的脓肿、脓性溃疡灶及炎性血栓。而炎性血栓很可能就是细菌侵入血循环的血管局部反应和向全身扩散的形态学证据。

3.3 细胞和组织损伤的细胞病理学及超微病理学

电镜技术的问世大大地推动了病理学的发展。在鱼病学领域, 至今仍沿用混浊肿胀这个术语, 用以形容细胞肿胀和胞浆内出现颗粒而变混浊。电镜检查表明: 胞浆内颗粒

实乃水肿时肿大的线粒体和扩张断裂的内质网。因此应放弃混浊肿胀这一名称,改称细胞水肿和水变性(严重时)。这些变化的首要特征(包括细胞、细胞器)为体积增大。可以推论:爱德华氏菌及其毒物首先导致膜性结构对电解质的主动运输发生障碍,严重时可直接损伤膜结构,导致细胞内或细胞器内物质交换失去平衡,水分增多而肿大和膜性结构(线粒体嵴、内质网膜、微绒毛、纤毛等)损伤、破裂、残缺或消失等,严重地影响细胞各细胞器的区域性和各自行使独特的生化反应。严重时,这种损伤累及溶酶体膜,水解酶的逸出则可引起广泛的细胞自溶。细胞的这种水变性进一步发展形成脂肪变性或坏死。

肾小管上皮细胞除了细胞水肿、坏死等变化外,玻璃样变比较突出。电镜下:胞浆中的这种玻璃样小滴结构为数量不等的溶酶体和次级溶酶体,其意义可能为肾小管上皮吞饮血浆蛋白(肾小体受损所致通透性失调,血浆蛋白从滤过屏障过量进入肾小管)再被溶酶体消化或者为细胞遭受毒性物质损伤时自噬过程增强。

参 考 文 献

- [1] 朱心玲等,养殖鱼类疾病及其防治。武汉:湖北科学技术出版社,1993。80—82。
- [2] Teruo MIYAZAKI and Syuzo EGUSA., Histopathological studies of Edwardsielliasis of the Japanese Eel (*Anguilla japonica*)-I. Suppurative interstitial nephritis form. Fish pathology. 1976. 11(1): 33—43. II. Suppurative hepatitis form. Fish pathology. 1976. 11(2): 67—75.
- [3] 卢全章、朱心玲,鳗鲡肝肾病原的研究。水生生物学报,1994。18(4): 360—368。
- [4] 韩先朴等,鳗鲡爱德华氏病的研究。水生生物学报,1989。13(3): 259—263。

HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON THE EDWARDSIELLIASIS OF THE EEL

Guo Qionglin and Lu Quanzhang

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

Abstract

Pathological changes of edwardsielliasis may be summarized as suppurative inflammation in eels, *Anguilla japonica*, and can be divided into two types, the type of suppurative hepatitis and the combined type of suppurative hepatitis and interstitial nephritis. In the early stage of the pathological changes, suppurative inflammation was observed in liver, and then scattered abscess, suppurative ulcer hyperaemia in other organs, such as kidney, spleen and stomach, and on body surface. Other pathological changes include the degeneration and necrosis of hepatocytes and epithelium cells of renal tubule, and hyperaemia and haemorrhage of blood vessels in liver and kidney. Pathological changes in ultrastructure of liver, kidney and spleen were also examined. Based on the pathological observations, edwardsielliasis may also be named as the suppurative liver-kidney inflammation or the suppurative liver-kidney disease.

Key words Edwardsielliasis of the eel. Histopathology