

中华鳖穿孔病病理变化

蔡完其 赵金良

(农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室, 上海水产大学, 200090)

摘要 本文报道由嗜水气单胞菌、普通变形菌等多种细菌引起的中华鳖穿孔病的病理变化。病鳖各脏器发生变质性病变, 充血、出血, 呈败血症; 脏器局部坏死组织中聚有大量脓细胞, 呈化脓灶。同健康鳖相比, 病鳖 12 项血清生化成分有 8 项发生显著变化: K^+ 、 Ca^{2+} 、谷草转氨酶和乳酸脱氢酶量增多; Na^+ 、 Cl^- 、胆固醇和碱性磷酸酶量减少; 肌肉中酯酶和肝脏中超氧化物歧化酶活性降低。

关键词 中华鳖, 穿孔病, 败血症, 组织病理, 同工酶, 血清成分

中华鳖的穿孔病, 又称洞穴病, 是集约化养鳖最常见的疾病之一, 已成为温室养鳖的一大威胁。其病理研究尚未见报道。在查明该病是由多种病原—嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、普通变形菌(*Preteus vulgaris*)等细菌引起^[1]的基础上, 我们对该病的组织病理和生化病理进行了研究, 以为准确诊断和有效防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

健康的和患穿孔病的中华鳖均取自上海市郊县养鳖场, 体重 20~100g。

1.1.1 组织病理 取健康鳖 3 只, 自然发病鳖 9 只, 人工感染鳖 3 只。

1.1.2 同工酶 取健康鳖 5 只, 自然发病鳖 7 只。

1.1.3 血清生化成分 取健康鳖 8 只, 自然发病鳖 8 只。

1.2 方法

1.2.1 组织切片制备 取健康鳖、自然发病鳖及人工感染鳖的肺、肝、肾、肠、心及脾等组织, 葡翁氏(Bouin's)液固定, 石蜡切片, 厚度 5~6 μm , 苏木精—伊红染色^[2]。

1.2.2 同工酶测定 用聚丙烯酰胺凝胶水平电泳测定健康鳖和病鳖肌肉中酯酶(EST)和肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)。用瑞典 LKB 水平电泳仪电泳, LKB 激光光密度计扫描、绘图并作定量分析^[3,4]。

1.2.3 血清生化成分测定 按常规方法采集血清。血清中 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、胆固醇(CHOL)和尿素氮用美国 BECKMAN ASTKA-B 自动生化分析仪测定。谷草转氨酶

(GOT)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、 α -淀粉酶、总蛋白及白蛋白用美国 MONARCH-2000 自动生化分析仪测定。

2 结果

2.1 临床症状

温室养殖的中华鳖一般于9月底、10月初开始发生穿孔病。发病初期,稚鳖行动迟缓,食欲减退。从水面上看,水中鳖背甲有白点,以后白点逐步扩大成白色斑块,容易被误认为是水霉引起的真菌病。把病鳖从水中捞出,可清晰看到白点或白斑,这是由于受细菌侵袭后,背甲色素消褪所致。病情进一步发展,腹甲上出现多个白色疮痂,其周围充血、出血。用镊子揭去疮痂,便是一个很深的孔洞,严重者有血水从洞中流出,故称穿孔病。如不及时治疗,便会大批死亡,来势凶猛。若治疗不得法,该病长期不愈,并由急性转为慢性,背腹甲上可烂成许多深洞,裙边、四肢及颈部也可能溃烂,造成穿孔病与腐皮病的并发症。揭去背甲,可见肺呈褐色,胆肿大呈墨绿色,脾肿大呈紫色,肠充血。有的病鳖腹腔内还有腹水。

2.2 组织病理变化

穿孔病是一种出血性败血症,各脏器发生了变质性病变,并在局部坏死组织中聚有大量脓细胞,形成化脓灶。

2.2.1 肺 局部坏死,肺泡壁上皮细胞和毛细血管内皮细胞肿胀、变性,胞核固缩、碎裂乃至坏死解体。肺泡壁毛细血管破裂、出血。肺泡隔内血管充血,部分红细胞核消失、解体,仅留残骸;并有血浆渗出和嗜中性白细胞(图版-1)。肺泡内有許多组织渗出液、红细胞及嗜中性白细胞(图版-2)。肺组织间嗜中性白细胞大量浸润,核碎裂,坏死成脓细胞,肺组织呈局部化脓灶,似化脓性肺炎(图版-3)。

2.2.2 肝 局部坏死,肝内黑色素增多,淤血;肝细胞混浊肿胀;肝血管充血,血浆渗出(图版-4)。随着病情的发展,肝细胞局部坏死,细胞核碎裂,溶解,胞质水样变性,并有嗜中性白细胞浸润,白细胞核碎裂,坏死成脓细胞,形成化脓灶(图版-5)。

2.2.3 肾 肾小管上皮细胞混浊肿胀。随着病情的发展,肾局部坏死,肾小管上皮细胞核碎裂、溶解,管腔内有嗜伊红的蛋白及红细胞。有大量红细胞从血管中漏出,嗜中性白细胞浸润,坏死,形成化脓灶(图版-6)。肾小球萎缩,囊腔相对扩大,并有嗜伊红的浆液渗出物(图版-7)。

2.2.4 肠 肠壁充血、出血(图版-8)。肠腔内大量嗜中性白细胞浸润,核固缩、碎裂,变成脓细胞(图版-9)。

2.2.5 心 心肌间有大量渗出液和红细胞。部分心肌纤维弯曲、断裂(图版-10)。

2.2.6 脾 脾包膜出血,脾小叶界限模糊,红髓扩大并聚集大量红细胞,白髓明显缩小。

2.3 同工酶

2.3.1 酯酶 在肌肉中,健康鳖和病鳖的酯酶均表现为5条谱带。健康鳖各谱带分离清晰,扫描吸收强度均明显高于病鳖。同健康鳖相比,病鳖酯酶的活性强度降低了25%左右(图1,表1)。

2.3.2 超氧化物歧化酶 在肝脏中,健康鳖和病鳖均表现为3条谱带,分别为Sod-A、Sod-B和Sod-C。SOD同工酶谱带的染色特性和大多数同工酶相反,扫描吸收强度越大,其活性越小。病鳖肝Sod-C谱带扫描吸收强度较健康鳖的强23.6%,表明其活性显著降低(图2,表2)。

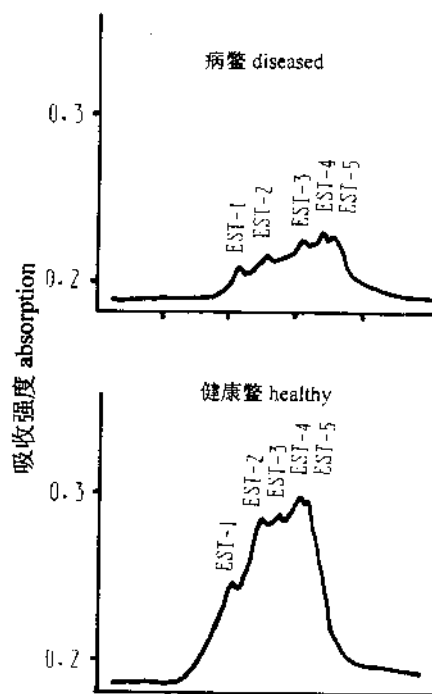


图1 健康鳖和病鳖肌肉 EST 电泳扫描图

Fig.1 Scanning of EST in muscle of healthy and diseased soft-shelled turtle

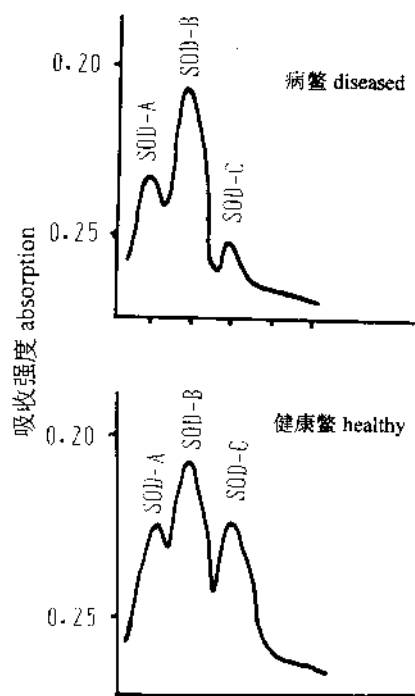


图2 健康鳖和病鳖肝 SOD 电泳扫描图

Fig.2 Scanning of SOD in liver of healthy and diseased soft-shelled turtle

表1 健康鳖和病鳖肌 EST 谱带扫描吸收强度

Table 1 Scanning absorption of EST in muscle of healthy and diseased soft-shelled turtle

	谱带 electropherogram				
	EST1	EST2	EST3	EST4	EST5
健康鳖(n=5)	0.250±0.003	0.285±0.002	0.290±0.006	0.300±0.005	0.297±0.010
病 鳖(n=7)	0.208±0.004	0.213±0.007	0.219±0.002	0.225±0.009	0.223±0.011
病鳖-健康鳖 健康鳖 ×100	-16.8	-25.3	-24.5	-25.0	-24.9

2.4 血清成分

在分析的 12 项血清成分指标中,同健康鳖相比,病鳖有 4 项无显著变化,有 8 项发生显著变化。 K^+ 和 Ca^{2+} 分别增加了 26.2% ($P<0.01$) 和 44.5% ($P<0.05$),而 Na^+ 、 Cl^- 分别减少了 5.5% 和 6.9% ($P<0.05$),差异显著。谷草转氨酶和乳酸脱氢酶分别增加了 108% 和 232.6% ($P<0.01$),但胆固醇和碱性磷酸酶分别减少了 80.9% 和 35.9% ($P<0.01$),差异极显著(表 3)。

表 2 健康鳖和病鳖肝 SOD 谱带扫描吸收强度

Table 2 Scanning absorption of SOD in liver of healthy and diseased soft-shelled turtle

	谱带 electropherogram		
	Sod-A	Sod-B	Sod-C
健康鳖 (n=5)	0.230 ± 0.012	0.211 ± 0.005	0.229 ± 0.016
病鳖 (n=7)	0.239 ± 0.012	0.211 ± 0.005	0.283 ± 0.017
$\frac{\text{病鳖} - \text{健康鳖}}{\text{健康鳖}} \times 100$	3.9	0	23.6

表 3 健康鳖和病鳖血清成分含量比较

Table 3 Comparison of serum components between healthy and diseased soft-shelled turtles

	K ⁺ / (mmol/L)	Ca ²⁺ / (mmol/L)	Na ⁺ / (mmol/L)	Cl ⁻ / (mmol/L)	GOT / (IU/L)	LDH / (IU/L)	CHOL / (g/L)	ALP / (IU/L)
健康鳖 (n=8)	3.67 ± 0.36	2.11 ± 0.31	123.75 ± 2.99	94.15 ± 0.87	316.38 ± 130.93	411.38 ± 89.02	5.66 ± 1.56	343.38 ± 163.91
病鳖 (n=8)	4.63 ± 0.67	3.05 ± 0.80	116.98 ± 11.94	87.64 ± 9.20	658.50 ± 83.44	1368.38 ± 291.35	1.08 ± 0.40	220.00 ± 120.67
@	26.2	44.5	-5.5	-6.9	108	232.6	-80.9	-35.9

@ $\frac{\text{病鳖} - \text{健康鳖}}{\text{健康鳖}} \times 100$

3 讨论

(1) 中华鳖穿孔病的病原主要是嗜水气单胞菌和普通变形菌, 还发现有肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、温和气单胞菌 (*Aeromonas sobria*)^[1]。在温室养殖中, 由于该病有多种病原, 故其病理变化较单一病原引起的疾病更为复杂。嗜水气单胞菌能产生毒性极强的外毒素, 这种毒素具有溶血性, 能使红细胞裂解^[5], 使各脏器的小血管受损甚至破裂, 还使血管壁通透性增强, 白细胞附壁并游出, 红细胞漏出, 致使各脏器浸润了大量血细胞, 呈败血症^[6]。此外, 普通变形菌也会引起水产动物败血症。例如, 普通变形菌从对虾体表损伤部位侵入, 进入血淋巴循环系统, 可引起败血症^[7], 在中华鳖也如此。

病鳖肺泡扩张, 肺泡壁毛细血管破裂、出血、溶血; 肝淤血、肝血管充血; 肠充血、出血; 脾红髓扩大, 脾包膜出血; 心肌间有大量渗出液及红细胞, 使鳖呈败血症。这些都是嗜水气单胞菌和普通变形菌造成的主要病理变化。在肺、肝、肾及肠等脏器的组织切片中, 还发现有大量脓细胞聚集, 呈化脓灶。这除了嗜水气单胞菌、普通变形菌外, 是否还与其他病原如肺炎克雷伯氏菌等有关, 尚待进一步探讨。

(2) 血清中 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 和 Ca²⁺ 等离子在保持体内电解质平衡和渗透平衡上有重要作用^[8]。鳖病血清中 K⁺ 和 Ca²⁺ 含量升高, Na⁺ 和 Cl⁻ 含量降低, 致使体内电解质平衡和渗透平衡受到破坏, Na⁺ 泵受到抑制。由此, 造成肾功能不全, 肾小管再吸收不足, 出现腹水, 还造成有氧呼吸、氧化磷酸化及三磷酸腺苷合成障碍, 并发生无氧酵解, 致使血清中乳酸增多。本次试验中病鳖血清 LDH 量比健康鳖增加 2.3 倍可能与此有关。

众所周知, 谷草转氨酶是细胞内酶, 在许多组织中都存在, 所以只要有大面积细胞坏死, 尤其肝、心、肾的疾病, 就可导致 GOT 在血清中增多。本次试验测得病鳖的 GOT 比健康鳖

增加了1倍多。还测得病鳖血清中胆固醇比健康鳖下降了80.9%。胆固醇是合成某些酶与激素的原料,是维持正常生命活动所必需的物质。而血清中胆固醇含量高低又与肝脏代谢紧密相关。病鳖胆固醇量下降,可认为是由于肝脏损伤所致。

(3)酯酶和超氧化物歧化酶是广泛存在于鳖体内的活性酶。酯酶是参加新陈代谢的重要酶类,超氧化物歧化酶可清除体内产生的过多的“超氧化物”等有害物质,从而增强吞噬细胞的防御功能和整个机体的免疫功能。病鳖这2种酶活性的降低,表明其代谢功能和免疫力衰退。

参 考 文 献

- 1 孙佩芳,等. 鳖穿孔病的病原研究. 水产学报, 1996, 20(2): 120~124
- 2 刘介眉,等. 病理组织染色的理论方法和应用. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 21~26
- 3 蔡完其. 鳖赤斑病诊疗. 淡水渔业, 1990, 3: 24~26
- 4 蔡完其,等. 团头鲂、鳊及正反杂交种对暴发性鱼病的抗病力的比较和发病机理. 水产科技情报, 1992, 19(1): 6~9
- 5 陆承平. 致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述. 水产学报, 1992, 16(3): 282~287
- 6 蔡完其,等. 鳖穿孔病的防治. 水产科技情报, 1995, 22(4): 162
- 7 许兵,等. 一种新的对虾病原菌(普通变形菌). 水产学报, 1992, 16(2): 130~135
- 8 卡尔森(西德),等. 病理生化学. 张增明译. 北京: 科学出版社, 1984. 124~143

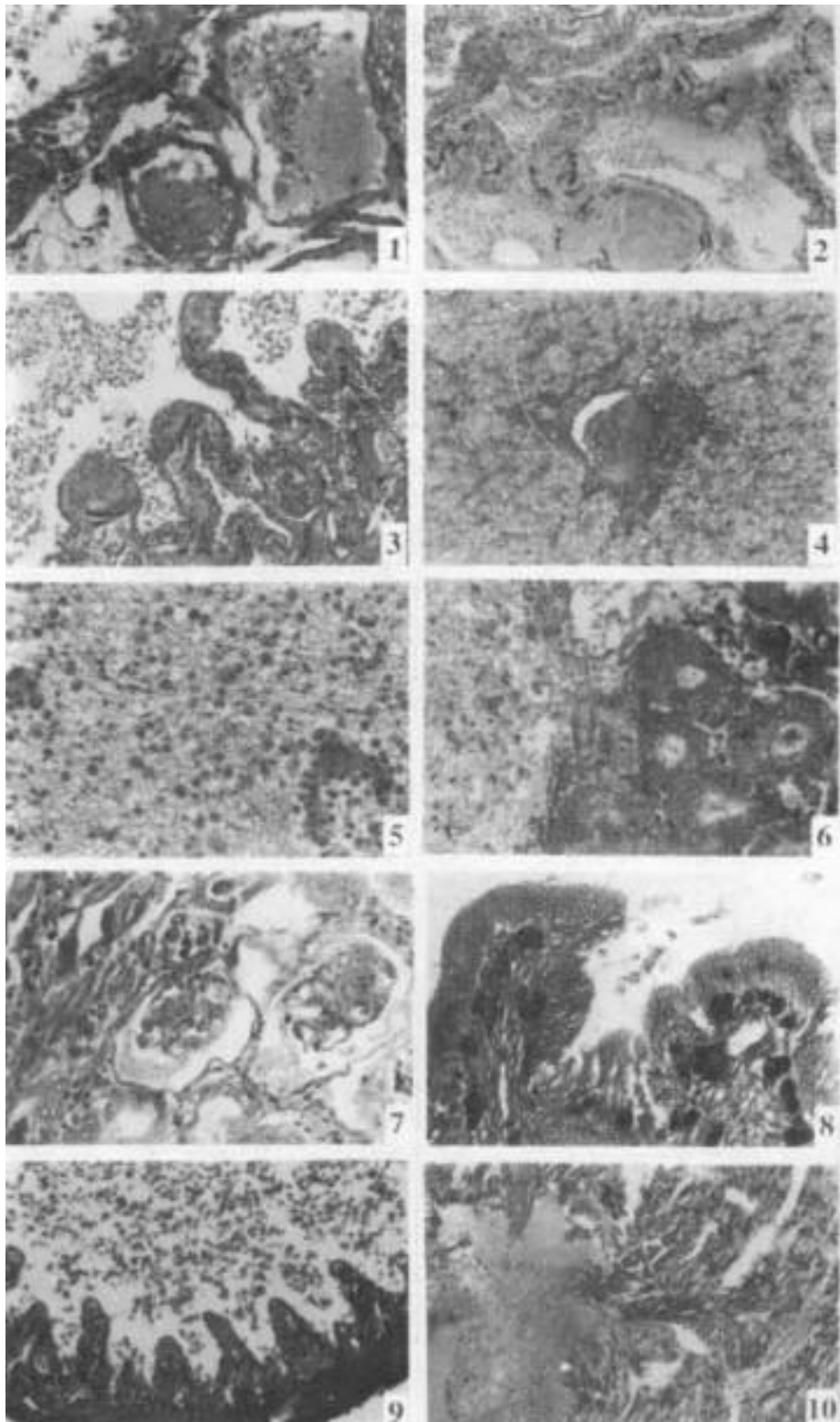
Pathological changes of cavern disease in soft-shelled turtle

Cai Wanqi Zhao Jinliang

(Key Laboratory of Ecology and Physiology on Aquaculture,
Shanghai Fisheries University, 200090)

Abstract This paper reports the pathological changes of the cavern disease caused by *Aeromonas hydrophila* and *Proteus vulgaris* etc. in soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*). Alterative pathological changes happening in internal organs showed a septicemia characterized by hyperemia and congestion; a great number of purulent cells concentrated in local necrosis, forming purulent areas. Eight of 12 analysed items of serum biochemical components in diseased turtle were significantly different from those in healthy turtle that the contents of K^+ , Ca^{2+} , glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT), and lactate dehydrogenase (LDH) increased; Na^+ , Cl^- , cholesterol (CHOL) and alkaline phosphatase (ALP) decreased; the activity of esterase (EST) in muscle and superoxide dismutase (SOD) in liver decreased.

Key words soft-shelled turtle, cavern disease, septicemia, tissue pathology, enzyme, serum component



图版 Plate × 625