

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15332

急性病毒性鲫鳃出血病的病理变化

方进, 邓院生, 王俊, 李涛, 陈中元, 周莉, 张奇亚

中国科学院 水生生物研究所 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072;

中国科学院大学, 北京 100036

摘要: 病毒性鲫(*Carassius auratus*)鳃出血病的突发流行可导致鱼高致死率, 使中国部分养鱼场近些年受到重创。为了充分认识这种鱼病的发生发展过程, 我们结合 PCR、光学显微镜和透射电镜, 对病鱼头肾等组织的病变及病毒分布情况进行了分析。注射自然发病鱼的组织滤液(病毒悬液), 能使正常鲫感染, 且出现与自然发病鲫相同的症状及高致死率; 病原有典型疱疹病毒的形态特征(故称为鲫疱疹病毒, CaHV)。经 PCR 扩增对已知鲤科疱疹病毒主要衣壳蛋白(MCP)基因进行检测, 可确定 CaHV 存在于被感染鱼的肝、脾、肾和头肾组织中。对组织病理变化及不同时期进行比较, 结果表明 CaHV 感染会引起鲫这些组织不同程度病变, 而鳃和头肾的病理变化有显著时序相关性。在头肾细胞中还观察到大量 CaHV 颗粒, 预示鲫头肾是 CaHV 侵染和复制的主要靶器官。

关键词: 鲫; 病毒性鲫出血病; 疱疹病毒; 病理变化; 头肾; 透射电镜观察

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)02-0336-08

鲫(*Carassius auratus*)作为中国重要的淡水养殖鱼类, 其养殖规模和养殖潜力越来越大^[1-4]。但病毒病严重阻碍中国水产业健康和可持续发展^[5], 尤其是近年来, 鲫鳃出血病的流行给中国部分水产养殖场带来重创, 初步查明引起鲫鳃出血病的病原就是病毒, 且有学者认为是疱疹病毒感染所致^[6-8]。该病具有突发性及流行广和致死率高的特点。主要症状为体表有大小不同的出血斑, 下颌、鳍基部及侧线鳞以下及胸部出血尤为明显。鳃肿胀呈暗红色, 当鳃盖张合或鱼泳动时会有血液从鳃盖下方流出, 因此认为鳃出血是这类疾病的典型症状。

光学显微病理和透射电镜技术已广泛应用于水产病毒病的检测与诊断^[9-11]。结合显微和超微方法, 不仅已对多种患病水产动物及其病原, 如鳊鱼、中华鳖、大鲵等的组织或细胞病理变化进行了观察和分析^[12-14], 且有关实验室发表

了关于患病鲫的鳃、脾、肾、肝和肠组织病理变化的观察结果^[15-17]。头肾作为鱼类重要的免疫器官, 人们已从中鉴定了不同的免疫相关基因^[18]。然而, 尚未见关于感染病毒鲫的头肾病理变化的有关报道, 也暂时未见对在攻毒后不同感染时间的鲫组织进行时序病理变化比较研究的相关报道。

先前我们已从自然发病的鲫组织中观察到一种疱疹病毒(*Carassius auratus* herpesviruse, CaHV)颗粒。基于我们从自然感染病鲫制备和获得组织匀浆过滤液(病毒悬液), 注射正常健康的鲫, 能导致鱼鳃严重出血, 且感病鲫在 10 d 内死亡率为 100%, 并通过 PCR 扩增到鱼疱疹病毒的主要衣壳蛋白(major capsid protein, MCP)基因等系列前期工作的基础上, 为了解感染鲫疱疹病毒(CaHV)后, 鲫病毒病的发生发展过程, 在此我们运用光学显微镜和透射电子显微镜技术, 对患病鲫鱼

收稿日期: 2015-08-07; 修订日期: 2015-10-14.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31430091); 中国科学院先导专项子课题 (XDA08030202).

作者简介: 方进(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水生病毒学. E-mail: fangjin@ihb.ac.cn

通信作者: 张奇亚, 研究员. E-mail: zhangqy@ihb.ac.cn

鳃、肝、脾、肾及重要免疫器官头肾的病理变化进行观察和比较分析,尤其是对攻毒后不同时间病鲫鳃与头肾的病理变化进行了深入观察。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 材料鱼、病毒悬液及人工回接感染 自然感染的鱼采自某养殖场,有典型鲫出血病症状的鱼。取其内脏,制备组织匀浆液并过滤(病毒悬液),冰箱保存备用,制备方法参见文献[19]。

实验用健康鲫鱼来自健康鲫养殖场。鱼体长为16~20 cm,体重为90~120 g。健康鲫暂养于水温(24±1)℃的水箱中,每次每组10尾鱼,稳定一周后用于人工回接感染。

1.1.2 实验仪器 LEICA DFC310 荧光倒置显微镜(德国徕卡公司); OLYMPUS IX73 荧光倒置显微镜(日本奥林巴斯公司); Leica ultracut R 超薄切片机(德国徕卡公司); JEM-1230 透射电镜(日本 JEOL 公司)。

1.2 病毒制备及结构蛋白基因扩增

病毒 CaHV 的分离提纯及核酸制备方法采用本实验室的常规方法,参见文献[9, 19]。病毒主要衣壳蛋白基因(MCP)引物设计参见已知鱼类疱疹病毒(GenBank 登录号: KM200722)的 ORF92。分别以攻毒后3天的鱼肝、脾、肾及头肾组织的核酸为模板,进行PCR扩增。PCR反应条件为: 95℃变性5 min; 95℃变性30 s, 56℃退火30 s, 72℃延伸50 s, 34个循环后72℃延伸10 min。取10 μL扩增产物,1%的琼脂糖凝胶电泳,于凝胶成像系统观察PCR扩增结果。

1.3 显微组织病理观察

1.3.1 健康和感病鲫组织的制片及显微观察 基于我们前期已从有典型鳃出血病、且自然发病鲫的组织中观察到疱疹病毒颗粒,接毒感染测试能导致100%鱼死亡的基础上,分别取正常鱼及经人工注射病毒悬液后第3天、已出现症状病鲫的鳃、肝、脾、肾及头肾组织, Bouin's 氏液固定, 50%、70%、80%、90%、100%乙醇梯度脱水,石蜡包埋,切片,厚度为5 μm,二甲苯脱蜡,经苏木精-伊红染色后,中性树脂封片,显微观察并拍照,参见文献[20]。

1.3.2 感染不同时间鳃与头肾病样的制备与观察 在注射病毒悬液后1 d、3 d和5 d分别取患病鲫的鳃和头肾组织,参见1.3.1步骤,制备组织切片,并对这两种组织不同时间发生的病理变化进行比较观察。

1.4 超微组织病理观察

在注射病毒悬液后3 d,分别取病鲫的鳃、肝、脾、肾及头肾组织,2%戊二醛和1%锇酸双固定,乙醇梯度脱水,环氧树脂812包埋,超薄切片,厚度为60~80 nm,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色,电镜观察并拍照,参见文献[12]。

2 结果与分析

2.1 感染鱼不同组织中PCR扩增到疱疹病毒基因

用参照已知鱼疱疹病主要衣壳蛋白基因序列所设计引物进行PCR检测,均能从攻毒鱼的肝、脾、肾和头肾组织中扩增到748 bp的特异条带(图1)。显示当攻毒3 d后,鱼的不同组织中都存在病毒结构蛋白基因,它们已被CaHV侵染。

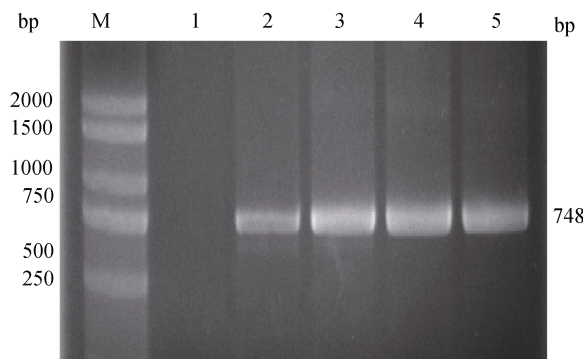


图1 PCR检测感染鱼组织样中的CaHV MCP

M: DL2000 DNA marker; 1: 阴性对照; 2~5: 病鱼的肝、脾、肾及头肾样。

Fig. 1 PCR assay of CaHV MCP in the tissues of infected fish
M: DL2000 DNA marker; 1: Negative control; 2~5: Liver, spleen, kidney and head-kidney of diseased fish.

2.2 健康鲫和患病鲫的鳃、肝、脾、肾及头肾组织显微观察

由于伊红为酸性染料,可使细胞浆、红细胞、嗜伊红颗粒等被染成不同程度的红色或粉红色。而苏木精可将嗜碱性结构,如细胞核、核糖体及细胞质中含有核酸的部分染成蓝紫色。据此以了解组织的病理变化。

鳃组织：可见正常鳃丝其主干部分的软骨细胞及多层上皮细胞，致密有序排列，主要见着蓝色的细胞核；与鳃丝纵轴垂直的鳃小片平行排列，鳃小片是由两层细胞组成，因中间分布着丰富的微血管，充满被伊红染成红色的红细胞、排列规则，这使鳃小片挺拔且长，结构完整清晰。但病鲫鳃丝主干部分的软骨组织结构紊乱、软骨细胞稀疏，堆积大量嗜伊红的红细胞；而鳃小片内由于红细胞量减少而呈弯曲状或变短。这表明感染 3 d，鲫鳃丝组织内充血或出血，而鳃小片内的红细胞流失（图 2-鳃）。

肝组织：正常肝组织无间隙致密排列，细胞轮廓清晰，呈多边形；蓝色胞核大小相近，着色均匀，多数位于细胞的中央。但病鲫的肝细胞排列紊乱，或堆积或稀疏有间隙，细胞轮廓模糊不清；嗜苏木精颗粒明显增多，蓝色细胞核的大小有显著差异（图 2-肝）。

脾组织：正常脾组织中细胞均匀致密，红髓和白髓区别不明显；而在病鲫的脾组织中，细胞数量显著减少，棕黄色颗粒增多，组织广泛受损（图 2-脾）。

肾组织：正常肾组织中，可见许多由上皮细胞围成的大小不同、呈长椭圆形的肾小管，管腔小，胞有界，核中位，染色较深。而在病鲫的肾组织中，有些肾小管肿胀变形或中空，有些细胞核消失，细胞排列紊乱，肾小管内外间隙扩大，组织坏死（图 2-肾）。

头肾组织：正常头肾组织无肾单位，核分布均匀、致密、具典型淋巴细胞形态特征、成片着深蓝色的细胞。而在病鲫的头肾组织中，细胞排列紊乱，核大小及着色深浅不匀，局部组织坏死，出现嗜伊红无结构、圆形或近似圆形的玻璃样病灶（图 2-头肾）。

2.3 病鲫鳃与头肾不同时序的病理变化

组织病变与病原分布的时序性是相关的。随着感染（注射攻毒）时间的延长，鳃和头肾组织都出现显著的时序相关病理变化。

当感染 1 d 时，鳃丝的软骨组织有较轻微的损伤，但鳃小片却因失血而明显缩短；当感染时

间增至 3 d 至 5 d 时，鳃组织发生急剧的变化，鳃丝的软骨组织溶解消失，部分鳃丝断裂缺损，鳃丝和鳃小片都严重变形，直至整个鳃组织坏死和崩解。鳃小片是鱼血液与外界水环境交换气体的场所。通常，相邻鳃丝的鳃小片互相嵌合，交错排列，血管网互通，可是一旦构成鳃小片的上皮细胞损伤，微小血管受到破坏，就会大量出血，随之鱼的呼吸与循环系统及其功能就会衰退或衰竭。

接毒 1 d 后，头肾组织就显而易见的出现玻璃样病变，作为重要的免疫器官，此时不可逆病变已严重妨碍其发挥应有的作用。随着感染时间延长，病灶迅速增多，而在接毒 5 d 后，头肾组织彻底分崩离析（图 3）。

2.4 病鲫 5 种组织的超微病变

电镜观察显示：鳃（图 4G）、肝（图 4L）、脾（图 4S）和肾（图 4K）细胞中不同程度出现核质固缩或稀疏、边缘化，双层核膜分离，胞质空泡化等病变。在脾细胞的胞核和胞质中都可见有散在的病毒颗粒分布（图 4S）。

同时，在部分头肾（图 5）细胞中，细胞核严重变形，甚至解离形成核碎片，大量的子代病毒散在或成簇分布碎裂的核之中（图 5A）。有的头肾细胞产生了充满胞质的膜突起，形成“芽”，而病毒颗粒就分布在突起胞质的周边，伺机出芽释放（图 5B）。

3 讨论

本研究首次对疱疹病毒引起急性鳃出血症的鲫头肾进行了病理变化观察，并关注其病理变化的动态过程。尤其是通过对鳃和头肾病变时序的研究，揭示它们是 CaHV 的重要靶器官，且有直观证据证实 CaHV 在头肾细胞中大量增殖，使组织病变快速发生，宿主鱼急性感染死亡。之前，虽然国内外都有关于鲤疱疹病毒 II 型（CyHV-2）的研究报道^[21-22]，涉及病鱼不同组织的显微病理、超微病理及 PCR 检测等方面，但却未见疱疹病毒引起鲫头肾病理变化的相关报道。

本研究观察到：头肾细胞中大量的子代病毒可同时以多颗粒出“芽”的方式释放，也可通过细

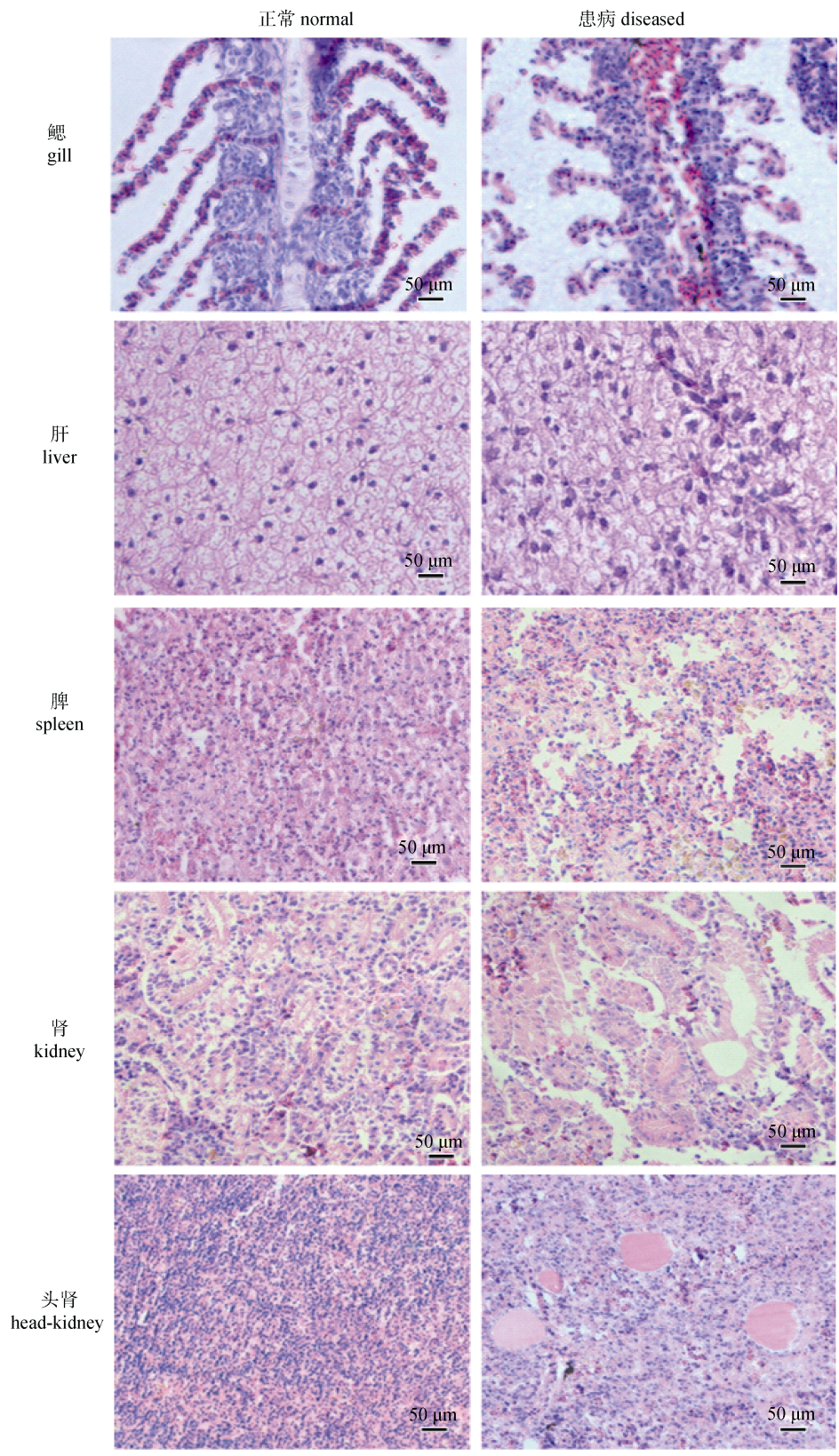


图 2 正常和患病鲫组织的显微图(HE)

Fig. 2 Photographs of tissues from normal and diseased crucian carp (HE)

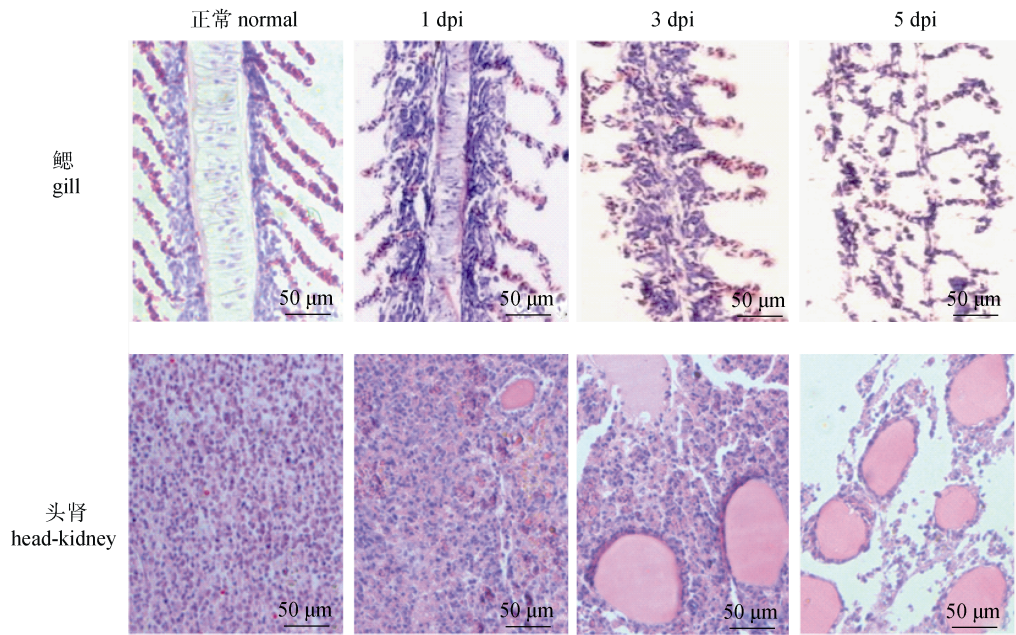


图 3 感染 CaHV 后不同时间, 鲫鳃和头肾组织的时序病理变化(HE)
Fig. 3 Histopathological changes in crucian carp tissues at various times after CaHV infection (HE)

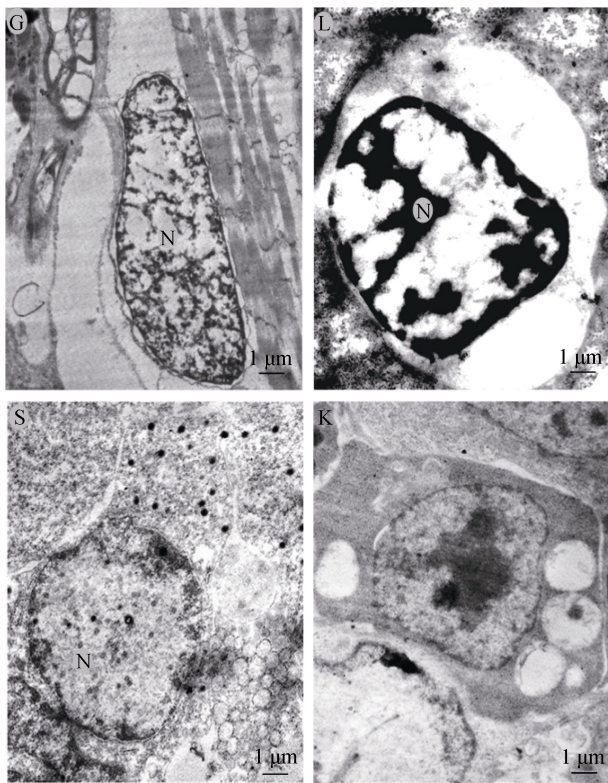


图 4 病鲫鳃(G)、肝(L)、脾(S)和肾(K) 4 种组织的
细胞电镜图
N 表示细胞核.

Fig. 4 Electron micrographs of the cells from four tissues of the diseased fish, gill (G), liver (L), spleen (S) and kidney (K)
N, nucleus.

胞崩解的方式群体释放 (图 5)。而常见病毒成熟时是以单颗粒出芽方式释放^[23], 对宿主细胞的损伤较小, 释放速度也较慢。相比可见 CaHV 的释放与复制效率更高, 对宿主细胞的破坏也更严重。CaHV 感染引起高死亡率的急性鲫鳃出血病可能还有另两方面原因: 其一是由于头肾是鱼类重要免疫器官, 在接毒 1 d 后, 头肾组织就受病毒影响, 出现结构破坏不可逆的玻璃样病变, 导致其免疫功能丧失。无疑这加速了鲫鳃出血病的进程。提示一旦受到 CaHV 侵染, 仅凭鲫自身免疫系统自救恐怕难以奏效。其二是据初步测序资料 (尚未发表), CaHV 与已知的 CyHV-2 分子结构有差异, 这些差异可能来自致病相关基因结构变化。但哪些基因有变化呢? 这还需后续研究来证明。

国内已有不同实验室发表了对鲫鳃出血病组织病理观察及分子诊断相关的研究结果^[22, 24], 本文的部分内容 (如病鱼肝、脾、肾的组织病理) 与上述文献报道相符。但我们对不同感染时序对鳃和头肾组织病理变化的影响进行了深入分析, 显示鳃与头肾组织损伤有显著的时序相关性。在感染 CaHV 后第 3 天, 从鲫的多种组织中可扩增到病毒 MCP 基因, 这为鱼鳃及其他组织充血或出血等

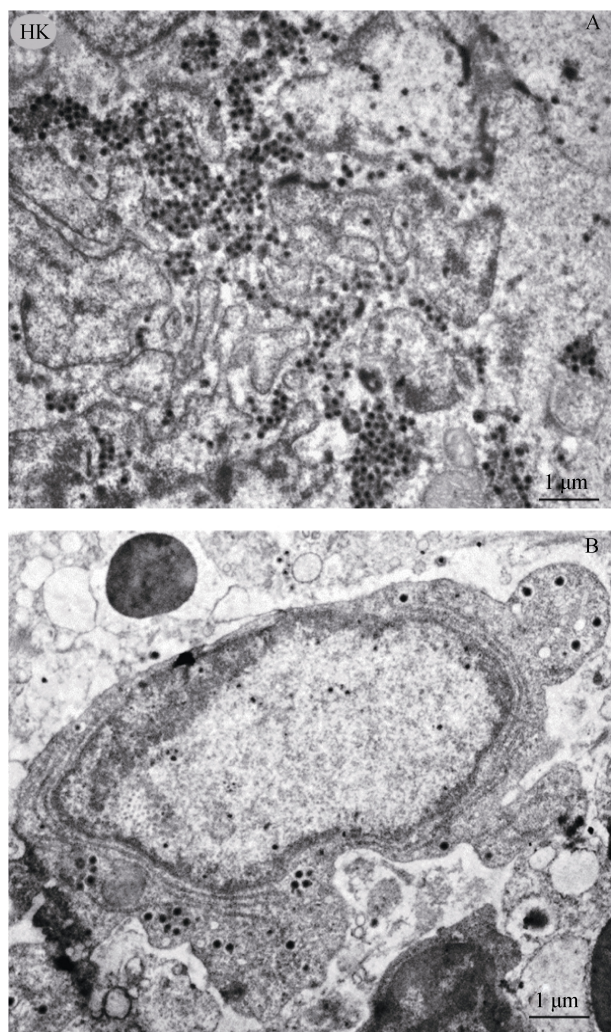


图5 病鲫头肾 (HK) 细胞电镜图

N: 表示细胞核。A: 大量子代病毒散在或成簇分布在碎裂的细胞核中; B: 有的头肾细胞产生了充满胞质的膜突起, 形成“芽”, 而病毒颗粒分布在突起胞质周边, 伺机出芽释放。

Fig. 5 Electron micrographs of the head-kidney (HK) cells from diseased crucian carp

N: nucleus. A: Large numbers of offspring-virus distributing in crashed nucleus. B: Some head-kidney cells produced membranous processes filled with cytoplasm, forming “bud”; while the virus particles distributing around the protuberant cytoplasm, waiting for releasing.

病症发生是由于受到病毒攻击提供了直接证据。也为 CaHV 进入鱼体, 在靶器官头肾中扩增后, 通过血液循环迅速侵染各种组织, 并损害比较薄弱、组成鳃小片的上皮细胞, 致使鳃微血管出现开放性创伤、破裂和鳃大量出血, 引起感染鲫的急性窒息死亡。因此, 本研究结果及讨论为认识病毒性鲫鳃出血病致病机理提供了有重要参考价

值的新信息。

水产动物的多种病原病毒, 如弹状病毒、虹彩病毒、呼肠孤病毒、疱疹病毒等对宿主的侵染已对我国渔业造成严重危害^[24-27]。现代分子生物学方法结合超微观察技术能对病毒病原进行分离鉴定。同时, 常规病理观察也发展到可将形态结构改变与组织、细胞的超微变化结合起来进行研究, 本研究就是借助显微与超微病变观察相结合的方法, 不仅获得了直观而有重要参考价值的信息, 加深了我们对鱼类疱疹病毒及其发病机制和发展规律认识的深度, 同时也有助于水产病毒病诊断和防控技术的提高。

参考文献:

- [1] Gui J F. Retrospects and prospects of studies on the mechanism of natural gynogenesis in silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Science Foundation in China, 1997, 11(1): 11-16. [桂建芳. 银鲫天然雌核发育机理研究的回顾与展望[J]. 中国科学基金, 1997, 11(1): 11-16.]
- [2] Gui J F, Zhou L. Genetic basis and breeding application on clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio*[J]. Science China Life Sciences, 2010, 53(4): 409-415. [桂建芳, 周莉. 多倍体银鲫克隆多样性和双重生殖方式的遗传基础和育种应用[J]. 中国科学: 生命科学, 2010, 53(4): 409-415.]
- [3] Wang Z W, Zhu H P, Wang D, et al. A novel nucleo-cytoplasmic hybrid clone formed via androgenesis in polyploid gibel carp[J]. BMC Res Notes, 2011, 4(1): 82.
- [4] Gui J F, Zhu Z Y. Molecular basis and genetic improvement of economically important traits in aquaculture animals[J]. Chin Sci Bull, 2012, 57(15): 1751-1760.
- [5] Zhang Q Y, Gui J F. Virus genomes and virus-host interactions in aquaculture animals[J]. Science China Life Sciences, 2014, 44(12): 1236-1252. [张奇亚, 桂建芳. 水产动物的病毒基因组及其病毒与宿主的相互作用[J]. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(12): 1236-1252.]
- [6] Xu L J, Podok P, Xie J, et al. Comparative analysis of differential gene expression in kidney tissues of moribund and surviving crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) in response to cyprinid herpesvirus 2 infection[J]. Arch Virol, 2014, 159(8): 1961-1974.
- [7] Yi Y, Zhang H T, Lee X Z, et al. Extracellular virion proteins of two Chinese CyHV-3/KHV isolates, and identification of two novel envelope proteins[J]. Virus Res, 2014, 191: 108-116.

- [8] Zhang H, Zeng L B, Fan Y D, et al. A loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Cyprinid herpesvirus 2* in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Sci World J, 2014: 716413.
- [9] Zhang Q Y, Gui J F. Aquatic Virology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2008. [张奇亚, 桂建芳. 水生病毒学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008.]
- [10] Zhang Q Y, Gui J F. Atlas of Aquatic Viruses and Viral Diseases[M]. Beijing: Science Press, 2012. [张奇亚, 桂建芳. 水生病毒与病毒病图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 2012.]
- [11] Chen Z Y, Gui J F, Gao X C, et al. Genome architecture changes and major gene variations of *Andrias davidianus* ranavirus (ADRV)[J]. Vet Res, 2013, 44: 101.
- [12] Gao X C, Chen Z Y, Yuan J D, et al. Morphological changes in amphibian and fish cell lines infected with *Andrias davidianus* ranavirus[J]. J Comp Pathol, 2015, 152(2-3): e110-e113.
- [13] Ou T, Zhu R L, Chen Z Y, et al. Isolation and identification of a lethal rhabdovirus from farmed rice field eels *Monopterus albus*[J]. Dis Aquat Org, 2013, 106(3): 197-206.
- [14] Lei X Y, Chen Z Y, He L B, et al. Characterization and virus susceptibility of a skin cell line from red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*)[J]. Fish Physiol Biochem, 2012, 38(4): 1175-1182.
- [15] Wang L, He J, Liang L, et al. Mass mortality caused by cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) in prussian carp (*Carassius gibelio*) in China[J]. Bull Eur Assoc Fish Pathol, 2012, 32(5): 164-173.
- [16] Wu T, Ding Z F, Ren M, et al. The histo- and ultra-pathological studies on a fatal disease of Prussian carp (*Carassius gibelio*) in mainland China associated with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2)[J]. Aquaculture, 2013, 412-413: 8-13.
- [17] Luo Y Z, Lin L, Liu Y, et al. Haematopoietic necrosis of cultured Prussian carp, *Carassius gibelio* (Bloch), associated with *Cyprinid herpesvirus 2*[J]. J Fish Dis, 2013, 36(12): 1035-1039.
- [18] Feng H, Zhang Y B, Zhang Q M, et al. Zebrafish IRF1 regulates IFN antiviral response through binding to IFN 1 and IFN 3 promoters downstream of MyD88 signaling[J]. J Immunol, 2015, 194(3): 1225-1238.
- [19] Zhang Q Y, Li Z Q, Jiang Y L, et al. Preliminary studies on virus isolation and cell infection from disease frog *Rana grylio*[J]. Acta Hydrobiological Sinica, 1996, 20(4): 390-392. [张奇亚, 李正秋, 江育林, 等. 沼泽绿牛蛙病毒的分离及其细胞感染的初步研究[J]. 水生生物学报, 1996, 20(4): 390-392.]
- [20] Zhang Q Y, Li Z Q. Detection of viral pathogen from diseased mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) with pathological observations[J]. Acta Hydrobiological Sinica, 1999, 23(2): 151-154. [张奇亚, 李正秋. 鳊鱼病毒病原的检出及组织病理分析[J]. 水生生物学报, 1999, 23(2): 151-154.]
- [21] Jeffery K R, Bateman K, Bayley A, et al. Isolation of a cyprinid herpesvirus 2 from goldfish, *Carassius auratus* (L.), in the UK[J]. J Fish Dis, 2007, 30 (11): 649-656.
- [22] Wu T, Ding Z, Ren M, et al. The histo- and ultra-pathological studies on a fatal disease of prussian carp (*Carassius gibelio*) in mainland China associated with cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2)[J]. Aquaculture, 2013(8-13): 412-413.
- [23] Zhang Q Y, Yuan X P, Li Z Q. Scanning electron microscope observation on the infected fish cells with three aquatic viruses[J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(6): 575-577. [张奇亚, 袁秀平, 李正秋. 三种水生动物病毒感染鱼类细胞的扫描电镜观察[J]. 水产学报, 2001, 25(6): 575-577.]
- [24] Xu J, Zeng L B, Yang D G, et al. Isolation and characterization of *Cyprinid herpesvirus 2* WH strain[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(6): 1303-1309. [徐进, 曾令兵, 杨德国, 等. 鲤疱疹病毒 2 型武汉株的分离与鉴定[J]. 中国水产科学, 2013, 20(6): 1303-1309.]
- [25] Chen Z Y, Liu H, Li Z Q, et al. Detection of viral pathogen from diseased common carp (*Cyprinus carpio*) by infectious tests[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(4): 617-623. [陈中元, 刘荭, 李正秋, 等. 鲤病毒病原的感染性测定[J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 617-623.]
- [26] Li T, Chen ZY, Zhang QY. Cloning, prokaryotic expression and protein separation of 6R, an *Andrias davidianus* ranaviruses (ADRV) infection-related gene[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(2): 353-358. [李涛, 陈中元, 张奇亚. 一个与大鲵蛙病毒 (ADRV) 感染相关基因—6R 的克隆、原核表达及其产物分离[J]. 中国水产科学, 2015, 22(2): 353-358.]
- [27] Ke F, He L B, Pei C, et al. Turbot reovirus (SMReV) genome encoding a FAST protein with a non-AUG start site[J]. BMC Genomics, 2011(12): 323.

Pathological changes of acute viral hemorrhages in the gills of crucian carp

FANG Jin, DENG Yuansheng, WANG Jun, LI Tao, CHEN Zhongyuan, ZHOU Li, ZHANG Qiya

State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Science, Wuhan 430072, China;

University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100036, China

Abstract: Acute outbreaks of gill hemorrhages of crucian carp (*Carassius auratus*) can cause high mortality rates, and the viral disease in China has had a devastating effect on some fish farms in recent years. To better understand the progression of the viral disease, we combined polymerase chain reaction (PCR) technology and light microscopy with electron microscopy to observe the pathological changes and virus distribution in the gill and head-kidney of diseased fish. Normal crucian carps were infected by injection with tissue filtrate (viral suspension) from naturally infected fish, which caused similar symptoms to those observed in naturally infected fish, and high mortality. The pathogen has the morphological characteristics of a typical herpesvirus (referred to as *Carassius auratus* herpesvirus, CaHV). CaHV can be determined in infected fish tissues, liver, spleen, kidney and head-kidney, using a PCR assay for the major capsid protein (MCP) gene of the known cyprinid herpesvirus. The pathological changes in different tissues, such as the gill and head-kidney, were compared at different times after infection with CaHV. The results showed that CaHV caused varying degrees of pathological change among the various tissues. The pathological changes in the gills and head-kidney increased with time after CaHV infection. There were a large number of virus particles in the head-kidney cells, suggesting that the head-kidney might be the primary target organ for CaHV invasion and replication.

Key words: *Carassius auratus*; gill viral hemorrhage; herpesvirus; pathological change; head-kidney; transmission electron microscopy.

Corresponding author: ZHANG Qiya. E-mail: zhangqy@ihb.ac.cn