

鱼病学研究论文集

(第一辑)

中国科学院水生生物研究所鱼病学

■ 海洋出版社

TRANSACTIONS OF RESEARCHES ON FISH DISEASES

No. 1

鱼病学研究论文集

(第一辑)

中国科学院水生生物研究所鱼病学研究室 编

海洋出版社

1993·北京

内 容 简 介

本论文集共辑鱼病学论文27篇，其中区系分类学论文12篇，实验寄生虫学论文4篇，寄生虫生态学论文2篇，鱼类病理学论文4篇，鱼类免疫学论文3篇，鱼类药物学论文2篇。可供生物、水产的科研、生产部门及教学单位参考。

(京)新登字087号

特约编辑 熊木林

责任编辑 陈泽卿

鱼 病 学 研 究 论 文 集

(第一辑)

※

海洋出版社出版 (北京市复兴门外大街1号)

海洋出版社发行部发行 北京西三旗印刷厂印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 10.75 字数: 260 千字

1993年10月第一版 1993年10月第一次印刷

印数: 1—1000

ISBN 7-5027-3436-8/Q·99 定价: 30.00 元

前 言

40年前，倪达书教授领导开创了我国鱼病学研究工作。40年来，在他的领导下，中国科学院水生生物研究所鱼病学研究室始终不渝地与国内外有关院校和科研机构中的科研人员，为建立和发展我国鱼病学而共同努力，并为水产养殖业的发展作出了重要贡献。

鱼病学作为一门独立的学科，其研究内容包含有基础研究和应用研究两大部分。水生生物研究所作为我国鱼病学研究的主要力量，其大部分应用研究成果，已经通过各种渠道推广到生产基层，业已在应用中取得了较好的效果；而其基础研究部分的成果，由于各种原因很难及时发表。这部分研究成果包括病原生物学、病理、药理、免疫学、病原形态、分类及生态研究等各个方面。显然，无限期地延迟发表，不利于我国鱼病学的发展，特别是这些研究成果不仅在科研工作中有重要参考价值，而且对提高鱼病学教学质量、丰富教学内容都有重要意义。

1984年，我们曾尝试出版了《中国淡水鱼类寄生虫论文集》，受到了国内外同仁的欢迎。在总结出版经验的基础上，我室决定今后将不定期地陆续出版《鱼病学研究论文集》，并将考虑吸收国内、外同仁的部分论文，以利于及时交流，互相学习，共同发展鱼病科学。

本论文集内容包括我室25位作者的27篇研究论文，其中区系分类学论文12篇，实验寄生虫学论文4篇，寄生虫生态学论文2篇，鱼类病理生理学论文4篇，鱼类免疫学论文3篇，鱼类药物学论文2篇。

本论文集得到《水生生物学报》编辑部熊木林同志和陈浩峰同志的大力支持，在按照学报要求送审论文和编辑加工中付出了辛勤的劳动；在海洋出版社的大力支持下，本论文集在“中国鱼病研究会第三次会员代表大会暨纪念倪达书教授学术讨论会”召开的前夕得以出版，使其及时与全国鱼病学界的同仁见面。在此一并深表感谢。

由于我们的水平有限，错误之处在所难免，希读者不吝指教。

中国科学院水生生物研究所鱼病学研究室

1993年5月5日

Preface

Forty years ago, the late Professor Nie Dashu started pioneer researches on fish diseases in China. With his leading roles, the Department of Fish Diseases of the Institute of Hydrobiology belonging to the Chinese Academy of Sciences has ever since made its efforts to the progress of researches on fish diseases and has contributed a great deal to the development of aquaculture in China.

Like any other scientific disciplines, researches on fish diseases include basic and pure scientific researches, and of course applied ones. Many of the later kind conducted by the China's leading research team in the Institute of Hydrobiology have been applied to aquaculture through various ways in China and have been proved effective in the control of fish diseases. However, results of pure researches can not, for many reasons, always be published when completed, among which are those on biology, morphology, ecology and taxonomy of pathogens, and on pathology, pharmacology, immunology. Obviously, the delay of the publications is by no means of any help to the development of scientific researches on fish diseases in China, as many of these researches are either of great reference value to further researches or of significance in the teaching of university courses related to fish diseases.

In 1984, a book *Parasitic Organisms of Freshwater Fish in China*, written and edited by staff in our department was published, and is widely appreciated by colleagues from all over the world. Thus, our department decided to organize symposium on fish diseases at irregular intervals and research papers from the symposium will be published as a series entitled *Transactions of Researches on Fish Diseases*. In order to achieve academic exchanges and to improve researches on fish diseases, original papers from other institutes either inland or abroad will be considered.

The present volume contains twenty-seven research papers by twenty-five authors, of which 12 papers are concerned of parasite fauna and taxonomy, 4 experimental parasitology, 2 parasite ecology, 3 fish immunology and 2 fish pharmacology.

The publication of this volume has largely benefited from Mr Xiong Mulin and Mr Chen Haofeng of the editorial board of the journal *Acta Hydrobiologica Sinica*, to whom our sincere thanks are due for their efforts in keeping all the manuscripts at the accepted scientific level by the journal. We also sincerely thank the China Ocean Press for publishing this volume before the Third Congress of the Chinese Society of Fish Diseases and the Academic Conference in commemoration of late Professor Nie Dashu, which shall be held in Wuhan in November 1993.

Department of Fish Diseases, Institute of Hydrobiology,
Chinese Academy of Sciences (Academia Sinica).

May 5, 1993

鱼病学研究论文集(第一辑)

目 次

草鱼出血病病毒导致肝功能代谢失调机理的研究·····	朱心玲、谢巧雄 (1)
两种呼肠孤病毒株所致草鱼出血病的病理组织学研究·····	郭琼林、江育林 (7)
三种抗微生物药物对草鱼的急性和亚急性毒性·····	李爱华、朱心玲、卢全章 (12)
克列奥鱼服康抗草鱼出血病病毒的实验研究·····	朱心玲、李爱华、谢巧雄 (20)
草鱼胸腺细胞自身红细胞花环的初步研究·····	卢全章 (26)
鳊鲢肾脏的显微与超微结构观察·····	郭琼林、卢全章 (31)
草鱼胸腺和头肾细胞在抗 <i>Aeromonas punctata</i> 感染中的免疫作用··	卢全章、聂 品 (37)
氢化可的松对草鱼免疫器官及免疫细胞影响的初步研究·····	郭琼林 (46)
透明六鞭毛虫新种及其超微结构·····	肖武汉、李连祥 (52)
鲢六鞭毛虫的超微结构·····	肖武汉、李连祥 (56)
显著六鞭毛虫分裂过程的观察·····	肖武汉、李连祥 (60)
鲤寄生“未明血液生物体”(UBO) 在我国的研究和发现·····	····· 谢杏人、杨名义、陈启鏊 (65)
·····	····· 谢杏人、杨名义、肖武汉 (72)
粘孢子虫孢子发育新模式及一新种的描述·····	谢杏人、龚小宁、肖武汉 (77)
淡水鱼类寄生粘孢子虫两新种·····	肖从学、陈启鏊 (83)
鱼类寄生粘孢子虫三新种·····	谢杏人、龚小宁 (87)
鱼类寄生粘孢子虫两新种的记述·····	李连祥、汪建国 (91)
淡水鱼类寄生肤孢子虫一新种·····	肖从学、陈启鏊 (95)
寄生于拉萨裸裂尻鱼鳃上指环虫两新种的记述·····	姚卫建、王伟俊 (98)
淡水鱼类寄生鳞肉科吸虫一新属新种记述·····	冯 伟、王伟俊 (102)
七种淡水鱼类寄生复殖吸虫染色体研究·····	孔任秋、潘金培 (106)
黄颡鱼似嗜子宫线虫(新种)的描述·····	余 仪、伍惠生、王桂堂 (112)
黄颡鱼似嗜子宫线虫病病原生活史及流行病调查·····	····· 余 仪、王桂堂、冯 伟、伍惠生、王伟俊 (116)
鱼类寄生刺盖属线虫两新种的研究·····	王桂堂、伍惠生、余 仪 (123)
武汉和洪湖几种鱼类寄生毛细线虫记述·····	孙世春、伍惠生 (129)
淡水鱼类鲢科两新种·····	刘建雄、王伟俊 (135)
运用Lorenz曲线和Gini系数衡量小三指鲢(桡足亚纲、鲢科)繁殖的个体差异·····	····· 聂 品、刘建雄 (141)

CONTENTS (No.1)

Studies on the Mechanism Resulted in Liver Functional Metabolic Disturbance by Grass Carp Hemorrhagic Disease Virus.....	
.....Zhu Xinling and Xie Qiaoxiong (5)	
Histopathological Studies of the Hemorrhagic Disease of Grass Carp Infected by Two Types of Grass Carp Reovirus.....	Guo Qionglin and Jiang Yulin (11)
Acute and Subacute Toxicity of Three Antimicrobial Drugs on Grass Carp(<i>Cteno- pharyngodon idellus</i>).....	Li Aihua, Zhu Xinling and Lu Quanzhang (19)
Experimental Studies on Kelicao-Yufukang Against Hemorrhagic Disease Virus of Grass Carp.....	Zhu Xinling, Li Aihua and Xie Qiaoxiong (25)
A Preliminary Study on Autologous Rosette Formation of Thymocytes in Grass Carp (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>).....	Lu Quanzhang (30)
Observation of Microstructure and Ultrastructure on Kidney of <i>Anguilla Japonica</i> Temminck & Schlegel.....	Guo Qionglin and Lu Quanzhang (36)
Anti-infection Immunity to <i>Aeromonas punctata</i> in Thymocyter and Head Kidney Cells of Grass Carp (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	Lu Quanzhang and Nie Pin (45)
Preliminary Study of Effects on Immune Organs and Immune Cells in Grass Carp Induced by Hydrocortisone (HCT).....	Guo Qionglin (51)
<i>Hexamita transparentus</i> sp. nov. and its Ultrastructure.....	Xiao Wuhan and Li Lianxiang (55)
An Ultrastructural Study of <i>Hexamita xenocyprini</i> Chen.....	Xiao Wuhan and Li Lianxiang (59)
Observation on the Division of <i>Hexamita nobillis</i>	Xiao Wuhan and Li Lianxiang (64)
The First Report and Study on the "Unidentified Blood Organism" (UBO) in Carp in China.....	Hsieh Shingren, Yang Mingyi and Chen Chihleu (71)
The Immunoreaction of Carp's White Blood Cell to "Unidentified Blood Organism"(UBO).....	Hsieh Shingren, Yang Mingyi and Xiao Wuhan (76)
Descriptions of a New Model of Myxosporean Sporogenesis and a New Species	Hsieh Shingren, Gong Xiaoning and Xiao Wuhan (82)
Descriptions of Two New Species of Myxosporidia from <i>Carassius auratus gibelio</i>	Xiao Congxue and Chen Chihleu (85)
Three New Species of Myxosporidian from Fishes.....	Hsieh Shingren and Gong Xiaoning (89)
Two New Species of Myxosporidia of Fishes...Li Lianxiang and Wang Jianguo (93)	
A New species— <i>Dermocystidium sinensis</i> sp. nov. From Freshwater Fishes of China	Xiao Congxue and Chen Chihleu (97)
Two New Species of <i>Dactylogyrus</i> Parasitic on Gills of <i>Schizopygopsis Young-</i>	

<i>husbandi</i> <i>younghusbandi</i> Regan	Yao Weijian and Wang Weijun (101)
Descriptions of a New Genus and a Species of <i>Lepocreadidae</i> (Trematoda) from Freshwater Fishes	Feng Wei and Wang Weijun (104)
Studies on the Chromosomes of Seven Species of Digenetic Trematodes From Freshwater Fishes.....	Kong Renqiu and Pan Jinpei (111)
Note on <i>Philometroides fulvidraconi</i> sp. nov.	Yu Yi, Wu Huisheng and Wang Guitang (114)
Philometroidiasis of Yellow Catfish, <i>Pseudobagrus fulvidraco</i> , Life Cycle of the Pathogen and its Epidemiology	Yu Yi, Wang Guitang, Feng Wei, Wu Huisheng and Wang Weijun (122)
Two New Species of <i>Spinitectus</i> (Parasitic Nematodes) from Fish	Wang Guitang, Wu Huisheng and Yu Yi (126)
Fish Parasitic Nematodes of Genus <i>Capillaria</i> in Wuhan and Honghu	Sun Shichun and Wu Huisheng (133)
Two New Species of the Family Ergasilidae from the Freshwater Fishes of China.....	Liu Jianxiong and Wang Weijun (139)
The Use of Lorenz Curve and Gini Coefficient in Detecting Individual Variations in Fecundity of <i>Paraergasilus mimus</i> (Copepoda, Ergasilidae)	Nie Pin and Liu Jianxiong (146)

草鱼出血病病毒导致肝功能 代谢失调机理的研究

朱心玲 谢巧雄

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

草鱼种经人工感染呼肠孤病毒后, 用临床生化检验反映肝功能代谢异常。检测结果表明血清谷丙转氨酶、异柠檬酸脱氢酶在感染4d的潜伏期鱼体内其活性明显增高, 血浆总蛋白和尿素氮含量减少; 当进入发展期(第8d), 上述两种酶活性增高更为明显, 碱性磷酸酶活性略有增高、鸟氨酸氨甲酰转移酶活性降低。血浆总蛋白、血清尿素氮、白蛋白和胆固醇含量显著减少。乳酸脱氢酶同工酶的相对活性在潜伏期和发展期病程内出现紊乱, 同时, 还明显可见一条多出的区带。上述研究结果初步证实草鱼出血病病毒所致肝功能失调的机理。

关键词 草鱼, 出血病, 呼肠孤病毒, 肝失调

草鱼出血病是我国淡水养殖业中危害较大流行广的一种疾病, 此病的病原体已被确定并已被定名为草鱼呼肠孤病毒(Reovirus of grass carp 简称 GCRV)^[7]。关于草鱼组织病理的研究已有报道^[1, 2], 笔者(1987)也曾报道了此病的血液病理研究结果^[5]。上述的研究均阐明病毒侵袭宿主后, 致使全身毛细血管受损, 导致组织出血, 细胞坏死。本文研究的旨在探讨病毒侵袭宿主造成肝脏微循环障碍所致肝细胞损害, 坏死, 引起肝功能代谢失调的机理。

材料与方法

病毒毒源 从武汉市东西湖养殖场水产试验所的发病池中收集的病鱼组织, 贮存于-20℃冰箱, 备用。

试验鱼 体重为10—80g的草鱼, 取自本所试验场, 试验前需用2%盐水作20—30min的体外消毒, 然后放入去氯自来水中暂养约24h, 备用。

人工感染的试验步骤 将冰冻保存的病鱼组织, 制成 10^{-1} 的病毒悬液, 然后, 每尾按0.01ml/g体重的注射量, 注入鱼体腹腔内, 尔后放入去氯自来水中饲养观察, 感染期间不喂食、水温控制在28—30℃。

1) 郑德崇等, 1984. 全国草鱼病研究学术讨论会论文汇编。229—233。

2) 卢全章等, 1985. 鱼病简讯。(1):14—17。

血样的收集与制备 潜伏期病鱼的血样收集是取注射感染4d，外观无症状的病鱼；发展期病鱼的血样收集是取感染后病状明显，垂死的病鱼；另设置未感染病毒的对照鱼。用切开围心腔法采血。自然发病病鱼的血样收集：潜伏期病鱼的血样采集是在初发出血病的病池中，随意捕用无症状的病鱼；发展期病鱼是逐尾捞取病池内症状明显的病鱼，平均体重是15.88g，用切开围心腔法采血。采出的血液置4℃冰箱中经30min左右，离心（3000r/min），取出上清液，血浆或血清置0℃保存，备用。

血液临床化学分析^[1, 11] 酶活性的测定：谷丙转氨酶（GPT）用金氏直接显色法；异柠檬酸脱氢酶（ICDH）用反应产物α-酮戊二酸和2，4-二硝基苯肼的呈色反应法；碱性磷酸酶（AKP）用4-氨基安替比林法；鸟氨酸氨甲酰移换酶（OCT）用鸟氨酸和氨基甲酰磷酸二锂为基质，用二乙酰单肼和反应产物瓜氨酸的呈色反应测定酶活力；乳酸脱氢酶同工酶（LDH同工酶）用醋酸纤维薄膜电泳法。蛋白质的测定：血浆总蛋白用双缩脲法；白蛋白用溴甲酚绿法；尿素氮用二乙酰-肼法；胆固醇用邻苯二甲醛直接显色法。

t值检验 用人工感染组织与对照组两样本均数差异的显著性测验公式；自然感染用样本均数与总体均数差异的显著性测验公式；总体均数采用笔者建立的血液正常值。

结 果

1. 反映肝实质细胞损害的血清酶类

实验选择了反应肝实质细胞损伤较为敏感的谷丙转氨酶、异柠檬酸脱氢酶、碱性磷酸酶、鸟氨酸氨甲酰移换酶和乳酸脱氢酶同工酶等5种酶类，检测结果见表1、2。从表中明显可见谷丙转氨酶、异柠檬酸脱氢酶活性，经人工感染4d后取样检查就有增高趋势，直至发展期时这两种酶活性增高愈加明显。而碱性磷酸酶活性增高只在发展期病鱼血清中显示，且增高的幅度小于30金-阿氏单位。鸟氨酸氨甲酰移换酶也显示了在发展期病鱼血清中有变化，而其变化是酶活性降低。

血清乳酸脱氢酶同工酶（LDH）的检测结果是正常草鱼种有5条区带，酶相对活性顺

表1 反映肝实质细胞损害的血清酶类

Tab.1 Serum enzymes of refected the injury of liver substantial cell

血液参数 Blood parameters	正常值 Normal values	潜伏期 Latent period	发展期 Developing period
谷丙转氨酶 (GPT) IU	45.5±11.21* (43)	63.3±18.5 (34)	83.3±24.4 (22)
异柠檬酸脱氢酶 (ICDH) IU	137±38.3 (37)	191.7±50.3 (29)	182.7±43.8 (25)
碱性磷酸酶 (AKP)	18.2±2.9 (37)		20.9±0.9 (38)
鸟氨酸氨甲酰移换酶 (OCT) m-IU	6.6±2.0 (10)		4.7±1.5 (8)

• 均值±标准差Mean±S.D.
括弧内数字示测定鱼数 Data in brackets indicate number of fish examined.

序是LDH-1 < LDH-2 < LDH-3 < LDH-4 < LDH-5, 而病鱼在潜伏期和发展期的LDH同工酶的相对活性出现紊乱, 病鱼在潜伏期和发展期的LDH同工酶的相对活性顺序是LDH-1 > LDH-2 > LDH-3 > LDH-5 > LDH-4 > LDH-6。并且在部分病鱼的电泳LDH同工酶谱靠阴极位置明显多出一条区带, 称为LDH-6。

表2 正常鱼和病鱼乳酸脱氢酶同工酶相对活性顺序

Tab. 2 The order of relative activity of lactate dehydrogenase(LDH) isozyme in diseased and normal fish

组 别 Groups	LDH同工酶相对活性的顺序 The order of the relative activity of LDH isozyme
正常鱼Control fish	LDH-1 < LDH-2 < LDH-3 < LDH-4 < LDH-5
自然感染病鱼(潜伏期) Natural infected fish (latent period)	LDH-6 < LDH-4 < LDH-5 < LDH-3 < LDH-2 > LDH-1
人工感染病鱼(发展期) Artificial infected fish (developing period)	LDH-6 < LDH-4 < LDH-5 < LDH-3 < LDH-2 < LDH-1

2. 反映肝实质细胞损害的血浆总蛋白、血清白蛋白、尿素氮和胆固醇

检测结果列于表3。从表中可见经人工感染病毒后的病鱼, 无论是潜伏期和发展期, 其含量均明显减少 (p值<0.001) 的病理变化。在自然感染出血病病毒发展期病鱼血清中, 血清白蛋白的含量减少 (p值<0.01); 血清尿素氮的含量无论在人工感染或自然感染病鱼中均呈明显的病理变化, 其含量减少 (p值<0.001) 在潜伏期与发展期都明显可见; 血清胆固醇浓度减少 (p值<0.001) 仅在自然感染发展期病鱼体内发生。

表3 反映肝实质细胞损害的血清蛋白类和胆固醇

Tab. 3. Serum Proteins and cholesterin of refected the injury of liver substantial cell

血液参数 Blood parameter	正 常 值 Normal values	潜 伏 期 Latent period	发 展 期 Developing period
尿 素 氮 (BUN)mg %	7.51±2.65* (422)	5.23±3.05 (195)***	5.06±1.53 (67)***
血浆总蛋白 (Plasma total protein)g %	2.88±0.53 (53)	2.37±0.66 (26)***	1.79±0.43 (53)***
白 蛋 白 (Serum albumen)g %	1.81±0.58 (215)		1.35±0.23 (7)**
胆 固 醇 (Serum cholesterin mg %)	240.04±53.48 (213)		137.88±36.72 (19)***

• 均值±标准差Mean±S. D.; 括弧内数字表示测定鱼数 Data in brackets indicate number of fish determened; ** p≤001(十分显著); *** p≤0.001(非常显著)

讨 论

肝脏是物质代谢最重要的器官,对于肌体内的蛋白质、脂肪、酶等合成、分解和贮存具有非常重要的作用。当草鱼出血病病毒侵袭鱼体时,肝脏的结构和功能必将受到不同程度的影响,临床上可应用各种生化检验方法来测知其受损的情况作辅助诊断。

有人对此病曾作了系统的组织病理研究,通过形态病变的观察,说明了病毒侵袭鱼体后使肝细胞肿大变化,随着病情的进展,循环及代谢障碍可导致组织坏死;笔者(1987)对患出血病病鱼进行了系统的血液病理研究,已从检测的血液参数中,对肝、肾功能失调的机理有所阐明。本研究中选择检测的血液指标是为了推测病毒侵袭鱼体后,造成肝细胞损伤、坏死,导致肝功能代谢失调的机理。

肝脏在代谢过程中所起的重要作用,是与它含有许多种类的酶类有关,它不仅能排泄某些酶到胆道,而且还能释放一定数量的酶入血液。因此,肝脏受损害时,常伴有血清中某些酶活性的升高或降低。如谷丙转氨酶为胞浆中的酶和分子量小的异柠檬酸脱氢酶,常因肝细胞破坏或细胞膜的变化而引起上述两种酶的漏出,使血中酶活性增高,文献的检测结果也证实了这一点^[2, 3, 7, 10]。碱性磷酸酶活性为轻度增高(30金-阿氏单位),说明病变以肝细胞损害为主,故血清碱性磷酸酶活性上升常不及胆道梗阻或肝内占位性病变更明显^[2]。鸟氨酸氨甲酰移换酶活性的降低是由于肝脏受损害时,瓜氨酸合成障碍而造成鸟氨酸循环中的一些酶如鸟氨酸氨甲酰移换酶的活性降低^[3, 7]。据杨端等(1981)的实验结果,阐明了草鱼不同组织中的LDH同工酶谱型,并发现肝中还具有另一组分^[8]。Wilson等(1973)也从肝中分离出很高活性的向负极游动的LDH同工酶带,这种肝组织特殊的同工酶也存在于其它鲤科鱼中^[11]。研究表明在部分病鱼体内出现了第6条区带(LDH-6)这条向负极游动的同工酶带似与肝中向负极游动的区带相似。由此可见,患出血病病鱼体内有可能因为肝细胞遭受损伤导致LDH同工酶释放至血液中,因此,形成了LDH同工酶第6条区带的出现。

肝脏是进行蛋白质代谢非常旺盛的器官,是合成血浆蛋白的主要场所,目前已知血浆全部白蛋白及球蛋白也都在肝内合成,因此,可由血浆蛋白的质和量的改变来检验肝脏功能。研究结果也表明了血浆总蛋白及血清白蛋白的含量,在病鱼体内明显减少。同时,尿素是蛋白质分解的产物,当蛋白质代谢受影响时,血中尿素氮的含量也受影响,研究表明血清尿素氮含量下降显著,从而间接说明肝细胞的损害^[2, 4, 10]。

肝脏在胆固醇的吸收、合成和酯化作用中均有重要作用,肝脏合成胆固醇的能力占全身合成总量的3/4以上,因此,血清胆固醇含量在发展期病鱼体内明显降低,就意味着病毒的感染影响了肝脏功能的正常代谢,使合成它的能力减弱,在加上罹病鱼的厌食造成营养不良,也使它的含量大为降低^[4, 7]。

参 考 文 献

- [1] 上海市医学化验所主编, 1979. 临床生化检验, 上册. 上海科学技术出版社。
- [2] 上海市医学化验所主编, 1979. 临床生化检验, 下册. 上海科学技术出版社。
- [3] 上海第一医学院主编, 1979. 医用生物化学. 人民卫生出版社。

- [4] P. 卡尔森、W. 格罗克、W. 格罗斯著。张增明译, 1984。病理生化学。科学出版社。
- [5] 朱心玲、贾丽珠、张明瑛, 1987。草鱼出血病潜伏期和发展期的血液病理研究。水生生物学报, 11(1): 59—66。
- [6] 陈燕棠、江育林, 1983。草鱼出血病病毒形态结构及其理化特性的研究。科学通报, 18: 1138—1140。
- [7] 南京农学院主编, 1984。家畜病理生理学。农业出版社。
- [8] 杨端、周仁珍, 1981。青、草、鲢、鳊的乳酸脱氢酶同工酶谱及其与毒物作用的关系。环境科学学报, 1(3): 250—257。
- [9] 福州部队总医院编, 1978。临床医学检验。上海科学技术出版社。
- [10] 魏文汉主编, 1984。病理生理学。上册。上海科学技术出版社。
- [11] Wilson, F., Gregory, R., Whitt, S. and Prosser, C. L., 1973. Lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase isozyme patterns in tissues of temperature-acclimated goldfish (*Carassius auratus* L.), *Comp. Biochem. Physiol.*, 46B: 105—116.

STUDIES ON THE MECHANISM RESULTED IN LIVER FUNCTIONAL METABOLIC DISTURBANCE BY GRASS CARP HEMORRAGIC DISEASE VIRUS

Zhu Xinling and Xie Qiaoxiong

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

The paper describes some of the mechanism of liver functional metabolic disturbance after the grass carp fingerling had been artificially by Reovirus. The results showed under the artificial infection conditions, whatever the diseased fish were in the latency or developed period, the liver functional metabolic disturbance could be indicated in the blood values.

During the latency period by days 4, the activity of glutamic pyruvic transaminase (GPT), isocitric dehydrogenase (ICDH) were increased significantly in the serum, but the activity of two enzymes were more evident increased in the developed period by days 8. The activity of alkaline phosphatase (AKP ALKPase) was slightly increased, but ornithine transcarbamylase (OCT) activity was decreased in the serum. The reduction of plasma total protein, urea nitrogen were evident during the latency period, while it was obvious reduced in the developed period.

In addition albumen and cholesterol shown different changes in the latency and developed period. The albumen marked increase was found in the latency period, but significant decrease is the developed period. There was no change in the level of cholesterol in the latency period, while reduced rapidly in the developed period. It was clear that the changes of food consumption, nutrition and liver metabolic disturbance. Could be indicated by the changes of blood values during the course of disease development.

The results illustrated that normal grass carp fingerlings had five band in their serum lactic dehydrogenase(SLDH)isoenzyme pattern. However, relative activity of SLDH isoenzyme seemed to be disordered in the latency and developed period of disease. Moreover, one more band was detected near the negative pole of SLDH isoenzyme pattern in some diseased fish. Above these results indicates that liver was the target organdamaged by these viruses.

Because of the SLDH isoenzyme pattern in the liver tissues of grass carp found another component. Therefore,the sixth band of SLDH isoenzyme found in the present study seemed to be alike with SLDH isoenzyme band isolate from the liver. It was then imagined that SLDH isoenzyme was released from the damaged liver to be blood, thus forming the sixth SLDH isoenzyme band.

Obviously, the viral infection a loss of liver function and functional disturbance could account for pathological change of GPT, ICDH, LDH isoenzyme, ALKpase, OCT in the serum. These data of hemopathologic studies indicated that the fish haemorrhagic disease infected by virus could be attributed to the injury of the liver tissue.

As everybody knows,the protein and cholesterin combined to from liver. Therefore, these changes of contents showed that liver suffered from harm of disease.

The extensive data of clinical biochemic test indicated that the fish hemorrhagic disease infected by virus could be attributed to the injury of the liver tissue results in the abnormal liver involving severe functical diturbance.

Key words Grass carp, Hemorrhagic disease, Reovirus, Liver, Dicturbance

两种呼肠孤病毒株所致草鱼出血病的病理组织学研究

郭琼林 江育林

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

草鱼出血病是一种由呼肠孤病毒引起的急性传染病。许多现象表明:草鱼呼肠孤病毒可能存在一些不同的株或型。通过实验,笔者主要观察和比较了由呼肠孤病毒株GV-873和GV-9014感染所致草鱼出血病的病理组织学特征:前者病理变化以内部器官为主(肝实质细胞变性、坏死;肝脏、脾脏血管严重充血、出血等);后者病理变化以外部特征为主(躯干肌肉、口腔等充血、出血),兼有广泛的内部器官病变(部分肝实质细胞变性、坏死;部分肝脏、脾脏血管充血、出血;少数肠道上皮粘膜脱落、血管充血或出血等)。本文对其发病机理、特征进行了初步的探讨与分析。

关键词 草鱼出血病, 鱼病, 鱼类病理组织学, 草鱼呼肠孤病毒

自1984年由陈燕燊等首次证实草鱼出血病是由呼肠孤病毒引起^[1]以来,国内许多学者如柯棣华等^[2, 3]、丁清泉等^[4]均相继进行了大量的病毒分离、形态结构及生化特性等病原生物学及感染力实验研究。郑德崇等^[5]、卢全章等¹⁾亦开展了病理组织学观察,但迄今为止,这些病理观察仅限于自然发病草鱼的组织悬液感染实验材料。多年来的研究结果,特别是灭活疫苗在全国各地应用的经验显示:草鱼呼肠孤病毒可能存在一些不同的株或型。这些不同的病毒株有无毒力、致病性差异?与出血病病理变化特征有无内在联系?鉴于此,作者通过本次实验,收集、制备并观察了千余块组织切片标本,现报告如下。

材料与方法

材料鱼来源 本所关桥鱼场孵化的当年草鱼。约2月龄、长6—10cm。孵化后饲养于室内水槽中。

感染与取材 病毒材料有两种:GV-873,草鱼呼肠孤病毒湖南株,由中国科学院病毒研究所赠送;GV-9014,草鱼呼肠孤病毒邵阳株,由湖南省邵阳地区水产所赠送。以上两株病毒均经过滤除菌,在CIK细胞中传代。其感染后的细胞悬液冻融、离心去碎片,然后用PBS 10倍系列稀释从 10^{-1} 到 10^{-4} ,分别注射草鱼种,每尾0.1ml,每组20尾(即GV-873为1—4组,

1) 卢全章、雷武, 1985. 草鱼出血病的组织病理学研究。鱼病简讯, (1):14—17。

GV-9014为1—4组),于25—27℃下饲养三周。注射GV-873的草鱼仅于感染后第2、3 d出现10%的死亡,因而分组收集濒死草鱼作病理检查。而注射GV-9014的草鱼于感染后第5—12 d死亡70%—100%;死亡鱼未见组间明显病理解剖特征差异,故未分组收集发病鱼材料。

标本制作 断尾取血,涂于玻片上,自然晾干。瑞氏染液染色,油镜下观察。组织标本用Bouin氏液固定,常规石蜡包埋,切片厚度6—7 μm,苏木精-伊红染色,显微镜观察并照相。

结 果

(一) 病理解剖

1. GV-873组 1、2组草鱼胸鳍、腹鳍、口腔、下颚、躯干肌肉无明显充血、出血现象。个别草鱼外表可见极少量出血点。剪尾取血,血量较少且稀薄色淡。剪开腹腔,无脓性分泌物,肠粘膜无粘连。肾脏略肿大或正常。肝脏、脾脏淤血,尤以脾脏肿大、淤血明显,脾脏与周围的肝组织分界不明显。3、4组草鱼肝脏、脾脏外观淤血不明显,个别草鱼肾脏较小。其他同正常草鱼基本相似。

2. GV-9014组 胸鳍、腹鳍、口腔、下颚充血较明显,绝大部分草鱼躯干充血、出血明显。挤压腹部,无脓性分泌物自肛门流出。剪尾取血,血量极少且稀薄色淡。剪开腹腔,未见肠粘膜粘连。肾无异常。除少数脾脏略呈淤血状外,肝脏及大部分脾脏肉眼观察无明显异常。个别肠道粘膜有溃烂脱落灶,其中央处可见出血点,无脓性分泌物。

(二) 外周血液细胞初步观察

在正常情况下,GV-873组、GV-9014组草鱼外周血液中均可见到一种“特殊小细胞”:细胞大小与小淋巴细胞相似或稍大(直径约为6—10 μm)。核圆形,居中。胞浆较小淋巴细胞色深而丰富,呈深蓝色,此外常可辨认数量不定的细小深蓝色颗粒。形态特征与哺乳类造血干细胞有某些相似之处。

正常血涂片中白细胞和此种“特殊小细胞”均稀少,形态未见异常。GV-873组血涂片中淋巴细胞极容易发现。“特殊小细胞”明显密集,一个油镜视野区内常可见2个或以上。其中GV-873的1—3组血涂片中尚见到变形的淋巴细胞:细胞轮廓变形,扭曲;核扭曲、折叠或呈固缩、碎裂趋势。中性粒细胞可见,但非常稀疏。偶见“特殊小细胞”与原始细胞构成的细胞团。GV-873第4组血涂片接近正常草鱼。GV-9014组血涂片中淋巴细胞虽比GV-873组明显稀少,但亦可观察到极少量的变形淋巴细胞。

(三) 组织病理标本观察

1. GV-873组 第1组镜下可见肝实质结构病变较为明显。切片中部分区域肝细胞索排列紊乱,有的崩解,可见明显而较大的坏死病灶区: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。坏死区域内及周围无中性粒细胞聚集、周围亦无明显的细胞致密层包绕和纤维素样反应(图版I:1—3)。少数细胞已出现脂肪变性:胞质内充满大小不等的脂滴。肝脏内小血管严重扩张、充血,尚有一部分血管破裂,血细胞常自

破裂的血管壁溢出坏死、变性的肝细胞区域内(图版 I: 1, 2)。此外,一部分肝血窦亦明显扩张、充血(图版 I: 4)。肝区内散在分布的胰腺组织血管充血严重,一部分胰腺腺泡上皮细胞呈肿胀或坏死崩解变化(图版 I: 5)。脾脏中小血管与脾窦高度扩张、充血,一部分血管破裂,血细胞外溢(图版 I: 5),但未见炎性血栓:即充血的血管内滞留大量白细胞。无大量含铁血黄素沉积和明显巨噬细胞中心出现。少数脾脏标本内可见造血组织细胞坏死区(图版 I: 6)。肾脏切片中除可观察到一部分血管充血、出血外,肾小管上皮细胞无明显变化。肠道切片观察未见明显异常。第2组肝脏组织切片中仍有较大范围的肝细胞坏死合并出血区,病理形态同GV-873-1组,同时出现较小范围的肝细胞索排列紊乱、坏死崩解区。可见少数散在脂肪变性肝细胞。小血管及肝血窦充血、扩张甚至破裂。脾脏、肾脏的病理变化同第1组。肠道未见明显病变。第3组肝脏内仍有小坏死区(图版 II: 7)。有极少数散在分布的脂肪变性肝细胞。血管扩张较1—2组轻。肠道未见明显病理变化。第4组肝脏标本中基本不见较明显的坏死病灶区,但仍偶见肝细胞索紊乱及坏死细胞和极少数散在分布的脂肪变性肝细胞,少数血管略扩张、充血。尚有一部分肝脏组织标本病变不明显。脾脏内血管病变较轻,无坏死造血细胞区。肾脏、肠道未见明显的病理变化。(图版 II: 8)。

2. GV-9014组 除少数标本中偶见极小范围的坏死病灶区及排列紊乱、坏死崩解的肝细胞索外,绝大部分肝脏标本内可见较为明显、数量较GV-873组多的水样变性及脂肪变性肝细胞(图版 II: 9, 10, 11),水样变性的肝细胞常聚集成群,细胞体积明显增大,胞浆混浊或嗜酸性减弱,细胞核可出现固缩状。肝脏内血管扩张、充血、破裂程度轻于GV-873组,但在极少数标本中仍较为明显。肝区内胰腺组织血管充血较轻,胰腺腺泡上皮细胞正常或略肿大,无明显坏死崩解。

大部分脾脏组织标本中有程度不同的血管充血。肾脏未见明显病理变化。大部分肠道未发现明显病变,但在少数标本中可见肠道上皮大片脱落,严重者甚达粘膜下层及肌层,管腔中及粘膜下层充满从血管溢出的血细胞(图版 II: 12),无明显粒细胞聚集现象。粘膜下层及肌层内血管充血、扩张、出血。

讨 论

观察结果表明:GV-873组和GV-9014组都呈现不同程度的病理变化,其病理特征为局部组织(以肝脏为主)的变质:即变性与坏死;血管充血、出血等血液循环障碍;外周血象提示以淋巴细胞数量增多及形态改变为主等,从而证实:两组的病变性质均为较典型的病毒性出血性炎症,尽管两组病变主要部位、程度等有差异。此外,在实验中观察到GV-873组在注射感染后2d可出现死亡现象,而局部组织变质和血管充血、出血等并非病毒感染所特有,其发病急、病程短亦似乎与细菌感染吻合。但作者可根据:(1)病检实验鱼时未发现任何脓性分泌物;组织切片观察病变部位及周围未发现中性粒细胞聚集现象;外周血象未显示中性粒细胞增多趋势;(2)注射物为完全无菌的细胞悬液并经青、链霉素处理;(3)GV-873-1组至GV-873-4组病变程度与浓度成正比相关表明这些病变确系人工感染病毒所致;结合本次观察的病理解剖、病理组织学特征,排除细菌合并感染可能性,而实为急性病毒感染。