

# 杂色鲍溃疡症的显微及亚显微病理变化

陈志胜<sup>①</sup> 吕军仪<sup>②</sup> 吴金英<sup>②</sup>

(<sup>①</sup>佛山科技学院动物医学系 佛山 528000; <sup>②</sup>中山大学生命科学院 广州 510275)

**摘要:** 杂色鲍溃疡症组织的病变主要在足部和外套膜, 皮下结缔组织出现大量空泡变性, 肌纤维紊乱直至断裂消失, 细菌在组织间隙生长。发病后期消化系统出现病变, 消化功能受阻。超微结构观察表明, 足部、外套膜、消化道组织细胞均发生线粒体肿胀, 内嵴变少甚至消失, 存在不同程度的细胞内膜性空泡, 内质网膨胀, 核变形, 提示本病致死原因可能为能量衰竭。

**关键词:** 杂色鲍; 溃疡症; 病理

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)02-06-04

## Pathological Studies on Ulcerate Disease in *Haliotis diversicolor*

CHEN Zhi-Sheng<sup>①</sup> LÜ Jun-Yi<sup>②</sup> WU Jin-Ying<sup>②</sup>

(<sup>①</sup>Foshan Science and Technology University, Foshan 528000; <sup>②</sup>Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Histopathological study showed that the normal histology of the tissues of pedal, mantle and hepatopancreas were altered when ulcerate disease occurred in *Haliotis diversicolor*. The epithelium of pedal was extensively damaged and muscular fibers were arranged in disorder and even broken. The histological changes of mantle were characterized by the existence of massive vacuoles in connective tissues and epithelium. Bacterial cells grew between musculature and surrounding muscular connective tissue. There were some vibriosis in vascular sinuses in the pedal. The observations at the level of ultrastructure showed that the pathological changes in cells of the pedal, mantle and hepatopancreas occurred. There were different pathological changes in the cells of mantle and hepatopancreas, i. e. swollenness, denaturation and necrosis.

**Key words:** *Haliotis diversicolor*; Ulcerate disease; Pathology

我国南方沿海杂色鲍(*Haliotis diversicolor*)养殖业正在迅速发展, 并且形成了工厂化、高密度、集约式养殖模式。在此模式下, 鲍病的发生也日益严重, 因此对杂色鲍病的检测、预防和治疗亟待解决。杂色鲍溃疡症在每年的4、5月至8、9月都可发病, 并呈爆发性蔓延, 壳长25~60 mm的鲍均见发病, 死亡率可达60%~80%。关于病因和病原的研究已作过报道<sup>[3]</sup>, 本文着重探讨足溃疡症造成的足、外套膜及消化系统的组织学和超微结构变化与致死原因。

## 1 材料与方法

患溃疡症鲍样采自广东省汕尾市粤胜鲍鱼养殖公司。采后就近进行组织固定工作。

**1.1 病理组织切片的制备** 切取典型病鲍小块足、外套膜、肠、肝胰腺等组织, 用 Bouin's 液

**第一作者介绍** 陈志胜, 女, 30岁, 讲师, 硕士; 主要从事经济动物病害研究。

收稿日期: 2003-07-15; 修回日期: 2003-12-01

固定 24 h 后,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,AO 切片机切片  $5 \sim 7 \mu\text{m}$ ,H.E 染色。用健康鲍的同样组织做对照。置 Olympus 显微镜下观察、拍照。

**1.2 超薄切片的制备及观察** 取典型病鲍,以锋利的刀片迅速切下体积约  $0.5 \sim 1 \text{ mm}^3$  小块足、外套膜、肠、肝组织,戊二醛与锇酸双重固定,脱水后用环氧树脂 618 浸透,包埋。切片  $600 \sim 700 \text{ nm}$ ,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,于 Philips CM10 透射电镜观察、摄影。取正常鲍相应组织作为对照。

## 2 结 果

**2.1 临床症状** 病鲍壳长  $20 \sim 60 \text{ mm}$ ,腹足肌肉无力,从附着基上脱落,下足发白,触之较软,有肿胀现象;上足色素脱落,呈斑点状;触角不伸出或松弛,对外界刺激反应迟钝。肉眼观察,鳃丝稍有粘连,肝胰脏无变化。解剖发现,消化道中食物阻塞,甚至食道中都有食物团块。病程较长者,腹足和内脏团渐渐萎缩。当环境条件转好时,下足表皮形成痂痕,结节。

### 2.2 组织病理学及其超微结构病变

**2.2.1 足部** 正常的足组织较致密,主要由大量纵横排列的肌纤维组成,最外面是一层排列紧密的上皮细胞,具少量皱襞。肌纤维排列有序,细胞核圆形,散布在肌原纤维之间,结缔组织结构正常。神经纤维穿过肌肉组织,肌纤维间分布着大小不一的血窦(图版 I:1)。

病鲍足部的组织切片观察可见:上皮细胞肿胀,与基膜脱离,并逐渐脱落,皮下的结缔组织代偿性增生,细胞核排列在最外层,其中有大量的血窦,并有血细胞的浸润。细菌先粘附到上皮细胞上,然后沿破损部位入侵。肌肉组织病变较缓慢,最先可观察到细胞核变形,组织中出现杆形、弧状细胞核,有时可见核固缩,肌纤维排列紊乱(图版 I:2)。渐渐地肌纤维萎缩变细,染色变浅,排列杂乱无章,组织间隙可看到大量的变形细胞。严重时,肌纤维断裂,形成空洞,空洞中可观察到成团的细菌。病原菌也可在肌纤维间血窦中生长,产生肌间结缔组织的

溶解。在细菌出现的部位,可观察到结缔组织和肌纤维细胞核的固缩(图版 I:3)。外周神经的损伤很明显,神经与周围组织脱离非常普遍,但其核层和内部细网状物质的结构仍存在。细菌有时沿着神经鞘生长,神经损伤是很普遍的,说明是细菌传播到鲍各组织的方式之一。

电镜观察发现,足中细胞损伤严重:肌原纤维溶解断裂,形成空白区,肌丝模糊不清。线粒体普遍出现双层膜肿胀,结构不清晰,甚至内嵴破裂崩解,只剩下双层膜的空泡;细胞核变形,形状不规则,某些部位的双层膜不清晰,核染色质稀疏(图版 I:4)。严重时肌原纤维可断裂消失,细胞中大量细胞器空泡化,并出现颗粒物。

**2.2.2 外套膜** 外套膜组织结构可分为 3 层:最外为表皮,由 1~3 层柱状上皮细胞构成,排列紧密,细胞核着色较深,具有小丘和皱褶。表皮层下为疏松结缔组织层,细胞密度小,其间分布有胶原纤维。其内为较致密的结缔组织,细胞密度较大,纤维纵横交错呈均质的网状结构。病鲍结缔组织病变明显,出现大量空泡变性,细胞间空隙增大,此层厚度亦大大增加,胶原纤维有增生现象。有的地方则出现空洞,可见细菌生长。表皮细胞有萎缩现象而致密结缔组织病变则不明显。

电镜观察时可看到,外套膜表皮有大量纤毛存在,发生病变时纤毛紊乱、脱落,某些细胞核膜不清晰或断裂。皮下结缔组织细胞的细胞膜肿胀、核变形,细胞器普遍膨胀变性,呈现空泡化,糖原及分泌颗粒消失(图版 I:5,6)。

**2.2.3 消化器官** 虽然肉眼看不出内脏团病变但组织切片显示肝胰腺和消化道上皮有不同程度的病变。肝小管细胞呈高度水泡样肿胀,肝小管腔缩小,肝小管之间空隙被挤满,细胞核固缩,被挤于细胞边缘。腺泡中腺细胞肿胀,堵塞管腔,细胞质染色变浅,腺泡之间结缔组织受损,胶原纤维断裂消失,甚至出现空斑。偶而可见消化道嚙囊上皮细胞纤毛消失、剥落,上皮与基底膜分离,临近的上皮下结缔组织中有细菌生长。

电镜观察可见肝细胞有不同程度的病理变化,从肿胀、变性乃至坏死解体,但坏死的细胞少见。病变较轻的肝细胞中可观察到某些线粒体已发生病变,其内嵴不清晰或呈破碎状,而内质网相当丰富,但已开始肿胀,肝细胞间界线仍清晰可见。随着病情发展,肝细胞内几乎所有的线粒体肿胀空泡化,已看不到或很少能看到内嵴的存在。同时,内质网肿胀变性,甚至解体,粘附在粗面内质网上的核糖体颗粒脱落,溶酶体增多。当肝细胞严重病变时,细胞膜、核膜、线粒体外膜和内嵴膜等膜性结构肿胀,断裂、解体甚至消失,仅能看出膜的痕迹,整个细胞呈坏死解体现象。细胞边界模糊不清(图版 I:7,8)。

### 3 讨 论

**3.1 病原菌的可能感染途径** 足部的病理变化是从上皮细胞开始的,细菌粘附在上皮表面,由破损部位侵入上皮基膜从而导致上皮感染面越来越宽,上皮细胞逐渐脱落,呈现足部发白的症状。细菌进入足后,在肌肉组织和结缔组织间以及血窦中都可观察到,并在神经周围引起空洞。与 Elston 等<sup>[5]</sup> 1983 年在幼红鲍的弧菌病的组织病理中观察到足及上足的广泛感染和神经损伤一致,他认为细菌进入足部后沿着结缔组织间隙和神经鞘生长。本试验中,足部血窦中有细菌生长,说明病原菌除上述途径外还可侵入血窦中,并可能沿着血窦到达其它各组织器官。

**3.2 对杂色鲍可能的致死原因** 从对病鲍的足、外套膜、肝胰腺的超微结构观察发现,各组织的细胞病变表现不同程度的线粒体损伤,表明细胞损伤发展过程中的不同阶段。线粒体的病变,必然会影响到能量供应,需能的钠泵的作用则会受到影响,细胞内的  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  平衡被破坏,造成细胞内  $\text{Na}^+$  储留,从而使胞外的水分过多的进入细胞,其结果是引起细胞肿胀,线粒体肿大变性,内质网扩张、脱粒,接着细胞之间连

接结构消失,表面结构变形及板层小体、残体等出现。最后,大量的线粒体极度扩张,嵴断裂消失,空泡变性,包膜破裂,溶酶体肿大,核染色质溶解等,表明细胞损伤已进入不可恢复的阶段。病鲍足部肌肉无力,附着不稳以及消化功能丧失至全身衰竭而死。

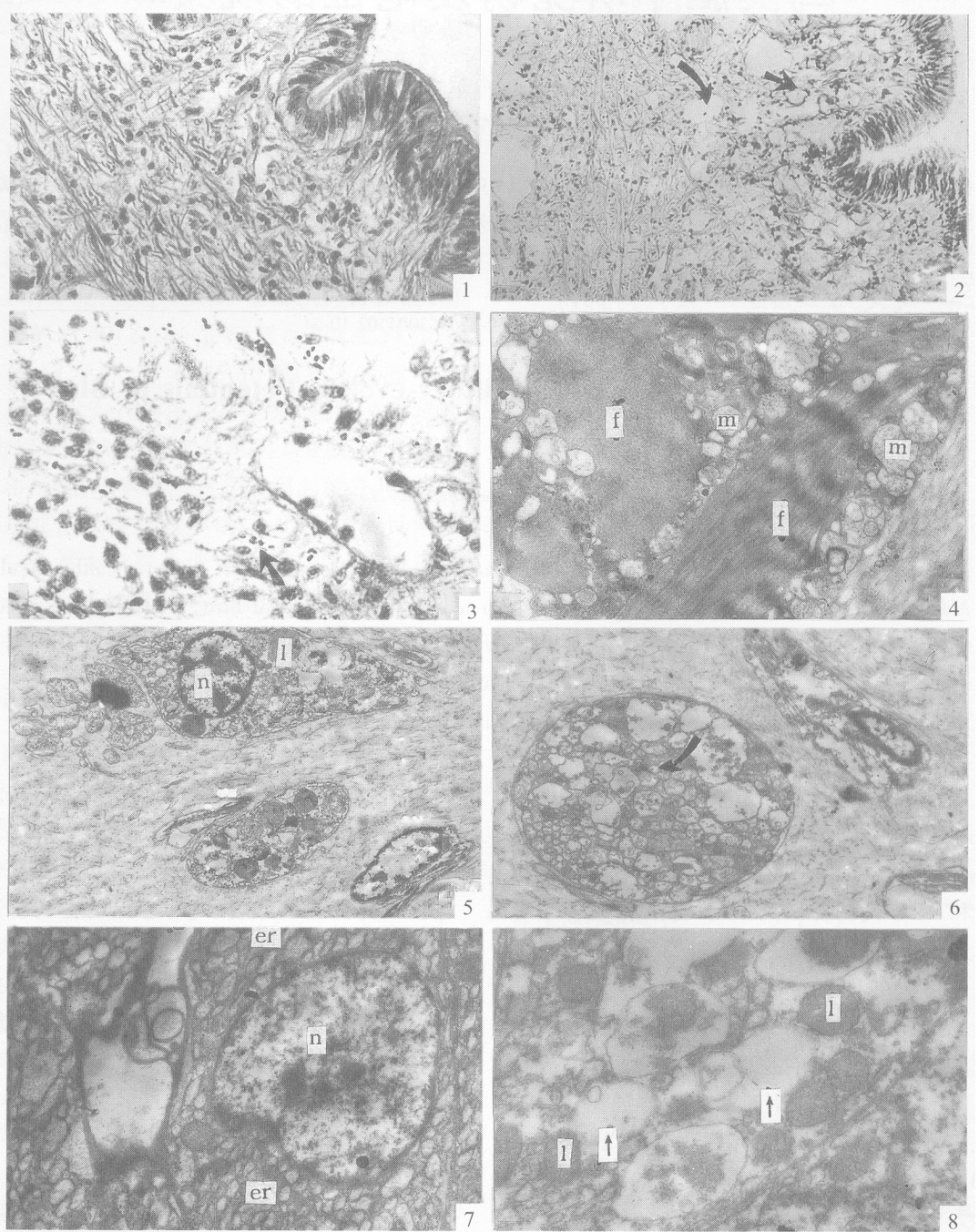
**3.3 杂色鲍对本病的耐受性** 受到病原刺激时,贝类的血细胞会发生渗出、吞噬等一系列的变化。在组织切片中,可看到细菌生长部位的附近都有血细胞的大量渗出,尤其是颗粒细胞非常显著。而某些感染显症但不死亡的鲍的组织切片显示了炎症发生和伤口修复过程:在足部某些部位,上皮细胞尚未脱落,上皮下结缔组织肿胀,有血窦伸入组织中,大量血细胞渗入,血细胞聚集形成血栓,残存的上皮组织边缘封闭,因此在外观上可看到足部发白处有米粒大小的结节。由此可见,改善水质,提高鲍自身免疫力以抵抗病原菌侵袭是防治细菌病的有效方法。研究选择合适的免疫增强剂来提高贝类机体的防御功能,将成为今后贝类病害及其防治研究的重要方向。

### 参 考 文 献

- [1] 李霞,王斌,刘淑范等.皱纹盘鲍裂壳病的病原及组织病理研究.水产学报,1998,22(1):61~66.
- [2] 邵健忠.三角帆蚌瘟病的组织病理研究.水产学报,1995,19(1):1~7.
- [3] 陈志胜,吕军仪,吴金英等.杂色鲍病原菌的研究.热带海洋,2000,19(3):72~77.
- [4] 郑国兴.文蛤病原菌的分离与性状及病文蛤组织的电镜观察.水产学报,1991,15(2):85~95.
- [5] Elston R. Histopathology of oxygen intoxication in the juvenile red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *Journal of Fish Diseases*, 1983, 6:101~110.
- [6] Elston R, Lockwood G S. Pathogenesis of vibriosis in cultured juvenile red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *Journal of Fish Diseases*, 1983, 6:111~128.
- [7] Elston R, M T. Pathology. Management and diagnosis of oyster velar virus disease (OVVD). *Aquaculture*, 1985, 48:189~210.

## 陈志胜等:杂色鲍溃疡症显微及亚显微病理变化

图版 I

CHEN Zhi-Sheng *et al.*: Pathological Studies on Ulcerate Disease in *Haliotis diversicolor* Plate I

1. 正常足组织切片, 上皮细胞和肌纤维均排列紧密  $\times 150$ ; 2. 病变足肌纤维紊乱、断裂( $\uparrow$ 示肌纤维断裂后的空洞)  $\times 100$ ; 3. 病变足组织切片( $\uparrow$ 示肌肉组织间见细菌生长)  $\times 400$ ; 4. 病变足超薄切片, 可见肌原纤维周围线粒体嵴消失, 空泡化  $\times 7200$ ; 5. 正常外套膜超薄切片, 示皮下结缔组织中的细胞  $\times 4800$ ; 6. 病变外套膜, 细胞器内容物溶解消失( $\uparrow$ 示大量空泡结构)  $\times 4800$ ; 7. 正常肝胰腺超薄切片, 示细胞核及大量内质网  $\times 7500$ ; 8. 病变肝胰腺, 出现大量溶酶体及崩解细胞器( $\uparrow$ 示崩解细胞器形成的大空泡)  $\times 7500$ 。n: 细胞核, m: 线粒体, f: 肌原纤维, l: 溶酶体, er: 内质网