

[文章编号] 1007-7405(2017)06-0017-07

# 迟缓爱德华氏菌感染美洲鳗鲡后的组织与超微病理观察

许晓芸<sup>1,2</sup>, 陈锦民<sup>1,2</sup>, 冯建军<sup>1,2</sup>, 郭松林<sup>1,2</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 用迟缓爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)人工感染美洲鳗鲡(*Anguilla rostrata*), 采集死亡或濒死鳗鲡的脏器, 从组织病理学角度研究其致病性。结果表明: 感染迟缓爱德华氏菌的美洲鳗鲡可发生急性炎症。急性炎症时可见肝组织多发性坏死灶, 周围可见巨噬细胞聚集, 肝细胞变性、坏死; 慢性感染时易见病鱼肝组织大面积高度纤维化, 肝细胞坏死, 细胞间质增宽, 间质内充满胆汁和单核巨噬细胞, 肝脏中央静脉血管壁扩张。急性感染时肾间质与肾小管局灶性坏死, 肾小管上皮细胞空泡化, 部分上皮细胞脱落落入管腔, 呈蛋白管形; 慢性炎症反应时肾间质血窦内单核巨噬细胞大量增生并形成早期肉芽肿, 肾小管管腔内出现大块异物, 肾小球毛细血管肿胀, 肾小囊内出现红染的纤维素性渗液。染病鳗鲡脾脏红白髓正常结构消失, 红髓内出现大量淋巴细胞, 白髓区有崩解的红细胞; 白脾区淋巴细胞坏死后纤维化形成增生性结节; 心肌纤维出现局灶性坏死, 肌纤维溶解、断裂呈索状或团块状。染病鳗鲡的超微病理变化表现为肾小球毛细血管扩张, 血管内深染的内皮细胞增多; 肾小管上皮细胞肿大, 有些肾小管上皮细胞坏死溶解, 细胞核消失, 肾小管管腔内充满蛋白样物质和坏死细胞碎片; 肾间质结缔组织溶解消失, 有大量的吞噬细胞和感染菌菌体; 部分肾小管上皮细胞胞质内线粒体数量减少, 线粒体肿胀, 嵴断裂, 内质网断裂, 核糖体从内质网上分离、散开; 坏死的造血细胞核高度浓缩, 电子密度极高。

**[关键词]** 迟缓爱德华氏菌; 人工感染; 美洲鳗鲡; 组织病理; 超微病理

**[中图分类号]** S 942.5

## Pathological and Ultrastructural Changes of American Eel (*Anguilla rostrata*) Infected by *Edwardsiella tarda*

XU Xiaoyun<sup>1,2</sup>, CHEN Jinmin<sup>1,2</sup>, FENG Jianjun<sup>1,2</sup>, GUO Songlin<sup>1,2</sup>

(1. Fishery College of Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Anguilla Modern Engineering Research Center of Industrial Technology of the Ministry of Education, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** To study the pathogenicity of *Edwardsiella tarda* to farmed American eels(*Anguilla rostrata*) and pathological changes, *Edwardsiella tarda* was used to infect American eel. The general pathological changes were presented as follows: Acute and chronic inflammations were observed in American eels infected by *E. tarda*. In the acute inflammation, multiple necroses were noticed in the liver, with the accumulation of macrophage and liver cell degeneration and necrosis. In the chronic infections, liver cell showed necrosis and large area of fibrosis; stromal of the cells were widened and full of bile and mononuclear macrophages, and central venous wall in the liver was dilated. Acute infection resulted in renal tubular and renal interstitial focal necrosis, and renal tubular epithelial cell vacuoles and some epithelial cells shedding into the lumen. Chronic inflammation

**[收稿日期]** 2017-05-18

**[修回日期]** 2017-06-30

**[基金项目]** 福建省自然科学基金项目(2015J01143); 福建省科技厅区域发展项目(2016N3002)

**[作者简介]** 许晓芸(1981—), 女, 助理实验师。通信作者: 郭松林(1976—), 男, 博士, 教授, 从事鱼类病害与免疫防治方向研究。

resulted in mononuclear macrophages proliferation in the renal interstitial and early granuloma formation; large pieces of foreign bodies occurred within the lumen of the glomerular and capillary in the glomerular was swelling, and renal capsule appeared red dye cellulose exudate. The normal structure of spleen red and white pith disappeared, while a large number of lymphocytes appeared in the red pulp, and disintegrated red blood cells were presented in white pulp area. Fibrosis hyperplastic nodules were presented in the area of lymphocytes necrosis in spleen. Myocardial fibers showed focal necrosis, muscle fibers dissolution and fractured as cord-like or lumpy. The ultra-structural pathological changes were studied in American eels infected by *E. tarda*. The glomerular capillary was dilation, and intravascular stained endothelial cells increased; tubular epithelial cells were swelling, and some tubular epithelial cells were necrosis and melting, leaving nuclei disappeared; tubule lumen was filled with protein-like substances and necrotic cell debris; renal interstitial connective tissue dissolved and disappeared, with a large number of phagocytic cells and infectious bacteria. The number of cytoplasm mitochondria in some epithelial cells of renal tubules reduced; mitochondria were swelling and cristae were broken, and endoplasmic reticulum was broken; ribosomes were left and spread from the endoplasmic reticulum. The nucleuses of necrosis hematopoietic cells were highly concentrated, with high electron density.

**Keywords:** *Edwardsiella tarda*; artificial infection; *Anguilla rostrata*; pathological changes; ultrastructural pathology

## 0 引言

在水产动物病原菌中,由爱德华氏菌所致的疾病流行范围广、发病及死亡率高,由该菌引起的鱼类感染统称为爱德华氏菌病 (*Edwardsiellosis*)<sup>[1-2]</sup>。据报道,该病呈世界性分布,对台湾和日本的养殖鳗鲡危害极大<sup>[3]</sup>。鳗鲡被迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染后常导致多种不同的临床症状,故有鳗肝肾病、赤鳍病、腹胀病、溃疡病和肝肾综合症等各种疾病名称,这实际上是该菌感染鳗鲡后的不同病理类型<sup>[4]</sup>。迟缓爱德华氏菌病已经成为养鳗业最常见的危害严重的一种疾病,该病全年均可感染,刚入池的白仔鳗就可能暴发感染,自然感染的黑仔鳗死亡率高达 90% ~ 95%,幼鳗感染后的死亡率达 70% ~ 75%<sup>[5]</sup>。笔者在发病的日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)、欧洲鳗鲡 (*A. anguilla*) 和美洲鳗鲡 (*A. rostrata*) 体内均分离到迟缓爱德华氏菌,发现该菌能引起福建和广东的养殖鳗鲡大批死亡<sup>[6]</sup>,当鳗鲡生长环境温度偏高时最容易感染该菌<sup>[7]</sup>。近年来,许多研究者对迟缓爱德华氏菌感染不同鱼类后的病理学变化进行了较为深入的探讨<sup>[8-9]</sup>,但至今未见该菌感染美洲鳗鲡后引起相关组织病理变化的研究。由于美洲鳗鲡生长于西大西洋,与日本和欧洲鳗鲡的生境存在较大的差异,本研究拟对美洲鳗鲡被迟缓爱德华氏菌感染后其体内不同脏器的组织病理与超微病理变化进行观察,以确定细菌入侵后的定位器官和侵染过程,为该菌所致疾病的临床诊断提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 鳗鲡和菌株

20 尾美洲鳗鲡购自集美大学海水养殖场,平均体重 15 g。将鳗鲡置于 480 L 水簇箱内,水温 23 ~ 26 ℃,水簇箱保持充气,每天投饵与换水各 2 次,投饵后 3 h 换水 40%,暂养 1 周后进行人工感染。病原菌分离自发病美洲鳗鲡肝脏,经 Biolog 生化 and 16S rRNA 基因鉴定均为迟缓爱德华氏菌<sup>[10]</sup>。

### 1.2 主要试剂

PBS 缓冲液:甲液 (0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  35.82 g) 稀释至 500 mL;乙液 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  15.61 g) 稀释至 500 mL, pH 7.2。Spurr 包埋剂:VCD 树脂 10.0 g, DER736 6.0 g, NSA 26.0 g, DMAE 1.0 g。VCD 树脂、DER 736、NSA、DMAE、Paul 蓝、洋红、硼氢化钠购自 Leica 公司。

1.3 人工感染和脏器材料的采集

20 尾鳎均分为 PBS 组（对照组）和细菌注射组（实验组）。用灭菌生理盐水将新培养的细菌液稀释到  $1.0 \times 10^8$  cfu/mL 后注射于鳎背部肌肉 0.1 mL。观察感染后死亡或濒死鳎的体表症状和解剖病变，同时采集鳎的实质脏器（心、肝、肾和脾）并制备成 3 mm × 3 mm × 3 mm 的组织块。

1.4 包埋块的制作、病理切片与染色观察

将组织切成 1 mm × 1 mm × 1mm 大小，经 PBS 清洗后按以下步骤处理：1）先用体积分数为 50%、70% 和 80% 的丙酮溶液各脱水 1 次，10 min；接着用 90% 的丙酮脱水 2 次，每次 10 min；然后用 100% 的丙酮脱水 2 次，每次 15 min。2）包埋。当丙酮与 Spurr 包埋剂的体积比分别为 1:1、1:2 和 1:3 时各包埋 60 min；接着用纯 Spurr 包埋剂包埋 60 min，连续 2 次；然后再用 Spurr 包埋剂聚合 9 h。

制作好包埋块后，先进行包埋块的修块，再用切片机（Leica RM2125RTS）切片，厚度在 0.5 ~ 4.0 μm 之间。切好的片子先用 Paul 蓝和 0.25% 硼氢化钠的混合液（体积比 1:1）染色 1 ~ 2 min，再用洋红染色 1 min，染色好的片子烘干后在显微镜下进行观察和拍照。

用超薄切片机（Leica EM UC7）进行切片（60 ~ 70 nm）。室温下用 2%（体积分数）的醋酸双氧铀水溶液将超薄切片染色 45 min，用双蒸水洗去多余的染液。然后用柠檬酸铅染色 30 min，又用双蒸水洗去多余的染液，再用滤纸吸去水分，干燥后将铜网放入样品盒内保存。用透射电子显微镜在 80 kV 电压下对制作好的超薄切片进行观察，找到病理变化并拍照。

2 结果

2.1 发病鳎的症状变化

实验组鳎受人工注射迟缓爱德华氏菌后 24 h 无明显病理变化。注射后 48 h 有 3 尾鳎死亡，死亡鳎肝脏内有大小不同的坏死灶，其他鳎均处于濒死状态，可见注射部位溃烂、皮肤脱黏，腹部有胶冻状黄色液体流出，肝肾肿大明显。注射后 7 d 另 7 尾鳎全部死亡，肝脏溃烂，肾脏肿大。

2.2 肝脏的组织病理变化

在发生急性炎症反应的肝组织中可见呈强嗜碱性染色的多发性坏死灶，其由坏死的肝细胞和渗出的纤维蛋白组成，周围可见吞噬细菌的巨噬细胞（见图 1A）。慢性感染的肝组织大面积高度纤维化，肝细胞界限模糊，肝细胞坏死，细胞间质增宽，间质内充满胆汁和单核巨噬细胞，肝脏中央静脉血管壁扩张（见图 1B）。

2.3 肾脏的组织病理变化

肾脏病理变化表现为急性与慢性炎症反应。前者肾间质与肾小管局灶性坏死，染色强嗜碱性，周围巨噬细胞大量增生，其内可见大量吞噬的细菌；肾小管上皮细胞肿胀，细胞核空泡化，部分肾小管上皮细胞脱落入管腔，管内有蛋白样物质，呈蛋白管形（见图 1C）。后者肾间质血窦内巨噬细胞大量增生并形成早期肉芽肿，中心可见大量坏死巨噬细胞、细菌及血细胞；肾小管管腔内出现大块异物，有的肾小管管腔变小；肾小球毛细血管肿胀，空泡化，强嗜碱性，周围有淋巴细胞浸润；肾小囊内出现红染的纤维素性渗出液（见图 1D）。

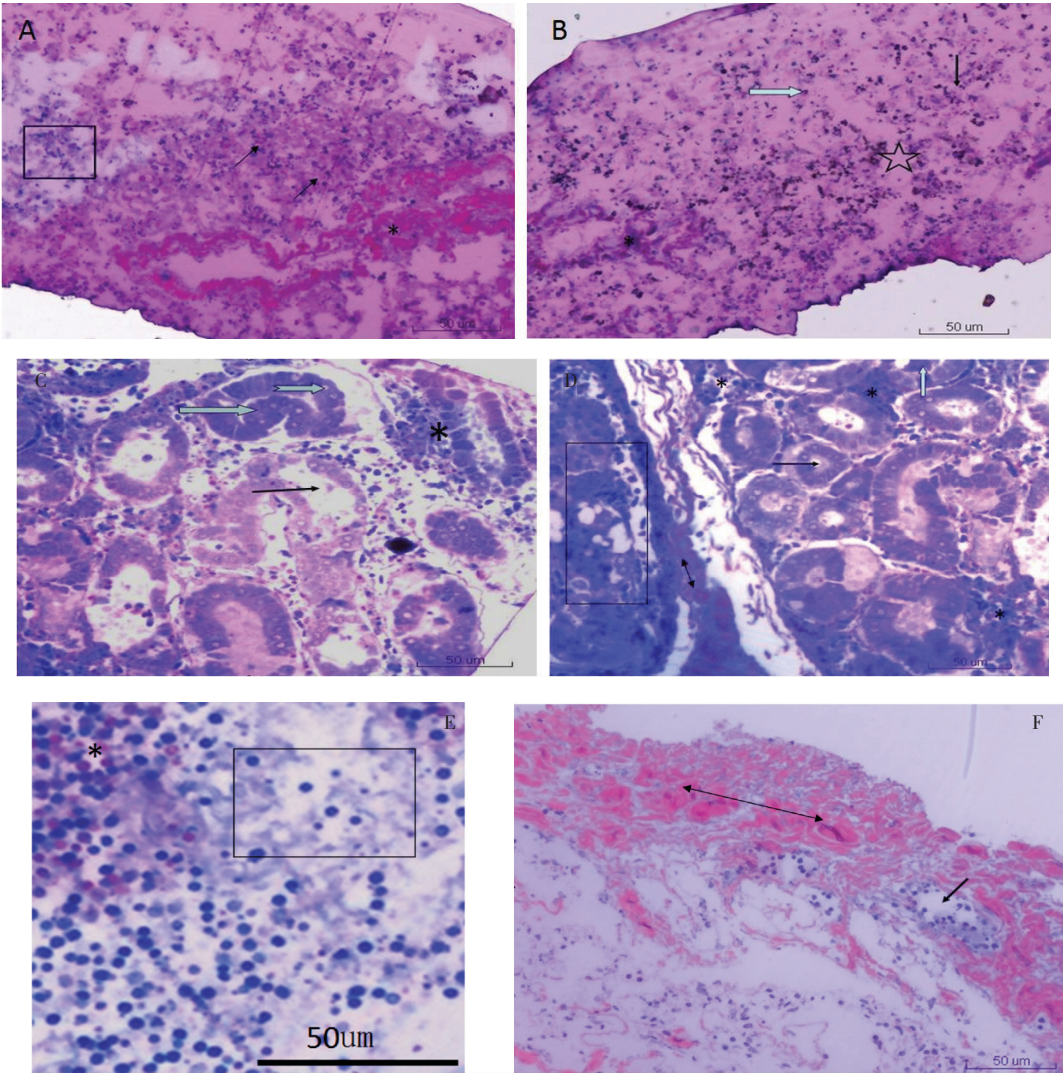
2.4 脾脏的组织病理变化

脾脏出现炎性病理变化，表现为脾红骨髓正常结构消失，组织充血、水肿；红髓区出现大量淋巴细胞，白髓区大片淋巴细胞坏死消失，纤维化后形成增生性结节，白髓区发现崩解的红细胞，细胞排列稀疏，淋巴细胞大量缺失（见图 1E）。

2.5 心脏的组织病理变化

心肌纤维排列紊乱，横纹消失，有大量纤维素样物质渗出，呈强嗜酸性染色。心肌纤维出现局灶性坏死，肌纤维溶解、断裂呈索状或团块状，坏死灶由坏死的心肌纤维、巨噬细胞和淋巴细胞组成（见图 1F）。





说明:A—四方形示肝脏化脓性炎,肝细胞广泛坏死脱落;箭头示肝细胞坏死,吞噬细胞浸润;\*示肝中央静脉扩张,纤维素样变性后深染。B—粗箭头示肝细胞坏死,大面积高度纤维化;五角星示细胞间质增宽,细箭头示间质内充满的胆汁。C—宽箭头示肾小管上皮细胞肿胀,燕尾宽箭头示细胞核空泡化;\*示肾间质与肾小管局灶性坏死,周围充满吞噬细胞;细箭头示肾小管上皮细胞脱落入管腔,管内有蛋白样物质管型。D—\*示肾间质血窦内形成早期肉芽肿,肉芽肿中心可见大量坏死的炎性细胞;粗箭头示肾小管管腔内大块异物;细箭头示变小的肾小管管腔;长方形示肾小球毛细血管肿胀,空泡化,强嗜碱性,周围有淋巴细胞浸润;双箭头示肾小囊内红染的纤维素性渗出液。E—\*示脾组织充血、水肿,红髓区出现大量淋巴细胞;四方形示白髓区大片淋巴细胞坏死消失。F—双箭头示心肌纤维发生纤维素样变性,肌纤维排列紊乱,横纹消失,强嗜酸性染色;单箭头示心肌纤维出现局灶性坏死,肌纤维溶解。

Notes:A—The quartet showed a strong liver inflammation, and hepatocytes necrosis;arrows showed necrosis of hepatocytes and infiltration of inflammatory cell; \* showed dilate of the central vein in the liver, and the degeneration of the cellulose.B—the thick arrows showed necrosis of the hepatocytes,and high degree of fibrosis in a large area;the star showed that the widened intercellular space,and the fine arrow showed the bile filled in the intercellular substance.C—wide arrow showed the swelling of the renal tubular epithelial cells, and the dovetail wide arrow showed a vacuolated nuclei; \* showed focal necrosis in the renal interstitial and the renal tubular, surrounded by phagocytes; thin arrows showed epithelial cells shed into the lumen of the renal tubular, and protein-like materials filled in the lumen. D— \* showed early granuloma formation in the blood sinus of the renal interstitial, and a large number of necrotic inflammatory cells located at the central of the granuloma; thick arrow showed large foreign materials in the tubular lumen; arrow showed a smaller tubular lumen; the rectangular showed glomerular swelling, vacuolization, strong eosinophilic alkaline, and lymphocytic infiltration around the glomerular; double arrow showed a reddish exudate of fibrin in the renal capsule. E—\*showed congestion and edema in the spleen,and a large number of lymphocytes in the red pulp area;the rectangular showed a large number of necrosis lymphocytes in the white pulp area.F—The double arrows showed the fibrous degeneration in the cardiac muscle fibers,disorder muscle fibers,disappearance of the stripes,and strong eosinophilic staining.The single arrow showed focal necrosis of the myocardium and fibrinolysis.

图 1 迟缓爱德华氏菌感染美洲鳗鲡肝脏、肾脏、脾脏、心脏切片

Fig.4 Pathological slices in the liver,kidney,spleen and heart after the artificial infection of *E. tarda* in American eels

## 2.6 肾脏超微病理变化

被迟缓爱德华氏菌感染后,美洲鳗鲡的肾脏病变明显。主要表现为急性肾炎,肾小球毛细血管扩张,血管内深染的内皮细胞增多(见图2A)。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,有些上皮细胞坏死溶解,细胞核高度浓缩,胞质中溶酶体大量增加;肾小管间质组织溶解消失,有大量的吞噬细胞和感染菌菌体(见图2B)。有些上皮细胞坏死溶解,细胞核消失,管腔内充满蛋白样物质和坏死细胞碎片(见图2C)。上皮细胞胞质内线粒体数量减少,部分线粒体肿胀,嵴断裂,线粒体内出现黑色的脂质包涵物(见图2D)。一部分上皮细胞内质网断裂,核糖体从内质网上分离、散开,大量线粒体被溶酶体溶解后消失(见图2E)。有的肾小管管腔内含有从肾小球滤出的蛋白、红细胞、白细胞和脱落的上皮细胞碎片,在管腔内凝集成各种管型(见图2F)。部分肾小管上皮细胞坏死脱落进入管腔,肾间质的未成熟红细胞坏死,散见大量菌体(见图2G)。部分上皮细胞核浓缩、核仁几乎消失,胞核内尚可见胞浆性内含物,胞浆浓缩深染,内有多量的溶酶体(见图2H)。残留的红细胞核高度浓缩,电子密度极高,胞浆基本溶解,各种细胞器完全消失(见图2I)。

## 3 讨论

本实验所采用的迟缓爱德华氏菌毒力很强,其对日本鳗鲡的半致死量约为 $5 \times 10^3$  cfu/g<sup>[10]</sup>,人工注射该菌后1 d内就可导致鳗鲡肾脏、脾脏、肝脏、心脏等多处器官的化脓性感染或败血症,少数鳗鲡在感染7 d后发生全身性溃疡与败血症。

本研究发现,发生急性炎症反应的肝组织中可见多发性化脓坏死灶,其周围可见巨噬细胞聚集,肝实质细胞发生广泛的液化性坏死(见图1A)。中华鳖(*Trionyx sinensis*)<sup>[11]</sup>被该菌感染后各脏器均有病变,但肝脏病变尤其明显。大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)<sup>[8]</sup>被感染的肝脏严重时也可发生局部坏死。而被感染的黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)<sup>[12]</sup>的肝细胞初期水泡变性,后期则发生广泛坏死和溶解<sup>[12]</sup>。本研究发现慢性感染的病鳗肝组织大面积高度纤维化,肝细胞坏死且界限模糊(见图1B),而类似的病理学变化也出现在被该菌感染的其他水产动物,例如地图鱼(*Astronotus ocellatus*)<sup>[13]</sup>。

有研究表明,被该菌感染的黄颡鱼的肾脏出现明显的病理变化<sup>[14]</sup>,养殖大菱鲆被感染后其组织病理变化则以肾脏最为明显,包括巨噬细胞大量增生和广泛性局灶坏死,伴有渗出性炎症反应及肉芽肿产生<sup>[9]</sup>。本研究结果表明美洲鳗鲡肾组织出现急性和慢性炎症反应,前者肾间质与肾小管局灶性坏死,部分肾小管上皮细胞脱落入管腔,呈蛋白管形(见图1C),后者肾间质血窦内单核巨噬细胞大量增生并形成肉芽肿(见图1D)。本研究结果与上述研究结果存在一定的相似性。

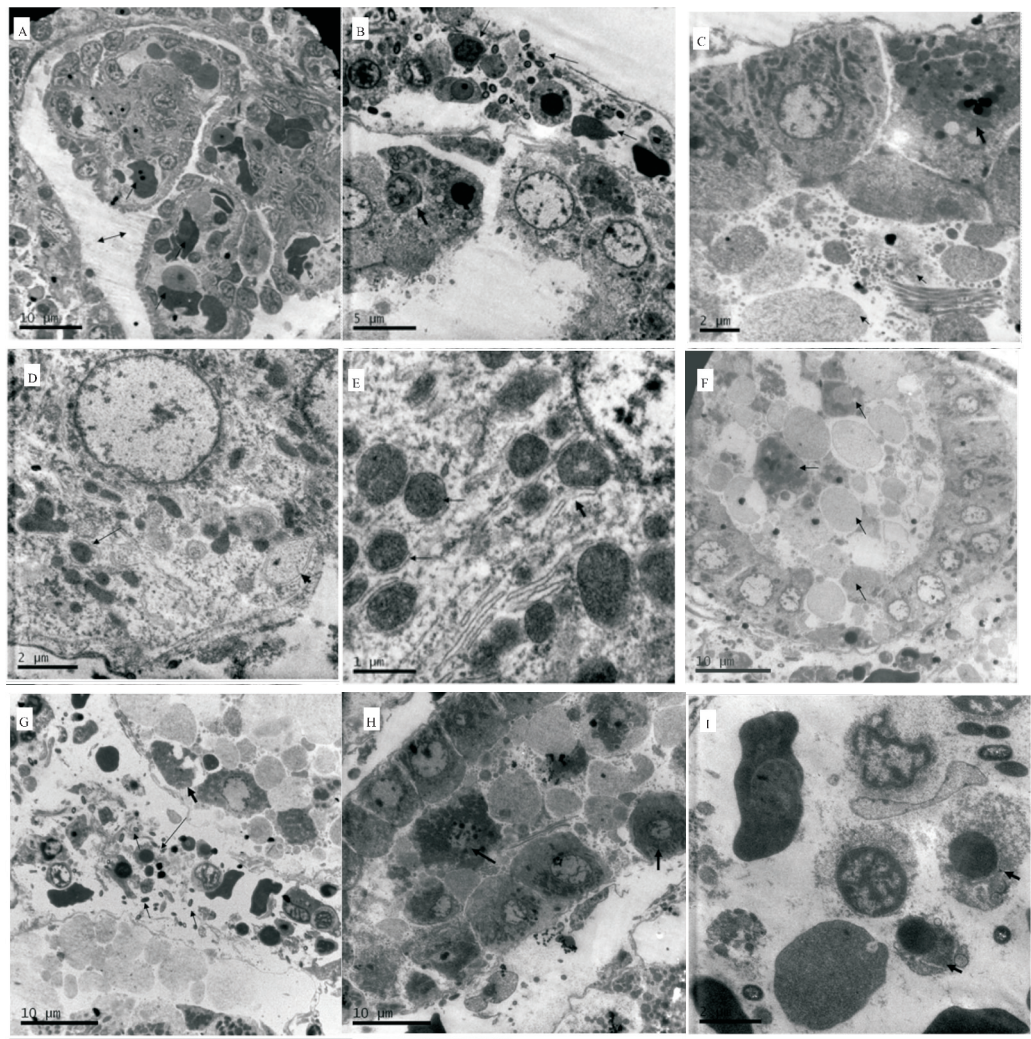
就脾脏而言,本研究发现脾红骨髓正常结构消失,白脾区大片淋巴细胞坏死消失、纤维化后形成增生性结节(见图1E)。杜宗君等<sup>[14]</sup>发现黄颡鱼被鳗爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)感染后的脾脏淋巴细胞数量减少,而秦蕾等<sup>[8]</sup>发现被感染了的大菱鲆的脾脏在脾实质出现多处局部坏死。

关于鱼类被该菌感染后引起心脏组织病理变化的报道较少,仅见文献[8]报道过受感染的大菱鲆的心肌纤维出现变性及局部性坏死灶。类似地,本研究发现鳗鲡心肌纤维也发生纤维素样变性和局灶性坏死(见图1F)。该菌对鳗鲡心脏的侵害表明其很可能通过入侵血液系统而引起败血症。

郭琼林等<sup>[15]</sup>观察了日本鳗鲡被迟缓爱德华氏菌感染后的肝脏、脾脏、肾脏的超微结构变化并讨论了细胞和组织损伤的过程及细胞超微病理学意义,结果表明鳗鲡肝脏、肾脏和脾脏的实质细胞均出现不同程度的病理变化。本研究发现迟缓爱德华氏菌感染美洲鳗鲡后的超微病理变化主要表现在肾脏,而其他脏器未见明显的病变。由于美洲鳗鲡为异域品种,故本研究结果与日本鳗鲡存在一定的差异。另外,本研究为人工感染的病变结果,而郭琼林等<sup>[15]</sup>是直接收集自然感染发病的养殖鳗鲡进行研究。

本研究病理学观察结果表明,美洲鳗鲡被迟缓爱德华氏菌感染后的肾脏超微病理变化明显,主要表现为急性肾炎、肾小球毛细血管扩张、肾小管上皮细胞坏死以及肾脏间质组织消失等,可见有大量的吞噬细胞和感染菌菌体散布于坏死区。类似的病理也出现在被迟缓爱德华氏菌感染的其他多种鱼类





说明:A—单箭头示肾小球毛细血管扩张,管壁的内皮细胞增多;双箭头示肾小球囊腔增宽。B—粗箭头示肾小管上皮细胞坏死溶解,细胞核高度浓缩;细箭头示胞质中溶酶体大量增加,肾间质溶解消失,有大量的吞噬细胞和细菌。C—粗箭头示肾小管上皮细胞溶解,细胞核消失,其内充满溶酶体;细箭头示肾小管管腔内充满蛋白样物质和坏死细胞碎片。D—粗箭头示肾小管上皮细胞胞质内线粒体肿胀,嵴断裂;细箭头示部分线粒体内出现黑色的脂质包涵物。E—粗箭头示肾小管上皮细胞内质网断裂,核糖体从内质网上分离、散开;细箭头示大量线粒体被溶酶体取代。F—箭头示肾小管管腔内含有的从肾小球滤出的蛋白、红细胞、白细胞和脱落的上皮细胞,在管腔内凝集成各种管型。G—粗箭头示肾小管上皮细胞坏死脱落进入管腔;长细箭头示肾间质的血窦内有坏死的未成熟红细胞;短细箭头示血窦内散在大量的细菌。H—箭头示坏死的肾小管上皮细胞核浓缩、核仁几乎消失,胞核内尚可见胞浆性内含物,胞浆浓缩深染,内有多量的溶酶体。I—箭头示血窦内残留的红细胞核高度浓缩,电子密度极高;胞浆基本溶解,各种细胞器完全消失。

Notes:A—the single arrow showed an enlarged glomerular capillary with an increased number of endothelial cells in the tube;the double arrow showing an enlarged lumen.B—thick arrow showed that the renal tubular epithelial cells were necrotic and fused,and the nuclei were highly concentrated; the fine arrows showed that the lysosomes in cytoplasm increased greatly,and the renal interstitium dissolved,disappeared and substituted by large numbers of phagocytes and bacteria.C—thick arrow showed that the renal tubular epithelial cells were fused and the nucleus disappeared,and was filled with lysosomes; fine arrows indicated that the tubules are filled with protein like substances and necrotic cell debris.D—thick arrow showed that the mitochondria of renal tubular epithelial cells swelled and the cristae were broken;fine arrow showed that there were black lipid inclusions in the mitochondria.E—thick arrow showed that the endoplasmic reticulum of epithelial cell on the renal tubule break down,and the ribosome is separated and scattered from the endoplasmic reticulum; fine arrow showed that a large number of mitochondria dissolved by lysosomes and disappeared.F—arrow shows the protein,red blood cells,white blood cells and loss of epithelial cells filtered from the glomerulus tubular in the lumen of renal tubular, and a variety of tube lumens formed in the internal integration.G—the thick arrow showed necrosis and shedding of the epithelial cells in the lumen of the renal tubular;the long thin arrow showed that there were necrosis of immature red blood cells in the sinusoids of the renal interstitium;short fine arrows indicate large amounts of bacteria scattered in the sinusoids.H—arrows showed that nuclei of the necrosis of renal tubular epithelial cells condensed and the nucleolus was almost disappeared;the cytoplasmic inclusions in the cytoplasm of these cells were still visible,and the cytoplasm was concentrated and deep stained with much lysozyme.I—arrows showed that the nuclei of the residual red cells were highly concentrated in the sinusoid,and the electron density was very high;the cytoplasm of these red cells were dissolved and all kinds of organelles disappeared completely.

图 2 迟缓爱德华氏菌感染后的美洲鳗鲡肾脏超微病理变化

Fig.2 Ultrastructure pathological changes in the kidney of American eels infected by *Edwardsiella tarda*

中<sup>[16-19]</sup>。郭琼林等<sup>[15]</sup>研究发现迟缓爱德华氏菌感染鳗鲡时出现以巨噬细胞为主的炎症反应,且在病鱼的肝肾组织中形成脓肿灶。一般而言,急性炎症发生时会出现嗜中性粒细胞浸润,这些细胞聚集吞噬细菌后形成化脓性液化坏死灶。此时鱼体免疫能力严重下降,细菌及其产生的毒素可入侵血液和淋巴循环系统而导致败血症并最终引起病鱼死亡。就本研究的患病美洲鳗鲡而言,虽然该菌可同时感染肾脏、肝脏和心脏等多个脏器,但其超微病理主要出现在肾脏,对心脏仅有轻微的病理反应。

文献[20-21]表明,受爱德华氏菌自然感染的养殖日本鳗鲡有两种病理类型:一种是肝脏型;另一种是肾脏型。郭琼林等<sup>[15]</sup>的研究发现日本鳗鲡感染迟缓爱德华氏菌后,其组织病理变化可分为肝脏型和肝肾混合型。与肝脏型相比,迟缓爱德华氏菌病肾脏型的病例较少。本研究发现迟缓爱德华氏菌感染美洲鳗鲡后应属于肝肾混合型,但其超微病理却表现为肾脏型,由于肝脏超微病理切片效果不佳,该菌感染美洲鳗鲡后是否能导致肝脏型的超微病理变化还有待进一步研究。

## [参考文献]

- [1] JANDA J M, ABBOT S L. Infections associated with genus *Edwardsiella*: the role of *Edwardsiella tarda* in human disease [J]. Clin Infect Dis, 1993, 17(4): 742-748.
- [2] 陈翠珍. 爱德华氏菌及鱼类爱德华氏菌病 [J]. 河北科技师范学院学报, 2004, 18(3): 70-76.
- [3] 彭国瑞, 王成龙, 王雪鹏, 等. 迟缓爱德华氏菌人工感染斑马鱼的致病性及组织病理学变化 [J]. 畜牧与兽医, 2011, 43(1): 23-26.
- [4] 董传甫, 林天龙, 陈日升. 日本鳗鲡败血腹水病病原研究 [J]. 水产科学, 2002, 21(1): 5-8.
- [5] 郭松林. 鳗鲡细菌性疾病的研究概况 [J]. 科学养鱼, 2011(7): 48-49.
- [6] 郭松林, 关瑞章, 冯建军, 等. 基于 16S rDNA 序列和 RFLP 分析的病鳗分离菌株鉴定 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2012, 17(2): 81-88.
- [7] 汪开毓. 鲤鱼细菌性败血症的病理学研究 [J]. 四川农业大学学报, 2004, 22(3): 257-262.
- [8] 秦蕾, 王印庚, 张晓君. 迟钝爱德华氏菌感染大菱鲂的病理学研究 [J]. 中国水产科学, 2009, 16(3): 411-419.
- [9] 王印庚, 秦蕾, 张正, 等. 养殖大菱鲂的爱德华氏菌病 [J]. 水产学报, 2007, 31(4): 487-495.
- [10] 段丽华, 冯建军, 郭松林, 等. 迟钝爱德华氏菌外膜蛋白基因工程表达产物的免疫原性 [J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(5): 97-104.
- [11] 蔡完其, 孙佩芳, 刘至治. 中华鳖爱德华氏菌病原和组织病理研究 [J]. 水产学报, 1997, 21(4): 428-433.
- [12] 廖雨婷. 鲷爱德华氏菌感染黄颡鱼的病理形态学及病原分布研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2012.
- [13] 赵飞, 邹为民, 谭爱萍, 等. 地图鱼迟钝爱德华氏菌病原菌的鉴定及毒力基因的检测 [J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(6): 88-92.
- [14] 杜宗君, 耿毅, 汪开毓, 等. 黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 爱德华氏菌 (*Edwardsiella ictaluri*) 感染的动态病理学及病原分布研究 [J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(6): 1519-1523.
- [15] 郭琼林, 卢全章. 鳗鲡爱德华氏菌病的组织病理学研究 [J]. 水生生物学报, 1995, 19(1): 56-60.
- [16] FRANCIS-FLOYD R, REED P, BOLON B, et al. An epizootic of *Edwardsiella tarda* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. J Wildl Dis, 1993, 29(2): 334-336.
- [17] MIYAZAKI T, KAIGE N. Comparative histopathology of edwardsiellosis in fishes [J]. Fish Pathol, 1985, 20: 219-227.
- [18] DARWISH A, PLUMB J A, NEWTON J C. Histopathology and pathogenesis of experimental infection with *Edwardsiella tarda* in channel catfish [J]. J Aquat Anim Health, 2000, 12(4): 255-266.
- [19] PRESSLEY M E, PHELAN P E, WITTEN P E, et al. Pathogenises and inflammatory response to *Edwardsiella tarda* infection in the zebrafish [J]. Dev Comp Immunol, 2005, 29: 501-513.
- [20] MIYAZAKI T, EGUSA S. Histopathology studies of edwardsiellosis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. Fish Pathol, 1976, 11: 33-43, 67-76.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)