

新型鸭肝炎病毒实验感染雏鸭的组织病理学

胡薛英¹, 苏敬良², 程国富¹, 周诗其¹ (1. 华中农业大学 畜牧兽医学院, 湖北 武汉 430070;
2. 中国农业大学 动物医学院, 北京 100094)

摘要:以“新型鸭肝炎病毒”实验感染雏鸭, 对感染雏鸭的组织病理变化进行了观察。结果表明, 接毒后 24~48 h 为感染鸭死亡高峰, 试验发病的死亡率为 80%; 感染雏鸭肝、脾、胰、肾的组织病理变化分别表现为出血性、坏死性肝炎, 坏死性脾炎, 胰局灶性坏死及肾小叶的嗜嗜性粒细胞浸润。肝、肾组织的脂肪染色结果表明, 肝脏有脂肪蓄积, 而肾脏未见有脂肪蓄积。

关键词:新型鸭肝炎病毒; 组织病理学; 雏鸭

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-4545(2002)06-0549-03

鸭肝炎是雏鸭的一种传播迅速的高度致死性病毒病。本病可由 3 种不同类型的病毒引起, 称为 1 型、2 型、3 型鸭肝炎病毒。这 3 种独立的病原体, 对患病雏鸭则造成相似的病理变化, 均以肝炎为其主要特征^[1]。苏敬良等自疑似鸭肝炎的病鸭体内分离到 1 株病毒, 经鉴定为小 RNA 病毒, 与 1 型、3 型鸭肝炎病毒(DHV)无血清学交叉免疫反应, 暂将此病毒称为新型鸭肝炎病毒。本试验以此分离病毒实验感染雏鸭, 对感染雏鸭的组织病变进行了观察, 并与 DHV 感染雏鸭的组织病变进行了比较。

1 材料与方 法

1.1 试验毒株 分离自某地自然发病雏鸭, 病毒粒子为 40

nm 左右的无囊膜病毒, 经鸭胚中和试验表明, 与 1 型、3 型鸭肝炎病毒和鸭瘟病毒等无血清学交叉反应。分离病毒经尿囊腔接种于北京鸭胚, 收集第 4 代尿囊液, 测定病毒毒价为 $10^{-4.12}$ ELD₅₀/0.1 mL。

1.2 试验动物 1 日龄北京鸭, 购自中国农科院畜牧所, 笼养, 自由采食。

1.3 试验方法 试验鸭 2 日龄时随机分为 2 组: 其中一组 10 只, 腿部肌肉注射尿囊液毒 0.2 mL/只; 另一组 6 只, 同部位肌肉注射生理盐水 0.2 mL/只, 观察记录感染后雏鸭的临床表现及死亡数量。死亡雏鸭立即剖检, 存活雏鸭于接毒后 7 d 扑杀, 观察各脏器病变, 采取肝、脾、肾、胰、脑、心、法氏囊、胸腺等脏器, 10% 中性福尔马林固定, 常规包埋切片, HE 染色, 光镜观察; 经 10% 中性福尔马林固定的肝、肾组织, 再用 6% 的蔗糖溶液浸泡过夜, 而后冰冻切片, 苏丹 III 染色, 光镜观察。

收稿日期: 2001-09-02

作者简介: 胡薛英(1966-), 女, 讲师, 硕士。

- [6] Chen Xinbin, Leland F Velicer. Expression of the Marek's disease virus homolog of herpes simplex virus glycoprotein B in *Escherichia coli* and its identification as B antigen[J]. *J Virol*, 1992, 66(7): 4 390-4 398.
- [7] Witter R L. The changing landscape of Marek's disease[J].

Avian Pathol, 1998, 27: S46-S53.

- [8] 刘秀梵. 单克隆抗体在农业上的应用[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994.
- [9] 吴贤福. MDV B 抗原基因的表达及其抗原性分析[J]. 南京农业大学学报, 1994, (增刊): 23-26.

Preparation of Monoclonal Antibody of Marek's Disease Virus (MDV) Glycoprotein B Expressed in *E. coli*

HAN Ling-xia¹, DING Jia-bo¹, CHEN Lei¹, CUI Zhi-zhong^{1,2*} (1. College of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: Glycoprotein B gene(gB) of virulent MDV GA strain expressed in *E. coli* was cut off from SDS-PAGE, then inoculated it to BALB/c mice directly to prepare monoclonal antibody. 1 strain of monoclonal hybridoma cells 7C8 was obtained by ELISA and Indirect Fluorescence Assay(IFA). Its ascites fluids titre of ELISA and IFA is 1 : 2¹² and 1 : 800 respectively. The McAb can also identify CEF infected by MDV through dot-ELISA.

Key words: MDV; glycoprotein B gene; IFA; dot-ELISA

* Corresponding author

2 结果

2.1 感染雏鸭的临床表现 接毒后 24 h, 试验鸭开始死亡, 死亡 2 只, 24~48 h 死亡鸭 6 只。发病鸭精神极度沉郁, 俯卧, 死亡前抽搐; 死亡鸭呈角弓反张姿势。存活的 2 只雏鸭表现正常, 观察 1 周, 于接毒后 7 d 扑杀。此次人工感染的死亡率为 80% (8/10)。

2.2 感染雏鸭的死亡情况及剖检变化 接毒后 24 h 死亡的鸭, 剖检可见肝脏肿胀, 呈土黄色, 质地易脆, 表面散在有出血点和出血斑; 脾脏体积增大, 被膜紧张, 表面有白色点状或细丝状花纹; 胰脏缺乏透明感及光泽, 苍白, 表面散布有少量白色针尖状小点; 肾脏呈暗红色, 表面血管明显易见。24~48 h 死亡的鸭, 主要表现为肝脏肿胀, 有少量出血点, 脾脏略肿大, 其他组织脏器无明显肉眼可见变化。2 只存活的鸭, 于接毒后 7 d 扑杀, 剖检组织脏器无明显肉眼可见变化。

2.3 感染雏鸭的组织病理学变化

肝脏:接毒后 24 h 死亡的雏鸭, 肝脏表现为肝索结构紊乱, 肝细胞肿胀变圆, 细胞质内有大小不等的空泡, 严重者呈气球样, 细胞核淡染、浓缩或消失, 细胞膜不完整, 肝细胞间散在分布有大量聚集成团的红细胞, 肝细胞间及汇管区血管周围有多量的散在炎症细胞浸润, 主要是嗜嗜性粒细胞 (图 1A)。接毒后 24~48 h 死亡的雏鸭肝脏, 除上述变化外, 在汇管区血管周围出现小胆管及肝细胞的增生, 和前期死亡鸭比较出血的严重程度减轻; 苏丹 III 染色结果, 在肝细胞内有大量的黄色着染的脂肪滴。接毒后 7 d 扑杀的鸭, 肝脏肝索结构清楚, 部分肝细胞质内有大小不等的空泡; 苏丹 III 染色表明为黄色着染的脂肪滴。**胰脏:**接毒后 24 h 及接毒后 24 h~48 h 死亡的雏鸭, 胰脏均出现大小不等的坏死灶, 腺细胞呈均质红染, 其中可见浓缩或碎裂的细胞核 (图 1B)。这一病变在接毒后 48 h 死亡的雏鸭表现最明显, 并且腺细胞间有少量嗜嗜性粒细胞浸润。接毒后 7 d 扑杀的鸭, 胰脏坏死灶数量减少, 而腺细胞间的嗜嗜性粒细胞浸润数量有所增加。

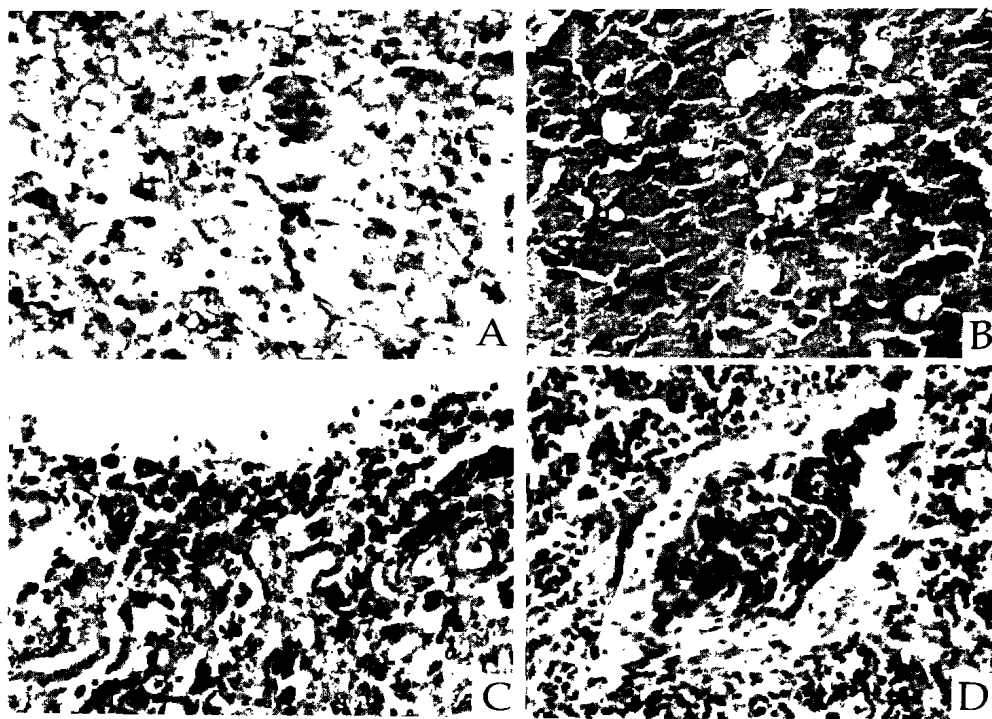


图 1 新型鸭病毒性肝炎的病理学观察 A. 病鸭肝脏, 示肝细胞坏死及嗜嗜性粒细胞浸润, HE 染色; B. 病鸭胰脏, 腺细胞变性坏死, HE 染色; C. 病鸭肾脏, 肾小叶中嗜嗜性粒细胞浸润, HE 染色; D. 病鸭脾脏, 脾脏组织及血管中含吞噬颗粒的巨噬细胞和多核巨细胞, HE 染色

肾脏:接毒后不同时期死亡的鸭及第 7 天扑杀的鸭, 肾脏均表现较一致的病变, 可见大部分肾小管结构紊乱, 肾小管上皮细胞肿胀, 细胞质内有大小不一的空泡, 细胞核浓缩, 管腔缩小至消失; 有的肾小管上皮细胞细胞质溶解, 细胞核消失, 肾小管仅残存基底膜; 有的肾小管扩张, 管腔内有圆形均质红染物, 有的有红细胞及嗜嗜性粒细胞; 在肾脏肾小叶边缘有聚集成团的红细胞和嗜嗜性粒细胞 (图 1C); 血管内充满红细胞。苏丹 III 染色在肾脏组织中未见黄色着染的脂肪滴。

脾脏:接毒后不同时间死亡的雏鸭, 脾脏均呈现坏死性脾炎的变化; 脾脏红髓、白髓结构清楚, 白髓比例增加, 白髓内淋巴细胞减少, 网状细胞肿大, 细胞质内有大小不一的空泡, 细胞核浓缩、碎裂或消失, 中央动脉管壁增厚, 内皮细胞肿胀, 管

腔缩小甚至消失; 红髓内分布有大量的嗜嗜性粒细胞。接毒后 48 h 死亡的鸭, 脾脏除有上述病变外, 还表现单核巨噬细胞活跃, 在脾组织及血管中有大量的含吞噬颗粒的巨噬细胞和多核巨细胞 (图 1D)。接毒后 7 d 扑杀的鸭, 脾脏红白髓结构清楚, 脾小体明显且体积增大、数量增多, 淋巴细胞数目增多, 红髓内仍有大量嗜嗜性粒细胞。

脑:接毒后死亡的雏鸭, 脑组织血管严重充血, 血管周围间隙增宽, 部分神经细胞呈圆形, 细胞质淡染或消失, 细胞核浓缩, 有真、假噬神经元现象。接毒后 7 d 扑杀的鸭, 脑组织未见明显变化。

其他脏器未见特殊病理变化。

健康对照组雏鸭均无异常。

3 讨论

3.1 新型鸭病毒性肝炎的病理变化特点 本次新型鸭肝炎病毒实验感染雏鸭的大体病变与自然发病情况一致。主要表现为死亡率高、发病急,死亡高峰在 24~48 h,感染鸭死亡时有角弓反张的神经症状;特征性的剖检病变是肝脏出血,胰脏有针尖大坏死点。

对死亡雏鸭的组织病理学检查结果表明,新型鸭肝炎病毒主要侵害肝、胰、脾、肾等组织,造成实质器官的变性坏死。早期以出血性、坏死性变化为主。肝脏的出血性坏死性肝炎,后期则表现为增生性坏死性肝炎,胰脏的局灶性坏死,肾脏严重的肾小管坏死及炎症反应,脾脏的坏死性脾炎。后期则以增生性反应为主。肝脏的胆小管增生,脾脏的脾小体增生等。上述结果说明,新型鸭肝炎病毒进入机体后,很快造成一些主要脏器的组织细胞变性坏死,尤其是肝脏的大面积出血与坏死,导致雏鸭迅速死亡。

3.2 新型鸭病毒性肝炎与 1 型、2 型、3 型鸭病毒性肝炎在病理变化上的区别 1 型、2 型、3 型鸭肝炎病毒,虽然是 3 种独立的病原体,但对患病雏鸭可造成相似的病理变化^[1]。将此次新型鸭病毒性肝炎的病理变化与 1 型、2 型、3 型鸭病毒性肝炎比较发现,它们之间有许多相同点,特别是在一些特征性病变^[2,3]上,如肝脏的出血性坏死性变化,胰脏的局灶性坏死,脾脏的坏死性脾炎,肾脏的肾小管坏死;其次,二者在病变的阶段上也表现一致,即早期以坏死性变化为主,后期则以增生性反应为主^[2,4]。二者在组织病理变化上的明显不同之处主要有 2 点:一是新型鸭肝炎病毒感染雏鸭肝、肾、胰、脾等组织的炎症反应的炎性细胞以大量的异嗜性粒细胞为主。这与以往

报道^[2,4]的 1 型鸭肝炎不同;二是感染雏鸭的肾脏有严重的肾小管坏死外,还出现炎症反应,有异嗜性粒细胞浸润。这是以前鸭肝炎病变^[5,6]中未见报道过的。

Farmer 等^[6]、程国富^[5]报道,鸭病毒性肝炎的另一个特征性病变是脂肪肾综合征。此次新型鸭肝炎病毒感染雏鸭组织脂肪染色表明,肾脏没有脂肪蓄积。这是否也是与鸭病毒性肝炎病变的又一区别,有待更多病例的验证。

通过对新型鸭病毒性肝炎与 1 型、2 型、3 型鸭病毒性肝炎组织病变异同点的比较,认为仅就流行病学、临床症状及大体剖检很难将二者区别,需进行组织病理学检查及病原检查加以区别诊断,主要观察炎症反应中的炎性细胞及肾脏出现炎症反应。

参考文献:

- [1] 卡尔尼克 B W. 禽病学[M]. 第 9 版. 高 福,刘文军,主译. 北京:北京农业大学出版社,1991. 510-519.
- [2] 王 平,潘文石,胡寿文,等. 北京小鸭病毒性肝炎的研究(一) 诊断和防治[J]. 北京大学学报(自然版),1980,1:55-67.
- [3] 徐福南,周 芳. 鸭病毒性肝炎的组织病理学研究[J]. 中国兽医科技,1990,2:6-7.
- [4] 胡薛英,程国富,周诗其,等. 试验感染鸭病毒性肝炎雏鸭的组织病理学研究[J]. 华中农业大学学报,2000,19(1):48-50.
- [5] 程国富. 鸭病毒性肝炎的病理学研究进展[J]. 国外兽医学-畜禽疾病,1993,14(2):10-13.
- [6] Farmer H, Chalmers W S K, Woolcock P R. The duck fatty kidney syndrome-An aspect of DHV[J]. *Avian Pathol*, 1987, 16: 227-236.

Histopathology of Experimental Infectious Duckling with New Type Duck Hepatitis Virus

HU Xue-ying¹, SU Jing-liang², CHENG Guo-fu¹, ZHOU Shi-qi¹ (1. College of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The duckling was experimentally inoculated with new type duck hepatitis virus. The histopathological changes of inoculated duckling were observed. The result showed that the death peak was in 24-48 h with the mortality of 80%. The histopathological changes were hemorrhagic necrotic hepatitis, necrotic splenitis, pancreas limitation coagulation necrosis and heterophil infiltrating into renal leaflet, respectively. The result of fat dye of liver and kidney showed that there were fat infiltration in liver but not in kidney.

Key words: New Type Duck Hepatitis Virus; histopathology; duckling

售荷斯坦黑白花奶牛

我场是原平市唯一经工商局注册的集体企业,场内有小母牛、育成牛、头胎牛至 3 胎怀孕牛、产奶牛共 3 000 余头,体形好、泌乳率高。每头产奶均在 23~43 公斤之间。本场备有专人、专车免费负责运输,免费办理怀孕签定,牛病检疫等一切过境手续。场长刘有和兼法人代表,欢迎集体个人前来考察选购。数量不限、价格面议、货到付款。

场址:山西省忻府区牧马河万亩滩奶牛场

场长:刘有和 畜牧师:赵平生

电话:0350-3677029

手机:(0)13935001706