

陈珍, 邱保民, 傅秋玲, 等. 胰腺型鸭 1 型甲肝病毒人工感染雏半番鸭的组织病理学观察 [J]. 福建农业学报, 2015, 30 (12): 1133—1137.

CHEN Z, QI B-M, FU Q-L, et al. Histopathological Changes in Mule Ducks Infected with Pancreatitis-type Duck Hepatitis A Virus Type 1 [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2015, 30 (12): 1133—1137.

胰腺型鸭 1 型甲肝病毒人工感染雏半番鸭的组织病理学观察

陈 珍^{1,2}, 邱保民³, 傅秋玲^{1,2}, 陈红梅^{1,2}, 傅光华^{1,2}, 施少华^{1,2}, 程龙飞^{1,2},
万春和^{1,2}, 朱春华^{1,2}, 刘荣昌^{1,2}, 黄 瑜^{1,2*}

(1. 福建省农业科学院畜牧兽医研究所, 福建 福州 350013; 2. 福建省畜禽疫病防治工程技术
研究中心, 福建 福州 350013; 3. 福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 为明确胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 (DHAV-1) 感染雏半番鸭的组织病理变化特征, 以胰腺型 DHAV-1 感染 10 d 雏半番鸭, 结果显示雏半番鸭感染后眼观病变为胰腺出血、发黄, 而肝脏未见明显出血; 采集样品后制备组织切片, 镜检观察发现, 胰腺上皮细胞大面积坏死, 细胞呈颗粒状变性和坏死, 组织结构疏松, 坏死区域看不到血管结构; 肝小叶间小静脉血管周围富集的淋巴细胞和肝细胞形成规则的腺管状结构, 肝细胞呈局灶性变性, 嗜碱性细胞增多和炎性细胞浸润; 脾脏有坏死灶, 白髓淋巴细胞明显减少, 异嗜性白细胞浸润, 脾小体结构模糊不清。以上结果表明, 雏半番鸭感染胰腺型 DHAV-1 后病变以胰腺出血、发黄为特征, 胰腺上皮细胞大面积坏死, 细胞呈颗粒状变性和坏死。

关键词: 鸭 1 型甲肝病毒; 胰腺型; 病理组织学

中图分类号: S 852

文献标识码: A

Histopathological Changes in Mule Ducks Infected with Pancreatitis-type Duck Hepatitis A Virus Type 1

CHEN Zhen^{1,2}, QI Bao-ming³, FU Qiu-ling^{1,2}, CHEN Hong-mei^{1,2}, FU Guang-hua^{1,2}, SHI Shao-hua^{1,2},
CHENG Long-fei^{1,2}, WAN Chun-he^{1,2}, ZHU Chun-hua^{1,2}, LIU Rong-chang^{1,2}, HUANG Yu^{1,2*}

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou,
Fujian 350013, China; 2. Fujian Animal Diseases Control Technology Development Center, Fuzhou,
Fujian 350013, China; 3. College of Animal Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University,
Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: Ecchymotic haemorrhage in enlarged livers always serve as an important diagnostic marker for duck viral hepatitis. Recently, a novel duck hepatitis, characterized by yellowed or hemorrhagic pancreatitis, has emerged in some duck farms and the causative agent, named as pancreatitis-type DHAV-1 has been isolated. To elucidate the pathological characteristics of the novel duck hepatitis in mule ducks, ten-day-old mule ducks were infected with pancreatitis-type DHAV-1 and the pathologic characteristics of disease were observed. The results showed that gross lesion of yellowed or hemorrhagic pancreatitis, without overt change in liver, was observed in infected ducks. Microscopy showed large areas of necrosis in the epithelium, granular degeneration and necrosis in pancreatic cells with no vascular structure were found in necrotic pancreatic areas. In liver, a regular glandular structure around the hepatic venules was formed with lymphocytes and hepatocytes along with focal degeneration, with increase of basophils and infiltration of inflammatory cells found in livers. Focal necrosis was presented in spleen where the

收稿日期: 2015-10-22 初稿; 2015-11-20 修改稿

作者简介: 陈珍 (1980—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事动物传染病研究 (E-mail: zhenzhensh@163.com)

* 通讯作者: 黄瑜 (1966—), 男, 博士, 研究员, 主要从事动物传染病研究 (E-mail: huangyu_815@163.com)

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31472222); 福建省科技计划项目—省属公益类科研院所基本科研专项 (2014R1023-3); 现代农业
产业技术体系建设专项 (CARS-43); 福建省自然科学基金项目 (2015J01113); 新世纪“百千万人才工程”国家级人选科
研项目 (NCNCMTPC-2009); 福建省优良蛋鸭品种与设施化养殖创新产业化工程项目 (2014—2016); 福建省农业科学院
青年基金项目 (2014CX-22)

white pulp lymphocytes number decreased significantly, and the heterophil infiltration contributed the blurred splenic corpuscle. Based on the above, the results suggested that the gross lesions of pancreatic-type DHAV-1 infection in ducklings were characterized by yellowed or hemorrhagic pancreatitis, and the histopathological lesions by large areas of necrosis of the pancreatic epithelium along with granular degeneration and necrosis in pancreatic cells.

Key words: Duck Hepatitis A Virus type 1; pancreatitis-type; histopathology

鸭病毒性肝炎一般表现为肝脏肿大出血^[1-6]。2005 年法国学者 Guérin 等自表现胰腺炎的番鸭中分离到鸭 1 型甲肝病毒，剖检发病鸭肝脏和肾脏无明显肿大出血病变^[7]，从而引起对 DHAV-1 致病性的关注。自 2011 年 9 月以来，我国福建、浙江、上海、广东等地相继出现 10~30 日龄雏番鸭、半番鸭以胰腺发黄、出血（俗称胰腺炎）为特征的疫病，其发病率为 10%~30%，病死率达 25%~40%。本课题组对患该病的雏番鸭病例开展了病原学研究，并对分离病毒进行蚀斑纯化、血清中和试验、基因组测序与分析、红细胞凝集试验和动物致病性试验等一系列相关研究，结果显示该病毒对鸡红细胞、鸭红细胞、绵羊红细胞的无血凝活性，可被鸭 1 型甲肝病毒高免血清部分中和^[8]；核苷酸序列与鸭 1 型甲肝病毒同源性较高^[9]，与鸭 1 型甲肝病毒相关，但剖检病死雏番鸭表现为胰腺发黄出血、坏死，肝脏稍肿大，未见明显出血^[10]；这与经典的鸭 1 型甲肝病毒所致的特征病变病死鸭表现角弓反张、肝脏肿大出血和肾脏肿大出血等^[1-2]明显不同。鉴于该病毒主要引起胰腺病变，将分离毒暂定名为胰腺型鸭 1 型甲肝病毒^[8-10]。

为了进一步掌握雏番鸭感染胰腺型鸭 1 型甲肝病毒后的组织病理学变化特征，用本课题组分离、鉴定和保存的胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 MPZJ1206 株感染 10 日龄半番鸭，剖检病死鸭、取样、固定、切片，观察其临床眼观病变和显微病理变化，以期为研究其发病机制、病理学诊断提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 毒株

胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 MPZJ1206 株由本课题组分离、鉴定和保存，ELD₅₀ 为 4.68 Log₁₀ ELD₅₀ · mL⁻¹。

1.2 试验设计

购进 7 日龄健康的雏半番鸭 31 只，经检测 DHAV-1 抗体为阴性，饲养至 10 d，随机分为 2 组，对照组 10 只，试验组 21 只。试验组接种胰腺型鸭 1 型甲肝病毒 MPZJ1206，腿部肌肉接种病毒

量为 10⁵ ELD₅₀ · 羽⁻¹，对照组雏半番鸭腿部肌肉注射无菌 PBS 缓冲液。两组动物进行隔离饲养，每天观察各组试验鸭的临床症状，剖检病死鸭观察各器官的肉眼变化及显微病理变化，并采集鸭肝脏、胰腺、脾脏和肾脏等进行病毒的再鉴定。

1.3 方法

攻毒后发病致死鸭立即剖检，观察临床眼观病变；同时取对照组雏鸭快速处死后与发病致死鸭一样采集心、肝、脾、肺、肾、胰腺、胸腺、法氏囊、肌胃、腺胃、小肠和脑等组织，以 10% 中性福尔马林液固定，经乙醇脱水、二甲苯透明、常规石蜡包埋，然后切片 5 μm，H. E 染色，观察其组织显微病理变化。

2 结果与分析

2.1 病原检测

采集病死鸭的肝脏、胰腺、脾脏和肾脏等组织经 RT-PCR 鉴定为 DHAV-1 阳性，对照组鸭肝脏、胰腺、脾脏和肾脏等经 RT-PCR 鉴定为 DHAV-1 阴性。

2.2 攻毒鸭的临床症状

攻毒后 2 d 试验组鸭开始出现精神沉郁，食欲下降；攻毒后 4 d 开始出现零星死亡，死亡时未表现典型的角弓反张临床症状，发病率为 71.4% (15/21)，死亡率为 38.1% (8/21)。6 d 耐过后逐渐恢复正常。

2.3 攻毒病死鸭剖检病变

死亡后剖检发现胰腺出血和泛黄，肝脏未见明显出血，肾脏有轻微水肿。

2.4 攻毒鸭的组织显微病理学变化

2.4.1 胰腺 病死鸭胰腺呈坏死性胰腺炎，胰腺上皮大面积坏死，细胞呈颗粒状变性、坏死，组织结构疏松，管腔内有多量的血红蛋白，分泌减少，坏死区域看不到血管结构，伴有淋巴细胞浸润（图 1）。

2.4.2 肝脏 肝细胞局灶性变性，嗜碱性细胞增多。小叶间有少量淋巴细胞浸润、肝索变宽、肝血窦狭窄。叶间小静脉血管周围有淋巴细胞和肝细胞

形成规则的腺管状结构,发现有少量肝细胞凋亡。攻毒后5 d死亡的病死鸭肝脏有大量肝细胞呈纤维素性坏死,窦状隙红细胞数量增多,伴有炎性细胞浸润(图2)。

2.4.3 脾脏 脾脏可见坏死灶,白髓淋巴细胞明显数量减少、细胞间距增宽、网状细胞肿胀、增生,可见核固缩、碎裂及核内包涵体,异嗜性白细胞浸润,脾小体结构模糊不清,脾窦轻度充血(图3)。

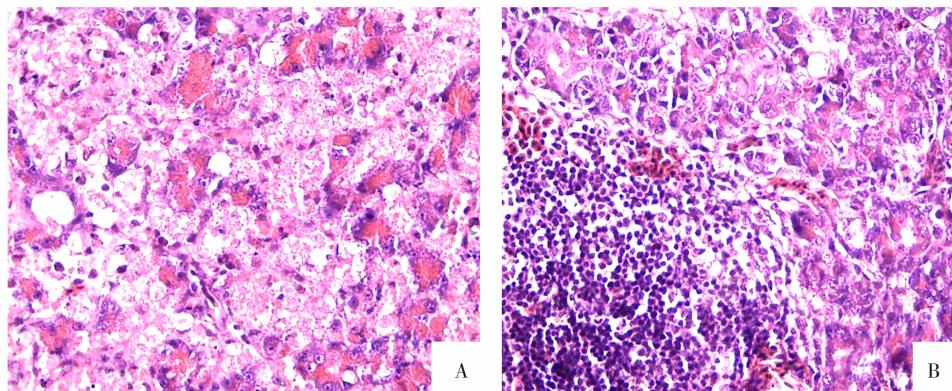


图1 胰腺的病理变化

Fig. 1 The histopathologic changes in pancreas

注: A为胰腺坏死灶(上皮细胞颗粒变性、坏死)($\times 400$);B为淋巴细胞浸润($\times 400$)。

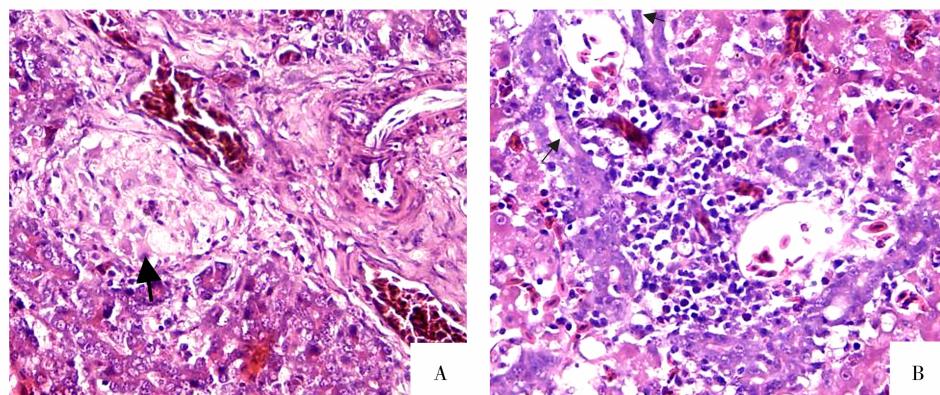


图2 肝脏的病理变化(H. E)

Fig. 2 The histopathologic changes in liver

注: A为肝细胞纤维素性坏死($\times 400$);B为小静脉血管周围淋巴细胞和肝细胞形成腺管状结构、肝细胞凋亡($\times 400$)。

2.4.4 肾脏 肾小管上皮细胞结构疏松、呈水泡变性,细胞明显肿胀、胞浆染色明显变淡、出现空泡,管腔狭窄甚至消失;肾小球变化不明显(图4)。

2.4.5 脑部 脑组织结构疏松、水肿、出现零星坏死灶,血管扩张轻度充血,伴有炎性细胞浸润,大量神经细胞空泡变性坏死(图5)。

2.4.6 心肌 肌纤维间水肿,间质增宽,心肌纤维变性,细胞发生颗粒变性或水泡变性。

2.4.7 胸腺 胸腺组织中出现数量不等的散在局灶性坏死灶,坏死灶内细胞崩解消失。

2.4.8 法氏囊 法氏囊中部分淋巴滤泡发生坏死,以髓质坏死最明显,淋巴细胞核碎裂、崩解。

2.4.9 小肠 小肠黏膜上皮及腺上皮有少量脱落,肠壁变薄,十二指肠上皮大量脱落,腺上皮与基底膜脱离,肠腔内有大量的脱落上皮;肌层水肿。

2.4.10 肺 肺偶见出血、水肿,间质增宽。

2.4.11 肌胃 肌层水肿,纤维束间充满水肿液。

2.4.12 腺胃 腺胃黏膜坏死、脱落,间质瘀血或出血;黏膜下纤维组织和淋巴细胞增生见黏膜上皮细胞增生和间质纤维组织增生。

2.5 对照组鸭的组织显微病理学变化

对照组鸭的心、肝、脾、肺、肾、胰腺、胸腺、法氏囊、肌胃、腺胃、小肠和脑等组织显微正常。

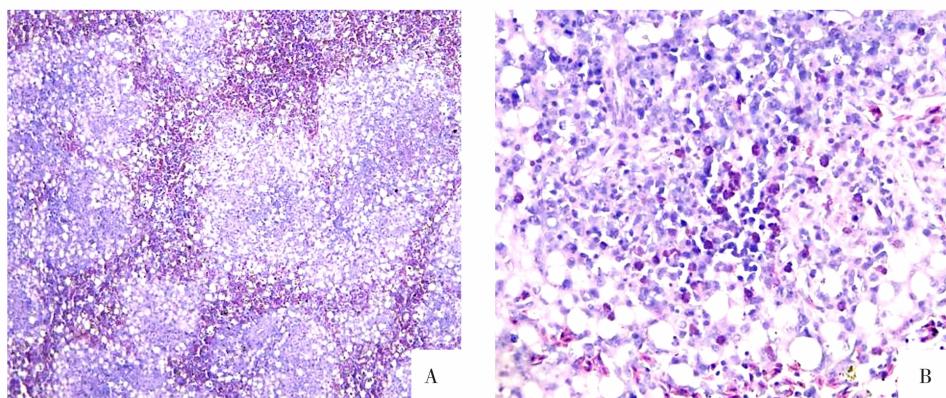


图3 脾脏的病理变化 (H. E)
Fig. 3 The histopathologic changes in spleen

注: A为脾脏淋巴细胞减少 ($\times 100$) ; B为脾脏白髓淋巴细胞减少、异嗜性白细胞浸润 ($\times 400$)。

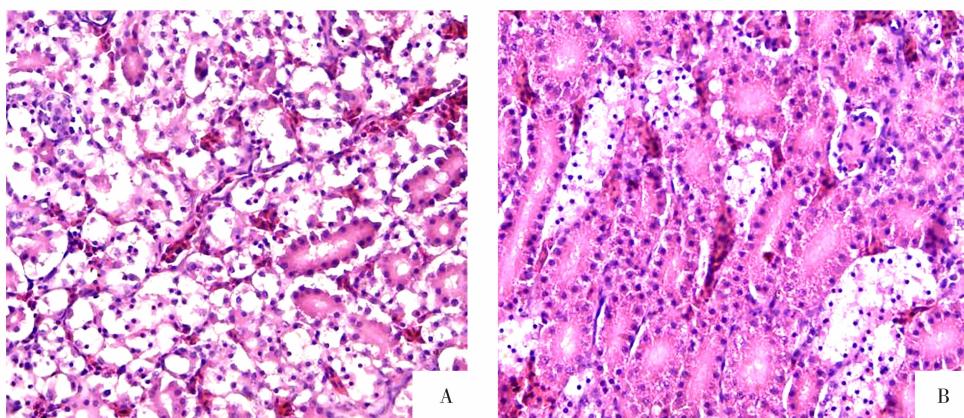


图4 肾脏的病理变化 (H. E)
Fig. 4 The histopathologic changes in kidney

注: A为肾小管上皮细胞水泡变性 ($\times 400$) ; B为肾小管上皮细胞水泡变性 ($\times 400$)。

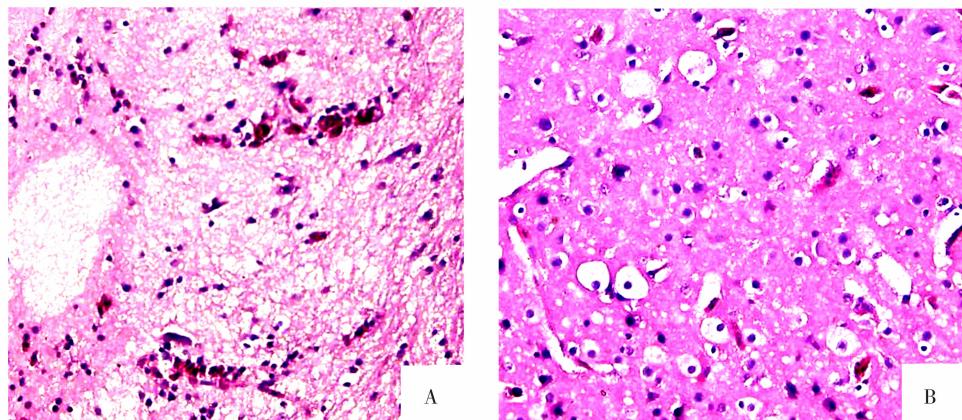


图5 大脑的病理变化 (H. E)
Fig. 5 The histopathologic changes in cerebrum

注: A为大脑坏死病灶 ($\times 400$) ; B为神经细胞坏死 ($\times 400$)。

3 讨论与结论

一般而言,典型的鸭病毒性肝炎可引起雏鸭快速死亡,发病率、死亡率高^[11-15]。本研究胰腺型鸭1型甲肝病毒致死雏半番鸭的病程较长,临床剖检发现胰腺型鸭1型甲肝病毒感染雏半番鸭的特征病变为胰腺出血、发黄,肝脏未见明显肉眼病变,这与经典鸭1型甲肝病毒感染后出现的角弓反张,肝脏肿大、出血,肾脏肿大、出血特征存在明显的差异^[1-2,11-15]。因此,胰腺和肝脏的大体病变可有效地对经典型和胰腺型鸭肝炎进行鉴别诊断。

从本研究组织显微病理结果发现,胰腺型鸭1型甲肝病毒对雏半番鸭的心、肝、脾、肺、肾、胰腺、胸腺、法氏囊、腺胃、小肠和脑等组织器官都有不同程度的损害,其中以胰腺损害最为严重。病死鸭胰腺呈坏死性胰腺炎,胰腺上皮大面积坏死,细胞呈颗粒状变性、坏死,组织结构疏松,管腔内有大量的血红蛋白,分泌减少,坏死区域看不到血管结构,伴有淋巴细胞浸润;比祁保民等^[11-15]报道的胰腺组织病变更严重。肝脏呈局灶性变性,大量肝细胞呈纤维素性坏死,窦状隙红细胞数量增多,伴有炎性细胞浸润,未见到出血。这与祁保民等报道的肝脏组织病变略有不同^[11-15],可能在于二者感染后病程时序有所差异,或者2种病毒对细胞蛋白的嗜性不同,究其原因有待进一步研究加以明确。

参考文献:

- [1] SAIF Y M. 禽病学 [M]. 苏敬良, 高福, 索勋, 译. 12版. 北京: 中国农业出版社, 2005: 431-443.
- [2] 郭玉璞, 蒋金书. 鸭病 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1988: 30-31.
- [3] 苏敬良, 黄瑜, 贺荣莲, 等. 新型鸭肝炎病毒的分离及初步鉴定 [J]. 中国兽医科技, 2002, 32 (1): 15-16.
- [4] 黄安国, 蒋玉雯, 白安斌, 等. 新型鸭肝炎病毒的分离与初步鉴定 [J]. 广西畜牧兽医, 2003, 19 (5): 198-199.
- [5] TSENG C H, TAAI H J. Molecular characterization of a new serotype of duck hepatitis virus [J]. Virus Res, 2007, 26 (1-2): 19-31.
- [6] KIM M C, KWON Y K, JOH S J, et al. Recent Korean isolates of duck hepatitis virus reveal the presence of a new geno-and serotype when compared to duck hepatitis virus type 1 type strains [J]. Arch Virol, 2007, 152 (11): 2059-2072.
- [7] GUERIN J L, ALBARIC O, NOUTARY V, et al. A duck hepatitis virus type I is agent of pancreatitis and encephalitis in Muscovy duckling//Proceedings of the 147th American Veterinary Medicine Association/50th American Association of Avian Pathologists Conference [C]. Washington, DC, USA, 2007, Abs 4585.
- [8] 傅光华, 陈红梅, 黄瑜, 等. 雏番鸭胰腺型鸭1型甲肝病毒分离鉴定及VP1基因分析 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (9): 43-45.
- [9] 傅光华, 黄瑜, 傅秋玲, 等. 致胰腺泛黄鸭1型甲肝病毒全基因组分子特征 [J]. 微生物学报, 2014, 54(9): 1082-1089.
- [10] 陈珍, 傅秋玲, 陈红梅, 等. 胰腺型、经典型鸭1型肝病毒对雏鸭的致病性差异 [J]. 福建农业学报, 2013, 28 (10): 939-942.
- [11] 祁保民, 姚金水, 卢惠明. 鸭病毒性肝炎的病理形态学观察 [J]. 福建农业大学学报, 1999, 28 (3): 350-352.
- [12] 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): 6-8.
- [13] 伍莉, 朱周福. 雏鸭攻毒鸭病毒性肝炎的组织病理学观察 [J]. 中国兽医杂志, 2011, 47 (5): 29-31.
- [14] 胡薛英, 程国富, 周诗其, 等. [J]. 华中农业大学学报, 2000, 19 (1): 48-50.
- [15] 彭南秀. 雏鸭病毒性肝炎的动态病理学研究 [J]. 中国兽医科技, 1998, 28 (8): 22-23.

(责任编辑:林海清)