

养殖乌鳢类立克次体感染的组织病理学研究

郭琼林 贾伟章 孙晓凤 周秀霞 李海燕

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要:本文系统报道了养殖乌鳢类立克次体(Rickettsia-like organism, RLO)感染的各器官(脑、眼、鳃、心脏、头肾、肝、胰腺组织、脾、肾、肠和卵巢)的组织病理变化,探讨了炎症发展的基本规律。感染乌鳢病理解剖学特征和最具病理诊断意义的是体内各器官普遍出现的白色结节。这些结节的显微结构为肉芽肿炎症即一种慢性增生性炎症。在严重病变的肾脏,由于组织坏死区域较大和周围明显的细胞增生形成了境界较为清楚巨大“肉瘤”状肿物。内脏器官的血管(特别是造血器官的血管)出现明显纤维素性血栓、混合血栓、弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)和组织细胞大范围的变性或坏死、溶解。大多数器官的组织细胞主要是上皮性细胞、吞噬性细胞,胞质内富含嗜酸性包涵体(eosinophilic intracytoplasmic inclusion),这种细胞多位于鳃上皮处、鳃部和体内器官血管内皮及血管周边结缔组织。血管内皮细胞及周边细胞内大量包涵体的出现导致血管内皮细胞的肿胀和破坏。

关键词:类立克次体;鱼病;鱼类病理学;乌鳢

中图分类号: S941.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2007)01-0045-08

1939 年, Mohamed 等在埃及发病的河豚(*Tetrodon fahaka*)体内发现类立克次体(Rickettsia-like organism, RLO)。1989 年 Fryer 等首次从智利海水养殖的银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)病灶组织感染的细胞系中分离得到 RLO,并命名为 *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov.^[1,2]。自 20 世纪 90 年代以来,在欧美的一些国家陆续发生由 *P. salmonis* 感染引起的鱼病^[3-7]。这种专性细胞内寄生的原核生物(专性细胞内的细菌)是国际上一个被日益重视的、导致鱼类发生严重传染病的病原体类群^[3]。因其主要发生于养殖鲑科鱼类,其病变以内部器官肿胀、出血和血液吞噬细胞胞质泡内存在 RLO 为主要特征,因此该病也称为“鲑鱼立克次体败血症”(salmon rickettsia septicemia, SRS)或“鲑鱼立克次体病”(Piscirickettsiosis)^[2,4]。

除鲑鱼立克次体败血症外,据报道在欧美一些国家和台湾地区的一些 RLO 感染的非鲑科鱼类也出现与鲑鱼立克次体败血症或鲑鱼立克次体病相似的症状和病理变化(Piscirickettsiosis-like syndrome)^[3,8-10],这些与 *P. salmonis* 形态相似的 RLO (或 PLO)能导致养殖鱼类的高死亡率且宿主范围

较广。

通过对内脏主要器官肝、脾和肾超薄切片观察,我们证实 2001—2002 年湖北省某养殖场淡水养殖乌鳢(*Ophiocephalus argus* C.)大规模突发性死亡系 RLO 感染引起^[11,12]。本文主要系统报道乌鳢 RLO 感染各器官的组织病理变化。

1 材料与方法

感染乌鳢取自当地发病养殖场,体长 40—60cm,体重 300—500g。观察记录感染鱼的病理解剖学特征。取病变器官脑、眼球、鳃、心脏、头肾、肝、胰腺组织、脾、肾、肠和卵巢的组织块,固定于 Bouin's 液中,常规脱水、透明、石蜡包埋,切片厚度 6—7 μ m,苏木精-伊红(H&E)染色,光镜观察并与未感染样本对照。

取上述感染鱼的肝、脾和肾,剪碎并加入 PBS 反复匀浆,经分级离心得到类立克次体粗提液^[12]。取正常乌鳢 5 尾(约 300g),实验室暂养 10d,饲养温度为 15—20℃。腹腔内注射类立克次体粗提液,记录死亡率,观察病理解剖和组织病理变化特征并与自然发病鱼比较。

收稿日期:2005-01-22;修订日期:2005-05-26

基金项目:国家自然科学基金(No. 30371091)资助

通讯作者:郭琼林, E-mail: qlguo@ihb.ac.cn

2 结果

2.1 感染乌鳢的症状及病理解剖学特征

个体大、进食多的鱼易感染。多数濒死鱼食欲减退或摄食停止,乏力地在池边缓慢漂游。眼球突出,易脱落。腹部膨大,有红色斑点,部分感染鱼背部有溃疡穿孔窦道。同池塘养殖的白鲢未发生感染。

眼球根部溃烂,内部有脓血。鳃丝肿胀、发白,边缘有缺损,近鳃弓处有明显乳白色的结节物(图版 I:1)。腹腔内有大量灰白色“豆渣”样块状物或糜烂状液体,部分有灰白色黏液渗出。胃肠充盈、含大量积液。部分感染鱼腹膜与内脏粘连严重,腹膜上可见大量均匀、细小的“豆渣”样灰白色结节。肝脏肿大,土黄色或花斑状,可见许多分散的“粟粒”样乳白色结节,部分结节直径可达 1mm 以上(图版 I:2)。脾脏肿大,质硬,矢状切面上可见大量密集的灰白色结节。头肾略肿大。肾脏比正常肾脏大 4—10 倍,常形成 5—10 个巨大“肉瘤”状物(图版 I:3),表面有大量乳白色或灰白色结节和明显的溃疡灶,邻近脊柱的溃疡灶形成窦道,穿孔至体表。

2.2 感染乌鳢内脏器官组织病理变化的基本特征

尽管 RLO 感染乌鳢的脑、眼球、鳃、心脏、头肾、肝、胰腺组织、脾、肾、肠和性腺(卵巢)病变程度不一,但其基本病理变化特征相似:1) 所有发病乌鳢材料的大多数器官的组织细胞胞质内,主要是上皮性细胞、吞噬性细胞胞质内富含嗜酸性包涵体(eosinophilic intracytoplasmic inclusion),细胞肿大,细胞核被压向细胞周边。这种富含嗜酸性包涵体的细胞多位于血管内皮及血管周边结缔组织;2) 血管充血、扩张,纤维素性血栓、混合血栓形成,内脏器官特别是具造血功能的器官如头肾、肾及脾脏的血管充血、扩张,血管内纤维素较多,形成网状结构,网眼内充满流经此处被粘连住的血细胞,其中部分细胞胞质中尚可发现嗜碱性物质,内脏器官这种广泛性的小血管及微血管血栓即为弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC);3) 器官或器官局部组织细胞变性和坏死严重,变性主要包括混浊肿胀、水样变性和脂肪变性,血管变性以纤维素样变为主,坏死变化具有大面积特点并以肾组织细胞大面积坏死与溶解最为突出;4) 慢性肉芽肿性炎症普遍存在于感染乌鳢各器官,炎症以成纤维细胞增生并包围病灶组织周围为特点。

2.3 内脏器官的组织病理变化

大、小脑 脑组织坏死较明显,有较大的肉芽肿

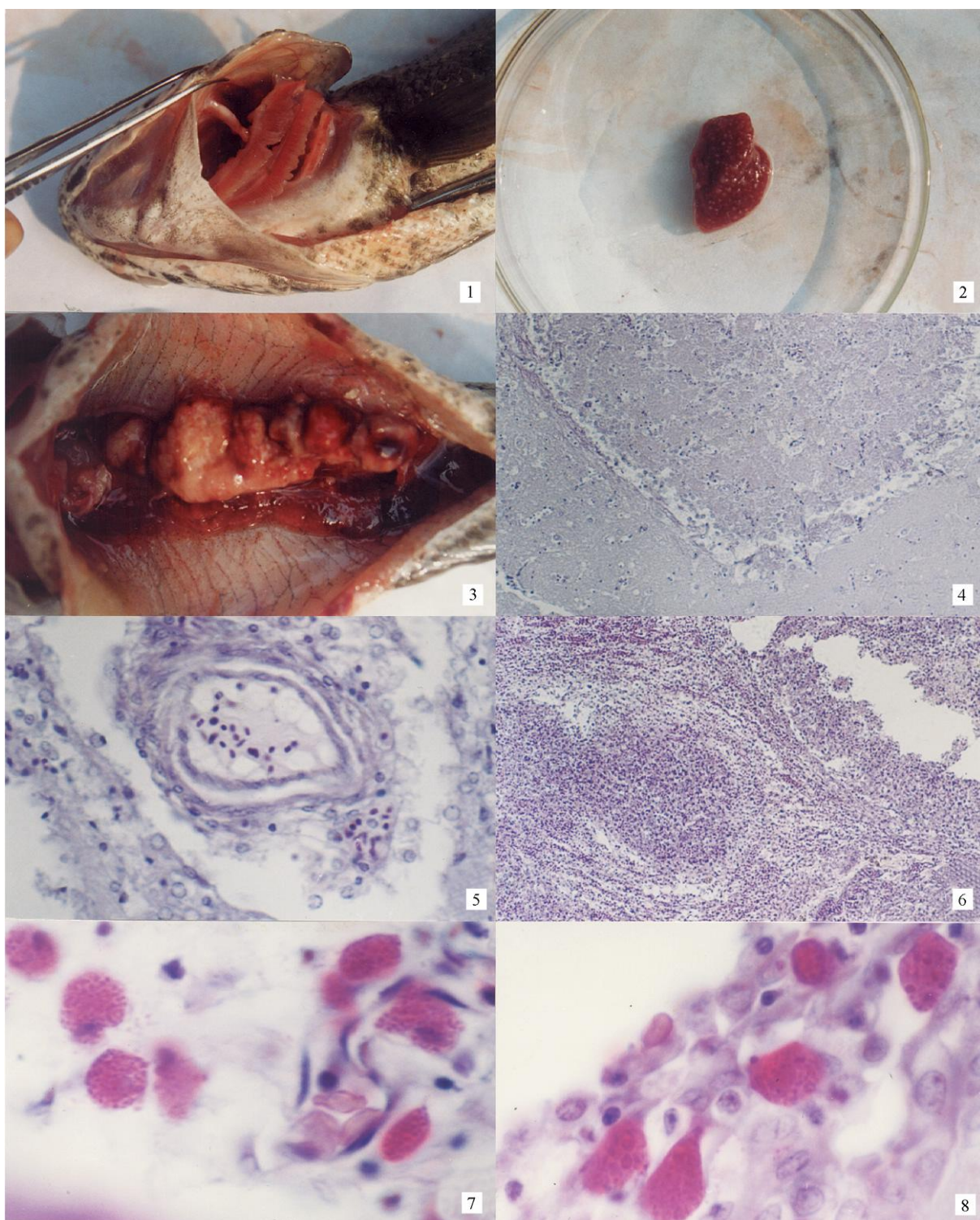
炎症,病灶中心坏死明显且较弥散,周围增生的成纤维细胞和纤维膜较薄,边界不甚明显(图版 I:4)。脑膜血管充血、纤维素性血栓(图版 I:5),血管周边可见大片的含铁血黄素沉积物。

眼 眼球视盘后部结缔组织处有大而明显的肉芽肿,其中心变性和坏死细胞区较大(图版 I:6),边界较为清楚。巩膜内胶原纤维排列紊乱,近脉络膜侧的胶原纤维呈明显的溶解趋势。脉络膜增厚,结缔组织内可见较大范围的细胞坏死、溶解。视网膜各层之间出现剥离现象。

鳃 鳃片和鳃小片肥大、断裂,鳃小片上皮增生、肥厚,上皮细胞脱落、坏死、溶解并形成许多溶解性的空腔。鳃片内软骨组织中有明显的较大的含嗜酸性包涵体细胞,此种细胞胞体圆形、椭圆形或不规则形,胞质内嗜酸性颗粒较大、均匀,细胞多分布于血管内皮及血管周边(图版 I:7)。鳃上皮处含嗜酸性包涵体细胞非常明显,胞质内嗜酸性包涵体粗大或呈大小不等的块状(图版 I:8),脱落、崩解的上皮处也可见散在的含嗜酸性包涵体的细胞(图版 I:1)。

心脏 心脏出现心肌炎:心肌纤维肿大,排列不规则、紊乱,心肌纤维间有明显的红细胞、吞噬细胞,并伴有少量结缔组织增生(图版 II:2)。心脏外膜也出现炎症,外膜内血管扩张、充血,部分结缔组织有变性和坏死灶,有些部位的外膜已经溃烂和脱落。

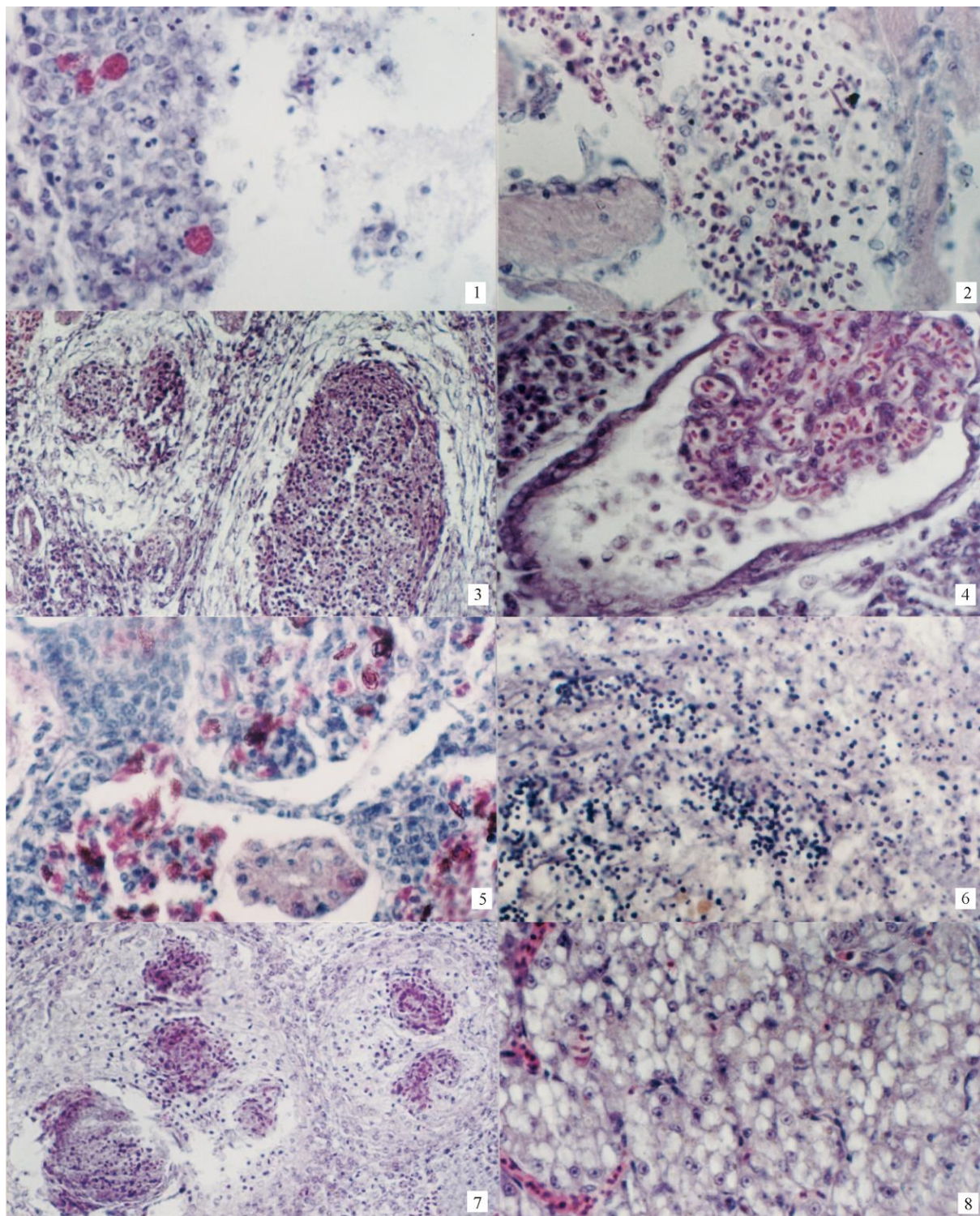
肾 肾脏最典型的病理变化为切片内充满大量大小不等的肉芽肿病灶(图版 II:3)。病灶中央为变性、坏死的造血组织,最外层为间质组织的成纤维细胞增生并包围病变组织,其结构致密、分界较为清楚,并明显地压迫肾实质组织。有些病灶中心变质区萎缩、局限,但大部分的变质区仍较大。肾小管出现广泛性的变性。肾小体肿胀,血管球充血,血管内皮细胞肿大、出现空泡。肾小囊腔扩大,囊壁上皮细胞肿大、增生,部分囊腔中可见大量脱落的细胞(图版 II:4)。部分脱落细胞胞质内可见含嗜碱性颗粒。一些肾小体血管球处、肾间质(结缔组织)的血管内皮细胞及血管周边细胞内富含嗜酸性包涵体(图版 II:5)。肾造血组织增生,并有明显的细胞空泡样变,细胞核也出现肿胀。血管内出现大量的炎性细胞,包括淋巴细胞和胞质内含细胞碎片单核细胞。部分血管发生纤维素性血栓,血管壁损伤,血管周边组织坏死。肾脏边缘组织严重坏死溶解,可见大片的坏死区(图版 II:6),许多坏死区仅剩下纤维化物质和大量核已固缩的细胞。



图版 I

1 鳃部乳白色的结节; 2 肝表面大量的乳白色结节; 3 含大量乳白色结节的“肉瘤”状肾; 4 脑组织的肉芽肿炎症 $\times 200$; 5 脑膜内血管的纤维素性血栓 $\times 400$; 6 眼部的肉芽肿炎症 $\times 200$; 7 鳃片软骨组织中的含嗜酸性包涵体的细胞 $\times 1000$; 8 鳃上皮处的含粗大嗜酸性包涵体的细胞 $\times 1000$

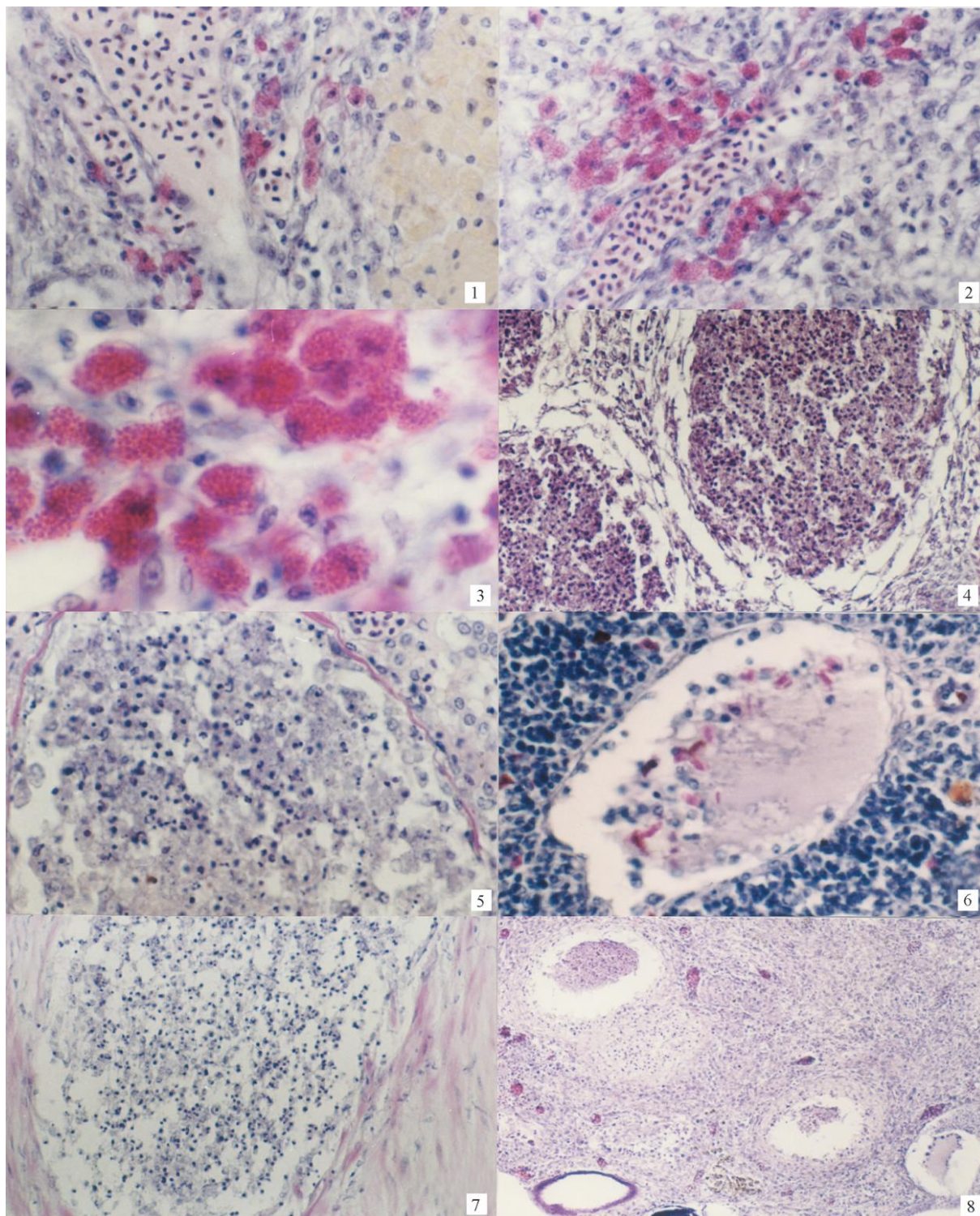
1 Cream-coloured nodules on gill; 2 Numerous cream-coloured nodules on liver; 3 Sarcoma-like kidney consisted of numerous cream-coloured nodules; 4 Granulomatous inflammation in brain section ($\times 200$); 5 Fibrin thrombi in blood vessel of brain surface ($\times 400$); 6 Granulomatous inflammation in eye section ($\times 200$); 7 Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in cartilage tissue of gill ($\times 1000$); 8 Large eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in gill epithelium ($\times 1000$)



图版 II

1 脱落的鳃上皮处的含嗜酸性包涵体细胞 $\times 400$; 2 心肌纤维炎症 $\times 400$; 3 肾脏的肉芽肿炎症 $\times 200$; 4 肾血管球囊腔中脱落的细胞 $\times 400$;
5 肾小体和肾间质处含嗜酸性包涵体的细胞 $\times 400$; 6 肾脏内大面积的细胞坏死和溶解 $\times 200$; 7 头肾组织的肉芽肿炎症 $\times 200$; 8 肝细胞的
脂肪变性 $\times 400$

1 Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in sloughing gill epithelium ($\times 400$); 2 Inflammation in cardiac muscle tissue ($\times 400$); 3 Granulomatous inflammation in kidney section ($\times 200$); 4 Sloughing epithelial cells in the cavity of renal capsule ($\times 400$); 5 Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in renal glomerulus and interstitial tissue of kidney ($\times 400$); 6 Marked cell necrosis and extensive lysis in kidney ($\times 200$); 7 Granulomatous inflammation in head kidney section ($\times 200$); 8 Fatty degeneration in hepatocytes ($\times 400$)



图版 III

1 胰腺腺泡附近血管内皮嗜酸性包涵体的细胞 $\times 400$; 2 胰腺腺泡附近血管周边含嗜酸性包涵体的细胞 $\times 400$; 3 肝脏血管周边含嗜酸性包涵体的细胞 $\times 1000$; 4 脾脏的肉芽肿炎症 $\times 200$; 5 脾脏的肉芽肿炎症 $\times 400$; 6 脾脏血管内纤维素性血栓 $\times 400$; 7 肠道的肉芽肿炎症 $\times 200$; 8 卵巢的肉芽肿炎症 $\times 200$

1 Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in endothelium of blood vessels near the base of hepato-pancreas ($\times 400$); 2 Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in the connective tissue near to blood vessels at the base of hepato-pancreas ($\times 400$); 3 Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells in the connective tissue near to blood vessels in liver ($\times 1000$); 4 Granulomatous inflammation in spleen section ($\times 200$); 5 Granulomatous inflammation in spleen section ($\times 200$); 6 Fibrin thrombi in blood vessel of spleen ($\times 400$); 7 Granulomatous inflammation in intestine section ($\times 200$); 8 Granulomatous inflammation in ovary section ($\times 200$)

头肾 头肾病理变化较肾脏轻,但仍观察到明显的肉芽肿,病灶大小不一(图版 II:7),中心部分坏死明显,周围结缔组织较厚。同肾脏一样,部分血管也可发生纤维素性血栓。血管充血,其内可见明显的炎性细胞。淋巴组织增生,并伴有较大范围的细胞空泡样变,部分细胞坏死、溶解。

肝和胰腺组织 肝脏的病理变化与肾脏相似,但肉芽肿性炎症灶较肾脏少。变质性变化以肝细胞脂肪变性为主:肝细胞索排列紊乱,细胞肿大,胞质内出现大空泡,胞核被挤向细胞一侧(图版 II:8)。肝血窦、中央静脉及小叶间血管扩张、充血。血窦内皮细胞、小叶间胆管上皮细胞肿胀,胞质出现空泡。一些血管内皮细胞及血管周边细胞内富含嗜酸性包涵体(图版 III:1,2)。这种细胞较大,类圆形或椭圆形,核深染、偏于细胞一侧。肉芽肿性炎症多分布于肝脏的周边。尚发现病变的肾脏组织紧贴肝脏处肝细胞脂肪变性尤为明显,血管扩张、破裂。从肾脏、肝脏融合部位来观察,肝脏肉芽肿的形态特征与肾脏完全相似。同其他鱼类一样,乌鳢胰腺组织分散地位于肝组织之间。胰腺腺泡上皮细胞肿大,细胞核也肿大,腺泡腔狭小或消失。含粗大嗜酸性包涵体的细胞较大,细胞多集中分布在胰腺腺泡基底部的血管内皮及血管周围的结缔组织(图版 III:3)。

脾 脾脏内肉芽肿性炎症明显,病灶中心有大片坏死区(图版 III:4,5),并可见一些肿大的、胞质内含嗜碱性物质的细胞。造血组织细胞也发生变性肿胀,可见大片的含铁血黄素沉积物。脾脏最明显的病变特征为血管充血、扩张,血管中充满大量的单核细胞和胞质内含嗜碱性颗粒及细胞碎片的单核细胞,此外尚可发现非常明显的血管内纤维素性血栓(图版 III:6)。

肠 肠道黏膜、黏膜下层和肌层增厚,黏膜细胞变性肿胀。肌层增厚,可见较大的肉芽肿炎症病灶,边界清楚,纤维外膜较薄(图版 III:7)。肠壁的周边尚发现较大的肉芽肿炎症,炎症中心出现大范围的细胞溶解并发现有散在的含嗜酸性包涵体的细胞,肉芽肿边缘结缔组织内也发现含散在的嗜酸性包涵体的细胞,黏膜下层也发现这种细胞。

卵巢 卵巢略肿大,结缔组织增生。有较明显的肉芽肿,内部的坏死组织较局限,边界较清楚(图版 III:8)。

内脏各器官肉芽肿内均未见明显的中性粒细胞和液化的病灶。腹腔注射感染的乌鳢 12d 内全部死亡,病理解剖和组织变化特征与自然感染乌鳢基本相同,部分切片中也可见含嗜酸性包涵体的细胞,但

病变程度或体征不如自然感染严重和典型。

3 讨论

无论是鲑鱼立克次体病样综合征还是非鲑科鱼类的鲑鱼立克次体病样综合征,鱼类 RLO 感染的病理解剖学特征和最具病理诊断意义的是内脏出现白色结节^[2,4,8,10]。乌鳢的 RLO 感染也不例外,在鳃、肝、脾和肾均观察到大量“粟粒”样乳白色或灰白色的结节,但乌鳢的病变程度更为严重和罕见:肾脏呈巨大“肉瘤”状肿物,其表面出现大量乳白色或灰白色结节;腹腔内出现“豆渣”样块状物或糜烂状液体。这些乳白色或灰白色结节在光镜下观察为肉芽肿炎症即一种慢性增生性炎症。这种肉芽肿炎症几乎存在于所有感染乌鳢的病变器官,如脑、眼、肝、头肾、肾、肠和性腺(卵巢)。其中脑、头肾和性腺(卵巢)的肉芽肿炎症在鱼类尚属首次报道。尽管肉芽肿炎症普遍存在,但各器官肉芽肿炎症病灶的多少及其中心坏死区的大小、周边纤维膜的厚薄均有差异。吴信忠等在 RLO 感染的海洋低等动物大珠母贝(*Pinctada maxima*)和合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)的外套膜结缔组织、肝胰腺间质和鳃组织中也观察到类似的慢性增生性(肉芽肿)炎症^[13]。

在炎症过程中,一些细胞内感染的细菌,由于避开了体液免疫的作用同时对吞噬杀伤有一定抗性,病原体往往持续存在,机体损伤与抗损伤作用并存,机体免疫反应缓慢发生,一些刺激细胞增生的因子可促进成纤维细胞等炎性增生并在健康组织和病灶组织之间形成隔离带(有防止病灶扩散作用)即炎症转为慢性肉芽肿;若损伤变化加重并向局部或全身扩散则引起败血症等导致疾病恶化。从各器官组织病理观察结果来看,RLO 感染乌鳢的病变特征之一为组织细胞严重变性、坏死和慢性肉芽肿炎症同时存在于机体器官,与其他报道鱼类和合浦珠母贝病变相似^[2,4,8,10,13]。但在乌鳢严重病变的肾脏,由于组织坏死区域较大和周围明显的炎性增生形成了外观所见境界清楚的类似“肿瘤”样的团块——“炎性假瘤”(inflammatory pseudotumor),即作者在病检时观察到的巨大“肉瘤”状肿物(养殖者也称其为“鱼瘤病”)。

在慢性炎症过程中,作者也观察到损伤性变化加剧恶化的情况,如肾“肉瘤”状巨大肿物表面出现明显组织坏死溶解形成的溃疡病灶。这些溃疡灶大量脱落成为腹腔中灰白色“豆渣”样块状物,贴附、直接压迫并通过组织间隙在周围组织(腹膜)和器官(肝、肠等)不断蔓延、扩散,此也许能解释为什么肝

脏肉芽肿炎症多位于器官周边。除此之外,作者在肾血管球囊腔中发现大量病变脱落细胞,这些细胞有可能通过肾小管沿泌尿道下行播散并排入水体。Olsen 也曾根据感染鲑鱼肾小管上皮细胞内存在 RLO 推测病原体有可能通过输尿管传播^[4]。这应当引起养殖者高度重视。

乌鳢 RLO 感染的其他重要组织病理学特征为组织细胞(特别是肝、脾、肾、眼和脑等)大范围的坏死、溶解和内脏器官的小血管炎。有报道 RLO 感染的台湾罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)眼球突出并表现出不正常的游泳习性^[8];RLO 感染的希腊养殖海鲈(*Dicentrarchus labrax*)的脑膜和眼视网膜均发现感染病灶^[3]。RLO 感染的乌鳢脑组织发现有大片坏死区、肉芽肿中心的坏死区较弥散;眼球视盘后部结缔组织处的肉芽肿中心坏死区较大,脉络膜内有较大范围的细胞溶解与死亡。脑和眼部的这些大面积的细胞溶解与死亡无疑会导致感染鱼的不正常游泳行为和眼球的突出和脱落。RLO 感染鱼通常表现出内脏器官如脾、肾的弥漫性血管内凝血和纤维素性血栓^[2,4,8]。本次观察我们尚发现感染乌鳢内脏器官(主要为造血器官)血管充血、混合血栓、纤维素性血栓和弥漫性血管内凝血。这些血管病变表明感染乌鳢已出现明显的血液循环障碍。但据报道并不是所有 RLO 感染鱼都表现这种血管病变,如在 RLO 感染的蓝眼隆头鲷(*Panaque suttoni*)脾、肾等器官未发现血管炎和血栓^[9]。

我们观察到受 RLO 感染的细胞通常是一些吞噬性细胞和上皮性细胞,此与 Olsen 等报道^[4]吻合。我们曾报道最典型的粗大嗜酸性包涵体细胞出现在肝胰腺组织附近的血管周围^[11]。除此之外,本次观察我们尚发现肝和胰腺组织血管内皮、鳃片软骨组织中血管内皮和血管周边、鳃上皮处、一些肾小体血管球和肾间质的血管内皮及血管周边出现非常明显粗大嗜酸性包涵体的细胞,肠道外膜的肉芽肿炎症边缘的结缔组织中也发现这种细胞。这些细胞中粗大嗜酸性包涵体与 Wu 等观察报道的相似^[14],电镜下观察即为质膜包绕的 RLO。吴信忠等发现两种海洋养殖贝类的肝血管周围及囊状结缔组织(vesicular connective tissue, VCT)细胞中发现大量包涵体,进一步观察发现肝胰腺间质组织损伤以血管周边及靠近 VCT 处最为严重,而腺泡上皮内包涵体很少且细胞损伤不明显^[13]。感染乌鳢肝和胰腺组织的病理变化也同样如此:即除肿大外,尚未发现胰腺上皮细胞内明显的含嗜酸性包涵体,大量嗜酸性包涵体细胞出现在肝胰腺组织基底面附近的血管内皮及血管周围。血管内皮细胞及周边细胞的大量包涵体的

出现导致血管内皮细胞的肿胀和破坏,这可能也是导致感染乌鳢血液循环障碍和病原经血引起全身感染(败血症)的重要原因。感染乌鳢含粗大嗜酸性包涵体的细胞数量多少的器官依次为肝>肾>鳃>肠。由于肠道外膜的肉芽肿炎症可能来自腹膜,因此标本观察提示鳃上皮有可能是病原入侵的主要门户之一,此推测与 Smith 等的鳃感染途径实验结果^[15]吻合。虽然自然获得感染发展的先后顺序尚未报道,研究发现感染可能开始于病原到达皮肤或鳃的生理屏障,直接接触病原引起局部感染,通过血液扩散,然后通过主要的血管到达几个器官的软组织。腹腔注射也可感染鱼体,腹腔中主要器官的被膜是细菌繁殖的场所^[3,6,15]。感染乌鳢鳃片软骨组织中这种具嗜酸性包涵体的细胞较多且多分布于血管内皮及血管周边的观察提示:这些 RLO 有可能通过鳃部的这些血管向体内各器官传播。有报道 RLO 能够存在受感染鱼的性腺中,在接种 *P. salmonis* 的成熟鱼繁殖的卵中检测到 RLO^[15],养殖贝类生殖腺结缔组织中发现大量包涵体^[13]。RLO 感染乌鳢的卵巢也发现明显的肉芽肿表明性腺组织细胞内已感染并出现明显的细胞病变。因为鲑鱼 RLO 在淡水阶段很少被观察到,且 Lannan 等尚发现 *P. salmonis* 在海水中比淡水中能够存活更长时间^[16],所以到目前为止垂直传播仍不能证实为细菌传播的主要途径。有关乌鳢 RLO 感染的流行病学问题尚需进一步的实验和调查来证实。

参考文献:

- [1] Fryer J L, Lannan C N, Garces L H, et al. Isolation of a rickettsiales-like organism from diseased coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile [J]. *Fish Pathol*, 1990, 25: 107—114
- [2] Cvitanich J D, Garate N O, Smith C E. The isolation of a rickettsia-like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its confirmation by Koch's postulate [J]. *J Fish Dis*, 1991, 14: 121—145
- [3] Mauel M J, Miller D L. Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: a review [J]. *Vet Microbiol*, 2002, 87: 279—289
- [4] Olsen A B, Melby H P, Speilberg L, et al. *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway—epidemiological, pathological and microbiological findings [J]. *Dis Aquat Org*, 1997, 31: 35—48
- [5] Brocklebank J R, et al. Rickettsial septicemia in farmed Atlantic and chinook salmon in British Columbia: clinical presentation and experimental transmission [J]. *Can Vet J*, 1993, 34: 745
- [6] Almendras F E, Fuentealba I C, Jones S R M, et al. Experimental infection and horizontal transmission of *Piscirickettsia salmonis* in freshwater-raised Atlantic salmon, *Salmo salar* L [J]. *J Fish Dis*, 1997, 20: 409—418
- [7] Jones S R M, Markham R J F, Goman D B, et al. Virulence and antigenic characteristics of a cultured Rickettsiales-like organism iso-

- lated from farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in eastern Canada [J]. *Dis Aquat Org*, 1998, **33**: 25—31
- [8] Chen S D, Tung M C, Chen S P, et al. Systematic granulomas caused by a rickettsia-like organism in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L), from southern Taiwan [J]. *J Fish Dis*, 1994, **17**: 591—599
- [9] Khoo L, Dennis P M, Lewbart G A. Rickettsia-like organisms in the blue-eyed plecostomus, *Panaque suttoni* (Eigenmann & Eigenmann) [J]. *J Fish Dis*, 1995, **18**: 157—164
- [10] Chen S C, Wang P C, Tung M C, et al. A *Piscirickettsia salmonis*-like organism in grouper, *Epinephelus melanostigma*, in Taiwan [J]. *J Fish Dis*, 2000, **23**: 415—418
- [11] Guo Q L, Jia W Z, Han X P, et al. Rickettsia-like organism infection in a freshwater cultured fish *Ophiocephalus argus* C. in China [J]. *Prog Nat Sci*. 2004, **14**: 417—422
- [12] Jia W Z, Sun X F, Guo Q L. Primary isolation and purification of rickettsia-like organism (RLO) from the tissues of *Ophiocephalus argus* [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 2004, **28**: 448—449 [贾伟章, 孙晓凤, 郭琼林. 养殖乌鳢类立克次体分离纯化的初步研究. 水生生物学报, 2004, **28**: 448—449]
- [13] Wu X Z, Pan J P. Studies on Rickettsia-like organism disease of tropical marine pearl oyster, *Pinctada maxima* and *P. fucata* IV. On histocytopathology of RLO disease [J]. *Acta Oceanol Sin*, 1999, **21**: 93—98 [吴信忠, 潘金培. 热带海洋珍珠贝类立克次体病研究 IV. 组织细胞病理学研究. 海洋学报, 1999, **21**: 93—98]
- [14] Wu X Z, Pan J P. An intracellular prokaryotic microorganism associated with lesions in the oyster, *Crassostrea ariakensis* Gould [J]. *J Fish Dis*, 2000, **23**: 409—414
- [15] Smith P A, Pizarro P, Ojeda P, et al. Routes of entry of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Dis Aquat Org*, 1999, **37**: 165—172
- [16] Lannan C N, Fryer J L. Extracellular survival of *Piscirickettsia salmonis* [J]. *J Fish Dis*, 1994, **17**: 545—548

HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON RICKETTSIA-LIKE ORGANISM INFECTION IN A CULTURED FISH, OPHIOCEPHALUS ARGUS

GUO Qiong-Lin, JIA Wei-Zhang, SUN Xiao-Feng, ZHOU Xiu-Xia and LI Hai-Yan

(Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract :The histopathological changes of various organs (brain, eye, gill, heart, head kidney, liver, hepato-pancreas, spleen, kidney, intestine and ovary) in rickettsia-like organisms (RLOs) infected fish, *Ophiocephalus argus* C. have been reported, and the pathological mechanism has been discussed in this paper. The gross pathological characteristics were that cream coloured nodules, a chronic granulomatous inflammation under microscopy, were observed on internal organs of infected fish, which had diagnostic significance. Because of extensive tissue necrosis and marked fibroblast proliferation, 5—10 giant sarcoma-like bodies with a distinctive boundary were seen on the surface of severe infected kidney. The blood vessels of internal organs showed fibrin thrombi, mixed thrombi and disseminated intravascular coagulation (DIC), and larger areas of tissue and cells showed severe degeneration, necrosis and extensive lysis. Eosinophilic intracytoplasmic inclusion-laden cells, which were mainly epithelial cells and phagocytic cells, situated mostly in the epithelium of gill, the endothelium of blood vessels and the connective tissue near to the blood vessels of gill and internal organs. The intracytoplasmic inclusions could result in swelling and rupturing of endothelial cells of blood vessels. The histopathological changes of various organs observed in experimentally infected fish with abundant RLOs were similar to those in naturally infected fish.

The marked necrosis and larger granulomas were found in brain tissue, fibrin thrombi were also observed in blood vessels of brain membrane. The central necrotic area of granulomas in eye was larger. The gill lamellae were swollen and ruptured, epithelial cells showed necrosis and sloughed. The myocarditis and pericarditis were seen in heart. The severe changes were noted in the kidney. The kidney changes were characterized by the replacement of normal haematopoietic tissue with a large number of granulomas in different size. The renal tubules showed widespread degeneration. The renal corpuscles swelled, the glomerulus congested. The cavities of renal capsule were enlarged in which there were a large number of sloughing epithelial cells. The periphery tissue of kidney showed marked necrosis and extensive lysis. Though the pathological changes in the head kidney were light to those of the kidney, marked granulomas were seen. The granulomas in liver were mainly situated at the periphery of organ and the pathological lesion was mainly fatty degeneration. The epithelial cells in hepato-pancreas were swollen, the acinar cavities of pancreas disappeared. Spleen lesions were similar to those of the kidney. The intestine mucosa thickened, larger granulomas were observed in tunica muscularis with a distinctive boundary and thinner fibrosa. The connective tissue in ovary proliferated, and marked granulomas were also seen in ovary.

Key words : Rickettsia-like organism (RLO) ; Fish diseases ; Histopathology ; *Ophiocephalus argus*