

鲤鱼急性喹乙醇中毒的病理学研究

汪开毓, 耿毅

(四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014)

摘要: 试验对鲤鱼进行了喹乙醇急性中毒的病理学研究。喹乙醇对鲤鱼(60±5g)口服给药的LD₅₀为: 3249.4 mg/kg体重。中毒鱼表现出特征性的“应激性出血症”, 鳍条基部、嘴部和腹部充血、出血发红, 肠道排出白色半透明粘液便, 临死前出现明显的神经症状。病理组织学上, 肝脂肪变性或水泡变性及凝固性坏死, 肾上腺空泡变性, 肠呈卡他性肠炎, 肾小管上皮细胞、心肌纤维空泡变性; 鳃小片水肿, 上皮增生、变性、坏死和脱落。超微结构上, 心肌、肝和肾小管上皮细胞的线粒体肿胀, 嵴断裂、溶解, 肝细胞内糖原颗粒减少。中毒早期肠上皮微绒毛断裂, 脱落, 随着病程的发展肠上皮细胞变性、坏死、脱落。

关键词: 喹乙醇; 中毒; 病理学; 鲤鱼

中图分类号: S941.91

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2002)06-0565-05

喹乙醇(Olaquinox)为一种化学合成抗菌促生长剂^[1]。我国于80年代后期开始将其用于水产养殖, 由于喹乙醇促生长效果好, 价格便宜, 所以许多饲料厂和渔场大剂量使用, 其用量甚至高达1 000~2 000 mg/kg, 结果导致养殖鱼类的体质下降, 抗应激力降低, 造成严重的经济损失^[2,3]。目前, 对于喹乙醇中毒的病理学在猪、鸡等动物已有较多的研究^[4-8], 而鱼类则还未见报道。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验鱼与饲料: 健康鲤鱼210尾, 体重60±5g, 体长12±1 cm; 参照《NRC 鱼的营养需要》(1993)配制基础日粮。

1.1.2 主要试剂: 喹乙醇由江苏南通醋酸化工厂兽药分厂生产, 批号971205, 纯度98%。

1.2 方法

1.2.1 饲养管理: 采用水族箱饲养; 水源为经曝气和去氯处理后的自来水, 其pH值: 6.8~7.2, 水温25~28℃, 溶氧8~12 mg/l, 其他指标符合渔业水质标准(GB11607-89)。

1.2.2 急性毒性试验: 参照急性毒性试验方法^[9,10], 将试验鱼210尾, 随机分成7组(6个试验

组和1个对照组), 每组30尾(其中每组随机标记15尾, 作为试验过程中的定期剖杀鱼, 另15尾作为试验统计), 给药后每隔1d每组剖杀2尾进行病理学观察。根据预备试验确定的剂量范围以1 400 mg/kg体重(I组)、1 960 mg/kg体重(II组)、2 744 mg/kg体重(III组)、3 842 mg/kg体重(IV组)、5 378 mg/kg体重(V组)和7 350 mg/kg体重(VI组)的剂量经口服给药, 试验期7d, 试验结束后, 用寇氏法计算LD₅₀。

1.2.3 临床症状与眼观病变观察: 试验开始后, 每天仔细观察试验鱼的表现, 并对剖杀鱼和中毒死亡鱼进行系统的病理剖解。

1.2.4 病理组织学观察: 采取定期剖杀鱼和死亡鱼各系统的皮肤、肌肉、鳃、肝、心、肠、肾、脾、性腺、脑、肾上腺和性腺等组织器官, 波音氏液(Bouin's)固定, 石蜡包埋, 4~5 μm切片, H·E染色, 并对部分肝组织作冰冻切片, Sudan II染色, 光镜观察。

1.2.5 超微结构观察: (1)透射电镜观察: 分别采取各组给药后第1d、3d和5d剖杀鱼及第5d后死亡鱼的中肠、心、肝和肾, 经2.5%的戊二醛固定, 乙醇脱水, 环氧树脂包埋, 超薄切片, 醋酸铀及柠檬酸铅染色, 透射电镜观察。(2)扫描电镜观察: 分别采取各组给药后第1d、3d和5d剖杀鱼及第5d后死亡鱼的中肠, 经2.5%的戊二醛固定, 丙酮脱水, 经临界点干燥和镀膜后进行扫描电镜观察。

2 结果

2.1 临床症状

收稿日期: 2001-07-30

基金项目: 四川省学术带头人后备人选科技基金资助, 项目名称为鱼类喹乙醇中毒的病理学研究。

作者简介: 汪开毓(1955-), 男, 四川荣经县人, 教授, 硕士。研究方向为动物病理学。

表 鲤鱼急性中毒发病和死亡情况

Table The morbidity and the mortality of the acute olaquinox poisoning in carp

组织 Groups	剂量 Dose (mg/kg)	尾数 No.	发病数 Sick No. 死亡数 Dead No.	时 间 Time(d)							发病率 (%) Morbidity	死亡率 (%) Mortality	
				1	2	3	4	5	6	7			
对照组 Control	0	15	发病数 Sick No. 死亡数 Dead No.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I	1400	15	发病数 Sick No.	0	0	0	0	0	0	0	1	6.67	6.67
			死亡数 Dead No.	0	0	0	0	0	0	1			
II	1960	15	发病数 Sick No.	0	0	1	2	2	1	1	26.67	20.00	
			死亡数 Dead No.	0	0	0	1	2	0	0			
III	2744	15	发病数 Sick No.	0	0	2	4	5	2	3	60.00	46.67	
			死亡数 Dead No.	0	0	0	2	3	1	1			
IV	3842	15	发病数 Sick No.	0	1	2	6	5	1	2	73.33	60.00	
			死亡数 Dead No.	0	0	1	4	4	1	0			
V	5378	15	发病数 Sick No.	0	2	4	6	3	1	2	86.67	73.33	
			死亡数 Dead No.	0	0	2	5	3	1	0			
VI	7530	15	发病数 Sick No.	0	2	4	7	5	2	2	100.00	93.33	
			死亡数 Dead No.	0	0	2	5	5	1	1			

经 7 天试验期, 各试验组的发病率分别为 6.67%、26.67%、60%、73.33%、86.67% 和 100%; 死亡率分别为 6.67%、20%、46.67%、60%、73.33% 和 93.33%, 在此剂量区间内剂量越大发病率和死亡率越高(详见表)。用寇氏法计算喹乙醇对鲤鱼(60±5 g)口服给药的 LD₅₀为 3 249.4 mg/kg 体重。在给药后第 2 d, IV、V、VI 组鱼胸、腹鳍基部最早出现充血发红, 随之嘴角、腹部也出现充血发红, 病鱼精神萎靡, 呼吸困难, 游动无力, 排出絮状粘液便; 给药后第 3 d, 黏液便呈乳白色半透明胶冻样条索状(图 1), 其长短不一, 长的可达 4~5 cm, 短的仅 1 cm 左右, 直径 0.1~0.2 cm, 病鱼摄食停止, 单侧或双侧眼球下缘出现弧形的充血、出血带, 中毒鱼不耐刺激, 当进行捕捞时, 病鱼剧烈跳动, 鳍条基部, 嘴角、鳃盖、腹部的充血发红更加严重, 甚至出血。IV、V、VI 组给药后第 3 d 开始死亡, 第 4 d 5 d 达到死亡高峰。临死前, 表现出神经症状, 在水体内翻滚, 冲撞, 最后沉入水底死亡。II、III 组鱼在给药后第 3 d 开始发病, 第 5 d 达死亡高峰, 其症状与 IV、V、VI 组基本相似; I 组的症状较其他试验组轻。

2.2 病理变化

2.2.1 剖检变化: 在整个试验过程中, II、III、IV、V、VI 组试验鱼都出现了明显的眼观变化, 其中 V、VI 组最先出现病变, 且最严重。I 组除有 1 尾鱼肝、肾有轻度变化外, 其他未见明显的异常。

体表: IV、V、VI 组试验鱼在给药后第 2d, 可见

胸鳍和腹鳍基部充血发红, 肛门轻度红肿; 给药后第 3d 及以后, 病鱼鳍条基部的充血发红更明显, 同时, 嘴角、腹部也充血发红, 体侧鳞片下出血, 一些病例可见单侧和双侧眼球下沿有充血、出血带, 肛门红肿外突; II、III 组试验鱼在给药后第 3d 才开始出现上述变化。

鳃: 鳃丝充血, 肿胀, 黏液分泌亢进, 鳃丝上附有大量的黏液, 部分病例鳃丝有轻度出血。

心脏: 心包积有淡红色液体, 心腔积血。

脾脏: V、VI 组试验鱼在给药后第 1d, 轻度肿大, 充血; 给药后第 4d, 肿大 0.5~1 倍, 淤血, 出血, 呈紫黑色; II、III、IV 组试验鱼在给药后第 2 至第 3d 也逐渐发生相似的变化。

肝: 肿大, 色黄, 胆囊扩张, 胆汁充盈。

肠: V、VI 组试验鱼在给药后第 2d, 中、后肠扩张, 肠壁变薄, 肠腔内充满淡黄色液体; 给药后第 3d 4d 及死亡鱼的中、后肠扩张更明显, 其体积增大 0.5~1 倍左右, 肠壁菲薄, 透明; 中肠腔内充满大量无色或淡黄色的黏液; 后肠内充有半透明胶冻状的栓子; II、III、IV 组试验鱼在给药后第 2 至 3d 逐渐发生上述相似的病理变化。

肾: 肿大, 充血, 颜色变深。

脑: 肿胀, 脑膜毛细血管扩张充血。

2.2.2 病理组织学变化: 皮肤肌肉: 嘴部、鳃盖、鳍条基部、腹部和体侧皮肤的真皮毛细血管扩张充血、出血; 有的病例在鳞囊内可见大量红细胞聚集。

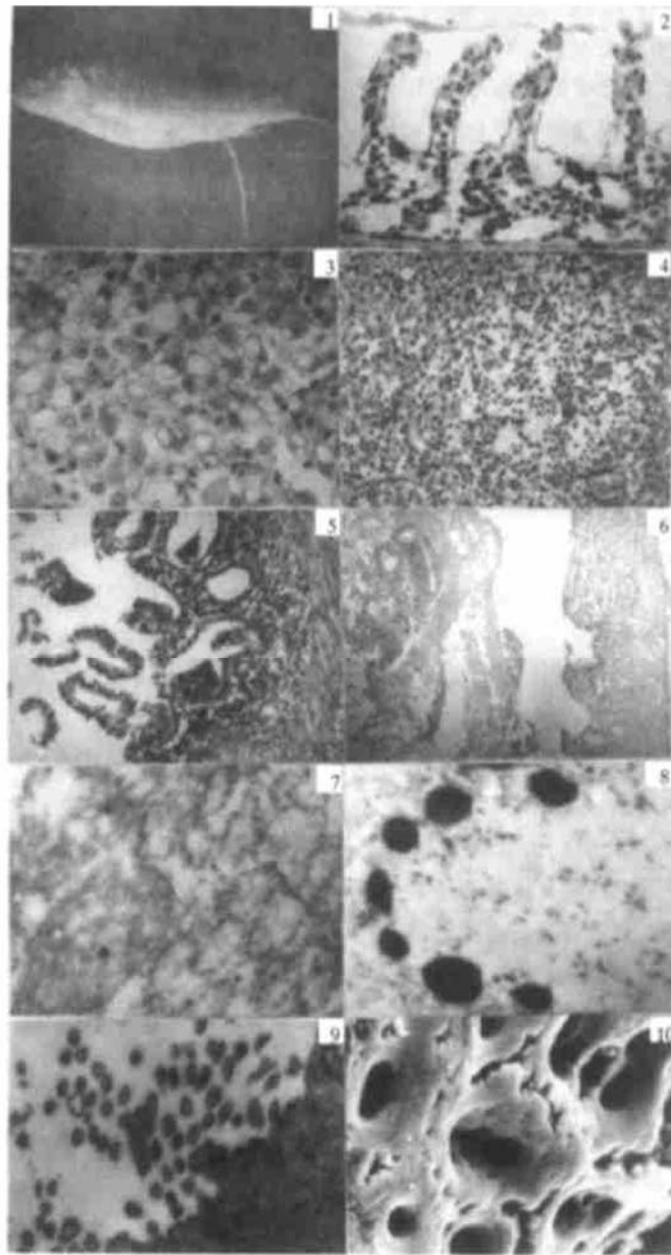


图1 中毒鱼排出乳白色、半透明黏液便 图2 鳃小片上皮肿胀和增生 $\times 200$ 图3 肝细胞脂肪变性或水泡变性 $\times 400$
 图4 肝局灶性坏死 $\times 100$ 图5 肠上皮变性、坏死、脱落、黏膜下层淋巴细胞浸润 $\times 100$ 图6 肠腔内大量黏液和脱落的上皮细胞形成栓子 $\times 100$ 图7 肝细胞粗面内质网扩张、脱颗粒,线粒体肿胀 $\times 20\ 000$ 图8 肝细胞核染色质裂解、边集 $\times 12\ 000$ 图9 给药后3d,肠上皮微绒毛脱落 $\times 15\ 000$ 图10 中毒死亡鱼肠上皮完全脱落,露出大量分泌孔 $\times 200$
 Fig. 1 The poisoned fish excreted opalescent translucent mucous faeces Fig. 2 The gill lamella epithelia showed as swelling and proliferation $\times 200$ Fig. 3 Fatty degeneration or vacuolar degeneration occurred in liver cells $\times 400$
 Fig. 4 The necrotic foci appeared in liver $\times 100$ Fig. 5 Epithelia of the intestines underwent degeneration, necrosis and desquamation, many lymphocytes infiltrated in the submucosa of intestines $\times 100$ Fig. 6 More mucous and desquamated epithelia formed the embolus in the intestinal lumen $\times 100$ Fig. 7 Dilatation and degranulation of rough endoplasmic reticulum and mitochondrial swelled in liver cells $\times 20\ 000$ Fig. 8 Splitting and margination of the chromatin in liver cell nucleus $\times 12\ 000$ Fig. 9 Microvillus of intestinal epithelia desquamated on the third day oral olaquinox $\times 15\ 000$ Fig. 10 Most of all epithelia of intestines desquamated completely and many secretory holes were revealed in the dead fish $\times 200$

眼球: 脉络膜毛细血管扩张充血、出血。

鳃: 给药后第 1d, 各试验组均见鳃小片水肿, 呼吸上皮与毛细血管分离, 毛细血管扩张充血, 上皮细胞轻度增生; 给药后第 2 至 3d, 鳃小片明显增粗, 上皮细胞增生更明显, 严重增生时, 增生的细胞几乎填满了鳃小片之间的间隙, 使相邻鳃小片发生融合, 并有较多的嗜酸性样细胞浸润(图 2); 给药后第 4、5d 增生的细胞变性、坏死、脱落, 部分病例可见出血, 鳃小片间隙内有较多的红细胞。

心脏: 心外膜增厚, 疏松水肿, 毛细血管扩张淤血; 心肌纤维空泡变性, 肌间隙增宽, 水肿, 出血。

肝脏: V、V组试验鱼在给药后第 1d, 肝细胞轻度颗粒变性, 给药后第 2、3d, 肝细胞发生脂肪变性(Sudan II染色阳性)或水泡变性(Sudan III染色阴性)(图 3); 给药后第 4d 剖杀鱼和死亡鱼肝细胞发生严重的水泡变性或脂肪变性, 并见局灶性的坏死(图 4)。II、III、IV组试验鱼在给药后第 2 至 3d 逐渐发生上述相似的病理变化。

胰腺: 胰腺水肿, 腺细胞离散, 血管扩张淤血。

肠: 给药后第 2、3d, 前、中、后肠内有大量黏液, 肠绒毛上皮细胞变性、脱落, 固有膜和黏膜下层水肿, 淋巴细胞和嗜酸性细胞浸润(图 5); 给药后第 4、5d, 上皮细胞变性, 脱落更严重, 并发生坏死, 大量分泌的黏液和脱落的上皮细胞混合在一起形成栓子充滞于肠腔内(图 6)。第 5d 起死亡的病例, 整个固有膜, 黏膜下层都发生坏死, 层次结构消失。

脾脏: V、V组试验鱼在给药后第 1d, 脾窦扩张淤血; 给药后第 2、3d, 淤血更明显, 并有局灶性出血, 淋巴细胞相对减少, 黑素巨嗜细胞中心增多, 体积增大, 巨嗜细胞内吞噬多量异物; 给药后第 4d, 剖杀鱼及死亡鱼的脾脏发生广泛性的充血、出血, 整个脾脏几乎完全被红细胞所填充, 并有大量含铁血黄素沉着, 淋巴细胞几乎完全消失。II、III、IV组试验鱼在给药后第 2、3d 逐渐发生上述相似的变化。

肾脏: 肾被膜增厚水肿, 毛细血管扩张淤血, 肾小管上皮细胞颗粒变性或水泡变性; 肾小球肿大, 毛细血管扩张淤血, 血管内皮细胞肿胀, 增生。

头肾: 血窦扩张淤血, 血管周围的肾上腺嗜铬细胞和肾间组织细胞肿胀、空泡变性, 细胞内出现大小不等的水泡。

脑: 脑膜水肿增厚, 毛细血管扩张、充血; 脑实质疏松水肿, 血管扩张充血, 周间隙增宽, 并有一定数量的淋巴细胞浸润。

精巢、卵巢: 未见明显的病理变化。

2.2.3 超微结构变化: (1) 透射电镜观察: 心肌细胞内糖原颗粒减少, 线粒体肿胀, 嵴模糊不清或发生溶解坏死; 肝细胞内糖原颗粒明显减少, 线粒体肿胀, 体积增大变圆, 嵴断裂, 溶解, 粗面内质网扩张, 核糖体颗粒脱落(图 7), 细胞核染色质裂解, 边集于内核膜下(图 8); 肾小管上皮细胞间隙增宽, 相互分离, 线粒体肿胀, 体积增大, 嵴模糊不清; 给药后第 1d, 肠上皮细胞的线粒体肿胀, 粗面内质网扩张, 微绒毛发生轻度脱落; 给药后第 3d, 微绒毛大量脱落、崩解(图 9), 多数上皮细胞与基膜分离, 脱落; 给药后第 5d 及死亡鱼, 肠上皮细胞几乎完全脱落、坏死。(2) 扫描电镜观察: 给药后第 1d, 肠上皮细胞微绒毛发生脱落、崩解; 给药后第 3d, 肠上皮细胞大量脱落, 黏膜面上有多量脱落的上皮细胞; 给药后第 5d 及死亡鱼的肠上皮细胞成片脱落, 露出许多分泌孔(图 10)。

3 讨论与小结

3.1 喹乙醇对鲤鱼(60±5g)口服给药的 LD₅₀ 为 3 249.4 mg/kg, 这个结果与草鱼经腹腔注射的 LD₅₀ 为 2 089 mg/kg^[11], 银鲫肌肉注射的 LD₅₀ 为 615.2 mg/kg^[12], 存在一定的差异, 这可能与鱼的种间差异和给药途径不同有关。

3.2 喹乙醇中毒在临床上主要表现为抗应激力显著降低, 一旦受到应激因子刺激后, 很快发生全身体表充血、出血, 呈现典型的“应激性出血症”。这与报道的养殖生产中出现的鱼类喹乙醇中毒的症状基本一致。

3.3 肠道的病变比较有特征性, 最初是绒毛顶部上皮细胞受损, 微绒毛崩解脱落, 进而上皮细胞变性、坏死、大量脱落, 固有膜充血、水肿和炎症细胞浸润, 大量的黏液性渗出物与坏死脱落的绒毛上皮混杂凝固在一起形成特征性的栓子, 即眼观见到的乳白色黏液便。这可能是由于高浓度的喹乙醇直接刺激鲤鱼肠道的黏液细胞, 引起大量粘液的分泌和上皮细胞大量损伤、脱落的结果。

3.4 肾上腺、肝和鳃的病理变化也比较突出, 肾上腺肾间组织和嗜铬细胞发生严重水泡变性和溶解消失。这与国内外有关喹乙醇对猪、鸡肾上腺的损伤报道一致^[4-8]; 由于肾上腺在机体抗应激方面有着重要的作用, 即当机体受到应激因子的刺激时, 糖皮质激素和髓质激素分泌量大大增加, 使体内物质代

谢加强, 能量提供大大增加以加强机体对应激的防御性反应, 增强机体的抗应激能力^[13, 14]。而喹乙醇造成鲤鱼肾上腺的损伤, 引起肾上腺机能不全, 体内糖皮质激素和髓质激素分泌减少, 使鱼体抗应激能力下降, 在受到应激因子刺激后, 难以适应, 很快发生死亡。由于喹乙醇的代谢主要在肝脏进行^[15], 喹乙醇造成肝脏的损伤, 肝细胞变性、坏死必然造成肝功能障碍, 使喹乙醇在鱼体内蓄积, 又加重了毒性反应, 加速中毒鱼死亡; 鳃小片上皮细胞增生、黏液变性、脱落和嗜酸性细胞浸润, 呈现类似“卡他性炎”的变化, 由于鳃的上述病变, 使鳃的呼吸功能障碍, 因而在临床上有呼吸困难的缺氧表现。

参考文献:

- [1] 张 乔, 等. 饲料添加剂大全[M]. 北京工业大学出版社, 1995, 198~ 199.
- [2] 郭 庆, 等. 喹乙醇在水产养殖中的应用[J]. 中国饲料, 1997, 5: 27~ 28.
- [3] 耿 毅, 汪开毓. 喹乙醇在水产养殖上应慎用[J]. 水利渔业, 1999, 19(6): 25~ 26.
- [4] Newsholme S J. Poor growth episodic paralysis and adrenocortical injury in swine after accidental olaquinox overdose[J]. Veterinary Record, 1986, 119: 544~ 555.
- [5] Stockhofe-zukwieden N. A pathomorphological study in fattening pigs after olaquinox intoxication[J]. Tierärztliche praxis, 1992, 19(1): 58~ 63.
- [6] Waldmann K H. Clinical and hematological changes following intoxication with olaquinox in pigs[J]. Journal of Veterinary Medicine Series A, 1989, 36(9): 676~ 686.
- [7] 史艳秋, 张金艳, 等. 雏鸡喹乙醇中毒的血清酶和病理学实验观察[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2000, 1: 21~ 22.
- [8] 孙永学, 等. 喹乙醇在鸡体内的毒物动力学及其生化毒性和病理学研究 II. 喹乙醇对鸡的生化毒性和病理学研究[J]. 畜牧兽医学报, 1998, 29(6): 525~ 530.
- [9] 朱蓓蕾. 动物毒物学[M]. 上海科技出版社, 1989, 35~ 42.
- [10] 董漓波. 喹乙醇对鸡的急性毒性实验[J]. 动物毒物学, 1989, 4(1): 330~ 331.
- [11] 叶金云, 等. 喹乙醇(HMQ)添加量对一龄草鱼生长和成活率的影响[J]. 浙江水产学院学报, 1992, 11(1): 25~ 28.
- [12] 农业部《渔药手册》编撰委员会. 渔药手册[M]. 中国科学技术出版社, 1998, 195~ 197.
- [13] Friedrich M. Impact of transportation and environmental change on the levels of glucocorticoids, electrolytes and osmolarity of the blood of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Acta Ichthyologica ET Piscatorial, 1996, 26(1): 55~ 60.
- [14] 顾宪红, 等. 家畜应激机理及其诊断[J]. 当代畜牧, 1994, 4: 2~ 5.
- [15] Food and Agriculture organization of the United Nations. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 41/3, 1991, 85~ 96.

Pathological Study on the Acute Olaquinox Poisoning in Carp

WANG Kai-yu, GENG Yi

(The Animal's Science & Technology College of Sichuan Agricultural University, Yaan 625014)

Abstract: The pathology of the acute olaquinox poisoning in carp was studied. The LD₅₀ of the olaquinox to carp was 3 249. 4mg/kg body weight by oral. The clinic symptom of the poisoned fish was characterized by “the stress hemorrhage syndrome”. The fish showed hyperemia and hemorrhage at the base of the fins, in the mouth and the abdomen. The poisoned fish excreted opalescent translucent mucous faeces. The nervous signs appeared before death. The pathological lesions showed as hyperemia and hemorrhage in the dermis, fatty or vacuolar degeneration and necrosis in the liver cells, catarrhal inflammation in the intestines, vacuolar degeneration in the renal tubular epithelial cells and the cardiac muscle cells, hyperplasia, degeneration, necrosis and desquamation in the gill lamella epithelium. Ultra structurally, the mitochondria of the cardiac muscle cells, the liver cells and the renal tubular epithelial cells swelled with disintegration and lyses of the cristae. The glycogen decreased in the liver cells. The intestinal epithelium microvillis collapsed and desquamated at the first stage of the test, and then many intestinal epitheliums necrosed and desquamated.

Key words: Carp; Olaquinox; Poisoning; Pathology