

圈养野生动物肝脏病理组织观察

周 军¹ 金福源²

1. 苏州市动物园, 江苏苏州 215000; 2. 江苏省苏州市吴江区动物卫生监督所, 江苏苏州 215200

摘要 肝脏是动物体内最重要的器官之一, 其主要以代谢功能为主, 另在去氧化、贮存糖原及分泌蛋白的合成中具有非常关键的作用。动物机体多数疾病的发生或因饲喂饲料、药物等因素造成的急性或慢性疾病的发生、发展均可在肝脏组织显示出一定的变化, 肝脏病理组织观察可在辅助疾病诊断、查找病因等方面提供多种重要证据和信息, 尤其是由肝病造成动物死亡的诊断。野生动物在圈养的过程中会遇到各种各样的问题, 且往往原因不明。肝脏病理组织观察可直接观察肝脏组织结构信息, 明确病变性质并确定损伤程度。不同种属野生动物肝脏组织具有一定的共性, 多数情况下也会具有显著不同, 这些共性和不同也是病理组织观察和部分疾病鉴别的要点。本文对笔者所在园保存的 85 例不同种属圈养野生动物的固定肝脏组织制作切片, 染色, 借助光学显微镜进行观察发现, 肝细胞变性、肝小叶排列紊乱和炎性细胞浸润为收集肝脏组织中最主要的病变类型。

关键词 圈养野生动物; 肝脏; 病理组织观察

病理组织观察是研究动物疾病的病因、发病机理和患病机体体内所呈现的代谢、机能和形态结构的变化, 进而来阐明疾病的发生、发展和转归, 为疾病的诊断和防治提供理论基础和诊断依据^[1]。病理组织观察即将病变组织制成切片, 染色后经光学显微镜进行组织和细胞病理变化的观察。肝脏是几乎所有脊椎动物消化系统中最大的消化腺, 是机体新陈代谢的重要器官。动物机体发生传染病、自身免疫性疾病或消化、代谢类疾病, 其肝脏组织一般会发生相应的变化^[2]。肝脏组织是由肝小叶和肝腺泡组成, 肝小叶以中央静脉为中心, 汇管区为边缘的六边形结构, 而肝腺泡中心为汇管区。病理学常把肝损伤分为 7 种经典类型, 即: 纤维化和肝占位、小叶性损伤、脂肪变性、炎性细胞浸润、细胆管反应、未见明显异常, 往往病变类型对应不同的病因。然而也有研究证明, 肝脏组织病变是牵连性的, 即多种类型的疾病或其他器官的疾病均可累及肝脏。本研究通过原收集、固定的肝脏组织, 通过组织病理学观察, 对不同种属的圈养野生动物的肝脏组织病理变化进行分类, 并对常见病变类型进行分析和总结, 进而摸索圈养野生动

物肝脏组织病理变化规律。

1 材料与方法

1.1 材 料

本研究选取 85 例本动物园保存的福尔马林溶液固定的肝脏组织, 其中包括 35 例草食动物、13 例杂食动物、18 例肉食类动物、19 例鸟类动物。

1.2 切片制作和染色

取出固定肝组织, 用清水冲洗 4 h, 经 50% 酒精脱水 12 h 后依次经 70%、85%、90%、100% 酒精脱水, 然后将肝脏组织块放入 3:1 酒精+二甲苯混合液、2:1 酒精+二甲苯混合液、1:1 酒精+二甲苯混合液 30 min, 再放入二甲苯, 2 次各 30 min。将恒温箱调至 57 ℃ 并保持恒定, 将肝组织依次浸入二甲苯+石蜡混合溶液(3:1)、二甲苯+石蜡混合溶液(2:1)、二甲苯+石蜡混合溶液(1:1)、石蜡溶液各 1 h。最后进行包埋、切片, 切片厚度约为 5 mm, 石蜡切片经脱蜡复水后进入染色步骤^[3]。

染色采用经典的苏木精-伊红染色法 (H.E. 染色), 基本步骤如下: 切片放入苏木精中染色约 8 min, 用自来水流水冲洗 3~5 min 后, 将切片放入 1% 盐酸乙醇液中褪色 15 s。伊红染液染色 15 min 后用 85%

酒精清洗,再次经历脱水步骤后,用中性树胶封存。

1.3 数据整理和分析

用光学显微镜对制作好的肝脏组织切片进行观察,将观察结果录入 Excel 2016,统计相应的病变类型及比例,进行相应的描述性分析。

2 结果与分析

85 例圈养野生动物肝组织石蜡切片中共出现 9 种病变类型,分别为肝细胞变性、肝小叶排列紊乱、中央静脉淤血、炎性细胞浸润、肝窦水肿、肝窦充血、出血、纤维组织增生、血黄素沉着,其中肝细胞变性(83.53%,71/85)、肝小叶排列紊乱(70.59%,60/85)、炎性细胞浸润(65.88%,56/85)为主要病变类型。杂食、肉食和鸟类动物中肝细胞变性、肝小叶排列紊乱,炎性细胞浸润均排在各类型动物肝组织病变中的前 3 位。食草动物中央静脉淤血达 25 例,检出率为 71.43%(25/35),位于肝小叶排列紊乱(30,85.71%)和肝细胞变性(28,80.00%)。在食草动物中,还发现肝窦水肿(5 例)、充血(10 例)、出血(6 例)、纤维组织增生(4 例)和血黄素沉着(3 例)。此外,杂食动物组织切片还观察到肝窦充血 6 例,无其他病变类型。肉食动物无肝窦水肿和含铁血黄素沉着类型,鸟类动物无肝窦水肿、出血,纤维组织增生和含铁血黄素沉着等类型(表 1)。

4 种类型圈养野生动物肝组织切片病变类型多种,且随着病变数量增多,其切片数量下降。1 种病

变类型检出率为 95.29%,食草圈养野生动物检出率最高为 100%,其次为鸟类动物。2 种病变类型检出率为 64.71%,其中杂食类动物检出率最高(84.62%),鸟类检出率最低(36.84%)。3 种病变类型检出率为 31.76%,杂食类检出率最高,其次是食草动物。4 种及以上仅食草类动物和杂食动物的肝组织切片存在,其余 2 类型动物不存在 4 种及以上病变类型(表 2)。

3 讨论

H.E.染色镜检是目前最为常用的组织病理切片制作方法,本次研究通过该方法发现圈养野生动物病变中以肝细胞变性、肝小叶排列紊乱和炎性细胞浸润为主,且部分组织切片具有 2 种及 2 种以上病变类型,但其数量较 1 种病变类型较低。除该 3 种较多的病变类型中,还伴随诸如中央静脉淤血、肝窦充血、出血等病变类型。食草和肉食动物肝组织病变类型最多,而杂食动物和鸟类动物病变类型相对较少。此外,食草动物肝组织中央静脉淤血比例显著高于其他 3 种类型动物。肉食动物的肝窦充血、出血的比例显著高于其他类型动物。3 种主要病变类型,包括肝细胞变性、肝小叶排列紊乱和炎性细胞浸润检出比例相差不大。

病理组织镜检要求镜检人员具有丰富的病理基础知识和实践经验^[4],不同的兽医观察人员针对同样的病理组织切片可能会得出不同的观察结果,

表 1 圈养野生动物肝组织病变类型

例

| 种类 | 肝细胞变性 | 肝小叶排列紊乱 | 中央静脉淤血 | 炎性细胞浸润 | 肝窦水肿 | 肝窦充血 | 肝窦出血 | 纤维组织增生 | 含铁血黄素沉着 |
|------|-------|---------|--------|--------|------|------|------|--------|---------|
| 食草动物 | 28 | 30 | 25 | 20 | 5 | 10 | 6 | 4 | 3 |
| 杂食动物 | 11 | 10 | 0 | 10 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| 肉食动物 | 15 | 13 | 2 | 12 | 0 | 12 | 7 | 5 | 0 |
| 鸟类动物 | 17 | 7 | 3 | 14 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 总计 | 71 | 60 | 30 | 56 | 5 | 30 | 13 | 9 | 3 |

表 2 圈养野生动物肝组织病变数量

| 种类 | 1 种病变/例 | 检出率/% | 2 种病变/例 | 检出率/% | 3 种病变/例 | 检出率/% | 4 种及以上/例 | 检出率/% |
|------|---------|--------|---------|-------|---------|-------|----------|-------|
| 食草动物 | 35 | 100.00 | 28 | 80.00 | 15 | 42.86 | 5 | 14.29 |
| 杂食动物 | 12 | 92.21 | 11 | 84.62 | 7 | 53.85 | 3 | 23.08 |
| 肉食动物 | 16 | 88.89 | 9 | 50.00 | 3 | 16.67 | 0 | 0.00 |
| 鸟类动物 | 18 | 94.74 | 7 | 36.84 | 2 | 10.53 | 0 | 0.00 |
| 合计 | 81 | 95.29 | 55 | 64.71 | 27 | 31.76 | 8 | 9.41 |

尤其是病变类型较多的切片。本次研究为避免此现象的出现,初步采用 1 名观察人员进行判定,但在后期的研究中可采用 1 名或多名兽医进行观察,并采用一致性分析对结果做出研判。随着饲养条件的改善,传染性疾病在圈养野生动物中发生的比例逐步下降,但应激性、免疫性等非传染性疾病和养殖过程中不明原因的致病因素呈上升趋势,再对症状观察得不到确切诊断结论时,组织病理观察可为诊断疾病提供重要的辅助,尤其对于因肝脏病变如脂肪肝、中毒性肝炎等可提供非常重要的依据。

此外,影响切片的制作也会影响观察效果,石蜡切片制作时间较长,制作工艺也相对复杂,其中几个步骤较为关键,如脱水、切片、透明、染色等^[5]。因此,在制作石蜡切片的过程中需要标准化程序,且选择制作经验较为丰富的人员进行质量控制。此外,石蜡切片相对制作较为简单的冰冻切片可长期保存,具有复检复核的优势。

4 结 论

本研究通过对本园保存的 85 例肝脏组织进行石蜡切片制作和观察发现,肝细胞变性、肝小叶排

列紊乱和炎性细胞浸润为收集肝脏组织中最主要的病变类型。肝细胞变性常见于缺氧、缺血、中毒、感染等系列疾病,肝小叶排列紊乱可见于肝硬化的早期,而炎性细胞浸润可出现在多种情况下,以肝炎为主。在兽医临床实践中,尤其是动物园中圈养野生动物疾病的实践中,除观察相应的症状外,可结合相应的病理组织切片观察,总结多种疾病造成肝组织切片病变类型,从而对疾病做出准确诊断并进行疾病防治,尤其是对较为珍贵的野生动物具有较大的经济和实践价值。

参 考 文 献

- [1] 徐晓辉,袁江玲,徐磊,等.常用急性肝损伤 5 种动物模型的病理组织学特点比较[J].疾病预防控制通报,2018,33(1):12-15,95.
- [2] 刘秋瑾,原冬伟,王晓雅,等.肝脏纤维化复合模型的改良及病理组织学评价[J].黑龙江畜牧兽医,2018(1):157-159,256.
- [3] 杨捷频.常规石蜡切片方法的改良[J].生物学杂志,2006(1):45-46.
- [4] 王晓鸿,曹婉维.制作优质 HE 病理组织切片的要素[J].中国实用医药,2011(6):135-136.
- [5] 施恩青.改良与常规石蜡切片方法在切片质量方面的比较[J].齐齐哈尔医学院学报,2014,35(16):2442-2443.

【责任编辑:胡 敏】

羊群疫苗接种方法

1) 肌肉注射法:适用于接种弱毒苗或灭活疫苗,注射部位在臀部或两侧颈部,一般使用 16~20 号针头。

2) 皮下注射法:适用于接种弱毒苗或灭活疫苗,注射部位在股内侧或肘后。用大拇指和食指捏住皮肤,注射时确保针头插入皮下,为此进针后摆动针头,如感针头摆动自如,推压注射器的推管,药物极易进入皮下,无阻力感,则表示位置正确。如插入皮内,摆动针头带动皮肤,且推动药液时可感到有阻力。

3) 皮内注射法:注射部位尾根皮肤,用卡介苗注射器和 16~24 号针头。尾根皮内注射,应将尾翻转,以左手拇指和食指将尾根皮肤绷紧,针头以与皮肤平行方向慢慢刺入,并缓缓推入药液,如注射处有一豌豆大小的小泡,即表示注射成功。目前此法一般适用于羊痘弱毒疫苗等少数疫苗。

来源:中国农业网