

禽网状内皮组织增殖病的实验室诊断

屈 哲, 徐滨蕊*, 王 勇, 睢艳平
(中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘 要: 经剖检观察到病鸡脏器上的肿瘤结节, 病理组织学检查到心、肝、脾、肺、肾、肠等组织中有大量网状细胞增生。免疫组织化学检测到病变组织中有REV抗原。因此, 将组织学病理变化和检测禽网状内皮组织增殖病病毒相结合可以作为实验室快速、准确诊断禽网状内皮组织增殖病的方法。

关键词: 网状内皮组织增殖病病毒; 病理组织学; 免疫组织化学

Diagnosis on Reticuloendotheliosis

Qu Zhe, Xu Binrui*, Wang Yong, Sui Yanping
(College of Animal Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: In the experiment, many nodes were observed on diseased chicken viscera by autopsy. There were many reticulocytes in heart, liver, spleen, lung, kidney, intestine with histopathology exam. Reticuloendotheliosis virus (REV) antigene was detected by immunohistochemistry. Pathological change of organization combined with REV examined by immunohistochemistry can be a measure to diagnose RE speedily and exactly in lab.

Key words: reticuloendotheliosis virus; pathologic histology; immunohistochemistry

网状内皮组织增殖病是由禽反转录病毒属的网状内皮组织增殖病病毒(Reticuloendotheliosis Virus, REV)群所引起火鸡、鸡、鸭及其他禽类的一群病理综合症。包括急性致死性网状组织细胞瘤、矮小综合征以及淋巴组织和其他组织的慢性肿瘤^[1]。该病是除马立克氏病和淋巴细胞白血病以外病因清楚的禽类病毒性肿瘤病^[2]。

自Twiehaus和Robinson在美国分离到REV-T株后, 先后分离到REV有30多株。我国于1986年南京地区首次从鸡分离到REV, 经鉴定属于非缺陷型REV, 并定名为REV-G45株^[6]。已知REV有两型: 非缺陷型包括: REV-A, 脾坏死病毒(SNV)、鸡合胞体病毒(CSV)、鸭传染性贫血病毒(DIAV)及

其它许多分离株。它们引起禽群的慢性瘤性增生性疾病和矮小综合征。另一型为复制缺失型, 只有一急性转化性分离株REV-T, 它携带v-rel致癌基因, 增殖需要非缺陷型株的协助, 引起接种鸡的急性网状细胞瘤性增生。

REV有垂直传播和水平传播。带毒母鸡使子代鸡感染REV, 可造成环境感染和血清学转变。水平传播是其发病的主要途径^[3], 有机械性传播, 昆虫传播^[4], 接种REV污染疫苗等, 可引起感染鸡免疫抑制、生长缓慢、出羽异常、废弃淘汰率升高等等, 给养禽业带来经济损失^[5], 应引起高度重视。

1 材料与方

1.1 发病情况

2005年10月北京郊区送检某鸡场的5只11日龄三黄鸡, 5日龄发病, 发病率20%, 死亡数50多只。以前养鸡未出现此情况, 现投过抗生素但未

收稿日期: 2006-05-10

修回日期: 2006-09-28

* 通讯作者

起作用。临床症状表现病鸡矮小消瘦但食欲正常,神经性的摇头,有些出现失明症状。

1.2 病理组织学方法

剖检后将病鸡心、肝、脾、肺、肾、肠等组织样品(厚度约为5 mm)置于5%福尔马林中固定,经乙醇脱水后,二甲苯透明10~15 min,浸蜡60 min,将组织在包埋机下包埋成石蜡块,用切片机切片厚度为4 μ m,展片,二甲苯脱蜡乙醇脱水,苏木素染色10 min,盐酸乙醇分色,伊红染核,再入无水乙醇二甲苯,最后封片。镜检观察。

1.3 免疫组织化学方法

实验采用免疫组织化学间接法常规步骤,将上述病鸡心、肝、脾、肺、肾、肠等组织的石蜡切片过二甲苯脱蜡,乙醇脱水,至蒸馏水,3%双氧水10 min, PBS每3 min冲洗1次共3次,用正常兔血清封闭20 min,加REV抗血清(一抗)37 $^{\circ}$ C孵育1 h, PBS每3 min冲洗1次共3次,HRP标记兔抗鸡(二抗)37 $^{\circ}$ C孵育1 h, PBS每3 min冲洗1次共3次。DAB显色液显色2~8 min,肉眼观察至组织微呈棕黄色。用蒸馏水冲洗,用苏木精染色,然后用盐酸乙醇溶液分色至将细胞核着色。乙醇脱水,二甲苯脱蜡,树胶封化。光镜镜检。

2 结果

2.1 剖检变化

剖检可见心脏上有大块灰白色的肿瘤结节(见图1)。肠道上广泛地分布有灰白色的肿瘤结节(见图2)。肺脏上也分布有肿瘤结节。肝脏肿

大,颜色呈淡褐色为弥漫性的肿瘤细胞增生病灶。脾脏肿大,并伴有局灶性灰白色肿瘤结节。末梢神经水肿;有的肿瘤内会出现坏死灶。

2.2 病理组织学病变

镜检发现肝、脾、腺胃、心肌、小肠等器官都有大量的大空泡状细胞(即网状内皮细胞)增生,细胞常呈多角型,与周围细胞、组织相连,细胞常处于相同发育阶段,核淡染,圆形或椭圆形。肝脏有网状内皮细胞增生灶(见图3),汇管区血管、胆管周围有肿瘤细胞增殖。因瘤组织压迫,引起周围组织坏死。脾脏有肿瘤细胞增生灶,几乎看不到淋巴滤泡,血管周围网状内皮细胞增生;红髓内淋巴细胞减少,有的充血、出血。甚至腺胃黏膜全部由网状内皮细胞组成已看不到正常的组织细胞(见图4)。心肌细胞间隔增宽,间隔内含有大量的网状内皮细胞(见图5)。肠道结节内瘤组织呈网状结构,为大量网状细胞构成,肠固有层内也有大量网状内皮细胞增生。肺脏有坏死灶,有的地方变性坏死严重甚至看不出正常的组织细胞,还有大面积的出血。此外,肾小管上皮细胞颗粒变性、核固缩,形成管型,有出血。

2.3 免疫组织化学检测

将病鸡心、肝、脾、肺、肾、肠等组织切片经免疫组织化学染色后观察,阳性细胞的胞浆染成棕黄色,细胞核仍为蓝染(见图6),REV抗原存在于肾小管上皮细胞、心肌间的网状细胞还广泛存在于肝、脾、腺胃、小肠等组织中各型细胞的胞浆中。

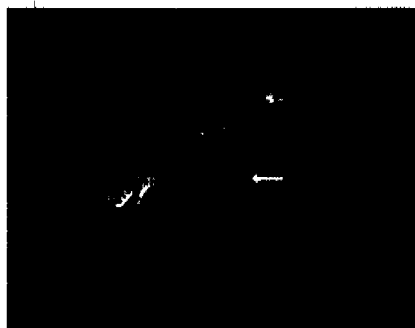


图1 肺脏上有大块白色结节



图2 肠道上广泛分布的白色结节

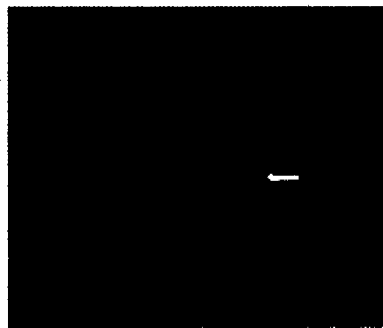


图3 肝脏的网状内皮细胞增生灶 HE 40 \times

3 讨论

禽网状内皮组织增殖病(RE)的典型病变是实质细胞坏死和相同类型呈树突状的网状细胞增生。本病的靶器官主要是肝脏,其次是心、脾、

腺胃、腔上囊、胰腺和性腺等。胸腺、腔上囊、脾脏等淋巴器官非炎性退行性病变、网状细胞增生,是具有证病意义特征病变,可作为病理诊断的重要指标。本病例从病鸡剖检变化中观察到的心、

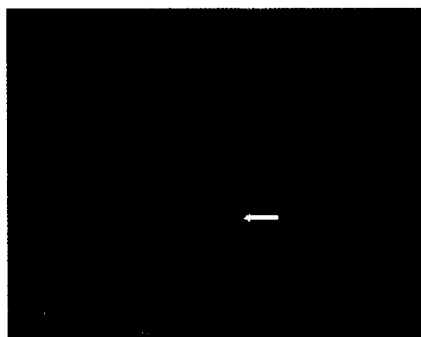


图 4 腺胃大量网状细胞增生
HE 40×

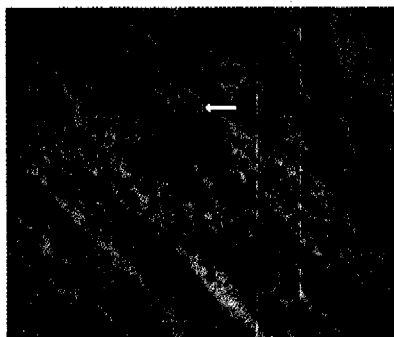


图 5 心肌间大量网状细胞增生
HE 40×

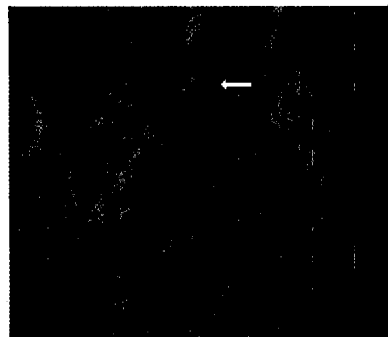


图 6 肾小管上皮细胞呈阳性反应
免疫组化法 40×

肺、肠等器官上的白色结节,病理组织切片观察肝、脾、腺胃、心肌、小肠等器官的组织中有大量的网状内皮细胞增生,肝脾、腺胃等组织形成网状细胞增生灶。肺脏有坏死灶,有的部位坏死严重破坏了正常的组织形态。基于以上初步确诊此病例为网状内皮组织增殖病。

若要进一步确诊,还需检测 REV 或其抗体。本实验应用免疫组织化学的方法,待检的组织中检测到了 REV 呈阳性反应,进一步确诊了 REV 的存在及分布。本实验将光镜下的病理组织学变化与免疫组织化学技术相结合用于诊断本病,是实验室中快速、简便、准确地诊断本病的方法。

此外,应用 PCR 技术扩增 REV 的 LTR 基因得到 REV 分离株^[7]。此方法在与马立克氏病和淋巴细胞白血病的鉴别诊断中广泛应用。琼脂免疫扩散试验(AGP)和间接免疫荧光扩散法(IFA)以及中和试验、ELISA 等可对鸡群进行抗 REV 抗体的检测^[8]。

通常,RE 自然发病少,主要感染 1 日龄雏鸡,成年鸡在感染 REV 后只产生短暂的一过性病毒血症。REV 可在年轻鸡群中引起免疫抑制和生长滞缓(特别是与其它病毒共感染时),也可引起肿瘤,很多专家已认为近几年我国鸡群中显著增加的肿瘤发病率均与 REV 感染相关。REV 污染某些疫苗(如马立克氏疫苗、禽痘疫苗、新城疫苗)时,即可引起人工传播,并诱发矮小综合征和慢性淋巴瘤,成为 RE 发病的主要原因,并且造成巨

大的经济损失,已经引起广泛的注意。

参考文献:

- 1 Witter R. I. Reticuloendotheliosis [M]. Iowa State university Press, 1991.
- 2 Irit Davidson I, Borovskays A, Perl S, et al. Use of the Polymerase chain reaction for the diagnosis of natural infection of chick-ens and tarkeys with Marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus[J]. Avian Pathology, 1995, 24: 69-94.
- 3 Davidson I A, Borovskaya Perl S, et al. Use of the poiymerase chain reaction for the diagnosis of natural infection of chickens and turkeys with Marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus[J]. Avian Pathol, 1995, 24: 69-94.
- 4 Witter R. L. Insertion activation of c-myc by REV in chicken B lymphomoa: nonrandom distribution and orientation of the proviruses[J]. Virlo, 1985, 54: 869-872.
- 5 郁晓岚, 徐福南, 蔡宝祥等. 禽网状内皮组织增殖病的组织病理学和超微结构的动态变化 [J]. 南京农业大学学报, 1989, 12 (2): 91-95.
- 6 何宏虎, 陈涛言, 蔡宝祥. 禽网状内皮组织增殖病病毒的分离鉴定[J]. 中国畜禽传染病, 1988, (2): 1-3.
- 7 赵文明, 丁家波, 崔治中. 网状内皮组织增殖病病毒(REV)不同分离株 LTR 基因的序列分析[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2001, 1(19): 13-19.
- 8 荣骏弓, 尹训南. 琼脂免疫扩散试验和间接免疫荧光染色法在禽网状内皮组织增殖病流行病学调查中的应用[J]. 中国预防兽医学报, 1999, 3(21): 217-219.