

犬心丝虫病的实验室检查方法

甄森萍¹ 马黎明²

1.青海省西宁市动物检疫站,青海西宁 810003;2.青海畜牧兽医职业技术学院,青海湟源 812100

摘要 犬心丝虫病是由犬心丝虫寄生于犬的右心室及肺动脉(少见于胸腔、支气管内)引起循环障碍、呼吸困难、贫血等症状的一种丝虫病。本文总结了直接检查、薄血涂片检查、厚血涂片检查、淡黄层检查法、改良的诺茨技术、过滤技术、酶联免疫吸附法等检查犬心丝虫病的方法。

关键词 犬;心丝虫病;实验室检查;血液

犬心丝虫(*Diro filaria immitis*)病,是由犬心丝虫寄生于犬的右心室及肺动脉(少见于胸腔、支气管内)引起循环障碍、呼吸困难及贫血等症状的一种丝虫病。心丝虫是动物心血管系统中最常见的寄生虫,除感染犬外,猫及其他野生肉食动物也可被感染。

1 血液样品的采集

从动物身体采集血样需要已消毒的器械和酒精。血液可用注射针管和针头或真空采血管来采集。所有样品应标记畜主的名字、动物的名字和采集日期。血流中微丝蚴在 1 d 中的特定时间内数量较多。为提高微丝蚴的采集数量,应该下午采集,因为犬心丝虫的微丝蚴在这一时段的循环中数量最多。

2 血液的检查

应记录血液的大体检查结果。例如,血样稀薄

反应动物贫血。血液的临床病理学检查也有助于寄生虫的诊断。犬心丝虫的微丝蚴可在进行白细胞分类计数时观察到。嗜酸性粒细胞的数量也表明可能有寄生虫病。

1)使用材料。血液采集用品、载玻片和盖玻片。

2)检查方法。采血后立即将 1 滴血滴到载玻片上,盖上盖玻片;在 10 倍物镜下检查,观察红细胞间适合虫体运动的区域,易于发现寄生虫的存在。

3 直接检查

直接检查血液中的微丝蚴是最简单的方法。此方法主要检测微丝蚴和其它寄生虫在红细胞间的运动。与直接检测粪便相似,血样的直接检测只需要很少的样品。然而除非寄生虫呈现很大的数量,否则很可能会出现漏检。

微丝蚴主要的关注点在与犬心丝虫和隐匿双瓣

收稿日期:2015-05-22

甄森萍,女,1973 年生,中级兽医师。

据病犬的脱水情况控制输液量,随时注意病犬状况,防止治疗失败。多用生理盐水和 5%葡萄糖配合输液。输液时要注意先快后慢,先盐后糖的顺序,进行静脉滴注。若病犬太小或脱水严重时可进行腹腔输液。

因病犬在治疗时要禁水禁食,所以适当配以能量药剂进行辅助治疗,例如肌苷、ATP(三磷酸腺苷)、维生素 C、B 族维生素、辅酶 A 等。

在病犬出现严重呕吐、腹泻症状时,应注意犬体内电解质平衡,适当补充钾质。

在输液的同时,配合使用犬细小病毒单克隆抗体、犬细小病毒高免血清、犬用干扰素、免疫球蛋白等都可以对治疗起到良好的效果。

该病一般治疗周期为 4~7 d,严重者可延后至康复为止。

4 预防

定期进行疫苗防疫是有效预防犬细小病毒的主要措施。

线虫(*Dipetalonema reconditum*),后者为犬的皮下寄生虫。二者的区分十分重要,因为心丝虫的治疗很昂贵,还有些应激,并且经常会用到较强的毒性物质。在直接血涂片上,心丝虫的微丝蚴有盘绕的和非盘绕的,而隐匿双瓣线虫的微丝蚴可以流畅地在玻片上滑动。在一个样品中心丝虫的微丝蚴的数目比隐匿双瓣线虫的微丝蚴多许多。血液的直接检查只是用于确定微丝蚴的存在,并非种类。因此,可选用一种可使微丝蚴“放松”并染色的浓缩方法来鉴定虫种。

锥虫是另外一种血液寄生虫。在稀释血细胞的涂片中可见锥虫游走在细胞间(单细胞厚),但在染色涂片中更容易鉴定。在大动物体内也可发现微丝蚴。腹腔丝虫是在牛和马腹腔浆膜中发现的白色的、较长的线虫。在进行腹腔手术时经常看到成虫,并且在白细胞分类计数时可见其微丝蚴。

4 薄血涂片检查

薄血涂片的制作和染色方法与用于白细胞分类计数的血涂片的方法是相同的。在做白细胞分类计数时,兽医技术员应当记录观察到的任何寄生虫。偶尔可见微丝蚴。由于它们较小,微丝蚴经常出现在血膜的羽毛形边缘。由于在薄血涂片上区分微丝蚴是不可能的,所以要进行鉴定还需用其他方法。在细胞间或细胞内也可发现锥虫、原虫和立克次氏体。像直接涂片法一样,此法只用少量血液样品,轻度寄生虫感染可能会被忽略掉。

5 厚血涂片检查

厚血涂片检查比薄血涂片用的血液稍多。同样可见微丝蚴,但用这种方法不能对它进行鉴定。

1)使用材料。载玻片、蒸馏水、甲醇、姬姆萨染液、用蒸馏水 1:20 稀释、木质棉签。

2)检查方法。在盖玻片上滴 3 滴血,用棉签将它涂成直径为 2 cm 的圆,载玻片自然干燥,将载玻片倾斜放置于盛有蒸馏水的烧杯中,涂面朝下,使载玻片浸入水中直到涂层的红色退去。取出载玻片,自然干燥。将载玻片浸入甲醇 10 min,用姬姆萨染液染色 30 min。漂洗除去多余染料。

6 淡黄层检查法

淡黄层检查法是针对少量血液的浓缩方法。当血液注入微量血细胞比容管并离心来确定血细胞

压积时,血液分为 3 层:血浆、白细胞层(淡黄层)和红细胞层。微丝蚴在淡黄层的表面。此方法快捷并且可以和血细胞压积和总蛋白测定等实验同时做。但是不能进行微丝蚴的鉴定。浓缩方法可将犬心丝虫和隐匿双瓣线虫区分开。

1)使用材料。微量血细胞比容管和密封器、显微血细胞压积测定离心机、小锉刀或玻璃刀、载玻片和盖玻片、盐水、甲基蓝染液(用蒸馏水做 1:1 000 稀释)。

2)检查方法。向微量血细胞比容管内注入血液并封口,离心 3 min。

如果需要可先读取血细胞压积。然后可找到在红细胞和血浆之间的淡黄层;用锉刀在淡黄层部位的管壁上划线。小心掰开管子并保留含有血浆和淡棕黄层的部分。在一个载玻片上轻敲管子,使淡黄层伴着少量血浆弹出。如果需要,可保留其余的血浆用于总蛋白测定;向淡黄层加入 1 滴盐水和 1 滴染液,盖上盖玻片并检查微丝蚴。

7 改良的诺茨技术

改良的诺茨技术是能使不同微丝蚴区分开的简单方法。这项技术通过使红细胞裂解,使微丝蚴更加明显,再进行微丝蚴浓缩、松弛并染色。

1)使用材料。15 mL 离心管、离心机、2%福尔马林(用 98 mL 蒸馏水稀释 2 mL 40%福尔马林)、甲基蓝(用蒸馏水 1:1 000 稀释)、巴斯德吸管和吸球。

2)检查方法。将 1 mL 血液与 9 mL 2%福尔马林在离心管中混合;离心 5 min,1 300~1 500 r/min;倾去上清液,使沉淀留在管底;向沉淀加 2~3 滴染液,用吸管将染液与沉淀混合。在玻片上滴 1 滴混合液,盖上盖玻片,然后镜检。兽医技术员应该检查尽可能多的微丝蚴,因为可能会出现混合感染。最精确的鉴定方法是测量虫体的长和宽。然而在一些实际情况中,如果无法测量微丝蚴,则可根据微丝蚴的一般特征来鉴别(表 1)。

表 1 改良的诺茨技术鉴别微丝蚴

	犬心丝虫	隐匿双瓣线虫
体长/mm	310	290
体中部宽度/mm	6	6
头	逐渐变小	钝圆的
尾	直的	钩状的

8 过滤技术

过滤技术是在兽医检测血液中微丝蚴的一个常用方法。一个很好的诊断试剂盒,Di-Fil 检测试剂盒便采用了这种方法。此试剂盒包括滤器、裂解液、染色剂和使用说明。多数试剂盒需加 1 mL 全血来检测心丝虫。1 份血液混入 9 份的裂解液并且通过滤膜过滤。清洗滤膜,将其放在载玻片上,加 1 滴染色液,盖上盖玻片。在显微镜下检查微丝蚴。采用过滤技术区分不同的微丝蚴是有可能的,但很困难。如果存在微丝蚴,在鉴定微丝蚴时建议采用其他诊断方法。

9 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒不直接检测微丝蚴,而是检测宿主对寄生虫的反应。这种试验可用于区分犬心丝虫和隐匿双瓣线虫;也可用于心丝虫的隐性感染,即在外周血中未发现微丝蚴的时候。发生隐性感染可能有以下几种情况,只出现在 1 只成虫;只出现 1 种性别的成虫(所有的都是雄性蠕虫或雌性蠕虫);成虫不能繁殖;当蠕虫进行繁殖的时候,动物的免疫系统清除了微丝蚴;或者是动物用药后杀死了循环系统的微丝蚴或致使成虫没有繁殖能力。在以上所有的情况下,在外周血中都没发现微丝蚴。一些 ELISA 试剂盒可用于检测宿主对

犬心丝虫的抗体反应,而另一些则用于检测宿主对微丝蚴的抗体反应。许多用于犬、猫的犬心丝虫成虫抗原的商品化 ELISA 检测试剂盒已经在兽医临床实践中得到常规应用。兽医技术人员首先应认真阅读操作说明。像许多方法一样,ELISA 免疫诊断检测应当严格按照说明来操作并且要在清洁的环境中使用和保存以防污染。这些 ELISA 检测已商品化且非常快速。大多数检测试验是靠试剂盒颜色的变化来判断一个动物是否感染犬心丝虫成虫。兽医实验员在使用这些试剂盒时应当谨慎,因为在感染或未感染的犬猫,都有出现假阴性或假阳性的可能。另外,这些检测不应单独用于诊断。偶尔,ELISA 结果为阴性,而血液中检出微丝蚴,这种结果常会令人怀疑检测方法的可靠性。在心丝虫诊断中抗原检测是很有用的。但是,兽医技术人员应当认识到这个方法作为独立检测实验的局限性。

10 其他检查方法

若微丝蚴是活的,可用另一种与诺茨法过滤技术原理相同的诊断检测试剂盒来检测心丝虫。这种检测依赖微丝蚴的运动,该方法有时不可靠。其他检测方法是利用特殊染色来显示微丝蚴的特征,但 these 方法很繁琐,不适合私人诊所使用,而通常用于诊断实验室。

养鸡省料的科学方法

科学配制饲料。一般 0~4 周龄仔鸡的饲料,每千克应含粗蛋白质 20%~21%;5 周龄以上的肉鸡饲料中,每千克应含粗蛋白质 18%~19%,钙占 1%,磷 0.65%,而且要特别注意日粮中各种氨基酸的平衡,以满足鸡生长发育的需要。

合理饲喂。肉鸡最好饲喂颗粒饲料,如果饲喂干粉料,宜少吃多添。要有足够数量的料槽和饮水器。一般 2 周龄以上的鸡,每 30~40 只应有 1 个 1 m 长的料槽,每 70~80 只应有 1 个 1 m 长的饮水器,这样可以减少饲料消耗。

减少饲料浪费。饲喂肉鸡要做到少给勤添,尽量做到槽内不剩料或少剩料。选购全价颗粒饲料,可避免鸡挑食。饲料要求新鲜,1 次购进或自配不要过多,以 1 周用完为宜。自配料时,在保证营养的前提下,尽可能选择当地价格低的原料以降低成本。

搞好疫病防治。要坚持“预防为主,防重于治”的方针。根据当地疫病流行特点,按时接种疫苗和进行预防投药,特别是对慢性疾病的防治,如体内外寄生虫病、吸收不良综合症以及慢性呼吸道疾病等。

来源:新华网