



中华人民共和国国家标准

GB/T 23239—2009

伊氏锥虫病诊断技术

Diagnostic techniques for *Trypanosomosis evansi*

2009-03-09 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的制定参照了世界动物卫生组织(OIE)编写的《陆生动物诊断试验和疫苗手册(哺乳动物、禽鸟与蜜蜂)》(第五版,2004)。

本标准的附录 A、附录 B 和附录 C 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国农业科学院上海兽医研究所。

本标准主要起草人:周金林、沈杰。

伊氏锥虫病诊断技术

1 范围

本标准规定了新鲜血片、薄血涂片染色、毛细管集虫、实验动物接种等病原鉴定方法和乳胶凝集试验、间接血凝试验和酶联免疫吸附试验等血清学试验技术。

本标准适用于伊氏锥虫病的诊断、检疫、流行病学调查。

2 临床诊断

依家畜种类不同,临床症状表现不同。马(骡、驴)一般呈急性经过,感染后,体温突然升高到 40℃ 以上,稽留数日,而后经短时间的间隙,再行发作,体表水肿为常见症状,结膜和第三眼睑常有出血斑。黄牛、水牛及骆驼等一般呈慢性经过,有不定期的间歇发热,食欲不振,消瘦,肿脚和耳、尾干枯症状,许多慢性感染病例无明显病变。

有以上临床症状者,可以怀疑感染,确诊需要实验室检验。

3 病原鉴定

3.1 采血样

可从耳静脉或尾静脉采取外周血,从颈静脉或其他大静脉采取深部血液,因伊氏锥虫喜欢寄生于深部血液,处于低虫血症时,外周血检出率常低于深部血的 50%。

3.2 新鲜血片检查

在干净载玻片上滴上一小滴鲜血,盖上盖玻片,使血液扩散成为细胞单层,再用光学显微镜(200 倍)观察活动锥虫。为防止血液在观察时干涸,也可先在载玻片滴血时加一滴生理盐水或 3% 柠檬酸三钠生理盐水。

3.3 薄血膜染色检查

将一小滴血放在清洁载玻片一端约 20 mm 处,按常用方法推成薄血膜,迅速风干,用甲醇固定 2 min,干燥后,再加姬氏染色液(配法参见附录 A)染色 25 min,倾去染色液,自来水冲洗,干燥后用 400 倍~1 000 倍显微镜检查。

3.4 毛细管集虫检查

3.4.1 材料准备

肝素处理过的毛细管(管内径 1.5 mm,长 75 mm 的玻璃或无色透明的硬质塑料管,在拟进血的一端吸入 3% 肝素钠 10 mm,用烤箱 70℃~80℃ 烤干后备用),显微镜一台,离心机一台,载玻片,盖玻片,12 号以上注射针头(或金属针),塑泥(橡皮泥)。

3.4.2 采集待检血样

从动物耳静脉或尾静脉穿刺获得血液。先用酒精棉擦净拟采血处皮肤,干后用针头穿刺血管,血流出时用毛细管吸入达 40 mm 深(即 70 μL 血),封闭未沾染血的另一端(可用塑泥或火焰加热封闭)。

3.4.3 集虫

以 3 000g 离心 10 min,待红细胞全部沉积于毛细管下半部,上层为黄色血浆时即可。

3.4.4 检查

在毛细管的血浆与红细胞分界线下 1 mm 处将管折断(切断、剪断),将带有少量红细胞的血浆滴于载玻片上,盖上盖玻片,使血液扩散成细胞单层。在 350 倍~400 倍放大的光学显微镜下检查活锥虫,如需进一步详细观察虫体,可再除去盖玻片,晾干血片后,用姬氏染色液染色后,在 800 倍~1 500 倍放大的显微镜下观察确定。