

动物疾病诊治中兽医病理诊断技术的作用

刘璐 蔡建豪

(上海瑞派果果宠物医院有限公司, 上海 200020)

【摘要】兽医病理诊断技术在动物疾病诊断中具有重要的应用效果。它不仅可以帮助兽医准确诊断和治疗疾病,还可以为研究和学术交流提供重要的支持。随着技术的不断发展和创新,相信兽医病理诊断技术在动物医疗领域的作用将进一步增强。基于此文章探讨不同的兽医病理诊断技术在动物疾病诊治当中的具体应用,并依据技术的进展探索未来的联合应用方法,以提高动物疾病诊断的实际水平。

【关键词】动物疾病; 兽医; 病理诊断

引言:

动物疾病诊断常常面临有限的症状表现、非特异性症状、隐匿性疾病、检查力度的限制以及多因素诱发的疾病等难点^[1]。兽医师需要根据病史、临床表现、实验室检测结果和影像学等综合分析来诊断动物的疾病。病理诊断是对动物疾病进行判断的重要依据,通过病理诊断能够有效界定动物疾病感染的病原体确定疾病的分析,从而及早开展对症治疗,提高救治的成功率。

一、兽医病理诊断技术的原理与优势

(一) 兽医病理诊断技术的原理

兽医通过详细了解动物的发病史、临床表现和实验室检查结果,对疾病进行推测和定位,初步筛选出可能的致病原因和病变部位。病理诊断通常需要采集组织、器官或其细胞的样本,如皮肤、肌肉、肝脏、肺、肾、脑等,来进行病理学检查和分析。将采集的动物样本进行标本制备、固定、切片,然后染色,用显微镜观察和分析组织及其细胞的形态、结构和功能的异常变化。常用的组织染色技术包括常规染色(如血液染色、抗原抗体染色)、特殊染色(如免疫组织化学染色、原位杂交染色)等。根据组织学检查和分析的结果,对病变进行描述和分类。病变的描述包括异常的细胞形态、组织结构的变化,如坏死、炎症、肿瘤等。病变的分类可按病因、病程及病理类型等进行。根据病变描述和分类的结果,结合临床病史和体征分析,推断出病变的原因和机制,做出最终的病理诊断。病因分析可涉及细菌、病毒、真菌、寄生虫等各种致病因子的鉴定和鉴别诊断^[2]。

(二) 病理诊断的优势

动物病理诊断的原理是通过病史、体征分析、组织学检查和病因分析,结合专业知识和临床经验,最终得出对动物患病原因和过程的准确推断和诊断结果。这为制定有效的治疗方案和预防策略提供了重

要依据。

动物无法像人类一样清楚地表达疼痛或不适,他们不能说出自己的症状或出现什么问题。动物只能通过行为变化、食欲改变、体重变化、呕吐、拉稀等表现来示意。有时候,这些症状可能与多种不同的疾病有关,使诊断变得困难。许多动物疾病的症状并不具备特异性,即多种疾病可能引起类似的症状。例如,食欲减退、体重减轻和乏力这些症状可能与多种疾病如消化道疾病、内分泌失调、感染等有关,需要进一步的检查和测试来确定具体的疾病。有些动物疾病在症状出现之前已经存在一段时间,例如肿瘤、心脏病等。这使得早期诊断变得更加困难,因为主人可能无法察觉动物的病情。只有在疾病发展到晚期或症状严重时,才会引起主人的注意。

兽医病理诊断技术可以帮助确定动物疾病的类型和程度。通过对动物组织或细胞的染色和显微镜观察,可以识别病理变化,包括炎症、肿瘤、感染等不同类型的病变。这有助于兽医确定疾病的性质和危害程度,从而制定适当的治疗方案。兽医病理诊断技术可以提供更准确的诊断结果。通过对动物组织和细胞进行细致的观察和分析,可以避免主观判断的偏差,减少误诊和漏诊的可能性。这有助于确保动物得到及时和准确地治疗,提高治愈率和生存率^[3]。此外,兽医病理诊断技术可以为临床研究和学术交流提供重要的支持。准确的病理诊断结果可以为研究人员提供具体的病变描述和变化趋势,为疾病的发生机制、流行病学和治疗效果等方面的研究提供有力的依据。同时,可以将兽医病理诊断结果与其他兽医进行分享和讨论,促进学术交流和知识共享,提高诊断水平和疾病防控能力。

二、兽医病理诊断应用在动物疾病诊断中的主要方法

(一) 分子生物学检测

1. PCR 检测。分子生物学检测方法中的 PCR（聚合酶链反应）是一种广泛应用于基因组学和分析领域的技术。这种技术可以扩增 DNA（脱氧核糖核酸）片段，从而使得在一开始较少的 DNA 样本能够被检测出来，并且能够大量复制、纯化和分析。

操作时，收集待检测的 DNA 样本，可以通过溶解、酶解或其他方法将 DNA 从细胞中提取出来。提取的过程可以根据样本类型和检测需求进行调整。准备 PCR 反应所需的试剂，包括 DNA 模板（待扩增的 DNA 片段）、引物（用于定位扩增目标区域的两个短 DNA 片段）和 DNA 聚合酶等。设定 PCR 反应的温度和时间条件。通常一个 PCR 循环包括三个步骤：变性（Denaturation）、引物结合（Annealing）和扩增（Extension）。这些步骤的时间和温度取决于 DNA 模板和引物的特性。将准备好的反应混合物置于热循环仪中，以便反应得以进行。热循环仪会自动按照设定的条件对 PCR 反应体系进行加热和冷却。完成 PCR 反应后，可以对反应产物进行分析。一种常见的方法是通过电泳将反应产物分离，然后使用荧光染料染色，并在紫外光下进行观察。PCR 产物的大小和数量可以在电泳图上进行分析。为了避免污染和假阳性结果，需要采取一系列的控制措施，如准备负对照、正对照以及使用高纯度试剂等^[4]。

2. RPA 检测。重组酶聚合酶扩增（RPA）检测技术是一种新兴的分子生物学检测方法，用于快速、灵敏地检测目标 DNA 或 RNA 序列。与传统的 PCR 技术相比，RPA 具有更快的扩增速度、更低的温度要求和更高的稳定性。RPA 技术是在体外条件下利用重组 DNA 聚合酶系统来扩增靶标序列。这种重组酶系统由 DNA 聚合酶、单链结合蛋白（ssb）和 DNA 结构特异性内切酶组成。其中，DNA 聚合酶是 RPA 的关键因子，它能够在低温（37—42 摄氏度）下高效地合成新的 DNA 链。RPA 技术还使用了两个引物，一个反向引物和一个正向引物，它们能够寻找并结合到目标序列上。一旦目标序列与引物结合，酶系统开始启动，并在适当的温度下，通过酶的催化作用，在目标序列上合成新的 DNA 链。RPA 可以在常温下进行，省去了 PCR 所需的复杂的温度循环步骤。这意味着 RPA 技术可以更快速地开展，缩短了操作时间。RPA 对样本的处理要求比 PCR 更宽松，因为 RPA 对抑制物质和样本的成分不太敏感^[5]。此外，由于 RPA 的稳定性较高，其对于环境中的杂质也较不敏感。由于其快速、灵敏和便捷的特点，RPA 技术在动物疾病诊断中得到了广泛的应用。

3. 环介导恒温扩增技术。环介导恒温扩增技术是一种基于 DNA 引物的扩增技术，在动物疾病检

测中被广泛应用于病原体的检测。该技术利用特定引物、核酸酶和 DNA 聚合酶等酶反应体系，在恒定温度下进行连续的 DNA 扩增。利用环介导恒温扩增技术，可以快速检测动物体内存在的病原体，如病毒、细菌和寄生虫等，对于动物疾病的早期诊断和病原体的追踪具有重要意义。

4. 原位杂交技术。在动物疾病检测中，原位杂交技术被广泛应用于病毒感染、基因突变和肿瘤等疾病的诊断。该技术利用标记的探针与待检测的 DNA 或 RNA 序列进行特异性的杂交，然后通过显微镜观察探针的荧光或染色标记，来确定特定序列的存在和定位。原位杂交技术在动物疾病检测中可以提供直接的细胞或组织水平的信息，具有高特异性和高灵敏度的特点。

5. 探针杂交技术。探针杂交技术是一种利用带有特定标记的探针与待检测的 DNA 或 RNA 序列进行杂交，并通过观察和检测标记信号来确定特定序列的存在的方法。在动物疾病检测中，探针杂交技术被广泛应用于基因突变、基因表达和病原体检测等方面。通过选择合适的探针序列和标记方式，可以实现对特定基因序列、病原体核酸或特定 RNA 分子的检测。

（二）血清学检测方法

1. 抗体检测方法。（1）酶联免疫吸附法。酶联免疫吸附法（ELISA）是一种常用于检测动物疾病抗体的基础方法。它基于特定抗原与抗体之间的高度专一性和亲和力，通过酶标记的二抗与特定抗原或抗体结合，使酶活性产生可观察信号。酶联免疫吸附法包括直接 ELISA、间接 ELISA、竞争 ELISA 和间接酶标免疫吸附法等不同的变体。在直接 ELISA 中，检测目标（抗原或抗体）直接与酶标记的二抗结合，产生的酶活性与目标物的浓度成正比。间接 ELISA 通过首先与特异性的一抗结合，然后与酶标记的二抗结合来放大检测信号。竞争 ELISA 是通过竞争目标物与酶标记的二抗结合来实现对目标物浓度的定量分析。间接酶标免疫吸附法结合了间接 ELISA 和酶标法的原理，实现了更高的灵敏度和分析能力。ELISA 方法具有高灵敏度、高特异性、简便易行、成本低廉的优点。因此，它广泛用于动物疾病的诊断。例如，在临床诊断中，ELISA 被用于检测犬瘟、犬细小、猫瘟等感染性疾病的抗体或抗原。此外，ELISA 还被应用于癌症标志物的检测、酶动力学研究、免疫学研究和疫苗开发等方面。（2）胶体金免疫层析技术。胶体金免疫层析技术（GICA）是一种基于免疫反应原理，使用胶体金颗粒作为信号指示剂，能够快速、便捷地检测特定分子或生物

体的分析方法。通过将待检物（如蛋白质、抗原、抗体等）与特定的抗体或配体结合，形成免疫复合物。然后以胶体金颗粒作为标记物，将其与免疫复合物结合，形成胶体金免疫复合物。最后，将样品应用在特定的纸张或膜上，在纸上形成一条宽度约为几毫米的试纸条，试纸上通常有两个区域：试验区和控制区。试纸上的试验区通常有抗体或配体的捕获线，能够结合胶体金免疫复合物。控制区则是用来验证试纸是否正常工作 and 是否正确操作的线。在检测过程中，样品被添加到试纸上，样品中的目标物（如抗原）与试纸上的抗体结合，形成胶体金免疫复合物，这个复合物会沿着试纸的方向移动。如果试纸上的试验区存在抗体或配体的捕获线，那么胶体金免疫复合物将停在试验区，形成可见的线条。这个线条的出现表示样品中存在目标物。如果试纸上的控制区存在控制线，那么表示试纸正常工作。胶体金免疫层析技术优势在于操作简单快速，结果可直接观察，不需要复杂的仪器设备，因此被广泛应用于动物疾病的检测当中。

2. 抗原检测方法。（1）荧光抗体实验。荧光抗体实验依赖于特定抗体与目标分子（通常是蛋白质）的特异性结合，然后通过荧光染料标记抗体，使其在特定波长下发出荧光信号。这种方法可以快速、准确地检测目标分子的存在和定量，并广泛应用于动物疾病的检测中。其优势在于：首先，荧光信号强度可以直接与目标分子的丰度相关联，使得结果的解读更加直观和量化。其次，荧光抗体实验对于复杂样本中多个目标分子的同时检测具有高度的选择性和敏感性。这使得可以在同一实验中同时检测多个与动物疾病相关的指标分子，提高检测效率和准确性。此外，荧光抗体实验还可以用于动物疾病的病因研究和机制解析。例如，研究人员可以利用该技术对疾病相关蛋白在动物组织或细胞中的定位和表达进行观察，进一步了解其功能和作用机制。同时，荧光抗体实验还可以用于筛选和验证潜在的治疗靶点或药物，为治疗动物疾病提供新的观察和研究手段。（2）双抗夹心。双抗夹心实验常用于检测特定抗原与抗体之间的相互作用，以确定特定抗原或病原体是否存在于动物体内。在双抗夹心实验中，首先需要准备一种已知含有特定抗原的样本，例如细胞培养液、血清或组织提取物。然后，将这种样本涂在实验板或载玻片上。接着，加入一种特异性抗体，这种抗体能与特定抗原结合。最后，通过染色或荧光标记等方法来检测特异性抗体与抗原是否结合，并通过观察变色、发光等现象来判断是否存在特定抗原。

双抗夹心实验在动物疾病诊治中起到了重要作用。该实验可以用于检测动物体内某种病原体的存在与否，例如病毒、细菌或寄生虫。通过检测动物体内的抗原与相应抗体的结合情况，可以快速有效地确定动物是否感染了某种病原体。还可以用于研究疾病的发生机制以及治疗效果的评估。通过检测特定抗原与抗体的结合情况，可以了解该病原体与宿主免疫系统的相互作用，进而揭示疾病的发生机制。此外，通过检测治疗后的抗原与抗体结合情况的变化，可以评估某种治疗方法的疗效。

除此之外，在抗原检测方面侧向流动免疫色谱分析方法也是较为常用的一种方法，可以通过化学物质相互特异性附着的特质，对于某些动物疾病进行快速诊断。

三、结论

综上所述，病理诊断方法在我国的动物疾病诊疗当中有着非常广泛的应用，尤其是近年来动物疫病不断地爆发在我国影响显著，人们对于动物疾病诊治的重视程度也在不断地提升，推行更加高效的、低成本的、市场化的病理诊断方法，能够有效遏制疾病的蔓延与传播，提升动物的生命安全保障水平。动物疾病管理部门也需要尽快地开发高通量、耗时短的病理检测方法，以适应各地动物医院的基层诊治水平，快速进行病理诊断的推广。

参考文献：

- [1] 刘娟忠. 兽医病理诊断技术在动物疾病诊治中的运用 [J]. 今日畜牧兽医, 2023, 39(09): 68-70.
- [2] 邓愧. 动物疫病诊治中兽医病理技术的应用 [J]. 世界热带农业信息, 2023, (07): 64-65.
- [3] 金毅, 李静, 杨威, 郭健敏, 黄强, 刘尧, 王冰, 金志虎, 邝国涛, 甘玉玺, 张英俊. 药物研发早期药理毒理学评价中的病理学探索 [A] 第十六届中国实验动物科学年会论文集 [C]. 中国实验动物学会, 中国实验动物学会, 2023: 1.
- [4] 薛彦宁. 兽医病理诊断技术在动物疾病诊治中的应用 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2022, (11): 5-7.
- [5] 祁发业. 动物疫病诊断中兽医病理诊断技术探讨 [J]. 今日畜牧兽医, 2022, 38(10): 12-13.

作者简介：

刘璐 (1991-), 女, 汉, 江苏人, 大学本科, 中级, 研究方向: 宠物医疗, 内科。

蔡建豪 (1990-), 男, 汉, 浙江人, 大学本科, 中级, 研究方向: 宠物医疗, 外科, 口腔科。