

郭全海,刘诗柱.血常规指标在母犬妊娠诊断中的临床应用价值[J].江苏农业科学,2015,43(1):206-208.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.071

血常规指标在母犬妊娠诊断中的临床应用价值

郭全海,刘诗柱

(商丘职业技术学院动物工程系,河南商丘 476000)

摘要:为了研究妊娠母犬和空怀母犬的血常规,采用血细胞计数法测定了 20 只妊娠母犬及 20 只空怀母犬血液中红细胞、白细胞、血小板的数量,并进行了鉴别。结果表明:妊娠母犬血液中红细胞、血小板的数量显著低于空怀母犬,白细胞数量极显著高于空怀母犬。经过临床应用测试,证实试验结论可作为母犬妊娠早期诊断的重要参考指标并可应用于临床。

关键词:母犬;妊娠诊断;血常规;临床应用

中图分类号: S858.292.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0206-03

犬一直被人们视为最忠实的朋友,可用来陪护老人、缓解工作压力、培养儿童的爱心和增进少儿的动物保护意识等。随着我国社会经济的发展和人民生活水平的不断提高,将犬作为生活的乐趣和亲密的生活伴侣越来越普遍。近几年来人们对宠物的喜好与养殖需求急剧增加,尤其是一些珍贵的犬种具有很好的市场前景,因此宠物犬的繁殖成为了人们高度关注的问题,而母犬妊娠情况的判断是这一环节的核心问题。血常规指标变化用于妊娠判定在人、牛、猪等方面的研究已有不少报道,但用于母犬的妊娠判定尚未见报道。本试验通过对妊娠早期母犬血液中红细胞、白细胞及血小板数量的检测,探讨血常规指标变化在母犬早期妊娠诊断中的价值,以期为临床母犬的早期妊娠诊断提供更为便捷、准确有效的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 主要仪器及设备 4℃冰箱,上海西门子中外合资有限公司;生物显微镜,江南显微镜厂;电烘箱,成都电热仪器厂;万分之一电子分析天平,瑞士 Mettler;Millipor 纯水系统,美国 Millipor;改良纽巴氏计数板,上海医用仪器厂;手动计数器,上海医用仪器厂;血红蛋白吸管,江苏医用器材厂。

1.1.2 主要药品及试剂 氯化钠(化学纯,重庆北碚化学试剂厂),氯化汞(化学纯,天津化学试剂厂),结晶硫酸钠(化学纯,成都化学试剂厂),石碳酸(化学纯,天津化学试剂厂),冰乙酸(分析纯,重庆川东化学试剂厂),草酸铵(化学纯,重庆北碚化学试剂厂)。

红细胞稀释液(姬姆氏液)的制备:取 1.0 g 氯化钠,0.5 g 氯化汞,5 g 结晶硫酸钠,200 mL 蒸馏水,并加入数滴碳酸品红溶液,混合溶解即可。

白细胞稀释液的制备:精确量取 1 mL 冰乙酸,置于

100 mL 容量瓶内,用蒸馏水稀释并定容。

血小板稀释液的制备:精确称取 1 g 草酸铵,用蒸馏水溶解,并用 100 mL 容量瓶定容。

1.1.3 血样的采取 选择商丘藏獒繁殖基地、商丘职业技术学院动物医院、商丘市复康宠物医院 3 个地方的犬作为采血对象,用临床诊断、B 超观察的方法判断母犬是否妊娠。采用颈静脉采血法分别采集 5 mL 妊娠及未妊娠母犬全血,各采血样 20 份,分别置于洁净瓶内,于 4℃保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 红细胞计数 参照相关文献^[1],具体如下。红细胞计数原理:以适当的红血球(red blood cell,RBC)稀释液将血样进行 200 倍稀释,在特制的改良纽巴氏计数板上进行红细胞计数,并换算成为 1 mm³ 的含量。

红细胞测定方法:用 2 mL 吸管准确取 2 mL 红细胞稀释液于红细胞稀释管中,用 Hb 吸管准确吸取 10 μL 血样,擦净吸管周围血液后插入试管底部,轻轻压出血液于稀释液中,再用上清液洗涤吸管数次,充分混合备用。用小玻棒取 1 滴稀释后的血样,置于计数板与盖玻片交界处,让其自然浸入,使稀释血样扩散于计数室内,静置 2~3 min 后用显微镜检测。

计数时用低倍镜,计数中央大方格中 4 角和中央 1 个中方格(共 5 个中方格)、80 个小方格中的红细胞数。为避免重复和遗漏,计数时应按一定顺序进行,压在双线上的细胞计算在内,计数时应按“数左不数右,数上不数下”的原则,切不可重复计数。将计数的结果代入下列公式,得出 1 mm³ 红细胞的数目:1 mm³ 血液内红细胞总数 = A × 10 000。式中:A 为 5 个中方格中红细胞总数,个。

1.2.2 白细胞计数 参照相关文献^[2],具体如下。白细胞测定原理:用冰乙酸破坏红细胞,用血细胞计数板计数 1 mm³ 内的白细胞总数。白细胞计数方法:用 1 mL 吸管取 0.4 mL 白细胞稀释液于康氏试管中,再用 Hb 吸管吸 20 μL 血样,用洁净纱布擦去吸管周围附着的血液,然后插入小试管底部,轻轻压出血液后用上清液洗涤吸管数次,充分混匀备用。用小玻棒取 1 滴稀释后的血样,置于计数板与盖玻片交界处,让其自然浸入,使稀释血样扩散于计数室内,静置 2~3 min 后用显微镜检测。白细胞计数方法与红细胞计数方法相同,按 4 角大方格

收稿日期:2014-03-04

基金项目:河南省商丘市科技计划(编号:20112027)。

作者简介:郭全海(1980—),男,河南淮阳人,硕士研究生,讲师,主要从事分子生物学、免疫学及动物疫病防治等方面的研究。
E-mail:guohan611@163.com。

中的白细胞数量计数,并将计数结果代入下列公式,得出 1 mm³ 血液内白细胞总数:1 mm³ 血液内白细胞总数 = $B \times 50$ 。式中: B 为 4 角大方格中白细胞总数,个。

1.2.3 血小板计数 参考文献[3]进行,具体如下:血小板计数原理:将血液稀释后在计数室内计数,按红细胞计数的方法,数 5 个中方格的血小板总数乘以 10 000,即换算出被检出的血小板绝对值;血小板计数方法:用 2 mL 吸管吸取 2 mL 1% 草酸铵溶液于试管中,再用 Hb 吸管精确吸取 10 μ L 血样,并将其吹入试管中,轻轻摇匀,用小玻棒取 1 滴充入计数室内,静置 15 min;按红细胞计数法计数,血小板在镜中呈椭圆形或不规则的折光小体。将计数结果代入下列公式,得出 1mL 血样中血小板的数量:血小板值 = $N \times 10\ 000$ 。式中: N 为 5 个中方格中血小板总数,个。

1.2.4 数据处理 将所得的数据经 SPSS 统计分析软件处理,用“平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)”表示各试验组和对照组的平均值和标准差,并用非配对 t 检验法,比较各试验组和对照组的平均值之间的差异。

1.3 临床应用

利用本试验的数据结果,在商丘市商丘职业技术学院动物医院等 5 家宠物医院进行妊娠犬的前期怀孕判断,利用本试验的检测原理和结果进行判断,共随机测试了 18 只配种后早期和中期的母犬。利用 B 超测试这些母犬配种后的怀孕情况,并对 2 种检测结论进行比对。

2 结果与分析

2.1 妊娠母犬与未妊娠母犬血液中红细胞数量变化

调查的 40 只母犬中,血液检测未妊娠母犬(20 只)红细胞的数量为(817.00 \pm 144.90)万个/mm³,妊娠母犬(20 只)

血液中红细胞的数量为(678.06 \pm 172.53)万个/mm³。结果表明,妊娠母犬血液中的红细胞数量显著低于未妊娠母犬($P < 0.05$)。妊娠犬、未妊娠犬红细胞数量的变化范围分别为 340 万 ~ 1 017 万个/mm³、540 万 ~ 1 112 万个/mm³,妊娠犬红细胞数量变化范围明显有别于未妊娠犬(表 1)。从测定的变异系数看,妊娠犬红细胞数量变异系数明显高于未妊娠犬,造成这种现象的原因可能与妊娠犬的种类不同、妊娠犬体内胎儿大小差异等有关。

2.2 妊娠母犬与未妊娠母犬血液中白细胞数量变化

经测定,20 只未妊娠母犬血液中的白细胞数量为(6 710.00 \pm 681.72)万个/mm³,而 20 只妊娠母犬血液中的白细胞数量则为(15 299.42 \pm 2 629.75)万个/mm³。经 t 检验,妊娠母犬血液中的白细胞数量极显著高于未妊娠母犬($P < 0.01$)。所测定的妊娠、未妊娠犬血液中白细胞数量变化范围分别为 5 150 ~ 20 450、5 369 ~ 8 035 个/mm³,妊娠犬白细胞数量变化范围明显不同于未妊娠母犬。从测定的变异系数看,妊娠犬白细胞数量变异系数明显高于未妊娠犬(表 1)。

2.3 妊娠母犬与未妊娠母犬血液中血小板数量变化

血样经血小板稀释液稀释后,在计数室内计数测定,20 只未妊娠母犬血液中血小板的数量为(23.56 \pm 3.45)万个/mm³,而 20 只妊娠母犬血液中血小板的数量则为(18.30 \pm 4.09)万个/mm³。经 t 检验,妊娠母犬血液中的血小板数量显著低于未妊娠母犬($P < 0.05$)。由表 1 可以看出,所测定的妊娠、未妊娠犬血液中血小板数量变化范围分别为 10 万 ~ 27 万个/mm³、17 万 ~ 31 万个/mm³,妊娠犬血小板数量变化范围明显有别于未妊娠母犬。从测定的变异系数看,妊娠犬血小板数量变异系数明显高于未妊娠犬(表 1)。

表 1 妊娠母犬与未妊娠母犬血液中的红细胞、白细胞、血小板数量

犬类	红细胞			白细胞			血小板		
	$\bar{x} \pm s$ (万个/mm ³)	变异系数 (%)	变化范围 (万个/mm ³)	$\bar{x} \pm s$ (万个/mm ³)	变异系数 (%)	变化范围 (万个/mm ³)	$\bar{x} \pm s$ (万个/mm ³)	变异系数 (%)	变化范围 (万个/mm ³)
未妊娠母犬	817.00 \pm 144.90 *	17.8	540 ~ 1 112	6 710.00 \pm 681.72 **	10.1	5 369 ~ 8 035	23.56 \pm 3.45 *	14.4	17 ~ 31
妊娠母犬	678.06 \pm 172.53 *	25.6	340 ~ 1 017	15 299.42 \pm 2 629.75 **	17.2	5 150 ~ 20 450	18.30 \pm 4.09 *	23.3	10 ~ 27

注: $n = 20$;数据后分别标有“**”“*”,分别表示经 t 检验 2 组数据间有极显著、显著差异。

由此可见,母犬妊娠后,血液中的红细胞与血小板数量呈下降趋势,而白细胞数量则显著增加。

2.4 临床应用结果

在母犬妊娠后的不同时间,利用本试验血常规和 B 超 2 种诊断方法进行妊娠检测(表 2)。

表 2 母犬配种后 13、32 d 血常规和 B 超诊断妊娠结果

检测方法	测试犬数 (只)	阳性数 (只)	实际阳性数 (只)	准确率 (%)
血常规检测	18	16/14	17/17	94.1/82.4
B 超检测	18	0/17	17/17	0/100.0

注:“/”前后分别为母犬配种后 13、32 d 的检测结果。

临床试验结果表明,利用血常规在母狗妊娠早期进行妊娠诊断,具有较高的准确率,而 B 超不能在早期检测;而在母犬怀孕的中后期利用 B 超可以方便地测出母犬怀孕情况,利用血常规检测方法虽能较准确地测出结果,但操作相对繁琐。

3 讨论与结论

妊娠是一个复杂的生理过程,妊娠期母体各器官要发生一系列变化,以适应胎儿发育成长需要。卵子与精子在输卵管壶腹部结合成为受精卵,然后侵入宫腔,经过一系列的生理反应,最后完成孕卵“着床”。孕卵着床后逐渐发育成胚胎及与母体建立联系的附属物(胎盘、胎膜、脐带及羊水等)。胚胎进一步发育成胎儿,胎儿发育成熟后娩出,整个妊娠过程终结^[4]。

母犬整个妊娠期约 58 ~ 64 d^[5]。妊娠期中 1 ~ 30 d 为妊娠前期,这期间受精卵完成着床、胚胎的发育,其中 1 ~ 15 d 为妊娠的早期。妊娠期中的 30 ~ 45 d、45 ~ 60 d 分别为妊娠的中期、后期,主要完成胎儿的发育、成熟等过程。养犬生产中,妊娠母犬的早期诊断往往要求在妊娠 30 d 或之前进行,30 d 以后对妊娠母犬的检查多用于胎儿发育情况、胎位等情

况的监测,这期间还可利用 X 线透视或摄影等方法诊断胎儿的个数、大小等。

性激素影响红细胞的生成,其中睾酮可促进红细胞生成素的生成,而雌激素则抑制其生成。母犬妊娠期间,体内增加的雌激素会抑制红细胞生成素的形成,影响妊娠母犬机体红细胞的生产^[6-8]。另一方面,母犬妊娠期间,母体代谢活动的增强,对红细胞的衰老有促进作用。这两方面因素的作用,造成了母犬妊娠机体红细胞数量偏低。试验结果表明,所调查的母犬中,未妊娠母犬血液中的红细胞的数量为 (817 ± 144.90) 万个/ mm^3 ,而妊娠母犬血液中的红细胞的数量仅为 (678.06 ± 172.53) 万个/ mm^3 ,妊娠母犬血液中的红细胞数量显著低于未妊娠母犬($P < 0.05$)。张秀玲等对妊娠妇女血液中红细胞进行了测定,结果均显著低于非妊娠妇女血液中红细胞数值^[9]。刘续春对 1 328 例妊娠妇女血液中血红蛋白进行了分析,表明产前孕妇血红蛋白含量明显低于正常人^[10]。本试验研究结果与上述报道相符,从妊娠诊断的角度,妊娠母犬血液中红细胞的数量降低,可以作为健康母犬妊娠与否的早期诊断指标之一。

白细胞在动物机体免疫保护中起着重要的作用。如淋巴细胞是免疫细胞,主要发挥体液免疫和细胞免疫作用,对病原微生物有杀灭作用^[11]。临床中白细胞总数增多,一般与机体感染性疾病有关。

关于妊娠是否会引起妇女或母畜容易发生感染性疾病的报道还很少,但却有妊娠妇女血液中白细胞总数增高的报道。刘续春对 1 328 例孕妇血液中白细胞数量进行了测定,结果显示 80% 以上的孕妇嗜中性白细胞增多^[10]。张秀玲等对妊娠中、晚期妇女血液中白细胞数量进行了测定,发现妊娠中期妇女血液中白细胞极显著性高于未妊娠妇女^[9]。在本试验中,20 只未妊娠母犬血液中的白细胞数量为 $(6\ 710.00 \pm 681.72)$ 万个/ mm^3 ,而 20 只妊娠母犬血液中的白细胞数量则为 $(15\ 299.42 \pm 2\ 629.75)$ 万个/ mm^3 。妊娠母犬血液中的白细胞数量极显著高于未妊娠母犬,这一结果与上述报道相符。妊娠期白细胞增高虽然是一个较复杂的生理现象,但从妊娠诊断的角度看,上述研究结果表明母畜血液白细胞总数增多可作为妊娠阳性判断的参考指标之一。

血小板是形态不规则的小体,据文献报道,血小板显著减少是早孕的一种生理反应,根据血小板是否显著减少就可对交配后数小时至数天内的母畜作出超早期妊娠诊断^[12]。马群山等对 45 头配种后三江母猪外周血小板数值进行了测定,结果表明三江母猪妊娠后外周血小板数目明显降低^[13];张寿用血小板计数法对 60 头高原母猪进行了超早期妊娠诊断,结果表明妊娠与未妊娠诊断的符合率达到 93% 以上^[14];李助南等对 20 头未妊娠奶牛和 22 头妊娠奶牛外周血小板数值进行

了测定,发现妊娠奶牛血小板数值极显著低于未妊娠奶牛,对 30 头配种后奶牛进行了超早期诊断,发现其符合率在 83% 以上^[15]。本研究分别测定了 20 只未妊娠母犬及 20 条妊娠母犬血液中小板的数量,结果表明妊娠母犬血液中的血小板数量显著低于未妊娠母犬($P < 0.05$)。这一结果与上述报道相符,从母犬妊娠诊断的角度来看,健康母犬外周血液中小板数目降低,可以作为妊娠诊断的临床指标之一。

通过临床试验研究,表明测定配种后母犬外周血液中红细胞、白细胞及血小板的数目,可以作为兽医临床母犬早期妊娠诊断的指标,具有较高的准确率。

参考文献:

- [1]程会昌,吕永智,郭全海,等. 动物生理学[M]. 2 版. 郑州:河南科学技术出版社,2013:242-244.
- [2]黄晓江,刘文利. 如何做到白细胞计数值准确的几点体会[J]. 中国社区医师,2004,6(1):59-60.
- [3]茹丽梅,王永文,尚明利. 如何提高直接法血小板计数的准确性[J]. 中国医学理论与实践,2005,15(9):1390-1391.
- [4]滕春波,杨增明. 催乳素家族与哺乳动物妊娠[J]. 生理科学进展,2002,33(4):355-358.
- [5]潘寿文,黄卫国,李来有. 史宾格、拉布拉多母犬妊娠期时间长短的比较[J]. 中国工作犬业,2005(2):24.
- [6]刘淑华,曲丽瑶. 血液细胞(血常规)检验中的几点注意事项[J]. 中国医学理论与实践,2005,15(9):1389-1390.
- [7]Alan H R, Peter S M, Bernard F F, et al. 犬猫血液学手册[M]//夏兆飞,译. 北京:中国农业大学出版社,2007:1-103.
- [8]赵晋芳. 浅谈血常规检验的影响因素[J]. 实用医技杂志,2008,15(23):3077-3078.
- [9]张秀玲,张云娇. 妊娠母体血液常规 13 项指标动态观察与分析[J]. 中华综合医学,2002,3(4):300-301.
- [10]刘续春. 1 328 例妊娠晚期孕妇血红蛋白、白细胞、血小板的观察结果分析研究[J]. 中华当代医学,2004,2(9):127-128.
- [11]张玮玮. 人类白细胞组织相容抗原在疾病诊断上的价值[J]. 现代中西医结合杂志,2005,14(19):2617-2619.
- [12]刘 杨. 113 例妊娠合并血小板减少临床分析[J]. 中外妇儿健康,2011(8):59.
- [13]马群山,沈 勇,李 欣,等. 妊娠三江白猪相关性血小板早孕预测模型与分析[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2000,12(2):88-93.
- [14]张 寿. 血小板计数法在高原母猪超早期妊娠诊断上的应用[J]. 辽宁畜牧兽医,2000(5):3-4.
- [15]李助南,唐登华,郭良辉. 血小板计数法对奶牛超早期妊娠的诊断研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2005(9):15-16.