



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

Veterinary Internal Medicine

兽医内科学

(第2版)

主编 郭定宗



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

内容简介

Veterinary Internal Medicine

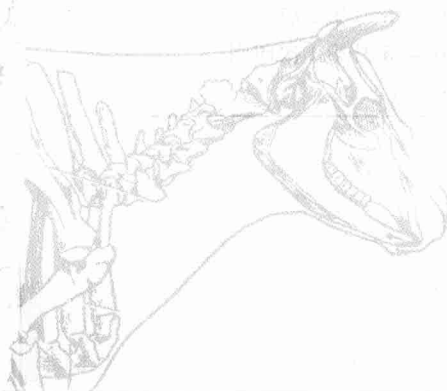
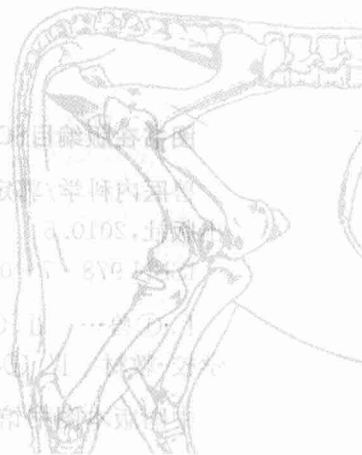
兽医内科学

Shouyi Neikexue

(第2版)

主 编 郭定宗

副主编 黄克和 唐兆新 张乃生 夏兆飞



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

ISBN 7-04-011111-1
定价：28.00元
000000 线 号

内容简介

本书为普通高等教育“十一五”国家级规划教材,全书分为13章,共计184个疾病。编排以器官系统为序。本书详细描述了动物多发性、常发性、群发性的内科疾病,并将新理论、新技术、新药物应用于疾病的诊治过程中;适当编写了犬、猫的内科疾病。根据教学规律和兽医临床经验,总结归纳了相关疾病的鉴别诊断,有利于学生全面了解类似疾病的共性和单个疾病的特征及诊断要点。每章开始有内容提要,介绍了该章重点、难点和要求掌握的内容,章末有复习思考题、参考书目及网站,便于学生复习和自测,是一本易教易懂、全新实用的教科书。

本书供动物医学专业本科生、高职生使用,还可供兽医临床专业技术人员和相关专业人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

兽医内科学/郭定宗主编. —2版. —北京:高等教育出版社,2010.5

ISBN 978-7-04-029110-0

I. ①兽… II. ①郭… III. ①兽医学:内科学-高等学校-教材 IV. ①S856

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 054898 号

策划编辑	潘超	责任编辑	丁燕娣	封面设计	张楠	责任绘图	黄建英
版式设计	王莹	责任校对	金辉	责任印制	朱学忠		

出版发行	高等教育出版社
社 址	北京市西城区德外大街4号
邮政编码	100120
总 机	010-58581000
经 销	蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷	北京联兴盛业印刷股份有限公司

购书热线	010-58581118
咨询电话	400-810-0598
网 址	http://www.hep.edu.cn http://www.hep.com.cn
网上订购	http://www.landaco.com http://www.landaco.com.cn
畅想教育	http://www.widedu.com

开 本	850×1168 1/16
印 张	27.5
字 数	690 000

版 次	2005年8月第1版 2010年5月第2版
印 次	2010年5月第1次印刷
定 价	38.50元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 29110-00

前 言

“兽医内科学”是动物医学专业的主干课程,是培养动物医学专业合格人才的重要环节。为适应 21 世纪我国动物医学人才的培养需求,反映现代生物技术和兽医学的新理论、新方法、新成果,结合兽医内科学的教学规律,根据教育部教材规划出版计划,在第 1 版的基础上,我们组织了华中农业大学、南京农业大学、华南农业大学、吉林大学、中国农业大学、东北农业大学等 15 所大学从事兽医内科学教学和科研的优秀中青年专家修订了本教材。

第 2 版秉承第 1 版绝大部分内容和编写风格,在内容取舍上,突出结合生产、结合实际、结合现代科学技术,突出重点群发普通病的防制(治),突出现代新技术、新方法在兽医疾病诊断和防制(治)中的应用,突出病因与发病机制,发病机制与症状,发病机制与病理变化,发病机制(病因)与诊断、防制(治)的内在联系,力求删繁就简,通俗易懂、深入浅出,让学生在在学习中掌握思维方法,在思维中读懂、创新,在创新中成长、成才。

本版继续坚持每章或相关疾病附有鉴别诊断,让学生从相似症状中掌握单个疾病的诊断方法,既了解同类疾病的共有症状,同时了解某个疾病的特殊症状。在编排上以器官、系统为引导,将相关内容纳入有关章节。全书分为 13 章 57 节,共 184 个疾病。

在第 2 版即将出版之际,感谢第 1 版编写者、主审和高等教育出版社的领导、编辑们的辛勤劳动,由于大家的严谨认真,本教材第 1 版出版之后,立即得到广大师生的认可和广泛使用,并被列为“‘十一五’国家级规划教材”和“全国高等农林教学资源出版计划”,短短 4 年连续五次重印,在动物医学专业教材史上鲜见。特别要感谢史言教授、李毓义教授、熊道焕教授的热情指导和亲切关爱,对编写大纲和具体编写内容进行了详细的修改和审定,老一辈科学家的无私奉献、严谨学风激励着我们,将兽医内科学带入一个新的发展阶段。

本教材力图定义准确、概念清楚、结构严谨、层次分明、重点突出、可读性强,但由于时间较紧,水平有限,难免存在许多缺点和不足,诚恳希望广大师生提出宝贵意见和建议,以便重印和再版时修正。

郭定宗

2010 年 1 月

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 兽医内科学的概念、内容	(1)
第二节 兽医内科学在兽医学中的地位	(2)
第三节 兽医内科学的发展趋势	(2)
第四节 兽医内科学的研究方法	(3)
第二章 消化器官疾病	(11)
第一节 概论	(11)
第二节 口腔、唾液腺、咽及食管疾病	(12)
口炎(12) 唾液腺炎(13) 咽炎(13) 食管梗塞(14) 嗦囊卡他(16) 嗦囊阻塞(16)	
附:动物流涎综合征鉴别诊断	(16)
第三节 反刍动物前胃疾病	(19)
前胃弛缓(19) 急性瘤胃胀气(23) 慢性瘤胃胀气(25) 瘤胃食滞(26)	
瘤胃酸中毒(28) 瘤胃碱中毒(31) 创伤性网胃腹膜炎(33) 瓣胃秘结(36)	
第四节 反刍动物真胃疾病	(37)
真胃积食(37) 真胃左方变位(40) 真胃右方变位(42) 真胃炎(44)	
附:反刍动物前胃及真胃疾病的诊断要点	(45)
第五节 马属动物胃肠疾病	(46)
急性胃扩张(47) 肠阻塞(50) 肠痉挛(57) 肠变位(59) 急性结肠炎(62)	
附:马属动物胃肠疾病鉴别诊断要点	(64)
第六节 猪胃肠疾病	(68)
肠便秘(68) 肠套叠(70)	
第七节 牛羊肠道疾病	(71)
胃肠炎(71) 真菌性肠炎(75) 幼畜消化不良(76)	
第八节 犬猫胃肠疾病	(78)
胃肠炎(78) 胃扩张-扭转综合征(80) 犬肠梗阻(81) 肠套叠(82)	
附:犬急腹症鉴别诊断	(83)
第九节 肝与胰腺疾病	(85)
急性实质性肝炎(85) 胰腺炎(87)	
第十节 腹膜疾病	(88)
腹膜炎(88) 腹腔积液(90)	
第三章 呼吸器官疾病	(92)
第一节 概论	(92)

第二节	上呼吸道疾病	(96)
	鼻炎(96) 喉炎(98) 喉囊病(99) 喘鸣症(99)	
第三节	支气管炎	(100)
	急性支气管炎(100) 慢性支气管炎(102)	
第四节	肺疾病	(103)
	肺充血和肺水肿(103) 肺泡气肿(104) 间质性肺气肿(106) 小叶性肺炎(107)	
	大叶性肺炎(109) 真菌性肺炎(111)	
第五节	胸膜疾病	(113)
	胸膜炎(113) 胸腔积液(115)	
	附:呼吸器官疾病鉴别诊断要点	(116)
第四章	心血管器官疾病	(119)
第一节	概论	(119)
第二节	心脏血管功能不全	(120)
	心力衰竭(120) 循环虚脱(124)	
第三节	心包疾病	(128)
	心包炎(128)	
第四节	心肌疾病	(130)
	急性心肌炎(130) 心脏扩张(132) 心脏肥大(134) 高山病(135)	
第五节	心内膜疾病	(137)
	急性心内膜炎(137) 心脏瓣膜病(138)	
	附:心血管疾病鉴别诊断要点	(141)
第五章	血液与造血器官疾病	(143)
第一节	概论	(143)
第二节	贫血	(144)
	急性出血性贫血(144) 慢性出血性贫血(146) 溶血性贫血(147)	
	仔猪缺铁性贫血(148) 再生障碍性贫血(149)	
第六章	泌尿系统疾病	(152)
第一节	概论	(152)
第二节	肾脏疾病	(155)
	肾炎(155) 肾病(159)	
第三节	尿路疾病	(160)
	肾盂炎(160) 膀胱炎(162) 膀胱麻痹(164) 尿道炎(165) 尿结石(166)	
第四节	其他疾病	(168)
	尿毒症(168) 红尿的鉴别诊断(170) 血尿的鉴别诊断(171)	
	少尿或无尿的鉴别诊断(173)	
第七章	神经系统疾病	(175)
第一节	概论	(175)

第二节	脑及脑膜疾病	(183)
	脑膜脑炎(183) 日射病及热射病(186) 脑震荡及脑挫伤(189)	
	附:脑及脑膜疾病的鉴别诊断	(191)
第三节	脊髓疾病	(191)
	脊髓炎及脊髓膜炎(191) 脊髓挫伤及震荡(194)	
第四节	癫痫及膈痉挛	(196)
	癫痫(196) 膈痉挛(198)	
第八章	被皮系统疾病	(201)
第一节	概论	(201)
第二节	常见的动物皮肤病	(203)
	脱毛症(203) 皮炎(204) 皮肤肿瘤(206) 犬皮脂腺分泌过多(208)	
第九章	内分泌系统疾病	(210)
第一节	概论	(210)
第二节	常见的内分泌系统疾病	(212)
	应激综合征(212) 糖尿病(214) 甲状腺功能亢进(216) 甲状腺功能减退(218)	
	甲状旁腺功能亢进(219) 甲状旁腺功能减退(221) 肾上腺皮质功能亢进(221)	
	肾上腺皮质功能减退(223)	
第十章	免疫性疾病	(226)
第一节	概论	(226)
第二节	常见免疫性疾病	(228)
	过敏性休克(228) 荨麻疹(229) 血清病综合征(230) 蚤咬变应性皮炎(231)	
	自身免疫性溶血性贫血(231) 类风湿性关节炎(232)	
第十一章	遗传性疾病	(234)
第一节	概论	(234)
第二节	常见的遗传性疾病	(245)
	牛遗传性心肌病(245) 先天性心脏缺陷(245) 唇-腭裂(247) 肛门和直肠闭锁(248)	
	疝(248) 遗传性肾病(248) 多囊肾(248) 隐睾(249) 两性畸形(249)	
	遗传性感光过敏(249) 白化病(250) 血友病(250) 遗传性小脑疾患(251)	
第十二章	营养代谢性疾病	(253)
第一节	概论	(253)
第二节	糖、脂肪和蛋白质代谢障碍疾病	(257)
	奶牛酮病(257) 母牛肥胖综合征(261) 新生畜低血糖症(264) 脂肪肝综合征(267)	
第三节	维生素缺乏	(270)
	维生素 A 缺乏症(270) 维生素 K 缺乏症(274) 维生素 B ₁ 缺乏症(275)	
	维生素 B ₂ 缺乏症(278) 生物素缺乏症(280) 维生素 B ₁₂ 缺乏症(281)	

	维生素 C 缺乏症(283)	
第四节	矿物质代谢疾病	(284)
	纤维性骨营养不良(284) 青草抽搐(287) 牛血红蛋白尿病(290)	
	母牛趴卧不起综合征(293) 佝偻病(295) 骨软症(298) 犬产后低钙血症(300)	
	附:钙磷代谢紊乱相关疾病鉴别诊断要点	(301)
第五节	微量元素缺乏症	(302)
	硒-维生素 E 缺乏症(302) 铁缺乏症(308) 铜缺乏症(311) 锌缺乏症(314)	
	钴缺乏症(316)	
第六节	其他营养代谢病	(318)
	肉鸡腹水综合征(318) 肉鸡猝死综合征(321) 胫骨软骨发育不良(322)	
第十三章	中毒性疾病	(326)
第一节	概论	(326)
第二节	饲料毒物中毒	(339)
	硝酸盐和亚硝酸盐中毒(339) 氢氰酸中毒(344) 菜籽饼粕中毒(348)	
	棉籽饼粕中毒(352) 马铃薯中毒(356) 酒糟中毒(358) 粉渣中毒(360)	
	鱼粉中毒(362) 感光过敏性中毒(364)	
第三节	有毒植物中毒	(365)
	疯草中毒(365) 栎树叶中毒(368) 蕨中毒(371) 醉马草中毒(373)	
	霉烂草木樨中毒(374)	
第四节	真菌毒素中毒	(375)
	黄曲霉毒素中毒(376) 杂色曲霉毒素中毒(378) 单端孢霉毒素中毒(380)	
	玉米赤霉烯酮中毒(382) 青霉毒素中毒(383)	
第五节	农药及鼠药中毒	(384)
	有机磷中毒(384) 氨基甲酸酯类农药中毒(388) 有机氟中毒(390) 尿素中毒(392)	
	氨中毒(393) 毒鼠强中毒(395) 抗凝血杀鼠药中毒(396)	
第六节	矿物类物质中毒	(397)
	无机氟化物中毒(397) 食盐中毒(399) 铜中毒(400) 汞中毒(402) 砷中毒(404)	
	钼中毒(405) 镉中毒(407) 铅中毒(408) 硒中毒(409)	
第七节	药物中毒	(411)
	克伦特罗中毒(411) 唑乙醇中毒(413) 伊维菌素中毒(415) 血虫净中毒(416)	
	马杜拉霉素中毒(417)	
第八节	动物毒中毒	(419)
	蛇毒中毒(419) 蜂毒中毒(421) 蝎毒中毒(422) 蜈蚣毒中毒(423)	
第九节	其他中毒性疾病	(424)
	二噁英中毒(424) 一氧化碳中毒(426)	

第一章 绪 论

内容提要 本章介绍了兽医内科学的概念、研究内容以及发展趋势和研究方法。要求重点掌握兽医内科学的概念和研究方法,特别是生物技术、现代分析技术、临床常用技术的原理和适用范围。

第一节 兽医内科学的概念、内容

如何学习兽医内科学

- 夯实理论,苦练基本功
- 坚持理论与实践相结合
- 善于总结,不断创新

一、兽医内科学的概念

兽医内科学(veterinary internal medicine)是研究动物器官、系统疾病的临床科学。它是兽医学学科中一个重要的分支学科。兽医内科学是运用系统的理论和先进有效的诊疗技术,研究疾病的病因、发病机制、临床症状、病理变化、转归、诊断和防治(制)的临床学科。

二、兽医内科学的研究内容

兽医内科学研究的内容包括:消化器官疾病、呼吸器官疾病、心血管器官疾病、血液及造血器官疾病、泌尿系统疾病、神经系统疾病、被皮系统疾病、内分泌系统疾病、免疫性疾病、遗传性疾病、营养代谢性疾病、中毒性疾病等。

现代科学技术的发展和生活水平的提高,赋予了兽医内科学新的内涵。它除了包括上述内容外,还应包括免疫性疾病、遗传性疾病以及胚胎疾病。从研究的对象来看,除了研究个体疾病发生、发展规律和诊断治疗技术外,还注重群发病、动物保健与福利、动物性食品安全、环境保护等方面内容的研究;从研究动物的种类上,除传统畜禽外,还应注意对伴侣动物、观赏动物、野生动物、实验动物、经济动物、水生动物疾病的研究。值得一提的是,近年来由于家养犬、猫等小动物的迅速增多,犬、猫的内科疾病成为兽医内科学研究中备受关注的领域,在国外开展已久的小动物内科学研究在我国也逐渐深入,正成为兽医内科学的重要研究内容之一。

(郭定宗)

第二节 兽医内科学在兽医学中的地位

兽医内科学是临床兽医学领域中的一门重要学科,它涉及面广,整体性强,在研究动物体各器官系统疾病的诊断和防治中,以诊治措施不具创伤性或仅有轻微的创伤性(介入性诊断和治疗)为其特色;它研究的症状学、临床病理学、治疗学同时又是各临床学科(包括传染病、寄生虫病)的基础。在现在的六大群发病(动物营养代谢病、中毒性疾病、遗传性疾病、免疫性疾病、寄生虫病、传染病)中,兽医内科学占据了前四种。随着工业化发展、环境污染日趋严重,环境性疾病也凸显出来,动物源食品安全是现代兽医内科学研究中又一个新的领域,并越来越受到全社会的广泛关注。兽医内科学是研究动物疾病与健康的生命科学,而分子生物学是研究生命科学的基础。分子生物学的研究,从20世纪80年代起已由静态进入到动态,从分子水平研究活体中的物质运输、能量转换、信息传递和加工等,它已渗透到细胞学、生理学、药理学、遗传学、发育学、神经学、免疫学、病理学、临床医学和兽医学等各个学科。

免疫学和微量分析技术的发展(高效液相色谱、气相色谱、放射免疫分析、酶联免疫吸附试验、聚合酶链反应和酶学检查等技术)使液体中微量物质、免疫抗体、药物或微生物DNA和RNA的分析成为可能,为临床诊断、治疗和阐明疾病的发病机制提供了有效手段。

兽医内科学与生理学、生物化学、病理学、药理学、诊断学等学科有着密不可分的联系,这些学科的发展可以推动兽医内科学更快地发展,而兽医内科学发展的同时也为其他学科提供了发展的基础和空间。

(郭定宗)

第三节 兽医内科学的发展趋势

兽医内科学是一门探讨动物器官系统疾病的发生、发展规律、诊断和防治措施的学科。兽医内科学以基础兽医学、预防兽医学为基础,诊断和治疗手段多样,在兽医临床领域以其独特优势而得到迅速发展。近年来,随着生物学(分子生物学和细胞生物学)、化学、物理学、数学、信息科学和基础医学理论的快速发展,各学科的融合渗透,兽医内科学研究的内容和手段也在不断更新和深入,兽医内科学进入飞跃发展的时期。

一、分子生物学和生物信息学技术广泛运用

分子生物学和生物信息学是21世纪生命科学和自然科学的重大前沿领域,由于该技术的日趋成熟,现已广泛应用于临床兽医学学科,特别是兽医内科学的研究中。利用该技术可从细胞水平、分子水平、基因水平对兽医内科疾病进行深层次的解读,阐明其发病过程和机制,为临床疾病的诊断、治疗提供理论依据,如肉鸡腹水综合征、猪应激综合征的基因表达差异分析等。

二、逆环境性疾病和营养代谢性疾病备受重视

现代工业的发展、环境污染带来的人和动物的疾病日趋增多,如各种矿藏的开发带来汞、砷、铅、氟污染,工业噪声污染,以及大规模集约化生产带来各种应激性疾病、营养代谢性疾病的增多。除此之外,生产者在追求最大利润的前提下,人为地使动物生理负荷加大而导致各种疾病,

如高产奶牛的酮病、钙磷代谢紊乱性疾病、肉鸡腹水综合征、禽痛风、维生素缺乏和矿物质缺乏等逆环境疾病和营养代谢病,这些已成为兽医内科学研究的重点。

农药残留、重金属、真菌毒素残留是现阶段不可避免的问题,它不仅导致饲料品质下降、动物免疫力低下、生产性能降低,其产品也严重地危害着人类健康。

三、伴侣动物、小动物、经济动物疾病备受关注

传统的兽医内科学研究的动物对象主要为家畜、家禽(如牛、马、猪、鸡、鸭等),随着农业结构调整,原有家畜的概念将不断进行调整,机械化在农村迅速推广,原本作为生产工具的牛、马将逐步退出农业生产或做他用,而随着城市发展和人均生活水平的提高,伴侣动物(犬和猫)、观赏动物(动物园动物)、经济动物(兔、貂、鸵鸟、大雁鹅、鹌鹑、海狸鼠、狐狸)、竞技动物(马、犬、狮子、老虎)疾病将受到关注。应当承认,我国在这方面的研究落后于发达国家,以前很少有人专门从事这一领域研究。但20世纪90年代以后,我国在这方面的研究有了突飞猛进的发展,医疗水平、医疗质量有了长足的进步。从另一方面看,这一领域的研究开发将是一个庞大的市场,在我们研究传统内科学疾病的前提下,也给兽医内科学的研究和发展开拓了一个崭新的领域。此外,动物福利和动物群发病也将得到重视和纳入研究范畴。

四、高新技术应用、多学科交叉势在必行

一个现代学科的发展离不开其他相关学科的发展,相关学科的发展也必将推动本学科的发展。更深入研究兽医内科学中待解决的问题,必须实施多学科交叉,利用新理论、新技术、新方法、新手段,如植物毒素中毒、真菌毒素中毒的诊断和治疗,可以通过现代免疫的方法加以解决;又如现代分析技术(高效液相色谱、质谱、气相色谱和原子吸收光谱)的不断完善,为兽医内科学的毒物分析、药物残留、重金属残留分析提供了实验保证,这些高新技术的广泛应用将会大大加速兽医内科学的发展步伐,丰富兽医内科学的内涵,提高兽医内科学的水平。

(郭定宗)

第四节 兽医内科学的研究方法

生物医学研究层面不同,研究方法和手段各异。兽医内科学应当按其自身的研究目的加以适当选择。一般而言,一个实验室要有一定的范围和层次。应当按照所研究的目标,建立具有各自特色的实验室。

现代兽医内科学研究的三大特点:一是深入性。利用现代生物学先进技术,在核酸、蛋白质等生物大分子水平上阐述疾病的本质,并且利用这些技术治疗某些内科病(如遗传病)。二是综合性。以往各学科单一的研究正在被跨学科的实验体系所取代。高水准的研究一般都是在整体、离体组织、细胞、基因、分子水平等多层次上证实一种论点。三是先进性。高新技术的采用,使得无损伤、非侵入式研究越来越被广泛采用。本节简要介绍当今兽医内科学常用的研究方法。

一、研究的层次

(一) 分子水平

生命体的最基本过程可以最终还原为物质和能量的新陈代谢。因此,西方的近代医学一开

始就注重对生物分子的研究,研究范围包括从简单的乙酰胆碱等小分子,到核酸、蛋白质、多糖、生物膜等大分子。对生物大分子的研究是现代兽医学科学中最基础和最有成效的领域,分子水平的研究将成为临床兽医学研究的主流。

(二) 基因水平

基因是由动物体细胞核内的 DNA(脱氧核糖核酸)组成,基因排序决定了动物的遗传多态性。兽医临床中的很多疾病(如酶缺乏性疾病、某些过敏性疾病)是与某个或多个基因突变、缺失有关。基因水平的研究现已广泛应用于兽医临床疾病的发生机制、诊断和治疗上;此外基因调控技术、转基因技术在畜牧业和动物疾病防制(转基因抗病)中显示越来越重要的作用。

(三) 细胞水平

生命体最基本的单元是细胞,各种生理、生化过程都由各种细胞和细胞群体完成,细胞水平的研究是最基本的实验模型。随着转基因、反义核酸技术、细胞功能定位、定性、定量研究技术的日趋成熟,细胞水平的研究将获得继续发展;针对细胞内不同信号转导途径间及不同细胞间交互作用的研究,将越来越受到重视,成为分子和细胞水平上整合功能的基本模型。

(四) 组织或器官水平

离体组织或器官保持相对完整的形态和细胞群,且切断了整体的神经、内分泌调节的影响,可以直接观察相应组织或器官的各种生理或生化特征。常用的观察指标有机体力、电活动、分泌活动、生物分子变化、结构改变等。该水平的研究是联系分子、细胞与整体水平研究的必要中间环节。

(五) 整体水平

整体动物实验反映的生理功能变化是体内各种生理过程的综合表现,是生命活动最终的表现形式,与临床实际情况较吻合。常用的整体动物实验有:①清醒动物。在保持中枢神经功能正常的情况下,观察动物各种生理、生化活动和行为的变化。清醒动物实验结果是基本功能和调节功能整合后的结果,能够较全面地反映功能变化,但难以分析精确的机制。实验环境、条件、动物生理或病理状态对实验结果有明显影响,因此,应当保持实验条件的始终一致,以减少实验误差。为分析不同器官的生化物质变化情况,可定位埋植微细导管进行微透析,在清醒状态下获得神经递质等动态变化数据。②麻醉动物。动物处于高度中枢抑制状态,可观察比较单纯的生理功能,可作为清醒动物的一种补充。在麻醉动物实验中应保持良好的生理状态,对体温、呼吸、血糖、血 O_2 分压和 CO_2 分压等生理参数进行必要的控制。

(六) 群体水平

群发病是动物疫病的研究重点,它不仅能反映某些疾病的危害程度、发病规律,帮助人类认知疾病的本质,而且在控制疫情、减少经济损失方面 also 具有重要意义。在兽医内科学领域里,中毒性疾病、营养代谢病、遗传性疾病、逆环境性疾病、免疫性疾病都离不开群体水平研究。它通过研究发病动物的种类、数量、年龄、性别、发病程度、病死率、治愈率及症状学、治疗学等方面来阐明疾病的病因、发病机制、临床症状、剖检变化的相互内在联系,并找到有效的防治(制)措施。

生物医学研究根据学科的属性,又可分为生理学方法、生物化学方法、形态学方法、免疫学方法,各层面的研究均可择机采用一种或多种方法。

二、常用的实验研究方法

(一) 分子生物学研究方法

1. 核酸研究方法 核酸(特别是脱氧核糖核酸,即 DNA)是生物遗传的物质基础,涉及生命

本质和物种起源。核酸的研究包括 DNA、RNA、mRNA 等的提取及特定 DNA 序列克隆、核酸杂交等方法。

(1) DNA 克隆技术:克隆(cloning)技术是指通过无性繁殖方法产生一组遗传学与原型完全相同的细胞或生物体的过程;DNA 克隆(DNA cloning)指的是特异地扩增某一特定的 DNA 片段。经典的 DNA 克隆方法包括 4 个基本步骤:①重组 DNA(recombinant DNA)分子的构建;②转化(transformation),即将所构建的重组 DNA 分子导入宿主细胞(细菌或真菌),并在细胞内自主复制;③细胞克隆选择性扩增;④重组 DNA 的分离。

(2) 核酸杂交:是指两条不同来源的核酸单链(标记的核酸探针和未标记的目的 DNA)混合时形成杂合双链的过程。双链 DNA 常采用加热或碱处理分开成单链,称为 DNA 变性或融解。在一定条件下,两种同源或异源单链混合时,若碱基互补便结合为双链,称 DNA 复性或退火。主要方法有:①Southern 印迹(blotting),即 DNA-DNA 之间的杂交。②Northern 印迹,用于检测特异性 mRNA 的表达。③染色体原位杂交,用标记的 DNA 探针与原位变性的染色体 DNA 进行杂交,可在杂交前或杂交后对染色体进行分带,对探针识别的序列作出图谱定位。

(3) 聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR):能在体外快速及高效地从复杂 DNA 中特异地扩增目的 DNA 序列。将引物加入变性的 DNA 样品中,即能分别与各自互补的单链结合。在热稳定的 DNA 聚合酶和 DNA 前体物(dATP、dCTP、dGTP、dTTP)俱在的条件下,启动新互补链的合成。PCR 常用于疾病基因的克隆分析和药物(试剂)制备。

2. 蛋白质研究方法 蛋白质作为细胞和组织的结构和功能的主要基础物质,对其研究的难度大于对核酸的研究,这是因为蛋白质有高度复杂的三维空间结构,其结构及活性容易受到多种因素的影响。该方法在兽医内科学上常用于酶、激素、受体、特殊病理产物的分析。

(1) 蛋白质分离纯化:蛋白质数量多、性质不一、结构各异,因此,应根据不同蛋白质的各自特性,用相应的方法分离纯化。蛋白质分离纯化的方法很多,可作如下分类。①利用溶解度差异的分离方法:用不同 pH 溶液沉淀蛋白质,用某些特殊的蛋白沉淀剂沉淀蛋白质,用不同盐浓度沉淀蛋白质,用有机溶剂沉淀蛋白质,以热变性去除不耐热蛋白质,用分配层析法(纸层析或薄层层析)分离蛋白质。以上方法只能粗提蛋白质,尚需用其他方法进一步加以分离。②利用分子大小不同的分离方法:透析、超过滤、离心分离、凝胶过滤(分子筛层析)。③利用蛋白质带电性质不同的分离方法:电泳(聚丙烯酰胺凝胶电泳、十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳等)和离子交换层析(应用阳离子或阴离子的离子交换剂)。④利用蛋白质吸附性质不同的分离方法:以氧化铝、硅胶、硅酸镁、磷酸钙等吸附剂吸附蛋白质后用不同溶液加以洗脱。⑤利用蛋白质特异性配体的亲和层析法:将能与蛋白质结合的配体(如抗体、受体拮抗剂、酶的底物等)预先结合到固相不溶介质上,这些配体可特异地与待分离溶液中的蛋白质结合,滞留于分离柱内,在洗脱混合物后,通过改变溶液的 pH、离子强度或采用某些更强的结合物来置换分离出目的蛋白。

(2) 蛋白质的鉴定:经分离纯化的蛋白质可进一步对其相对分子质量、等电点、含量、特异性等作出鉴定。测定蛋白质相对分子质量的常用方法是十二烷基磺酸钠(sodium dodecylsulfate, SDS)聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)(SDS-PAGE)或凝胶过滤,用已知相对分子质量大小的标准蛋白质在相同条件下作标准曲线,确定相对分子质量。用等电点电泳确定蛋白质的等电点(pI)值。蛋白质定量方法有凯氏定氮法、双缩脲法、Lowry 法、Folin 酚法、紫外分光光度法、考马斯亮蓝 G-250 法等。对目的蛋白的特异性检测方法常用蛋白印迹法(western blot),先以 SDS-PAGE 电泳分离蛋白质,再将蛋白电转移至聚偏

氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF)膜或硝酸纤维膜上,以特异性抗体与其结合,再用标记的第二抗体加以识别,特异性目的蛋白可呈显色反应。

(二) 细胞生物学研究方法

动物细胞培养技术的建立,使人们可以直接对所培养细胞进行观察和适当处理,是细胞器结构和功能研究的重要手段。

1. 细胞培养 从活体组织分离出细胞直接置于含 10% 小牛血清的适当培养基中培养,称为原代培养。原代培养的单细胞层经胰酶消化,取出部分细胞至新培养皿,重新增殖并形成单层细胞,称之为原代细胞株(primary cell strain)。原代培养细胞株的染色体构成均一,基因型一致,是遗传病分析的重要材料。

随着原代培养细胞株的不断传代其增殖能力逐渐降低,培养皿中细胞的密度也明显下降,因而使需要大量细胞的实验难以继续。要解决这一问题,可采用病毒或致突变剂使细胞永生化。所采用的肉瘤病毒(sarcoma virus, SV)40、腺病毒(adenovirus, AD)、乳头瘤病毒(papillomavirus, PV)、非洲淋巴细胞瘤病毒(epstein-barr virus, EB 病毒)等均为 DNA 病毒,可编码与抑癌基因 *p53* 产物结合的蛋白质,从而抑制 *p53* 基因的功能,使细胞周期监视机制失去作用而达到细胞的永生化。这种永生化的培养细胞称为细胞系(cell line)。用适当的筛选法可以从细胞系得到各种细胞突变株(mutant strain)。

2. 细胞融合 在生理条件下,细胞融合仅发生于受精和肌肉细胞融合等特殊例子。但在病毒和细菌感染时,可以观察到细胞的融合。

细胞融合技术的应用主要有:①互补检测:将 2 种具有相同缺陷表型的突变细胞融合,观察其表型是否改变,以检验这 2 个基因是否互补。②基因作图:人类遗传作图常采用人与小鼠的融合细胞,开始为异核体,之后开始有丝分裂,核包膜溶解,核合二为一。③单克隆抗体:采用免疫小鼠的脾淋巴细胞与小鼠的骨髓瘤细胞(*hprt* 基因缺陷)融合,经选择培养和克隆筛选,可以得到产生免疫原特异性单克隆抗体的杂交瘤细胞。特异的单克隆抗体具有重要的研究应用价值,用于抗原物质的纯化、定性、定量和分布的研究。

3. 大分子导入 蛋白质、RNA、DNA 等大分子在生理条件下是不能透过细胞膜的。大分子的导入方法主要有 3 大类。①利用载体的方法:先把大分子物质包入血影细胞或脂质体,然后与细胞融合。该法导入的分子大,效率也较高,需要导入样本量大时适用该法。②直接法:即显微注射法,只能导入极小量样本,但优点是可以将样本直接导入细胞核。③利用辅助剂(如磷酸钙沉淀法)的方法:多用于导入 DNA,优点是无需特别仪器,缺点是导入效率较低。

4. 细胞凋亡研究方法 细胞凋亡(apoptosis)又称程序性死亡(programmed death),是细胞生理性和病理性变化的一种结果。凋亡细胞除在光镜或电镜下显示有细胞缩小、核染色质浓缩、核裂解、凋亡小体形成等特点外,还可采用 TUNEL 法和核染色法进行检测。

TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labelling) 法利用凋亡细胞 DNA 断裂的特点,将生物素标记的 dUTP 结合到断裂末端,然后用卵白素-过氧化物酶与生物素结合,再以 H_2O_2 和二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色,可以灵敏地检出凋亡细胞。形态学方法可以直接对组织切片中的凋亡细胞进行定位定性检测。

细胞凋亡时染色质 DNA 断裂,形成 50~300 kb 的 DNA 片段或 180~200 bp 整数倍寡核苷酸片段,在凝胶电泳上表现梯形电泳图谱(DNA ladder)。采用碘化丙啶(PI)和双苯并咪唑(Ho)染色后,在氩离子激光或高压汞灯激发下,根据荧光颜色不同,可用流式细胞分析仪鉴定凋亡

细胞。

(三) 免疫学研究方法

放射免疫(radioimmunoassay,RIA)方法近年不断发展和完善,已广泛地应用于动物医学和人类医学的各个领域。所能检测的物质种类繁多,包括蛋白质、酶、多肽激素、甾体激素、肿瘤相关抗原、药物、传染性疾病的抗原、抗体、细菌以及病毒等,还能用于检测血液、脑脊液、尿液、羊水、胸腹腔积液等各种体液以及组织提取液、培养液等。计算机软件的开发,使得RIA的数据处理分析更为方便。

1. 酶联免疫检测方法 自1971年Engvall等建立检测可溶性物质的酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)和1972年Rubenstein等建立均相酶免疫测定(即酶放大免疫试验,enzyme-multiplied immunoassay test,EMIT)以来,酶联免疫检测方法进展很快,目前已成为一类较为成熟的方法,并随着在各个领域的广泛应用而不断改进。酶联免疫检测方法具有微量、特异、高效、经济、方便和安全等特点,被广泛应用于生物学和医学的许多领域,在理论研究和实际工作中都发挥了重要作用。

该方法用于检测小分子半抗原,如激素、药物成分和某些酶类,如葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、溶菌酶、苹果酸脱氢酶、真菌毒素等。

2. 荧光免疫技术 是以荧光物质作为标记的一种免疫分析技术。荧光物质的分子在特定条件下吸收激发光的能量后,呈激发态而极不稳定,当迅速回到基态时,释放出所有的光能,发射出波长较照射光长的荧光。荧光免疫技术可分为荧光免疫组织化学技术和荧光免疫测定两大类。荧光抗体技术属于前者,即利用某些荧光素通过化学方法与特异性抗体结合制成荧光抗体,仍保持原抗体的免疫活性,然后使荧光抗体与被检抗原发生特异性结合,形成的免疫复合物在一定波长光的激发下产生荧光,最后借助荧光显微镜检测或定位被检抗原。根据所用的方法可分为直接荧光抗体法、间接荧光抗体法和补体荧光抗体法。

荧光抗体技术在临床免疫中主要用于:①血液中T细胞、B细胞及其亚群的鉴定。②血清中自身抗体的检测(如抗核抗体、抗平滑肌抗体、抗线粒体抗体、抗甲状腺球蛋白抗体、抗胃壁细胞抗体等自身抗体)。③组织中免疫球蛋白及补体组分的检测。④特异的组织固定抗体检测。⑤特殊染色体的鉴定。⑥激素和酶的局部组织定位。⑦恶变组织中肿瘤特异性抗原的鉴定。⑧细菌和病毒的快速鉴定。⑨寄生虫的鉴定与研究(如血吸虫)。

该技术目前已用于IgE、HBsAg、HBsAb、甲胎蛋白(alpha fetoprotein,AFP)、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen,CEA)、铁蛋白、甲状腺素、促甲状腺素、卵泡激素、催乳激素、三碘甲状腺原氨酸、地高辛、氢化可的松等的检测。

3. 电子显微镜免疫细胞化学技术 是在保持抗体免疫性的前提下,把抗体用高电子密度的标记物(如铁蛋白、金等)或用经细胞化学方法处理电子密度能增高的标记物(如辣根过氧化物酶等酶类)标记后,与相应抗原结合,然后用电子显微镜观察的一种技术,简称免疫电镜技术。

免疫电镜能否成功主要依赖于以下几个因素:①细胞超微结构的保存;②能否保持组织的抗原性,并保持抗原于原位;③免疫试剂在组织中能否顺利穿透,并准确地识别、结合相应的抗原。在制定免疫电镜方法时要根据具体情况充分考虑以上3种因素。

(四) 原子吸收光谱与色谱技术

1. 原子吸收光谱法 是20世纪50年代中期出现并在以后逐渐发展起来的一种新型仪器分析方法,是基于蒸汽相中被测元素的基态原子对其原子共振辐射的吸收强度来进行定量分析

的一种方法。其仪器装置如图 1-1 所示:

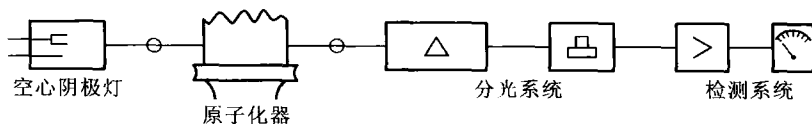


图 1-1 原子吸收分光光计原理示意图

试样被喷射成雾状后进入原子化器,在高温中挥发并离解成基态原子。空心阴极灯作光源,它发射出的特征谱线光经过一定厚度的原子蒸汽时,被选择性地吸收而减弱。在一定条件下,被吸收的程度与基态原子的数目成正比。通过分光系统和检测器测得特征性辐射被吸收的程度,从而测得被测元素的含量。

原子吸收光谱法可根据其原子化方式的不同,分为火焰法、电热原子化法(如石墨炉法)、氢化法和冷原子吸收法。

原子吸收光谱分析具有以下特点:①检出限低,灵敏度高。原子吸收光谱法的检出限一般可达到亿万分之一,即 10^{-9} ,灵敏度在 $10^{-13} \sim 10^{-5}$ g 范围内。②精密度好,一般低含量测定的精密度为 $1\% \sim 3\%$ 。③选择性好,谱线及基体的干扰少,且易消除。④应用范围广,可测定的元素达 70 多种。⑤快速简便,设备比较简单。⑥样品处理简单。

原子吸收光谱法的不足之处是:测定一个元素要换一种元素灯,使多元素同时测定有困难,有相当一些元素的测定灵敏度还不能令人满意。

2. 色谱法 是利用不同的物质在两个相中具有不同的平衡分配系数而呈现的保留差异来实现物质之间分离的方法。一个是在容器中固定不动的由吸附剂组成的固定相,另一个是流经固定相的由气体或液体组成的流动相。

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)是在经典液相色谱的基础上引入气相色谱法的塔板理论和速率理论,是在 20 世纪 70 年代初才真正发展起来的一种高压、高速、高效、高灵敏度和准确度的现代仪器分析方法。气相色谱法要求样品能瞬间气化且不分解,适用于低中沸点、相对分子质量小于 400 而不稳定的有机化合物。据估计,不到 20% 的样品可不经预先的化学衍生化而能直接采用气相色谱。与此相反,液相色谱的分离和检测过程较温和,不受样品挥发性和热稳定性的限制。液相色谱一般在室温下进行,只要样品能配制成溶液即可,特别适用于那些沸点高、极性高、热稳定性差的化合物。在生命科学、医药领域、无机和高分子化学中,液相色谱有着广阔的应用前景。

在气相色谱(gas chromatography, GC)中,载气的种类一般是不影响色谱行为的,只有固定相可供选择。而在 HPLC 中,固定相和洗脱液均参与分离过程,所以除了改变固定相外,还可以选择不同种类和不同组成的洗脱液,能较灵活地实现对分离的控制和改善。和 GC 相比, HPLC 对回收被分离的组分比较容易,只要把一个容器放在色谱柱的末端,就可以将所分离的某个流出物加以定量收集,这样可为红外、核磁和质谱(mass spectrometry, MS)等检测方法确定化合物结构提供纯样品。

应当指出, HPLC 和 GC 各有所长,相互补充,在 HPLC 得到越来越广泛应用的同时, GC 仍然占有其独特地位。色谱法作为现代分析手段,在兽医学中发挥着重要作用,现已广泛应用于兽药、农药、细菌毒素、植物毒素的含量分析。

三、临床研究方法

(一) 基因技术的应用

对于一些遗传病,可以根据临床症状作出判断,也可以通过异常蛋白质或其他生化物质诊断,但基因诊断方法则可以直接检测异常基因。可采用多种基因检测技术分析基因变异,如限制性内切酶解后的 Southern 印迹杂交;对点突变,可采用人工合成突变基因位点特异的寡核苷酸探针;对于多个缺失位点,可采用多重 PCR 等。基因诊断还用于药物代谢酶异常的检测。利用 PCR 技术扩增细菌、病毒等在动物体内的微量 DNA,从而提高检测灵敏度,这已成为临床常用的检测方法。

(二) 电生理技术心电图的应用

心电图技术已向小型化、智能化、遥测化方向发展。Holter 心电记录器可携带在动物身上,记录 24 h 动态心电图,大大提高了心脏电生理异常变化的检出率;通过遥测系统或与重症监护系统结合,可将心电信息自动采集、分析和处理,给心脏监护带来很大便利。

(三) 内镜技术的应用

纤维光学技术、微型摄像和计算机图像分析技术的结合,极大地改进了内镜技术,对胸腔、腹腔、盆腔、鼻腔、胃、肠道、支气管、心腔、血管等部位,都能顺利进行形态检查、活组织标本采集,并同时进行治疗。

(四) 成像技术的应用

1. 超声成像(ultrasonotomography) 是利用超声波的传播速度、反射和折射等特性通过动物体时所发生的改变,来观察动物体内的内部结构及其变化。其中,B 型超声诊断仪常用灰度调制获得二维图像,广泛用于测量脑、心、肝、肾、脾、子宫等内脏的位置、形态和结构改变。

2. 计算机断层扫描(computerized tomography,CT) 是指以 X 射线依次对动物体横断层进行扫描,所透过射线的衰减系数经计算机处理重建图像,以了解各种占位性病变或其他病变的技术。CT 检查全面,适用范围广,是当今国外兽医最常用的成像技术之一。

3. 磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI) 是基于磁共振的物理原理,即某些原子核(如氢原子核),当被置于均匀磁场内受到磁场高频脉冲冲击时,会出现反射性地发射高频脉冲的现象。这种反映受刺激原子核状态的反射脉冲,可以接收并经处理,而成为直接反映动物组织结构的影像。磁共振成像的原子核主要是氢原子,它广泛分布于动物体内,体内 2/3 的氢原子存在于水中,其余的在脂肪和蛋白质中,可以提供最全面的探测范围。

(郭定宗)

复习思考题

1. 什么是兽医内科学?
2. 如何运用现代技术从事兽医内科学的研究?
3. 如何学好兽医内科学?

参考文献

1. 余传霖,叶天星. 现代医学免疫学. 上海:上海医科大学出版社,1998:621-760.