

国外农业科技资料 (33)

家畜霉菌毒素中毒症

沈阳农学院科技情报室编译

1981.6

目 录

家畜霉菌毒素中毒症及其诊断

内容提要.....	1
引言.....	1
方法.....	2
附加实验.....	3

霉菌毒素性肾病

引言.....	5
猪的肾病.....	5
禽的肾病.....	10
马的肾病.....	12
致病原因.....	12

动情毒素对猪繁殖性能的影响

摘要.....	20
材料与方法.....	20
结果.....	21
讨论与结论.....	28

家畜霉菌中毒性疾病一览表

家畜霉菌毒素中毒症及其诊断

A. C. Pier, S. J. Cysewski, J. L. Richard

内 容 提 要

霉菌毒素是生长在饲料或食品上的霉菌代谢产物,可使消费者发生不应有的生物学反应。已知,产生毒素的霉菌种类超过100种,在用于家畜的饲料、饲草中已发现了30多种霉菌毒素。除麦角之外,在美国还存在一些天然的霉菌毒素,引起了严重的家畜疾病。主要毒素有黄曲霉毒素(Aflatoxin)、棕曲霉毒素(Ochratoxin)、有毒顶孢霉毒素(Trichocenes)(例如T-2毒素)以及动情毒素(Zearalenone)。还有一些霉菌毒性物质,如拒食——催吐因子(refusal-emetic Factors)、桔青霉素(Citrinin)、黄霉菌毒素(Sterigmatocystin)、红青霉毒素(Rubratoxin)、流涎因素(Slaframine)和青霉震颤素(Penitrem)。这些物质也常常引起动物发病或造成经济损失。有些霉菌毒素在大剂量时,可使动物出现临床症状,引起人们的注意,并能够作出诊断;然而,小剂量时,不见临床症状,但可以产生严重的经济损失,如阻滞生长,生产性能下降,免疫反应低下,抗感染力下降,繁殖力丧失,畸胎形成和发生癌症等。

唯有在饲料内或畜体内确定有与该病有关的霉菌毒素,才能确切地诊断为霉菌毒素中毒症。目前,霉菌毒素的特异鉴定是用薄层层析法、质谱分析和饲料抽样的生物学试验。本文还对霉菌毒素诊断的现行程序与要求、法律责任、检查各种毒素的化学和生物学方法及其检测水平作了讨论。同时强调了为

保证兽医诊断而扩充实验室贵重专门设备的必要性。

引 言

认识到霉菌毒素是动物疾病的重要起因的时间并不算长。几百年间在兽医和人医知道麦角中毒(霉菌中毒)的原因和作用以来,只是在认识到很多严重的致死性的损失是急性黄曲霉中毒的结果时^[14,20,25],我们的注意力近些年才集中到这些问题上。霉菌毒素是生长在饲料或食品上的霉菌的代谢产物,这种饲料或食品给消费者带来不应有的生物学反应。其影响范围很广,包括家畜、家禽、野生动物、玩赏动物及人。已知超过100种以上的霉菌可以产生毒素。已经发现用于家畜的谷物、饲草和其他饲料中有30多种霉菌毒性物质。摄入高剂量,通常引起明显的症状和死亡,摄入低剂量,在缺乏明显的疾病症候下,却引起严重的经济损失。急性和慢性霉菌中毒为检验工作者提出了很多问题。人们对鉴定这些疾病的技术还没有充分地了解和应用。

为诊断某一种霉菌毒素中毒症,必须在出现临床症状患畜所用的饲料内证实有足够数量的已知的霉菌毒素,偶而,也可在短期采食饲料之后,在患病动物的体液或组织内,证实存在有已知霉菌毒素或其代谢产物。很明显,被证实的毒素的已知作用应该与实际受累动物的损害与症状相吻合。霉菌的分离及其鉴定,并不能构成该霉菌毒素中毒的足够依据,其原因是:(1)所有的产毒品种

的菌株不一定产毒；（2）产生毒素所必须的湿度、温度等情况并不存在；（3）由于加工或其他原因影响到饲料的缘故，原来产毒的菌株可能生存的时间并不太长。这样一来，使某种有害的霉菌毒素所致的中毒诊断变得复杂，因为必须从引起相应症状和损害的实验动物所用的可疑饲料样本中分离出特异性的霉菌毒性代谢物。

美国，最主要的家畜霉菌毒素是黄曲霉毒素、麦角、棕曲霉毒素、有毒顶孢霉素（如T-2毒素）和动情毒素。偶尔，其他一些毒素，其中包括拒食——催吐因子（它常伴随动情毒素）、桔青霉素、拟曲霉素、红青霉素、青霉震颤素和流涎因素，也可引起动物发病。有一些在世界其他地区具有经济意义的霉菌毒素中毒症在美国还没有出现或很少见到；值得注意的是蕈孢霉素（Sporodesmin）；它是新西兰面部湿疹和马匹葡萄穗霉毒素中毒症（Stachy-botryotoxicosis）的原因，属于有毒顶孢霉素中的一种。主要毒素、它们的来源、作用以及测定方法等有关主要参考文献摘记于表1。

方 法

黄曲霉毒素、棕曲霉毒素、T-2毒素和动情毒素是家畜主要霉菌毒素，它们为诊断实验提出了一个新的问题。不同于麦角，测定这些毒素的检验法是新的，而且其专门技术也没能广泛应用。这些毒素的试验方法和灵敏性列于表2。为了测定毒素，业已提出检验某些商品的法定方法。

黄曲霉毒素：是一种肝毒素，在急性和亚急性剂量下，可引起肝炎、肝坏死、血液凝固不全、出血及死亡。多数的慢性病例表现为肝的脂肪变性，胆管增生，生产性能降低，增重缓慢，抵抗力下降，甚至可出现免

疫性能低下。黄曲霉毒素系有发生畸胎及致癌作用。该毒素是由四个相近的化合物组成（ B_1 , B_2 , G_1 , G_2 ），在紫外线下为蓝色荧光（ B_1 , B_2 ）或为绿色荧光（ G_1 , G_2 ）； B_1 是最主要的毒素，最具有诊断意义。毒素具有热稳定性，溶于氯仿或木醇。饲料抽样的黄曲霉毒素的定量定性是以硅胶薄层层析（TLC）方法与观察紫外线下的典型荧光点来判定：使用适当的内标和外标是必需的。为定量该毒素，通常推荐Eppley氏的复合毒素法^[10]；据报道，该法可测得一般商品中32ppb的黄曲霉毒素，而玉米则可测出的1—3ppb水平。现行的动物饲料黄曲霉毒素检测水平为20ppb。混合性饲料，特别含有苜蓿粉的，存在与荧光物质反应一致的，不易鉴别的检查问题，这时可用其它实验^[29]。

棕曲霉毒素A：低剂量引入，是引起肾小管变性、坏死和肾病的肾毒与肝毒，主要发生在猪。高剂量时，由于营养作用的结果*，某些种动物经常发生肝脏的变性与坏死。棕曲霉毒素A可致畸胎发生。该毒溶于氯仿或酸性苯中，并可用薄层层析法对饲料提取物进行该毒素测定。毒素在薄板上紫外线下荧光呈黄绿色。也要采用适合的内标和外标。推荐的Eppley氏复合毒素法定量棕曲霉毒素A^[10]，该法测定玉米或其他商品的水平为50ppb或再高些。

动情毒素：也许是遇到最多的霉菌毒素。能产生动情效应，可影响到繁殖机能，导致弱仔或死胎。该毒素经常出现于霉玉米中，并可伴有其他镰刀菌代谢产物，如饲料的拒食——催吐因子及有毒顶孢霉素。动情毒素（F-2毒素）溶于氯仿和酸性苯混合物中，可用薄层层析法测定其提取物，或用动情效应的生物学试验来鉴定。在薄层板上短波紫外线下观察，该毒素荧光为黄绿色，同时应该与已知的内外标加以比较。推荐

* “营养”原文为神经，可能有误。一译者注

Eppley氏复合毒素测定法来测定动情毒素的含量^[10],其灵敏度一般为500ppb,但是玉米中可测定到200—300ppb。用刚断乳小鼠或大鼠作动情效应的生物学鉴定,即便是所采用的剂量很低,仍具有较高的灵敏性。推荐Mirocha等氏的生物学鉴定^[21],重复肌注饲料提取物可引起子宫早熟性扩大。超过7天160mg或更多一点的积累量可导致有意义的子宫扩大。

黄曲霉毒素^[27]、棕曲霉毒素和动情毒素^[30,32,33]的可靠检验已有报道,但在很多场合下,是要充分而又适当地应用内外标或生物学方面的证实。气相色谱、液相色谱和质谱分析的应用,可以大大地增加霉菌毒素检验的准确性和灵敏度,然而,目前所引证的这些方法也正在普遍地采用。

T—2毒素:为有毒顶孢霉毒素组中的一种,是由镰刀菌侵害生长的或贮藏玉米、青贮及其他饲料而产生的。顶孢霉毒素因为能破坏分化迅速的细胞如真皮、肠上皮及骨髓而为人们所认识。T—2毒素为真皮坏死性毒素和较次的肝毒素。高剂量饲喂,引起唇或口腔坏死,口腔、肠粘膜溃疡,肝脏变性,出血甚至造成动物死亡。长期的低剂量饲喂,可引起增重缓慢,抑制造血,血液凝固不全,神经症状。该毒素溶于氯仿和丙酮中,并可用薄层法测定,用对——茴香醛喷雾层析板,加热并在紫外线下观察为蓝色荧光。一般采用Eppley等氏的方法定量T—2

毒素^[11]。但该法不太灵敏,其检出水平为1000ppb或更多些。当怀疑有该毒素时,建议采用上皮坏死性生物学检验(灵敏度可达100ppb)^[3]。当学生检验阳性时,上皮坏死性材料的鉴定可用气相色谱,液相色谱和质谱设备,同时在具有已知顶孢霉毒素标准及解释它们的经验的实验室得到证实^[22]。

附 加 实 验

在没有其他代替办法证实饲料或动物体内有特异性毒素时,对模拟发病的证据不足或鉴定的毒素处于边缘水平的病例,可采用临床病理学检验。(该情况可因饲料收集“辣手”“hot spots”或取样程序不当所致,或因某种霉菌毒素取样检验无效)。

临床化学方面,可用肝功试验、被检血清转氨酶试验与血凝试验来检验肝敏性霉菌毒素。黄曲霉毒素中毒,首先可观察到的变化是肝功的降低(BSP T_{1/2})^[8];在红青霉素存在时,也会有相似的结果。据报道,某些霉菌毒素可引起血凝不全,凝血酶原时间受到影响,但其他参数变化不定^[8,9]。肝细胞大量坏死时,血清酶的活性、特别是谷草转氨酶(GOT)和草酰乙酸羧化酶(OCT)受到影响,但也见有肝功极度降低时,这些酶可保持在正常水平。因此,恰当地考虑这三个因素,对兽医检验工作者是会有所帮助的。

(诊断问题:该部分内容说明实验室工作的重要性以及法医方面等问题,从略。)

(参考文献35篇,略)

译自 Proceedings of 18-th Annual Meeting;
The American Association of Veterinary
Laboratory Diagnosticians, 419—432.

(周洪涛 译 韩维廉 校)

表 1

已鉴定出的霉菌毒素的主要作用

霉菌毒素	霉菌种类及一般饲料来源	主要作用	参考文献
黄曲霉毒素 (黄曲霉毒素B ₁)	黄曲霉, 寄生曲霉; 玉米, 棉花籽、花生、多种谷类	肝毒、致肾和畸胎发 生、血凝、蛋白形成、 生产性能、增重、抵抗 力和免疫力的破坏。	4、8、14 20、26
桔青霉素	桔青霉、土曲霉菌(其他) 小麦、大麦、燕麦	肾脏毒。	4、12、19
麦角	麦角菌 黑麦、大麦、燕麦、小麦、 牧草等	血管紧张与催乳素抑 制, 末梢坏疽, 神经症 状, 降低生殖能力。	1、17
棕曲霉毒素 (棕曲霉毒素A)	棕曲霉 鲜绿青霉(<i>P. Viridicatum</i>) 玉米、大麦、燕麦、小麦	肾毒和肝毒。	2、4、18、19、23
震颤原 (Tremorgen) (Penitrem)	徘徊青霉(<i>P. palitans</i>) 软毛青霉(<i>P. puberulum</i>)	震颤、运动神经共济 失调、痉挛。	4、6、7
红色霉毒素 (红色霉毒素B)	紫青霉 玉米	肝毒与畸胎发生。	4、13、35
Slaframine	丝菌核 三叶草、干草、牧草	组胺样作用、流涎、 流泪、腹泻。	5、16
蕈孢霉素 (Sporidesmin)	<i>Pithomyces chartarum</i> 黑麦、禾本科草、牧草	肝毒、光过敏作用。	16、28
黄霉菌毒素 (Sterigmatocystin)	杂色曲霉(<i>A. versicolor</i>), 其他小麦、玉米	肝毒、致癌和畸胎 发生。	4、34
T-2毒素	三线镰刀菌, 其他 玉米、饲草、青贮	真皮坏死性的, 肝 毒性的毒素抑制造 血。	16、20、31
动情毒素 (Zearalenone)	粉色镰刀菌、其它 玉米	雌性化、降低繁殖机 能。	16、20、21、24

(表 2 下转第19页)

霉菌毒素性肾病

科技情报

Palle Krogh

引言

霉菌毒素性肾病是因食入污染有肾毒性霉菌代谢产物的食物而引起的肾脏疾患。

该病是以形态学上肾小管变性和功能上肾小管机能损伤为特征。

第一次描述霉菌毒素性肾病要追溯到1920年。一位工作在丹麦屠宰场肉品检验的病理学家 Svend Larsen, 当时每每发现猪的特殊的肾损伤。通过该病的实验性的复制, 他于是把肾脏损伤与摄入霉菌饲料连系了起来。1928年的对于猪肾病的描述可以认为是自18世纪发现麦角菌引起的中毒(麦角中毒)以来家畜霉菌毒素中毒症中头一篇好的文献报告。

因此, 把收集来的大量关于猪肾病的报道作为本文的主要内容。当然, 发生在禽类和马匹中的霉菌毒素性肾病的自然病例也确实存在, 而且在其他种类的动物中, 包括鸟类和鱼在内也已实验性地导致霉菌毒素性肾病的发生。

Ⅱ. 猪的肾病

1. 流行病学

像在丹麦饲喂全程半年的腌肉型猪组成的猪群, 绝大部分、即96%个体猪是正常的。这种短期的饲喂可以使霉菌毒素性肾病的大批病例不致发展到种种肾功能不全状

态, 因而不能做出临床诊断。唯一的症状是剧渴和多尿(Larsen, 1928), 这种情况, 在多数实际工作中是很容易观察到的。

由于缺乏可利用的临床资料, 因此该病的发病率和病的分布调查是依据在屠宰场肉检中尸体剖检的材料。

1970年, 为了收集全部屠宰场(以月为单位)的发病率资料, 丹麦建立了国家猪霉菌毒素性肾病的登记中心(Central Registration of Mycotoxic Porcine Nephropathy)。看来, 该病似乎在1971年流行于丹麦的整个地区, 虽然分布各异, 且发病率从千分之0.6至65.9不等(Krogh, 1976)。1963年和1971年出现的爆发流行, 似乎是与意外的气候因素有关(图1)。在如下的农场具有较高的发病率: 牧场越小, 发病率越高。据记载, 经过一段时间, 牧场的发病率有很大的波动, 大部分发生肾病的牧场, 仅仅是在头一年的期间内发生, 而次年则不发生。具有明显的性别差异, 母猪高于公猪(去势的)。猪的霉菌毒素性肾病的流行病学与巴尔干半岛地方性肾病(人的一种肾损伤)的流行病学有相类似的表现。

除丹麦之外, 挪威、瑞典(Møller, T, 未发表)以及爱尔兰也报道有猪的霉菌毒素性肾病的发生(Buckley, 1977), 而且其他国家也象是提示有发生本病的非官方报道。除丹麦外, 还没有得到来自其他国家有关发病率的报告, 这只不过是还没有在国家范围内真正地努力去检验的缘故。

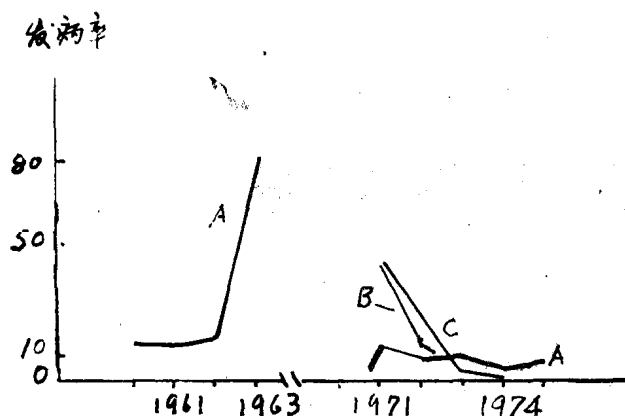


图1 丹麦几个区的猪霉菌性肾病发病率变化(千分之), 1963—1970年缺乏资料。1961年A(A: Sorø县; B: Kalundborg县; C: Aars县), 1971年A、B、C的爆发情况。

2. 临床症状

剧渴和多尿,早已为Larsen (1928) 所提到,另外,还见有胃肠炎和生长迟钝。近来用肾霉毒素自然污染的任何一种粮食(Madsen等,1965)、结晶桔青霉素(Friis等,1969)和自然污染棕曲霉素A(OA)的饲料(Krogh等,1974)所复制的实验病例,除胃肠炎外发现具有一系列相同的症状。

由于腌肉型猪生存期暂短,因此自然感染的慢性霉菌毒素性肾病死亡率很低。但是,可观察到很多刚断奶仔猪的急性综合症,具有与霉菌毒素性肾病一致的肾损伤;称之为“肾周围水肿(Perirenal edema)”

(Larsen等,1962)。该病除了剧渴和多尿症状外,还具有皮下水肿,运动失调、角弓反张和腰部两侧的腹壁膨起。通常在1—2天之内死亡,死亡率在40—90%之间。

肾周围水肿多与食入某些杂草有着因果关系(Buck等,1966; Osweiler等,1969)。而且,近来用含鲜绿青霉(*Penicillium viridicatum*)的肾霉毒素培养物的燕麦,已实验性地复制出综合症(Carlton和Tuite, 1970),并且也观察到肾水肿的自然病例总是与棕曲霉素A的肾脏残留量以及棕曲霉素A污染饲料引起的早期症状相关连(P.Krogh、F.Elling, 和B.Hald, 未发表)。这就对霉菌毒素性肾病本身的综合

症候群部分地加以佐证。

3. 肾脏形态的改变

a. 自然病例

Larsen (1928) 报道了肾脏扩张、苍白、肾表花斑。显微镜下,其损伤是以肾小管上皮变性和皮质间形成结缔组织为特征。Elling和Møller(1973)证实,在饲用含有棕曲霉毒素A饲料的猪群爆发了猪的肾病。检查19头猪,所有的肾脏均发现损伤,但表现各异。变化最显著的肾脏,重量增加25%。肾实质呈灰红色,纤维化弥漫于整个皮质。近曲小管往往萎缩,肾小管基底膜变厚。很多肾小球全部透明化,并且在皮质处见有包裹。相似的肾损伤也见于爱尔兰报道的猪只,该猪饲以含水份较高的有典型霉菌生长且有霉菌毒素形成的贮存大麦(Buckley, 1971)。

b. 实验性病例

与自然病例相同的肾损伤见于Krogh等氏(1974a)用三组棕曲霉毒素A含量不同(4,000,1,000,200ppb)的复制病例中(ppb=μg/1kg饲料)。此等毒素的含量相当于引起猪肾病的饲料中含有棕曲霉毒素A的浓度(Krogh等,1973)在四个月的饲喂期,低浓度组(200ppb)所出现的只是显微镜下的肾损伤,然而接受1,000,4,000ppb的,则导致双侧肾脏的扩张、苍白并于肾表伴有花斑。镜下,棕曲霉毒素不同浓度的各组都

可观察到肾皮质的弥漫性纤维化病变(图2)。肾的纤维化,其腹侧较背侧为显著。

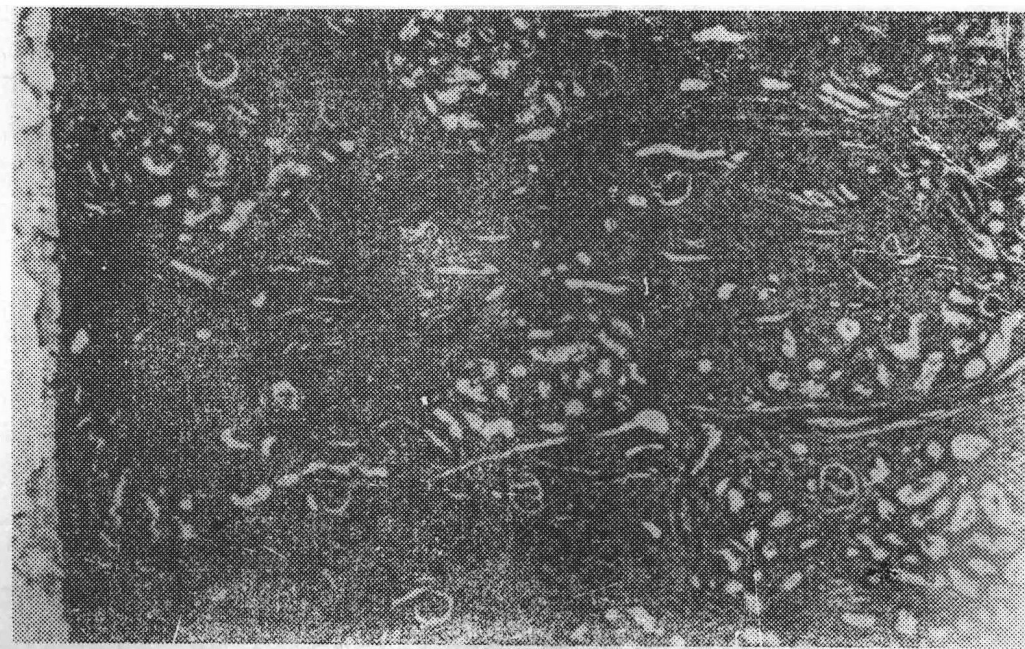


图2 饲以400ppb OA猪的肾脏。皮质。间质明显增生及肾小球周围纤维化。H·E·45X。
(引自斯堪地那维亚病理学和微生物学通报, A, 补充№246, 1974)

这个特征在自然病例中已为人们所熟知。近曲小管的变性是以小管扩张为特征, 并可观

察到刷状缘缩小(图3), 核扩大。围绕这些小管的基底膜有时要比正常为厚。很多的



图3 饲以1000ppb OA猪的肾脏。纤维化组织的纤维围绕了正常肾小球的顶部及扩张的近曲小管, 刷状缘缩小。
H·E·235X。(引自斯堪地那维亚病理学和微生物学通报, A, 1974, 补充№246)

肾小球萎缩成堆和硬化(图4)。少数猪只肾皮质可见到相当数量的包裹, 直径从勉强

可见到1厘米。组织学观察, 包裹为一层扁平内皮细胞排列而成; 它们相当于增生的淋



图4 饲以4000ppb OA猪的肾脏。硬化的肾小球位于纤维化组织之中。

H.E.235.X (引自斯堪地那维亚病理学和微生物学通报, A.1974, 补充№246)

巴细胞。没有发现其他器官和组织的损伤。饲给猪以结晶桔青霉素, 剂量为每公斤体重20、40、100mg, 也招致同样的肾病(Friis等, 1969)。给狗投以桔青霉素, 剂量每公斤体重20、40mg, 也发现肾的损伤(Carlton等, 1974), 其特征是肾小管上皮的变性与坏死, 最突出的变化是在亨利氏(Henle)粗段和远曲小管。此外还见有肠套叠。

以大剂量OA饲以猪和狗的实验病例, 肾脏损伤与上面提到的相同(Szczeczek等, 1973a,b,c); 另外, 还存在包括淋巴组织、以及淋巴结和脾脏在内的肠道的坏死, 肝脏的脂肪变性和白血细胞总量的减少。这些附加的变化, 完全可以认为是使用高剂量OA的缘故, OA使用的总量是与自然污染饲料

的量不同的。

4. 肾功能的改变

实验性病例

在上述的实验性猪肾病的研究中(Krogh等, 1974c), 对用三组不同剂量OA的动物, 进行了肾功能的研究。高剂量OA(4000ppb)的实验组, 4—6周后, 血中肌酐和尿素有明显的增多。血浆清除率测定表明, 肾小球滤过率降低(图5)近曲小管功能的损伤可用 Tm_{H_2O} 、 Tm_{PAH}/C_{zn} 的比率下降(图6)和葡萄糖排泄的增加这些指标来说明。损伤是与投与量饲料的OA浓度存在直线回归。1,000、4,000ppbOA的猪, 其浓缩尿的能力下降。4,000ppbOA组的猪烦躁是极其明显的。

注: Tm_{H_2O} : 对氨基马尿酸的小管分泌最大速率。

C_{zn} : 菊糖(血浆)清除率。

(译者注)

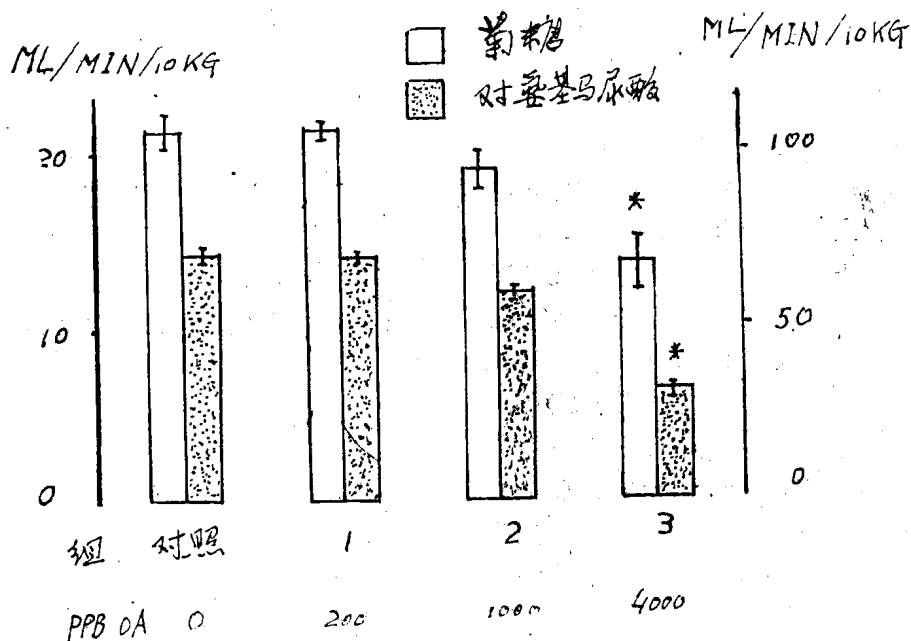


图5 获OA三个月后猪的菊糖和对氨基马尿酸 (PAH) 清除率。资料来源于对照组、组1、组2的各6头动物及组3的4头动物。*表示 $P < 0.05$

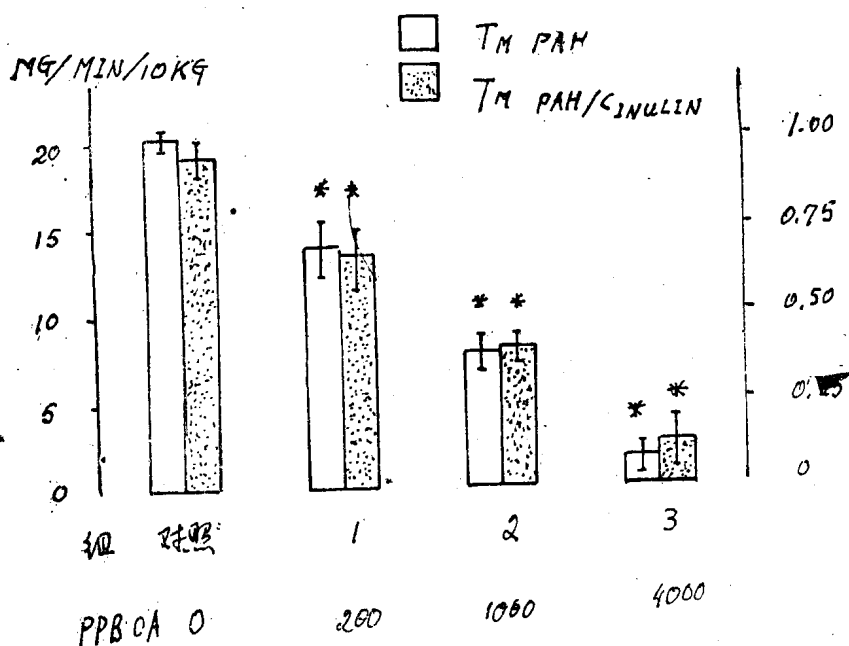


图6 对氨基马尿酸小管分泌最大速率 (Tmp PAH) 与CZn (菊糖血浆清除率) 的比率, 进食OA三个月后的猪, 资料来源于对照组、组1组2的每组6头猪。组3的4头猪。*表示 $p < 0.05$

尿量反应与向尿中排泄蛋白质的增多有关。蛋白质主要为白蛋白和与其相似或分子量较大的蛋白质, 表示为“肾小球”型蛋白尿。但是人即使在获毒量较高的情况下, 虽

然存在近曲小管的明显的形态与功能的障碍, 也不存在低分子量蛋白尿的增多, 典型的近曲小管功能紊乱 (Butler 和 Flynn, 1958) 以及典型的各种慢性肾功能衰竭

(Johansson 和 Ravnskov, 1972)。这就提示,猪肾脏对低分子量蛋白质的处理是与人的处理方式不同。

亮氨酸氨肽酶 (LAP), 是正常存在于近曲小管刷状缘的一种酶, 出现在尿中。在进食 2 周高剂量霉菌毒素污染物之后, 排于尿中的 LAP 已明显增多。同时伴随出现皮质中的 LAP 的活性下降。该情况已为组织化学的研究所证实 (Elling, 1974); 同时也在皮质处见有谷氨酸脱氢酶 (GLDH) 和天门冬氨酸转氨酶 (AspAT) (或者是谷草转氨酶) 的活性下降; 然而, 已糖激酶 (HK) 和葡萄糖-6 磷酸-脱氢酶则无变化。这些改变与严重的皮质纤维化相一致。血浆酶活性不发生变化的有乳酸脱氢酶 (LDH)、同工酶 LDH₁、和 LDH₂、谷氨酸脱氢酶 (GLDH) 和亮氨酸氨肽酶 (LAP)。

Szczecz 等 (1973c) 观察到, 十次投给猪以较高剂量 OA, 尿中 LDH 异柠檬酸脱氢酶 (ICDH) 和 GOT 含量显著地增加, 但是, Krogh 等 (1974c) 发现, 用上述方法感染的实验中, 并不见有尿中 LAP 的增多。枯青霉素性猪肾病 (Friis 等, 1969) 是以

糖尿和轻微的蛋白尿为特征, 血中肌酸酐和尿素急剧增多。Carlton 等氏在 (1974) 给狗进食相似量桔青霉素, 发现血中的尿素、尿蛋白增多, 尿的比重下降, 以及尿中 LDH、GOT、ICDH 含量增加。田间爆发的未知病原的肾周围水肿是以严重的大量血尿和代谢性酸中毒为特征, 并且发现血中白蛋白减少和 α -球蛋白增多 (Larsen 等, 1962)。以口服绿青霉玉米培养物, 可使小猪实验性发生肾周围水肿, 其特征是血中尿素增多、蛋白尿和糖尿 (Carlton 和 Tuite, 1970)。

II. 禽类肾病

1. 流行病学

关于禽类肾脏病理学的报道为数很少, 而且有关该病所造成的肾功能的改变与其所相伴随症状所知更少。在屠宰禽类进行检验的国家里, 常常认定病的实质是肾的损伤, 而通称为“肾炎”。正如下面要详细讨论的, 本病的实质似乎是包括好几种肾损伤, 其中包括霉菌毒素性肾病。

在丹麦, 少数屠宰场在检验时, 把禽类

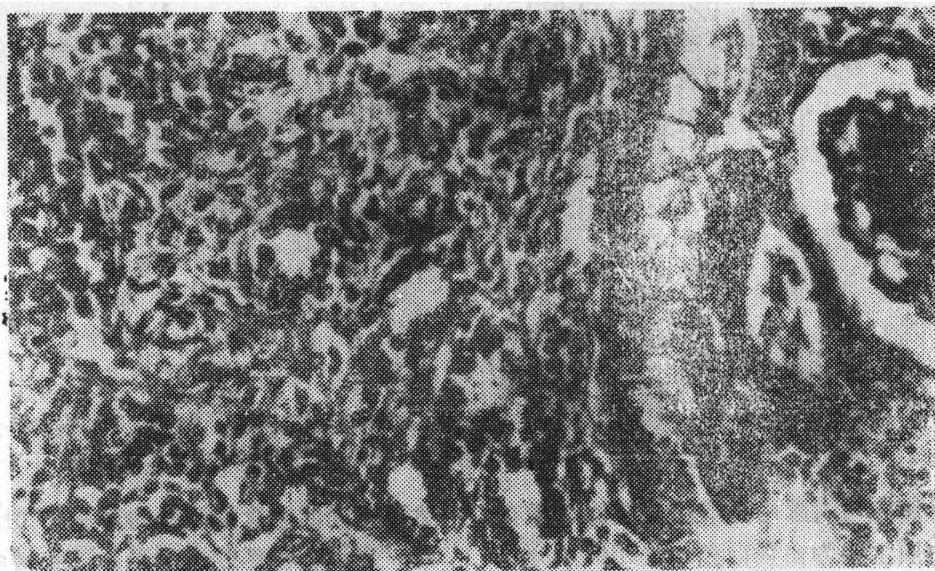


图7 母鸡肾脏。(自然病例—肌组织含 13.7ppb OA) 萎缩的小管 (单箭头所示) 位于硬化区。

脱落的上皮细胞 (双箭头处) 和气球样细胞 (三箭头处)。

H.E. 200X (自 F. Elling 照片)

肾损伤看成是该病的实质,也就是说,“肾炎”的流行病学的初步研究似乎表明,禽的发病率在同一地区和同一时期,与猪肾病是相同的。

2. 肾脏形态的改变

a. 自然病例

屠宰场肉检中因肾损伤而淘汰的雏鸡和

母鸡的初步病理学的研究表明,事实上29%的损伤是源于饲以OA相关的肾病(Elling等,1975)。肉眼观察,肾脏苍白、肿大的镜下,损伤是以扩张状态的小管上皮变性,“气球样”变和上皮细胞脱落为特征(图7)。往往可以看到具有巨核的上皮细胞。这些变化是与间质纤维化相伴随(图8)。

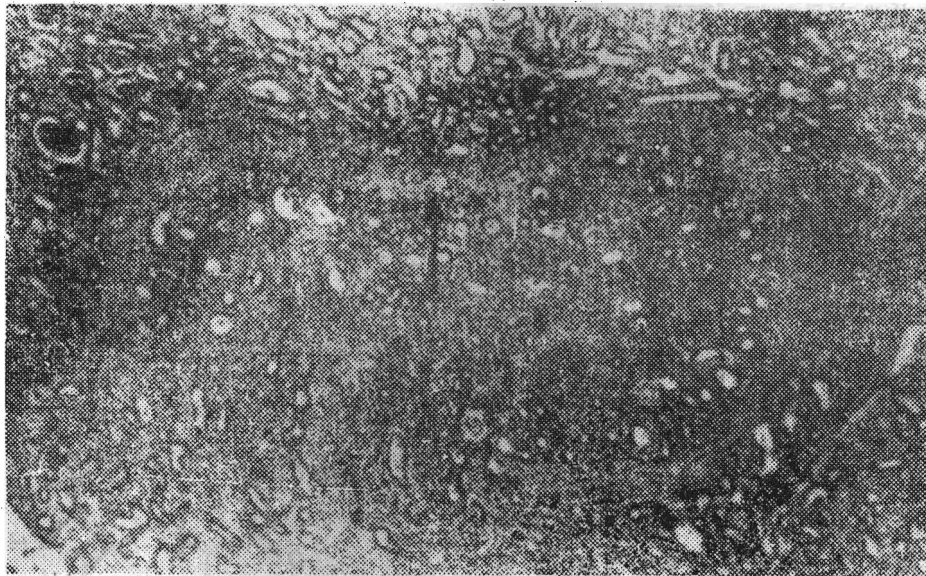


图8 肾脏,同图7。被膜肥厚,围绕着神经束的(箭头处)所及间质的纤维组织增生。H.E. 163X(自F.Elling照片)

b. 实验性病例

Krogh等(1975a)用OA饲喂来航鸡的长期研究中,复制了相当于自然病例的肾损伤。使用两种剂量—300、1,000 ppb;与观察到的自然污染谷物中的含量相一致。小管的变性是以“气球样”上皮细胞、上皮细胞坏死以及具有巨核细胞为特征。刷状缘轻微减少和模糊。该变化不如自然病例所观察到的那样明显,而且也不存在间质的纤维化组织。

口服大剂量OA、OB给母鸡(Peckham等,1971),可发生急性肾炎和内脏痛风。另外也见有肝的损伤、骨髓造血抑制和淋巴组织的变化。Huff等(1974)发现,含量0.5~0.8ppm OA饲料短期进饲母鸡,肾脏

出现肿大和苍白等明显的损伤。但没有见到组织学上描述的报道。

3. 肾功能的改变

实验性病例

在上述以OA发病的禽肾病实验研究同时,进行了肾功能的测定(Krogh等1975)。变化的特点是肾小管功能的损伤,其指标是 T_{MPAH} 降低(在OA的两组剂量中降低1/3),以及浓缩尿的能力下降(静脉注射血管加压素之后)。两个实验组均可见到烦渴,特别是高剂量组(1,000ppb OA)尤为明显。肾小球滤过率下降(以菊糖清除率作为指标),滤液具有血浆蛋白水平,意味可能有肾性蛋白的丧失。

Ⅲ. 马的肾病

剧渴与多尿是猪的霉菌毒素性肾病的主要症状，并且在某种程度上也出现在禽类；采食霉菌饲料的马匹，以这些症状为症候群，也长期为人们所了解。实际上，这些症状在猪和禽非常容易忽视；而马的多尿是容易看出来的，这是因为通常对马匹要比对其他农畜更加注意的缘故。马匹中多尿的病例，实际上拒绝这种饲料，并能将这种变化的饲料（“发霉的”）挑出去。因此，马匹不能一次投以比几天之间所投给的更多的发霉饲料（肾毒素性的）；这样一来，马的肾脏的损害不足以发展成明显的肾病。这一假设，可以解释为什么马肾病报道不多的原因。有一篇报道，叙述一匹3岁母马的肾病病例，体重逐渐下降，最终死亡（Andrews, 1971）。尸体剖检，肾脏的损害是唯一的表现。镜下，皮质小管变性，肾小管大量地被纤维组织置换。肾小球处于各期的变性与硬化，在大多数肾小管内形成草酸钙结晶，尤其以近曲小管内居多。当然，草酸盐或植物内的或饲料内霉菌产生的，都是致病原因。曾见到牛因草酸盐中毒，肾功衰竭而导致死亡的报告（Seawright等，1970）。草酸盐主要存在于草原植物（*Setaria Sphacelata*），但是产生草酸盐的或其他肾毒性代谢产物的霉菌在一些情况下也是致病因素。

V. 致病原因

很多微生物的混合物经口或非经肠的引入宿主机体，可引起肾的损伤。抗菌素也是一组大家都知道的混合物，其中有一些在长期应用时可引起肾功能和形态上的改变，这是与霉菌毒素性肾病变化相一致的。该问题近来 Kleinknecht 和 Fillastre (1973) 已有评述。

因此，本文仅就具有肾毒性质的霉菌代谢物加以考虑。尽管很多肾毒性霉菌混合物从实验性的研究中已经了解，但还是要将文献集中在有关自然界产品中出现的肾毒性霉菌毒素方面及至少在推测上，从病因的角度认为是肾病的自然病例。

1. 肾毒性霉菌的代谢产物(霉菌毒素)

a. 肾毒性霉菌毒素的化学

桔青霉素是 Hetherington 和 Raistrick 在1931年发现的。他们从几个桔青霉菌株中分离出来。是桔青霉素的化学结构。其结晶形式

桔青霉素的理化性质摘要如下： mp 170—172°， $[\alpha]^{22}_D$ -27.7°； $[\alpha]^{22}_{578}$ -31.5°； $[\alpha]^{21}_{446}$ -46.1°（ $C=0.62$ 无水酒精中）；分子量259（Krogh等，1970）。

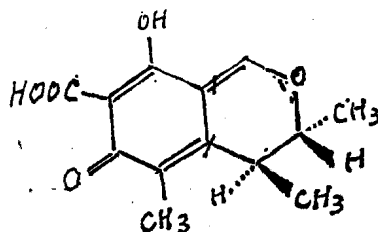


图9 桔青霉素的化学结构

桔青霉素的光谱资料已为 Neely 等氏评述 (1972)。

桔青霉素是日本战后“OO—hen—mai”（“黄变米”）问题的主要原因，因此食品内桔青霉素的测定方法从此也就发展起来了，用桔青霉素氯化铁复合物进行比色测定（Taira, Yamatodani, 1947）。Kawashiro 等 (1955) 发展了以萤光法为基础的一种测定水稻的方法，Scott 等 (1970a) 公布了普检霉菌提取物（包括桔青霉素）的薄层层析法（TLC）。于1972年，他们又发展了一种改良法来测定谷类的桔青霉素（Scott 等，1972）。用于大麦的密度计量的薄层层析定量分析方法（densitometric TLC quantitation）近来已经公布（Hald 和 Krogh，

1973)。Saitomals等(1971)的最近的评论,概述了桔青霉素的化学与对动物的生物学作用以及破坏生命的性质。

棕曲霉毒素(Ochratoxins)是一组结构上相近的化合物。该组的第一个被发现的化合物—OA是1966年从棕曲霉(*Aspergillus ochraceus*)分离出来的(van der Merwe等,1965)。图10表示出棕曲霉毒素的化学结构。OA、OB之所以重要,是因为

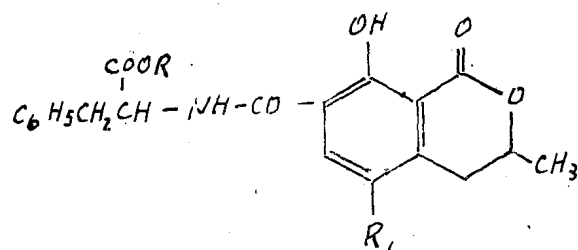


图10. 棕曲霉毒素化学结构,

OA: $R_1 = Cl$, $R = H$;

OB: $R_1 = H$, $R = H$;

OC: $R_1 = Cl$, $R = C_2H_5$;

OA的甲基酯: $R_1 = Cl$, $R = CH_3$;

OB的甲基或乙基酯: $R_1 = H$

$R = CH_3$ 或 C_2H_5

发现只有它们存在于自然污染的饲料内。

OA是无色的结晶状化合物。当以苯结晶时,则含有一克分子的苯,熔点为 $90^\circ C$ 。去掉苯之后,再从二甲苯中结晶,则不含二甲苯,其熔点为 $169^\circ C$ 。其他理化性资料为: $[\alpha]^{20}_D$ — $118^\circ C$ (氯仿中 $C = 1.1$); λ_{max} 213 μ 及332 μ (ϵ 分别为368000和6400)(Steyn,1971)。

以酸水解时,产生L- β -丙苯氨酸(L- β -phenylalanine)和一个旋光性乳酸(optically active lactone acid)及Ochratoxin α (7-羧基-5-氯-3,4-二氢-8-羟-3-甲基香豆素 7-carboxy-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methylisocoumarin)。OA的光谱资料近来已有评论(Meely和West,1972)。OB是脱氯的OA类似物,也是无色结晶化合物,具有以下理化性质:熔点 $221^\circ C$, $[\alpha]_D$ — $35^\circ C$ (C

$= 0.15$), γ_{max} 218 μ 和318 μ (ϵ 分别为37200和6900)(vander Merwe等,1965)。

已经发展了数种分析它们的方法,其中主要的是TLC测定。Neshcim氏程序,作为国际上应用的方法,已被国际理论和应用化学联合会(TUPAC)推荐,Neshcim氏的分析程序,是在采用薄层层析以前,在清洁步骤中,将碳酸氢盐处理与硅藻土柱层析(diatomaceous earth column chromatography)结合起来。近来,筛选多种谷类的小型柱层析已经出现(Hald和Krogh,1975),此法比薄层层析方法为快,但它只能定性用。棕曲霉毒素化学与生物学作用,包括OA在致癌可能性,在近期Steyn(1971),Harwig(1974)和Chu(1974)的评论中已经概括。

桔青霉素和棕曲霉毒素,根据它们生物合成的来源,属于多酮化合物类(Polyketides),是霉菌的次要的代谢产物的一个例子(Turner,1971)。它们包括在戊酮化合物类(pentaketid group)。相反地,认为第三种化合物即草酸(草酸盐)属于主要代谢产物。草酸,为最简单的二羧酸,是数种霉菌和较高等植物的一种产物。霉菌影响草酸形成的原因的早期工作,于1892年为Wehmer所完成,该问题近来又由Wilson予以评述(1971)。

b. 霉菌肾毒毒素的形成

如上所述,桔青霉素最初是从桔青霉,接着从属于青霉菌属的14个菌种的菌株中和曲霉属的三个菌种中分离出来的(表1)。棕曲霉毒素A首先从棕曲霉分离出来,现在已知青霉菌的6个菌种和曲霉属的7个菌种中包含有产棕曲霉毒素的菌株(见表2)。青霉菌类中有能够产生两种毒素的菌种(*P. Viridicatum*和*P. palitans*)这是很重要的。

为了说明决定桔青霉素和棕曲霉毒素形成条件的特点,使用综合培养基进行了各种研

究（见前述的评论文章）。有关在天然产品中控制毒素形成的条件，相对地说知道的很少。用于桔青霉素研究的菌珠主要的是 *P. citrinum* 和 *A. niveus*，而 *A. ochraceus* 最多用在棕曲霉毒素的研究上。看来，似乎对于这些霉菌菌种来说，20—30℃的温度范围，又在湿度充足的条件下，这两种毒素形

成的最多。已得出结论，棕曲霉是 OA 主要的产生者 (Chu, 1974)。但这个结论一般地说是没有说服力的，因为它是靠比自然污染的产品含更多 OA 的培养物为依据的。像下面一节将给以详细讨论那样，在加拿大和斯堪地那维亚地区，对自然污染产品的广泛调查揭示出，产生桔青霉素和棕曲霉素的霉菌几乎

表 1

桔 青 霉 素 来 源^a

Penicillium (青霉菌属)	
Monoverticillata	
<i>P. lividum</i> series	<i>P. lividum</i>
<i>P. implicatum</i> series	<i>P. implicatum</i>
<i>P. decumbens</i> series	<i>P. fellutanum</i>
	<i>P. citreo—viride</i>
The Ramigena series	<i>P. velutinum</i>
Asymmetrica-Divaricata	
<i>P. canescens</i> series	<i>P. canescens</i>
	<i>P. jenseni</i>
Asymmetrica Velutina	
<i>P. citrinum</i> series	<i>P. citrinum</i>
	<i>P. steckii</i>
<i>P. chrysogenum</i> series	<i>P. notatum</i>
Asymmetrica-Fasciculata	
<i>P. viridicatum</i> series	<i>P. viridicatum</i>
	<i>P. palitans</i>
<i>P. expansum</i> series	<i>P. expansum</i>
<i>P. claviforme</i> -series	<i>P. claviforme</i>
Aspergillus (曲霉属)	
<i>A. flavipes</i> group	<i>A. niveus</i>
<i>A. terreus</i> group	<i>A. terreus</i>
<i>A. candidus</i> group	<i>A. candidus</i>

^a Krogh 等 (1970)。

^b tandan 等 (1969)。

表 2

棕曲霉毒蜜来源

Penicillium ^a	
Monoverticillata	
P. frequentans series	P. purpurrescens
Asymmetrica-Lanata	
P. commune series	P. commune
Asymmetrica-Fasciculata	
P. viridicatum series	P. viridicatum
	P. palitans
P. cyclopium series	P. cyclopium
Biverticillata-Symmetrica	
P. purpurogenum series	P. variabile
Aspergillus ^b	
A. ochraceus group	
	A. sulphureus
	A. sclerotiorum
	A. alliaceus
	A. melleus
	A. ostianus
	A. petrakii

^a Chu (1974) .^b Hesseltine等 (1972)