

日粮中霉菌毒素引发小熊猫中毒性肝炎的临床调查

修云芳¹ 邵良平^{2*} 徐素慧¹ 王德春³ 陈婷⁴ 翁妮娜¹ 陈玉村¹

(1 福州大熊猫研究中心, 福州 350001) (2 福建农林大学动物科学学院, 福州 350025)

(3 南京军区福州总医院, 福州 350001) (4 福建农产品质量安全检验检测中心, 福州 350001)

摘要: 本文报道了小熊猫霉菌毒素中毒性肝炎的群发病案。35 只小熊猫中, 21 只发病, 5 只死亡。通过日粮成分调查, 饲料中霉菌毒素检测, 病原微生物检查, 血液参数测定, 病理学检查和动物试验, 确诊为呕吐毒素 (DON) 和玉米赤霉烯酮 (F-2) 毒素中毒。依据调查结果对小熊猫进行治疗, 小熊猫预后良好。结论: (1) 小熊猫对霉菌毒素 (DON 和 F-2 毒素) 极其敏感, 应予以高度重视; (2) DON 和 F-2 毒素存在相互增强作用, 对小熊猫的毒性作用主要为肝毒性和肾毒性, 并可导致小熊猫机体免疫功能降低; (3) 小熊猫对霉菌毒素的耐受性与环境的适应性有关, 应激因素能提高小熊猫对霉菌毒素的敏感性。

关键词: 小熊猫; 霉菌毒素; 玉米赤霉烯酮; 呕吐毒素

中图分类号: Q851.3

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 1050 (2008) 01 - 0092 - 04

Clinical investigation of toxic hepatitis of red pandas (*Ailurus fulgens*) induced by mycotoxins in diet

XIU Yunfang¹, SHAO Liangping^{2*}, XU Suhui¹, WANG Dechun³, CHEN Ting⁴, WENG Nina¹, CHEN Yucun¹

(1 Fuzhou Giant Panda Research Center, Fuzhou 350001, China)

(2 Animal Science College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

(3 Fuzhou General Hospital, Nanjing Command PLA, Fuzhou 350025, China)

(4 Fujian Inspection and Testing Centre For Agricultural Product Quality and Safety, Fuzhou 350001, China)

Abstract: Cases of toxic hepatitis of red pandas (*Ailurus fulgens*) induced by mycotoxins in diet were reported in this paper. 21 red panda were suffered and 5 died among 35 animals. Composition and mycotoxins of diet, pathogens, clinical signs, blood parameters, necropsy and histopathological findings were investigated and recorded. And experimental toxicosis of mice was conducted by feeding the contaminated diet. Treatment was implemented guided by the result of investigation and prognosis was good. The study indicates that there should have toxicological interactions between DON and F-2 toxin in diet and their target organs are liver and kidney. The tolerance to mycotoxins of red pandas was certainly related to their adaptability to environment and stressors would increase the susceptibility of mycotoxins in red pandas and it is necessary to pay attention that the animal is very susceptible to mycotoxins.

Key words: Deoxynivalenol; Mycotoxins; Red panda (*Ailurus fulgens*); Zearalenone

福州大熊猫研究中心从 1994 年开始人工饲养小熊猫, 年平均饲养数 20 只以上。为了扩大繁殖群体, 2006 年 6 月 1 日从四川省引进 12 只, 研究中心已有 23 只, 共计 35 只小熊猫。同年 6 月下旬至 7 月下旬, 先后 21 只小熊猫发病, 5 只死亡。其中雄性成体 15 只, 发病 9 只, 死亡 2 只; 雌性成体 15 只, 发病 7 只, 死亡 1 只; 亚成体 5 只, 发

病 3 只, 死亡 2 只。发病的 21 只小熊猫中, 福州大熊猫研究中心饲养一年以上的和自己繁殖的 23 只中, 10 只发病, 发病率为 43.5%, 其中死亡 1 只, 占死亡总数的 20%; 新引进的 12 只中, 发病 11 只, 发病率为 91.6%, 其中死亡 4 只, 占死亡总数的 80%。

病猫主要临床症状为体温正常或偏低, 精神沉

基金项目: 福建省生物技术科技项目 (2000Z156)

作者简介: 修云芳 (1973 -), 女, 高级兽医师, 硕士, 主要从事大熊猫和小熊猫繁殖和疾病防治方面的研究。

收稿日期: 2007 - 04 - 06; 修回日期: 2007 - 11 - 12

* 通讯作者, correspondence author, E - mail: shaolp1955@126.com

郁，倦动；食欲下降甚至废绝；腹泻，排黄绿色或灰白色的腥臭带有粘液的粪便。腹部显著增大，触诊有波动感。使妊娠母猫流产。体质较好、每天采食饲料较多的小熊猫临床症状更严重，除上述症状外，还表现后肢无力，步态蹒跚。死亡时间集中在6月28日至7月25日。在发病期间，我们对发病的原因进行调查，确诊为霉菌毒素引发小熊猫中毒性肝炎，现报告如下。

1 调查项目与方法

1.1 日粮组成和饲料霉菌毒素含量的检测

小熊猫饲料以竹叶为主，辅以配合饲料、水果、维生素和微量元素适量。配合饲料中玉米32%、大豆22%、麦皮12%、大米7%、面粉15%、小米7%，每1000g干粉加入鸡蛋100g。将配合饲料做成的窝窝头，煮熟后投喂。平均每只小熊猫每天饲喂配合饲料200g（湿重）。

按四角法采集配合饲料的样品，充分混合后各自取3份，每份600g。福建省中心检验所和新加坡Romer实验室各送一份，备份1份。黄曲霉毒素（B₁、B₂、G₁、G₂）、玉米赤霉烯酮（Zearalenone, F-2毒素）、伏马镰孢毒素用高效液相色谱法（HPLC）检测；呕吐毒素（Deoxynivalenol, DON），T-2毒素用薄层色谱法（TLC）检测。福建省中心检验所对配合饲料、玉米和麸皮的样品进行黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁、G₂的检测，新加坡Romer实验室对送达的样品进行了4种霉菌毒素的检测。

1.2 病原学检查

患病小熊猫新鲜粪便，死亡小熊猫肠道内容物、肝脏、脾脏、淋巴结、心血直接涂片镜检，同

时用沙氏平板和血琼脂平板进行真菌培养和细菌培养、分离和鉴定。采集患病小熊猫的血液、鼻分泌物，用Bioindist公司（韩国）生产的诊断试剂板（批号：6007）检测犬瘟热病毒；采集患病小熊猫的粪使用Cabit公司（韩国）生产的诊断试剂板（批号：1023003）检测犬细小病毒。

1.3 血液学和血液生化指标测定

血液学指标用拜耳120全自动血细胞分析仪进行血常规检查；血液生化指标用OLMPUSAU 2700全自动血液生化分析仪进行血液生化检查。

1.4 尸体剖检和组织病理学检查

对5只死亡小熊猫按常规方法进行了解剖，采集肝、肾做组织切片。

1.5 动物试验

15只健康的普通级小白鼠，体重18~25g（购自南京军区福州总医院实验科）分为3组，每组5只。试验I组用引发小熊猫中毒的配合饲料加工成的窝窝头进行喂养；试验II组直接饲喂制备小熊猫的配合饲料原料（霉变的玉米粉和麸皮混合物）；对照组用新配制的窝窝头喂养。试验期30d。试验期结束，解剖小白鼠，取肝脏做组织切片。

2 结果

2.1 饲料检查

福建省中心检验所对配合料、玉米和麸皮的样品进行曲霉毒素B₁、B₂、G₁、G₂的检测，结果均<1μg/kg。新加坡Romer实验室检测结果见表1。从表1可以看出，配合饲料中F-2毒素的含量为234μg/kg和DON的含量为145μg/kg。

表1 霉菌毒素检测结果

Table 1 The concentrations of mycotoxins in diet (μg/kg)

	黄曲霉毒素 B ₁ Aflatoxin B ₁	黄曲霉毒素 B ₂ Aflatoxin B ₂	黄曲霉毒素 G ₁ Aflatoxin G ₁	黄曲霉毒素 G ₂ Aflatoxin G ₂	F-2 毒素 F-2 toxin	呕吐毒素 Deoxynivalenol	T-2 毒素 T-2 toxin	伏马镰孢毒素 B ₁ Fumonisin B ₁	伏马镰孢毒素 B ₂ Fumonisin B ₂
配合饲料 Diet	< 1	< 1	< 1	< 1	234	145	< 125	< 100	< 100
玉米 Corn	< 1	< 1	< 1	< 1	166	488	< 125	< 100	< 100
麸皮 Wheat bran	< 1	< 1	< 1	< 1	577	158	< 125	< 100	< 100

“<”后面的数字表示根据目前所用的检测仪器和检测方法，所能检测出的霉菌毒素的最低含量。

< “value” means that no contamination could be detected, and the value stands for the detection limit of the method.

2.2 病原学检查

粪便中未检出致病细菌和真菌，但粪便中白细

胞阳性（++）、脂肪球阳性（++）。肝、脾、心血涂片染色镜检，未检出细菌，接种于TBS琼脂

培养基, 未见细菌生长; 犬瘟热病毒为阴性; 犬细小病毒为阴性。

2.3 血液学检查

从表 2 可以看出, 1、2、3、5 号小熊猫的血液淋巴细胞数、红细胞数和血红蛋白浓度均低于参考值, 说明了霉菌毒素中毒在一定程度上引起小熊猫免疫力降低, 中毒的小熊猫基本上处于贫血状态; 1、2、3、4 号小熊猫的血清白蛋白的浓度低

于参考值, 5 只小熊猫的血清丙氨酸转氨酶都明显高于参考值。1、2、3、4 号小熊猫血清谷草转氨酶都高于参考值, 说明了中毒小熊猫的肝脏功能发生不同程度的障碍; 1、2、3 号小熊猫的 AST/ALT 的比值大于 1, 说明肝细胞严重损害, 同时还可见磷酸肌酸激酶、磷酸肌酸激酶同工酶、乳酸脱氢酶、 α -羟丁酸脱氢酶的活性明显升高。

表 2 5 只患病小熊猫与健康小熊猫的血常规参数和血液生化参数比较
Table 2 Comparison of blood parameters of 5 poisoning cases with normal animals

参数 Parameter	参考值 (徐素慧等, 2003) Normal values reported		患病小熊猫测定值 (5 只) Tested values of 5 poisoning cases				
	范围 Range	Mean \pm SD	1 号 No. 1	2 号 No. 2	3 号 No. 3	4 号 No. 4	5 号 No. 5
红细胞数 RBC (10^{-12} /L)	8.43 - 11.02	9.73 \pm 1.3	6.97	5.9	8.17	8.79	8.14
淋巴细胞数 L (10^{-9} /L)	2.47 - 8.91	5.69 \pm 3.22	2.41	0.78	0.2	8.5	2.34
血红蛋白浓度 HGB (g/L)	121.3 - 160.8	141.1 \pm 19.7	100	87	125	134	112
白蛋白 ALB (g/L)	27.9 - 33.3	30.6 \pm 2.7	23	26	25	27	33
丙氨酸转氨酶 ALT (U/L)	49.8 - 98.8	73.7 \pm 24.65	282	120	293	199	130
谷草转氨酶 AST (U/L)	54.47 - 94.75	74.6 \pm 20.1	1063	274	350	100	64
磷酸肌酸激酶 CK (U/L)	221.3 - 479.4	350.3 \pm 129.1	2688	658	360	284	357
磷酸肌酸激酶同工酶 CK-MB (U/L)	196.4 - 415.6	306 \pm 109.6	1333	681	291	317	568
乳酸脱氢酶 LDH (U/L)	145.8 - 589.2	367.6 \pm 109.6	1388	817	504	334	422
α -羟丁酸脱氢酶 α -HBDH (U/L)	84.8 - 321.5	203.2 \pm 118.4	524	325	226	153	119

L: Lymphocytes; RBC: Red blood cell; HGB: Hemoglobin; ALB: Albumine; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; CK: Creatine kinase; LDH: Lactic dehydrogenase; α -HBDH: α -Hydroxybutyrate dehydrogenase

2.4 尸体剖检和病理检查

剖检 5 只病死的小熊猫病变基本一致, 主要表现为皮下脂肪不同程度黄疸, 腹腔积有黄色透明液 200 ~ 1 000 ml。肝脏呈暗黄色, 肿大, 质脆。光学显微镜观察可见广泛性肝细胞颗粒性营养不良, 浊肿变性和空泡变性。肾小球和肾小囊内纤维蛋白样渗出, 肾小管上皮细胞 (近曲小管) 普遍混浊肿胀, 部分肾小管上皮细胞坏死, 间质充血。

2.5 动物试验

试验小白鼠剖检可见皮下组织轻度黄染, 肝脏比对照组明显肿大、质脆, 颜色变浅, 呈淡黄色。病理组织学检查可见小白鼠的肝小叶结构尚保持完整, 肝细胞空泡变性, 以细胞溶解变性为主; 肝小叶有散在点状浸润和点状坏死, 枯否氏细胞增多; 小叶中央静脉淤血, 血管扩张充血。对照组未见肝脏肉眼病变和光学显微病变。

根据上述调查结果, 确诊为小熊猫的霉菌毒素中毒。

2.6 治疗

立即停喂可疑有霉变的饲料, 改喂新鲜的饲

料。饲料中添加绿豆、甘草、板兰根, 金银花, 混匀蒸熟后饲喂, 以加强解毒作用。饲料中添加了多维, 增加苹果投喂量和竹叶的投喂次数。饮水中加入葡萄糖。应用肌酐、肝泰乐、辅酶 A、ATP、维生素 C、乙肝宁等予以保肝和支持疗法。经治疗和精心护理, 症状轻的小熊猫痊愈。

3 讨论

临床调查结果表明, 霉变饲料引起小熊猫群体中毒的严重程度与采食饲料量有关, 临床症状和病理变化基本一致, 无传染性, 符合动物中毒病的一般规律。发病的 21 只小熊猫中, 福州大熊猫研究中心饲养一年以上的和自己繁殖的 23 只小熊猫中有 10 只发病, 发病率为 43.5%; 新引进的 12 只小熊猫中有 11 只发病, 发病率为 91.6%。表明了小熊猫对霉菌毒素的耐受性与小熊猫对环境的适应性有关, 应激因素能提高小熊猫对霉菌毒素中毒的敏感性。

小熊猫饲料中的 F-2 毒素的含量为 234 ppb, DON 的含量为 145 ppb。根据文献报道的动物中毒

剂量，仅对单种霉菌毒素而论，可能不会引起动物中毒病的爆发和死亡。Trenholm 等（1983）研究发现，尽管饲料中的某种霉菌毒素的检测含量处于很低水平时，仍可见动物中毒的典型症状。这是由于不同霉菌毒素之间存在相互作用，使低剂量的霉菌毒素的中毒作用显著增强。这种现象在镰刀菌毒素之间表现的特别明显。Trenholm 等（1994）试验表明，饲料中自然产生的某种霉菌毒素的含量（可能存在多种毒素）与纯化的这种霉菌毒素含量同等的情况下，前者的毒性显然高于后者。Devegowda 和 Murthy（2005）描述了霉变的谷物中或动物日粮中的 F-2 毒素经常与 DON 伴生，两者毒性在一定程度上存在相互增强的作用。Hamilton（1984）提出“霉菌毒素没有安全底线”。本调查的结果与以上研究观点一致，并认为小熊猫对霉菌毒素有极高的敏感性。

死亡小熊猫的主要病理变化为肝肿大、色黄、肝细胞空泡变性，肾小球和肾小囊内纤维蛋白样渗出，肾小管上皮坏死。试验性中毒小白鼠主要病理变化也是肝肿大、色黄、肝细胞空泡变性。这些病理变化均符合霉菌毒素中毒性肝炎和肾炎的病理变化，表明了 F-2 毒素和 DON 对小熊猫毒性主要是肝毒性和肾毒性。

中毒小熊猫的血液淋巴细胞数减少，说明了 F-2 毒素和 DON 中毒在一定程度上能引起小熊猫免疫力降低。中毒小熊猫的血液红细胞数和血红蛋白浓度降低，这种贫血状态与霉菌毒素刺激肠细胞脂质过氧化，导致营养吸收不良有关（Peter *et al.*，2002）。中毒小熊猫血清白蛋白下降，说明了中毒小熊猫的肝脏功能发生不同程度的障碍，导致白蛋白合成减少。

1 号、2 号、3 号小熊猫的临床症状严重，都在出现临床症状后 4 d 内死亡，其血清 AST 和 ALT 都明显升高，AST/ALT > 1，表明了其肝细胞及其线粒体均受到不同程度的损伤。此外，1 号和 2 号小熊猫的血清乳酸脱氢酶、羟丁酸脱氢酶、肌酸磷酸激酶、CK-MB 等指标均升高。4 号和 5 号小熊猫

症状较轻，AST/ALT 分别为 0.50 和 0.49，经过治疗，于出现临床症状后第 5 d 明显好转。这一结果说明了肝脏损伤的程度与症状的轻重相关。

小熊猫对霉菌毒素具有极高的敏感性，要加强饲料管理，严防饲料霉变。当怀疑发生霉菌毒素中毒时，立即停喂可疑的日粮，改喂新鲜的日粮，同时应用霉菌毒素吸附剂，添加适量维生素 C、维生素 E、维生素 A 和采取保肝措施能有效缓解轻度中毒动物的临床症状和有效预防霉菌毒素中毒病的发生。

致谢：本文得到成都大熊猫繁育基地费立松老师的帮助，Dr. Emily King 对本文的英文部分进行修改，福建农林大学蔡羲同学参与调查工作，在此一并表示谢意。

参考文献：

- Devegowda D, Murthy T N K. 2005. Mycotoxins: Their effects in poultry and some practical solutions. In: Duarte E Diaz ed. *The Mycotoxin Blue Book*. United Kingdom: Nottingham University Press, 25 - 56.
- Hamilton B P. 1984. There are on safe level for mycotoxins. *Journal of Food Protection*, **47**: 570 - 575.
- Peter F Surai, Julia E Dvorska, Nick H C Sparks, Kate A Jacques. 2002. Impact of mycotoxins on the body's antioxidant defence. In: Lyons T P, Jacque K A eds. *Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of Alltech's 18th Annual Symposium*. United Kingdom: Nottingham University Press, 131 - 141.
- Trenholm H L, Cochrane W P, Cohen H, Elliott J I, Elliott E R, Famworth E R, Friend D W, Hamilton R M G, Standish J R, Thompson B K. 1983. Survey of vomitoxin contamination of 1980 ontario winter wheat crop: results of survey and feeding trails. *J Assoc Offic Anal Chem*, **66**: 92.
- Trenholm H L, Foster B C, Charnley L L, Thompson B K, Hartin K E, Coppock R W, Albassam M A. 1994. Effects of feeding diets containing *Fusarium* (naturally) contaminated wheat or pure deoxynivalenol in growing pigs. *Can J Anim Sci*, **74**: 361.
- 徐素慧, 陈玉树, 修云芳, 王德春. 2003. 圈养小熊猫血液生理及生化指标的检测分析. *福建畜牧兽医*, **3** (7): 1 - 2.