

抗生素替代品应用的评估方法

Jim Quigley 译者 杨瑞珍

不论是科学文献还是行业杂志，都有大量的文章声称找到完美的抗生替代品，称其能促进生长和控制疾病。所有这些文章都声称能够提供无可辩驳的、充分的数据，证明其产品或者组分是最佳的替代品。然而，其中许多研究，甚至在科学杂志上刊登过的，其试验方案，对照数据，分析过程或总结数据不够准确，因此不能说明其有效性。

任何抗生素替代品，必须经过严密的试验程序和科学的数据解读，以正确解释其在动物体内可能（或不可能）的生物学机理。在任何抗生素替代品的比较研究中，都必须包含许多特定的因素。虽然这些因素似乎“显而易见”，但是许多试验并没有包含这些必要的因素。因此，不可能知道所观察到的反应是否真实。一般来说，科学文献中包含的研究报告（如同行评审的期刊文章）更有可能被正确指导，分析和总结。然而，并不一定总是如此。在科学期刊上发表的数据并不能保证在任何情况下都适用，或者结果是否真实。试验过程中需要考虑的一些关键因素如下。

阴性和阳性对照。阴性和阳性的对照，对理解抗生素替代品的结果至关重要。没有抗生素或者不含替代品的阴性对照，将告诉研究人员试验组是否有任何反应。在一些试验中，动物对试验组不会表现出显著反应，甚至是对抗生素也没有反应。这通常发生在健康动物身上（有足够的被动免疫力），并且暴露于很少量致病菌的环境。当动物有足够的免疫力并面临很少的免疫挑战，你不可能真的期望抗生素能改善健康或增重。不幸的是，一些研究人员在没有阴性对照的情况下进行试验。他们研究结果显示，测试产品与抗生素之间的效果没有显著差异，并得出结论，测试产品能够替代抗生素。真实情况可能并非如此。实际上，可能这两种产品都没有产生效果，因为动物没有面临任何健康挑战。如果没有阴性对照，就无法确定产品是否有效。

以行业标准量在饲料中添加抗生素的阳性对照，并根据行业标准制备和饲喂。通常在任何研究中都包括了含有抗生素的处理组，但重要的是要确保试验过程设计合理，试验组需要明确的反应。在饲料中加入的抗生素量不当或者是饲喂方式不当，科研人员可以得出统计学差异显著的结论，但是生物学上来说，却并非如此。

动物数量充足。与常见的犊牛饲喂试验相比，这是一个非常常见的问题。在许多情况下，犊牛在出生后一个特定的日龄，被分配到不同组进行试验，试验期几天或者几周。在小牧场，如果需要大量动物，以这种方式进行试验可能需要数年时间才能完成。相反，研究人员将只使用恰好出生在产犊季节，某个学年或者研究生科研计划项目时期内的犊牛数量，而不考虑这一决定的统计学影响。试验统计显著反应所需的实际动物数量取决于试验条件，处理方法和检测性状的变异性。研究人员可以使用一些方法来确定研究所需的动物数量。这被称为“效能计算”，可以在大多数统计教科书中找到。

然而一般来说，我们的经验是，在我们所需的条件下测量生长，采食量，饲料效率和健康指数（粪便指数，直肠温度等），大部分试验至少需要每个处理20头犊牛才能观察到显著差异。在大多数研究中，每个处理少于20头犊牛的试验，不太可能观察到生物学差异，如果文章在解释数据时没有明确说明试验犊牛数量，读者就需要格外留意。

动物被动免疫状态。对抗生素或者抗生素替代品的生物学反应，在很大程度上取决于动物的被动免疫状态。接受大量被动免疫的犊牛对饲料中试验产品的反应与没有饲喂初乳的犊牛大不相同。这种可以通过检测血清或血浆总蛋白，IgG或血液中的其它指标（如硫酸锌）来进行确定。然而，试验动物本身的“起始”条件对理解最终试验结果至关重要。

动物面临的免疫学挑战。这个概念有些主观，但是可以通过类推来概括。出生后被立即销售，用卡车拉到中转区，再到牧场可能需要一两天，这个过程中没有饲喂初乳，水和牛奶的犊牛，对饲料中试验产品的反应，可能会不同于出生后饲喂足量高品质的初乳，且在试验中没有转移地方的犊牛。有时候，试验开始前犊牛本身的身体状况比试验处理对结果的影响更大。了解试验动物和了解试验本身一样重要。

一些研究人员试图通过增加外部挑战来控制动物的免疫学挑战。一种常见的方法是给动物饲喂一段时间的试验产品，然后经口接种大肠杆菌，沙门氏菌，隐性孢子虫等病原来挑战。这些研究通常比依赖“自然暴露”的研究，会获得更多信息。但是，需要注意，病原体是明确的，接种量是合理的。许多研究报告提供的数据太少，无法明确研究中使用的病原性质。

可以检测到的测量值差异。这很简单，听起来似乎有些愚蠢。但是有许多研究报告在检测方向有误。犊牛研究主要是测量牛奶的摄入量，开食料和干草采食量，增重，饲料回报率（增加体重/采食量）和粪便评分。Larson等人（1977）建议采用更统一的方法记录粪便分值和其它数值。但是，在很多情况下，虽然数值容易测量，但是不足以显示处理组之间的生物学差异性。饲料的采食量（尤其是牛奶或代乳粉）通常是不恰当的测量数据，因为在大多数的情况下，牛奶的供给量是由研究人员固定死的。当犊牛每天限量饲喂（通常1磅或454克）代乳粉时，摄入量的差异非常小。摄入454g/天和453g/天之间的差异是否真的不同？这在统计学上可能具有重要的意义，但它在生物学上未必如此？

体重和平均日增重受试验中许多变量的影响。其中包括日粮配置，饲喂方法，气候条件，犊牛的免疫状态，饮水条件，断奶日龄和其它一些因素。体重和增重一般在称重时精确到0.5或1磅（在一些情况下可能精确到5磅！）。在试验初期，犊牛体重变化不大，因此称重过程中的误差比例很大。因此要合理解读数据就很困难。之后，当犊牛日增重大于1磅时，测量中误差的比例就相对会小一些。然而，随着瘤胃的发育，胃肠道内容物中的混合因素将成为一个问题。采食大量的水或饲料，或大量粪便在称重前排泄，这都可能会影响体重测量数据。通常，每天在固定的时间称重是更合理的，这样采食和肠道内容物的影响就会最小化。

每周测量和记录犊牛体高或者胸围的变化意义不大。在大多数牧场中，测量设备的精确程度不足以探测到犊牛每周体高的增量。每个月或者三个月测量一次体高会更可行。

我们的底线是，确保我们的测量方向与期望的结果一致。在抗生素替代品的例子中，评估动物健康的一些指标至关重要。与测量生产指标相比，测量动物健康方面的指标能够提供更多的信息。在饲料中使用抗生素替代品时，兽医出诊的次数可以提供更直接的信息。但是，必须要有一个清晰定义的和持续的流程，确保药品/产品按照要求使用。当然，在研究期间死亡的犊牛数量也是一个关键因素。剖检信息可以确定死亡原因，可以帮助读者了解犊牛的死亡和试验的关联。更复杂的检测，如激素浓度可以给出动物生理指标的数据。

清晰地说明试验方法。太多的研究报告都只是非常粗略地描述了试验是如何进行的。作为读者，我们经常跳过试验方法，并假设我们明白“试验是如何进行的”，这是个严重的错误。作为产品和信息的消费者，我们必须要求对研究中使用的材料进行完整的描述。根据经验法则，我们应该需要足够的细节，以便其他资深人员能够根据提供的细节重复试验。“隐藏”重要细节很容易，但是这些细节会对解读试验数据产生重大影响。甚至一些科学文章也不能提供充足的细节，来论证数据的有效性和适用性。

注重平均值。研究人员犯的一个常见错误是，花太多时间寻找平均值之间的差异，而忽略平均值本身。研究人员被灌输了寻找统计差异的意识，对他们而言，如果没有统计差异就没有什么可谈的了。但是当差异存在时，它们是唯一被讨论的东西。让我们看一个“真实”的例子。一组犊牛被购买并带到我们的研究项目场地，分成两个试验组（抗生素- vs. 抗生素+），按照传统的饲喂方案，我们为它们提供454g/d的代乳粉，其中含有20%的粗蛋白，20%的脂肪。我们记录采食量，增重等指标，我们发现在56

天试验结束时，增长率存在显著差异，体重差异率为25%！很棒吧？然而我们忽略了一个事实，就是在两个月的试验期内，犊牛平均每天的增重只有100g对比125g。我们沉浸在统计学显著差异的兴奋中，却忽略了只有饲喂很差/或者生病的犊牛在整个试验期才会增重如此少。

我们不仅要考虑平均值之间的差异，还要考虑平均值本身的意义。如果我们自己饲养犊牛，我们就需要比较试验项目的犊牛和我们自己犊牛之间表现的差异。试验结果是否与我们自己饲养犊牛的预期一致？它们是否真的反映生产情况。这些都是会影响我们解读数据的重要问题。

仅仅是阳性结果？我上边提到过这个普遍问题。很多时候，我们只看到相关产品在问题中的“效果”。当产品不起作用时，我们通常看不到。事实上这个问题在科学文献中经常发生。除非有不同的东西，否则许多作者并不认为这是在试验中值得注意的。当试验设计合理，即便处理之间并没有显著差异，也可以从中获取很多信息。毫无疑问，任何产品或概念都不会在所有情况和条件下起作用。对于潜在的抗生素替代品，许多试验将“失败”，因为对免疫机能的挑战太少。这就是为什么即使饲喂抗生素也不能显示阳性结果。当我们只看到抗生素替代品试验的数据很完美时，记得问一下其它的数据在哪里？

对数据进行正确的统计分析。这是科学研究最被滥用的环节。统计是一种工具，可以帮助研究人员安排、组织和分析研究结果，并根据概率得出结论。不幸的是，许多试验使用有限的（有时是初级的）统计设计和分析，因此无法正确解读数据。当对试验动物多次测量时更是如此。例如，我们在试验中每周对试验动物称重。我们每天记录采食量和奶产量。这种试验设计要求更加精准的数据分析，而不是把每类数据分开来看。使用分开测试方法，如肯氏分析法（多重比较）或杜凯氏差距测试往往不能正确解读相关的问题。因此，使用正确的试验设计是非常重要的。如果有疑问，在试验前可以咨询统计学家。

注意概括。太多的试验以“这些数据表明[添加剂X]可以代替犊牛代乳粉中的抗生素”来结束。这些概括通常是不适合的，危险的。要记住，试验是在人为控制的条件下进行的，许多环境条件是人为创造出来的。这些条件可能反映/不反应生产或特定牧场的真实情况。某添加剂能否取代抗生素取决于许多因素（包括上述因素），而这些因素往往在人为试验中保持不变。因此总是有必要用“在此试验条件下，在犊牛代乳粉中使用[添加剂X]和使用抗生素的效果是相似的”来预测这种声明。