

44 增生性肠炎

(印春生 译 支海兵 校)

S.McOrist 和 C.J.Gebhart

增生性肠炎 (PE, 也称为回肠炎) 是一种表现为急性和慢性等不同临床症状的症候群, 但在尸体剖检时一般都有肉眼可见的相同病理变化, 即小肠和结肠的粘膜增厚。在病理组织学上, 被感染组织表现为肠腺窝中未成熟上皮细胞的明显增生, 并形成一种增生性腺瘤样粘膜。在这些增生性的细胞中总是含有大量的胞浆内生菌 (劳氏胞内菌), 这是一种专性胞内寄生菌。

在育肥猪中发生的无并发症的粘膜增生, 这种病例就是慢性增生性肠炎, 也称为猪的肠腺瘤病 (PIA) 或回肠炎。有些猪的这些病变可能是轻微的、亚临床的或者可能在此病灶上产生其它的双重病变, 包括坏死性肠炎、结节性局部性回肠炎或急性增生性出血性肠炎 (PHE, Rowland 和 Lawson, 1975)。慢性的、亚临床的和急性出血性的增生性肠炎已成为现代养猪业中重要的肠道疾病。

20 世纪 30 年代, Biester 及其同事在美国依阿华州的埃姆斯首次报道了 PE 在猪体上引起的病变 (Biester 和 Schwarte, 1931; Biester 等 1939)。随后发现该病也发生于世界各地的主要养猪地区, 但是直到 1973 年, Alan Rowland 和 Gordon Lawson 在调查了发生在苏格兰的发病情况以后才制定出一份创新性的研究计划 (Rowland 和 Rowntree, 1972; Rowland 和 Lawson, 1974)。他们发现, 无论采用超微结构还是银染色技术对猪的这些增生性病变进行研究, 在异常增生的细胞中总是存在着细胞内细菌 (Rowland 和 Lawson 1974)。这些细菌游离于感染上皮细胞的胞浆中, 并且在感染的关键阶段不与细胞膜结合。在 1993 年, 由于成功的进行了体外培养, 并用此病原的纯培养物在猪体上复制出本病, 从而最终鉴定出这种细菌及其在 PE 病猪上的致病机理 (Lawson 等, 1993; McOrist 等, 1993)。同样也在 1993 年确定了该菌的分类学位置 (Gebhart 等, 1993), 其正式名称为劳氏胞内菌 (*Lawsonia Intracellularis*) (McOrist 等 1995a)。

与猪 PE 病变极为相似并由劳氏胞内菌在其它多种宿主或某一种宿主体内 (包括短尾猿) 引起的病理变化都有过报道 (Klein 等, 1999; Cooper 和 Gebhart, 1998)。人虽然也容易有感染的机会, 但是却未发生过 PE 病例或检测到劳氏胞

内菌感染。有报道称有些动物可在实验室自然发病，如地鼠（Frisk 和 Wagner, 1977; Williams 等, 1996; Lavoie 等 2000）、实验兔（Schoeb 和 Fox, 1990; Duhamel 等 1998）、鹿（Drolet 等 1996）、平胸鸟类（Cooper 等, 1997; Lemarchand 等, 1997），但是重要的是，其它家禽和野生型鼠却表现出耐受性（Collins 等, 1999; McOrist 等 2003a）。通过实验感染，原位免疫染色和 DNA 分析表明，同一种病原可能感染许多不同种类动物的肠细胞（Lawson 和 Gebhart, 2000）。实验兔的常规感染可抑制多种单纯的特异抗体的产生。但是，目前还没有证据能够证明这些其它宿主和家猪发生该病有直接关系。该病已经在中欧的野猪（*Sus Scrofa*）中发生过（Tomanova 等, 2002）。

病原学

引起 PE 的病原是专性胞内寄生菌—劳氏胞内菌，此菌最容易在肠上皮细胞的细胞浆内生长。这种细菌的生长总是伴随着感染了未成熟的腺窝上皮细胞的局部增生。由于其代谢过程需要消耗线粒体的三磷酸盐或某种相似的能源，因此到目前为止还没有能够在无细胞的培养基中培养出该菌。一些早期的文献认为这种胞内菌是一种类弯曲杆菌，其理由仅仅是其形态上与该科的相似性。

劳氏胞内菌是一种弯曲或直的弧状杆菌，末端渐细或钝圆，长 1.25-1.75 μm ，宽 0.25-0.43 μm 。此菌是一种典型的具有三层外膜的革兰氏阴性菌，没有发现纤毛和孢子。在细胞系上共培养的某些分离物中观察到单独的一根长的极性鞭毛并在快速运动，但这只发生在细菌位于细胞外的时候。该鞭毛只有一个小的、圆的单基因组和三个质粒，其基因总长 $1.72 \times 10^6 \text{bp}$ 和 1324 个 ORF。鞭毛控制着小基因组、细胞依赖性呼吸作用、低 G+C% 值以及 gro EL 热休克蛋白的大量表达，这种蛋白在其它胞内菌的共生体中比较常见（Dale 等, 1998; McOrist 和 Gebhart, 2004）。在 DNA 序列分析中，尽管使其处于脱硫弧菌科的环境中，它也不表现出有还原硫的作用。劳氏胞内菌的体外培养需要移植在诸如肠上皮细胞的细胞系中培养，并在 82.2% 氮气、8.8% 的二氧化碳和 8% 的氧气的微厌氧环境中，37 $^{\circ}\text{C}$ 培养（Stills, 1991; Lawson 等 1993）。从不同猪、不同部位以及不同种类的宿主（短尾猿、马、鹿）上分离到的劳氏胞内菌在分类学上关键位点的 DNA 序列和其外膜蛋白有高度的相似性（ >98 ），这表明可能只有唯一的劳氏胞内菌“菌

株” (Cooper 等, 1997; Al-Ghamdi, 2003)。

在实验感染研究中, 用劳氏胞内菌的纯培养物对常规猪和事先接种小剂量非致病性细菌的限菌猪进行口服接种, 结果产生了 PE 的特异性病变 (McOrist 等, 1993, 1994)。在一些早期攻毒试验中, 用粗制的或部分过滤的病变粘膜匀浆液接种猪, 能够复制出特异性的肠道病变, 并产生临床病例 (Roberts 等, 1977; Mapother 等, 1987; McOrist 和 Lawson, 1989a)。这种方法后来作为用粘膜匀浆液在常规猪上复制 PE 的很好攻毒模型 (Winkelman 等, 2002; Guedes 和 Gebhart, 2003a, b)。人工感染不同分离菌株产生的宿主肠道病变都具有自然发病的特点, 包括粘膜增生和出现胞内菌 (McOrist 等, 1993; Guedes 和 Gebhart, 2003a,b)。美洲和欧洲的劳氏胞内菌分离株以及从急性或慢性病灶中的分离株都证明能够产生典型的慢性或急性 PE 症状 (Mapother 等, 1987; Knittel 等, 1996), 这表明 PE 病例的不同临床表现 (PIA、亚临床、PHE) 是由于细菌的感染量和宿主体质反应不同, 而不是由于菌株不同引起的。

流行病学

该病分布于世界各地, 在所有养猪地区以及所有猪场管理模式中, 包括野外猪都经常发生本病 (McOrist 等, 2003b)。在正常屠宰年龄的猪, 病变发生率一般较低, 在 0.7%-2.0%之间, 因此屠宰场的监测结果并不可靠 (Rowland 和 Hutchings, 1978; Christensen 和 Cullinane, 1990; Jensen 等, 1999)。

由于检测粪便样品的劳氏胞内菌的特异 PCR 方法的研制并广泛应用以及血清学方法的应用, 人们能够十分清楚的认识到 PE 的广泛流行性和猪场的流行病学特征。最近在欧洲、亚洲和美洲的调研表明, 事实上所有猪场至少都有低水平的感染, 而且大约 20-40%的猪场有显著的临床和亚临床病例 (Moller 等, 1998; Stege 等, 2000; Bane 等, 2001; Jacobsen 等, 2003; Marsteller 等, 2003)。

对不同管理模式的猪场感染情况进行比较表明, 根据年龄分组的猪场 (所谓的分栋养殖模式猪场), 劳氏胞内菌很少感染繁殖猪群, 而且通常延缓到 12-20 周龄时的生长期结束时才发生感染 (Just 等, 2001; Bronsvoort 等, 2001; Chouet 等, 2003)。这种感染的延发可能和 PIA 或 PHE 的发生相关, 但是抗生素的使用

可能会使这种简单模式复杂化。

相比之下，在单栋猪场由于不同组别的猪不断流动（所谓的“从产仔到出栏均在一个猪舍内”养殖模式），在大约 5-7 周龄时发生早期断奶感染，同时经常发生相关的亚临床和临床问题（PIA）。仔猪可能在获得的母源抗体消失时，通过直接接触粪便感染。在随后的几周里，这种感染在断奶仔猪中大范围发生。在这些猪场中繁殖母猪的所有群体之间，很显然至少有 10% 是最近感染的，在这些感染母猪的窝棚内，在一些母猪（<5%）粪便中可检测到劳氏胞内菌。在饲养繁殖母猪组发病时，近期感染率会持续上升达 30%，这可能是由于其垫料被高度污染所致（Steg 等，2000；Chouet 等，2003）。

许多猪场尤其是“从出生到出栏”养殖模式猪场的环境中，劳氏胞内菌的感染水平可能很稳定，这些细菌“隐藏”在猪的粪便中、污染物中、猪圈围栏上、昆虫以及猪舍走廊内。这样就将感染重新传到许多不同年龄段的猪群中。然而，即使应用最好的诊断方法也很难在一个猪场发生感染和相关肠炎症状开始出现前进行准确的诊断（Hammer，2004）。换句话说，感染可能缓慢或迅速发生，并且在不同猪场发病的时间各不相同，更重要的是在同一猪场的同一栋或同一栏的猪舍里不同猪群的发病时间也不相同（Philips 等，1998；Hammer，2004）。在所有猪场，通常成年出栏猪的发病率最高（Moller 等，1998；Marsteller 等，2003）。从感染区域的阳性粪便传染到其它地区的猪场，如饲养繁殖母猪的猪场，更容易就只在此猪场发病。这种传播模式可能包括随靴子上的粪便或污染物（如存在于鼠科动物的脚中）而被动传播。虽然已经有实验证实劳氏胞内菌可在种间交叉传播，但是还没有在任何一个劳氏胞内菌感染的猪场发现一种引起感染的传播媒介。

在临床上，现在急性 PHE 的暴发非常多而且很频繁，这可能是由于在“高度健康”状态的掩盖下，比如在多栋猪场中和断奶早期的药物作用下，这种常见的且经常致死的疾病持续存在的缘故（Guedes 等，2002）。特定的管理模式被认为能够引起猪场自身暴发急性 PHE。公猪和小母猪性能测试站中的青年猪（4-12 月龄）、要运到新猪舍内的繁殖计划内的小母猪以及公猪和小母猪的运输及其混合入繁殖猪群的过程一般都与 PE 的暴发密切相关。虽然这只能部分反映出此时的感染和使用抗生素的变化，但是在暴发前，一般多会出现一些严重的应激因子，

如恶劣的气候条件。

总的说来 PE 的流行病学特征包括：劳氏胞内菌在 5-15℃ 条件下可以在粪便中存活 2 周（Collins 等，2000）、细菌感染剂量相对较低（McOrist 等，1993；Guedes 等，2003）以及在一些感染的“散毒”猪粪便排泄物中含菌量很高（Smith 和 McOrist 等 1997；Guedes 等 2002a）。目前，还没有完全的卫生消毒措施。在检验 6 种消毒剂的杀菌效果试验中，只有季铵盐（3%的溴化十六烷基三甲铵 QA 级）和碘碱（1%的吡咯烷酮碘）的混合物能够完全杀菌。有些分离物对 0.33%的酚类混合物表现出一定的耐受性。在慢性 PE 流行的猪群中，感染猪的粪便或工人靴子上的粪便都可能是新的感染原。严格清洁靴子上的粪便以及猪舍内猪群批次之间的粪便，做到“全进-全出”对于防控 PE 可能比仅仅依靠清洁地板和地沟处粪便的方法更为有效（Smith 等，1998；Bane 等，2001）。由感染母猪或公猪的粪便可能传播给其后代仔猪，但这点并不确定。

发病机理

对易感猪接种劳氏胞内菌或含有这种细菌的病变粘膜可以复制出 PE（Roberts 等，1977；McOrist 和 Lawson，1989；McOrist 等 1993，1994；Guedes 和 Gebhart，2003a）。在用标准的劳氏胞内菌接种剂量， 10^8 个细菌口服接种攻毒断奶仔猪（4 周龄）的实验研究中，接种后的 1-3 周感染高峰期时，在不断增生的肠细胞和粪便中都能够观察到许多胞内菌，攻毒 3 周后可以见到病灶。大部分的这些猪群里，肠道感染、病灶增生和排毒大约持续 4 周，但是在一些感染猪，排毒可能持续至少 10 周（Smith 和 McOrist，1997；Guedes 等 2002a）。在攻毒后 3 周的感染高峰期，通常可以见到 50%的攻毒接种猪有中度腹泻，而且 100%产生 PE 组织学病变。口服攻毒引起小肠感染后的 1 或 2 周时一般可以见到大肠感染和产生病灶（Guedes 和 Gebhart，2003b）。各年龄段且从未用过药的猪（新生仔猪到出栏猪）对口服攻毒都很敏感。

PE 的发生是由于大量胞内菌定居在未成熟的上皮细胞中引起越来越严重的细胞增生。大多数情况下不发生显著的炎症反应，在此阶段细菌仍存留在上皮细胞中。在严重的 PE 病例中，在肠系膜淋巴结和扁桃体中也能够观察到劳氏胞内

菌 (Roberts 等, 1980; Jensen 等, 2001), 但这些都是细菌定居的二级位点。体内和体外实验研究已经阐明一些早期的细菌-细胞间的相互作用机理 (McOrist 等, 1989b, 1995b; Lawson 等, 1995) 细菌首先结合在细胞膜上然后通过入侵空泡迅速穿透细胞进入细胞内。目前没有证实有特异性吸附或受体, 但劳氏胞内菌可能控制着 III 型分泌系统。此入侵空泡很快破裂 (3 小时之内), 细菌就在细胞浆内活动并游离增殖 (不与细胞膜结合)。细菌进入细胞的过程依赖于细胞, 而细菌本身活力却不是必需的, 这是一类诱导型吞噬作用 (Lawson 等, 1995)。细菌如何使感染的细胞难于成熟却能够持续的进行有丝分裂并形成增生性腺窝的机制还没有完全清楚。这可以反映出正常腺窝细胞在分化过程中的抑制作用, 在腺窝颈局部受调控。劳氏胞内菌感染的肠腺窝细胞能够变得非常细长并经常形成分支。在慢性的无并发症的感染猪中, 体内蛋白和氨基酸都流失到了肠腔以及由于肠粘膜缺乏成熟的细胞使得营养吸收降低, 可能是引起体重降低和饲料转化率下降的原因 (Rawson 和 Lawrence, 1982; Gogolewski 等, 1991)。

早期病灶很少含有滤过性炎症细胞, 可能并不高于正常猪的肠道内炎症细胞水平 (McOrist 等, 1992)。感染的上皮细胞聚集有大量的胞浆内 IgA (Lawson 等, 1979; McOrist 等, 1992), 并且在肠道洗液中含有高浓度的劳氏胞内菌特异性 IgA (Guedes 等, 2002c)。在形成的病灶中巨噬细胞吞噬劳氏胞内菌导致了在固有层中产生典型的 Th1 型细胞免疫反应 (McOrist 等, 1992; MacIntyre 等, 2003)。在感染猪的血液中既有细胞免疫也有体液免疫反应 (McOrist 和 Lawson, 1993; Knittel 等, 1998; Guedes 和 Gebhart, 2003b)。这些可在感染后的两周首次检测到, 而且在急性感染的猪群中可持续达 3 个月 (Guedes 等, 2002c)。因此感染了劳氏胞内菌的猪可能产生一种特异的免疫反应。

在细胞增生的基础上, 可能会发生细胞衰退性和修复性变化重叠发生, 这是由于局部发生细菌二次感染。炎症变化有表面纤维蛋白反应和大量深层凝固性坏死, 这是坏死性肠炎病灶。有些猪可能会形成实质性肉芽组织, 从而引起纤维组织渗透和肌肉肥大, 这是局部性肠炎病灶。

急性出血性 PE (PHE) 的显著症状就是肠腔严重出血, 但有慢性 PE 病灶。出血的同时常伴随有许多上皮细胞大范围的变性和脱落并从毛细血管床上渗漏出。PHE 已经在大龄的未用过药的猪体上用高剂量的劳氏胞内菌攻毒一次而复制出

来，表明这是宿主而不是细菌效应。此病灶的致病机理还没有完全清楚。

临床症状

在 6-20 周龄的断奶仔猪，慢性 PE 临床病例最为常见。许多育成猪，慢性 PE 病例中临床症状表现很轻微直至亚临床症状，而且除不能正常生长外，摄食正常，没有其它可见症状。回肠发生病变是这些猪的一致特点。有些猪表现为一定程度的贫血，对食物特别的好奇，但拒绝进食。因此，感染猪的症状从无明显症状到表现显著的迟钝和冷漠各不相同。出现腹泻时，一般都是轻微的，排出正常灰-绿色的疏松、稀薄直至水样粪便，这可能是感染慢性 PE 猪中部分猪的症状。出血或黏液粪便并不是慢性 PE 腹泻的特征。在猪群中如怀疑是慢性或亚临床 PE 时，温和病例相对多见，但很难确诊。因此，这些猪场在出现贫血和无规则腹泻引起生长不良的猪和猪群中出现不同大小的育成猪时应该仔细检查猪群。应仔细检查并记录断奶后仔猪的平均增重率和饲料利用率（Robert 等，1979；Gogolewski 等，1991）。感染较为严重的病例在感染的粘膜上出现有不同程度的炎症或坏死性病变，这些病变再发展成坏死性肠炎，其表现为体重严重下降并且经常持久性腹泻。

急性出血性 PE 病例和慢性 PE 不一样，更常发生于 4-12 月龄的青年猪，如繁殖小母猪，在临床上表现为急性出血性贫血。首次观察到的临床症状常常是排出黑色柏油状粪便，可能会逐渐变稀。然而有的动物没有出现粪便异常情况即发生死亡，仅仅表现为皮肤苍白。大约有半数的感染动物最终会以死亡而告终，其余的动物在数周内逐渐恢复健康。怀孕动物临床感染后在出现症状的 6 天内可能发生流产，一些残留下来的猪可能丧失繁殖能力（McOrist 等，1999）。急性感染病例母猪所产的仔猪不能获得对 PE 的保护（Guedes 等，2002a）。

大多数无并发症的慢性 PE 病例，临床症状出现后的 4-10 周开始恢复，表现为食欲恢复、生长率恢复到正常水平。尽管有大面积的病变，病猪仍可长到屠宰时应有的体重标准（Rowland 和 Hutchings，1978；Jensen 等，1999），但是平均日增重会降低，从而使其达到市场需要时的体重时间显著延长，进而增加了经济成本。感染猪每单位增重需要的饲料量的增加所造成额外的饲料消耗也是一项

主要的成本。攻毒实验期间对饲料量和体重的仔细测量已经证实感染猪和正常猪相比较平均日增重降低 6-20%，每单位增重所需饲料增加 6-25% (Gogolewski 等，1991；McOrist 等 1996b, 1997)。用于繁殖计划或有特定目标市场的猪群饲养成本增加变化是显著的。PE 引起的经济损失已经通过下列事实得到证实，猪的胴体重下降、饲料转化率降低、空间利用率、繁殖问题以及发病—死亡的关系，根据猪价、建筑空间和饲料价格的变化，总计每只感染的育肥猪增加 0.5 甚至超过 1 美元 (McOrist 等，1997；Veenhuizen 等，2002)。

病理变化

慢性 PE

患有慢性 PE 的青年猪，最常见的病变部位在小肠末端 50cm 处以及邻近结肠上 1/3 处。严重时，病灶会扩展到空肠、盲肠和大肠的底端。增生程度变化很大，但在病变部位处都可见到肠壁增厚、肠管直径增加。在病变范围较小时，应仔细检查回肠末端的靠近回盲瓣 10cm 区域，因为此部位是最可能的感染部位。在检查轻微病变区时应仔细与 Peyer's 淋巴带上的肠粘膜褶皱相区别。常常可以看到一些浆膜下和肠系膜水肿，着重是浆膜表面的正常褶皱形式。粘膜表面湿润，但没有黏液，有时黏附着点状炎性渗出物。感染的肠粘膜本身脱落进入纵向或横向皱褶深处（图 44.1），发生相似病变的大肠可产生明显的噬斑或形成息肉。

图 44.1 慢性 PE 回肠增厚，有隆起的粘膜

在病理组织学上，粘膜由不成熟的上皮细胞排列形成肿大的分支状腺窝。与正常腺窝相比，正常腺窝只有一层细胞厚，而感染的病变腺窝常常有 5、10 或更多层细胞那么厚（图 44.2）。很明显，整个腺窝出现大量有丝分裂现象。其它感染细胞的核可表现为肿大的小泡结构或呈颜色较深的细长纺锤形。杯状细胞多缺乏，而如果杯状细胞重新出现在肠腺窝深处，则预示炎症开始消退。没有并发症的病例，粘膜固有层都是正常的。

图 44.2 慢性 PE 高倍显微镜照片，显示感染的肠腺窝显著增大

与正常的毗邻腺窝相比，有 5-10 个上皮细胞厚（H&E，400×）

银染、特异性免疫学染色或电镜观察，可以发现感染的部位有大量的劳氏胞内菌，位于感染的上皮细胞顶端胞浆中（图 44.3）。在恢复期病变中，细菌呈凝结状，也可能被挤压在退化的细胞中再进入肠腔或被层状固有层中的巨噬细胞所消化。许多病例几乎无炎症反应。恢复期病变的显著特征是随着成熟上皮细胞的发育，上皮细胞逐渐恢复，在腺窝深部出现杯状细胞，腺瘤细胞从表面迅速消失（McOrist 等，1996a）。

图 44.3 慢性 PE 回肠上皮细胞，在胞浆和侵袭区的顶端胞浆中含有几个游离的劳氏胞内菌（箭头所指）（醋酸铀和柠檬酸铅染色 10000×）

坏死性肠炎

坏死性肠炎的显著特征就是炎性渗出物覆盖在已发生的 PE 病变上，形成凝固性坏死灶。常出现黄灰色奶酪状团块紧密黏附在空肠-回肠粘膜上，在某些区域可能紧密地包裹在已经增厚的粘膜结构上。在组织学上，凝固性坏死界限很清晰，带有纤维素性沉积和变性的炎性细胞。如果在深层组织中观察到增生上皮细胞的残疾即可做出确诊。

局限性回肠炎

该病变的识别特征是下部小肠肠腔光滑收缩，变得如同硬管，因此习惯上称为“软灌肠”（图 44.4）。粘膜可能发生溃疡，有肉芽和岛状组织和未死的粘膜相毗连。最显著的特征是外肌层肥大。局限性回肠炎的病变现在相对稀有。

图 44.4 局限性回肠炎 显示小肠明显肥大，旁边是正

常小肠管

急性出血性 PE

出血性 PE 通常发生于回肠末端和结肠。感染的肠壁增厚、肿胀并有一定程度的浆膜水肿。回肠和结肠肠腔中常含有一个或多个血块，但通常没有其它血液或食物存在。在直肠中可能含有由血液和消化产物混合而成的黑色柏油状粪便（图 44.5）。肠道感染部位的粘膜表面除了显著的增生性增厚外，还有少量粗糙的损伤。但没有发现出血点、溃疡或糜烂。组织学检查证实在增生性上皮细胞中细胞多发生退行性变化、组织充血和出血变化。在感染肠粘膜和感染肠道腺窝内，堆积有细胞碎片和大量的劳氏胞内菌（图 44.6）。

图 44.5 急性出血性 PE 小肠粘膜增厚、肠腔中有凝血块

图 44.6 急性出血性 PE 回肠粘膜显微照片，显示粘膜腺窝弥漫性变性，并在表面有出血

诊断

由于劳氏胞内菌很难人工培养，必须采用其它方法进行诊断。可通过证实粪便中含有劳氏胞内菌对 PE 做出临床确诊，即通过用劳氏胞内菌的特异性引物进行 PCR 试验（Jones 等，1993）或采用兔的高免血清中的多克隆抗体或抗劳氏胞内菌的特异性单抗进行的免疫学试验（McOrist 等，1987；Guedes 和 Gebhart，2003c）。病变活跃的猪在感染的数周内能够发现排出病原（Knittel 等，1998；Kim 等，1998；Guedes 等，2002c）。但是，粪便分析敏感度不高，不能充分诊断所有感染病例。根据 DNA 的提取方法和所用的试验类型（巢式或直接 PCR 试验）不同，PCR 能够检测到每克粪便中含有 10^2 - 10^5 个细菌。对单点猪场进行普查时，6-10 周龄的猪流行病率最高。大龄猪通常只有在暴发急性 PE 时才进行采样。对任何一种试验的粪便样本必须保存在 4℃ 或以下。

PE 的血清学诊断方法是采用全菌体抗原进行间接免疫荧光试验（Lawson 等，

1988; Knittel 等, 1998) 或免疫过氧化酶试验 (Guedes 等, 2002b)。这些试验采用的细菌抗原是由感染肠道提取的或人工培养的劳氏胞内菌。血清学试验结果证实猪对劳氏胞内菌产生的血清抗体反应是特异的, 主要有 IgM 和 IgG。尽管能够检测到的抗体反应和出现病变之间有很好的相关性, 但是并不是所有感染的病例都能够引起猪血清抗体阳性。虽然采血比采集粪便较为费时, 但是血清学试验比较便宜, 而且更适合大量样本的检验。

在尸体剖检时, 采用萼-尼氏染色或姬姆萨染色对粘膜图片进行检查以证实胞内菌的存在是最为简便的技术, 最为简单而且不需要复杂的设备 (Love 等, 1977)。对感染的病变组织进行组织学检查, 可以对增生病变在形态学上进行鉴别。对病灶中的劳氏胞内菌进行特异性鉴定可以采用对固定包埋的组织进行免疫组化染色 (Lawson 等, 1985; McOrist 等, 1987; Guedes 等, 2002c)。如果没有特异性的免疫学试剂时, 可以采用银染技术能够清楚的显示细胞中的胞内菌 (图 44.7)。常规方法是采用改进的 Warthin-Starry 银浸染技术 (Young, 1969), 一般可得到满意的结果。由于劳氏胞内菌很小, 需要在高倍镜下对感染的腺窝组织进行仔细检查。如果采用电镜技术, 可以证实胞内菌的存在。

图 44.7 慢性 PE 回肠粘膜腺窝显微照片 上皮细胞胞浆中可见大量的胞内菌 (箭头所指) (Warthin-Starry 银染; 放大 2000 ×)

在实验室进行劳氏胞内菌的专性培养需要建立适宜的细胞系, 如 IEC-18 大鼠肠细胞或 IPEC-J2 猪肠细胞, 再加入从猪肠道纯化而来的劳氏胞内菌和一定的抗生素以防止其它细菌的生长 (Lawson 等, 1993; McOrist 等, 1995b)。细菌的维持和继代培养需要有适宜的微好氧环境和细胞溶菌条件 (lawson 等, 1993)。大部分单层细胞中每个细胞可以感染大约 50 个胞内菌 (图 44.8), 一般不引起细胞病变。

图 44.8 劳氏胞内菌的培养 IPEC-J2 猪肠道上皮细胞, 每个细胞的胞浆内含有大量胞内菌 劳氏胞内菌特异性单抗的

治疗和预防

通过细胞培养法在体外评价试验中，对 20 种抗生素的最小抑菌浓度（MIC）和 10 种抗生素的最小杀菌浓度（MBC）进行测定，结果表明劳氏胞内菌对许多抗生素有抵抗作用（McOrist 等，1995c；McOrist 和 Gebhart，1995）。然而，用试验感染猪和对商业化猪群治疗和预防方法进行评价研究时，结果表明，大环内酯类、林可霉素和截短侧耳素在每千克体重给予适当量药量时最为有效（McOrsit 等，1996b，1997；Walter 等，2001；Schwartz 等，1999；Winkelman 等，2002）。在美国，一些喹啉药物也可以使用，而且很有效。还没有发现对这些药物有耐受性的劳氏胞内菌菌群（McOrist，2000）。用这些药物进行治疗失败的病例主要发生于有回肠炎的猪，根据体重计算时给药量不足，例如繁殖猪饲料的低摄入量或者在感染高峰前或后使用药物治疗的猪。在 PE 临床病例上，目前已知对劳氏胞内菌肯定无效的抗生素有青霉素、杆菌肽、氨基糖甙类如新霉素、维吉尼霉素和离子载体类药物。非抗生素治疗，如铜-锌化合物或饲料酸味剂等也已证明没有治疗作用。

根据发病猪的年龄和种类可以采用不同的治疗方法。对繁殖猪群的急性 PE 治疗需要采取有力的治疗方法。治疗既包括临床感染的猪，也包括有接触的猪（可能是整个猪群）。首选的治疗药物是泰妙菌素（120ppm）或泰乐菌素（100ppm），可通过水溶液或预混料口服或通过肌肉注射等量药物对感染猪和接触猪进行连续治疗 14 天。

严重的慢性临床病例表现为猪体消瘦，有或无坏死性肠炎，这些猪在使用泰乐菌素、林可霉素或泰妙菌素（如果有也可用卡巴氧）进行治疗通常可显著缓解症状。如果临床上育肥猪发病十分多，将感染猪移到隔离的猪舍，并进行辅助治疗可以降低损失。田间对照试验结果表明，在劳氏胞内菌感染高峰刚到之前就将抗生素通过预混料或水溶液进行给药能够取得很好的治疗效果，在许多单点猪场通常是在大约 8-11 周龄时进行（McOrist 等，1999，2000）。对大龄猪的治疗，如繁殖猪群，不可能从其后代仔猪或其它猪群中消除感染。由于不同猪场之间以

及同一猪场不同批次猪之间发生感染和 PE 病例的时间各不相同，治疗时在饲料中添加抗生素的时间可能太迟，这样就不能减轻临床症状和猪的生产行为（Hammer, 2004）。反之，如果添加时间太早，那么“洁净”的猪群就没有机会产生对此病的主动免疫，维持其原有易感状态，从而在以后更容易发生严重急性 PE。

尽管阐明 PE 病因的时间很短，但是此病的流行特征、重大经济影响以及发病的不同时间都说明疫苗免疫是最合理的能够长期控制该病的方法。通过口服给青年猪免疫接种一次低剂量的弱毒活疫苗（ $10^{4.9}$ TCID₅₀/头）能够获得显著的免疫水平，抵抗不同毒力的劳氏胞内菌攻毒感染（Kroll 等, 2004）。这一点可以从免疫猪群的肉眼观察的和显微病灶基本参数显著降低（ $P<0.05$ ）得到证实。这种免疫保护性和所选择的口服免疫途径无关（分别口服给药或群体饮水给药）。疫苗免疫以后，尤其是通过饮水免疫可以观察到猪增重率显著提高，粪便的劳氏胞内菌排菌量明显减少。此疫苗已经在很大范围内得到广泛使用，没有安全性问题。尚没有商品化灭活的或亚单位疫苗。

在没有疫苗可以使用的情况下，要更新繁殖猪群时，将新种猪在运输经过污染区域或进入感染猪群前，应采用治疗剂量水平的抗生素进行治疗一段时间，以防止发生临床病例。治疗处方是泰妙菌素（120ppm）、泰乐菌素（100ppm）或林可霉素（110ppm），通过预混料进行口服给药连续治疗 14 天。在运输途中或在农场感染期，在服用抗生素前应不超过 2-3 周（Love, 1977）。这种方法也适用于青年成体猪的急性 PE 病例的治疗。但是，即使采用这种方法在治疗结束以后，有的服药猪也可能发生 PE。

急性或慢性 PE 对于高度健康的猪群、发病率极低的猪群、早期断奶仔猪以及优质商品种猪一直以来是最为严重的问题。对于大多数常规猪群，即使一年以上没有发生 PE 的临床病例，也不能保证是无病猪群，这一点无论如何强调也不过分。显然来自于这种猪群的无病猪也许可将 PE 传播到其它污染的环境中，并在以后暴发急性出血性 PE，随后出现低水平的流行性慢性 PE。