

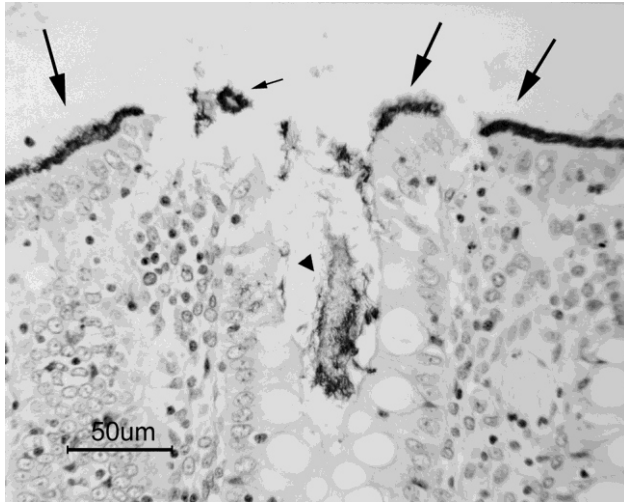
第 46 章 猪结肠螺旋体病/猪肠道螺旋体病

David J.Hampson 和 G.E.Duhamel

猪结肠螺旋体病 (Porcine Colonic Spirochetosis, PCS), 也称猪肠道螺旋体病, 是一种与螺旋体有关的结肠炎, 主要发生于断奶仔猪和保育猪, 与微溶血性肠道螺旋体感染有关, 而与猪痢疾病原赤痢螺旋体感染有区别(Taylor 等, 1980; Zuerner 等, 2004)。目前将引起 PCS 的螺旋体命名为结肠菌毛样螺旋体 (Ochiai 等, 1997), 以前在文献中称做“*Anguillina coli*” (Lee 等, 1993), “*Serpulina coli*” (Duhamel 等, 1993a), 和Ⅳ群微溶血性肠道螺旋体(Fellstrom 和 Gunn arsson, 1994)。

感染菌毛样螺旋体通常引起温和到中度盲结肠炎并导致排水样或粘液状粪便, 根据结肠损伤的严重性和程度, 受感染的猪出现体重减轻, 生长速度减慢。个别猪只育肥期延长, 从而影响整体市场销售。

PCS 早期一般的组织学特征是在盲肠、结肠和/或直肠出现炎症病灶, 有大量螺旋体, 其细胞一端连结到结肠上皮表面, 形成“假性刷状缘”(Taylor 等, 1980; Girard 等, 1995) (图 46.1)。这种特征性的吸附也见于人类(Trivett-Moore 等, 1998)、灵长类(Duhamel 等, 1997; Duhamel 等, 2003)、犬(Duhamel 等, 1996)、鸡(Trampel 等, 1994; McLaren 等, 1997; Stephens 和 Hampson, 2001), 以及各种野生禽类(Webb 等, 1997; Jansson 等, 2001)。由于从粪便分离菌毛样螺旋体并不是一定出现腹泻症状或螺旋体上皮吸附特征, 因此鉴定螺旋体需要一套完整的调查诊断后才能做出 (Thomson 等, 1998)。用菌毛螺旋体实验感染敏感猪表现的临床和病理变化与自然发生的 PCS 相一致。



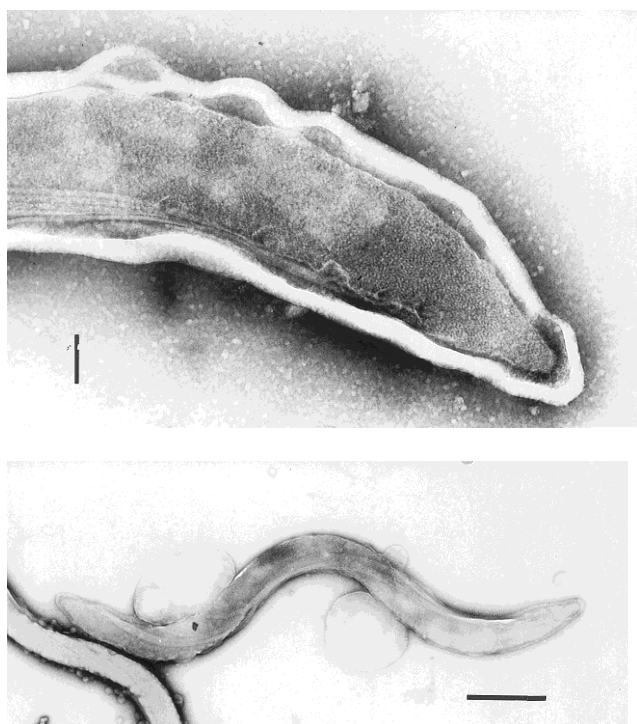
46. 1. 免疫组化染色自然发生猪结肠螺旋体光镜下结肠上皮。螺旋体一端吸附在上皮细胞刷状缘形成的较暗的条纹（大箭头），在隐窝开口内的粘液中游离存在（箭头）。螺旋体吸附在脱落的坏死上皮细胞上（小箭头）。使用的是抗 FlaB 周边胞质鞭毛中心蛋白短螺旋体特异性单克隆抗体，然后使用抗生物素蛋白生物素-碱性磷酸酶显色。

Taylor 及其同事(1980)最先描述了 PCS，他们用弱 β 溶血性肠道螺旋体(菌株 P43 /6/78T)给实验猪攻毒，受试猪出现粘液样腹泻，并伴有出血以及结肠损伤。这个菌株起初被认为是无致病性弱 β 溶血性肠道螺旋体，但现在认为它是结肠菌毛样螺旋体的典型菌株。已用菌毛样螺旋体的其它菌株在猪身上成功复制 PCS (Trott 等,1996B; Thomson 等 1997; Duhamel 1998; Jensen 等 2000; Jensen 等 2004a)。PCS 被认为是在世界范围内引起结肠炎的主要病原。原因如下，一，对菌毛样螺旋体的诊断方法不断改进，与其它肠道螺旋体可以鉴别；二，抑制菌毛样螺旋体的抗生素促生长剂停止使用；三，许多国家中其它主要肠道病如沙门氏菌病、猪痢疾已得到很好控制(Duhamel, 1996)。尽管存在非传染性的、饮食引起的结肠炎(Wood, 1991)，英国报道的“非特异性结肠炎”中至少有部分看来是由结肠菌毛样螺旋体引起的。PCS 的发生见于大多数养猪国家，包括澳大利亚(Hampson, 1990; Lee 等, 1993)，比利时(Castryck 等, 1997; Hommez 等, 1998a)，巴西(Barcellos 等, 2000a)、加拿大(Jacques 等, 1989; Girard 等, 1995)、丹麦(Møller 等, 1998)，芬兰(Heinonen 等, 2000)，法国(Pronost 等, 1999)，德国(Verspohl 等, 2001)，韩国(Choi 等, 2002) 西班牙(de Arriba 等, 2002)，瑞典(Fellström 等, 1996)，英国(Taylor 等, 1980; Thomson 等, 1998; Thomson 等, 2001)，以及美国(Ramanathan 等, 1993; Duhamel 等, 1995a)。有

关 PCS 的许多研究是在近十年进行的，该病的许多重要方面还不清楚，包括详细的流行病学、螺旋体的毒力决定子，以及致病性——包括宿主免疫和炎症反应。PCS 对经济的影响也还没有总体的评价。

病原学

结肠菌毛样螺旋体是 PCS 的病原，但在生产中经常发生与肠道其它病原混合感染的情况。菌毛样螺旋体具有螺旋体特征性的形态，外观与短螺旋体属（正式称为 *Serpulina*）的其它种相似。长 $6\sim 10\ \mu\text{m}$ ，宽 $0.25\sim 0.30\ \mu\text{m}$ ，具有特征性的 4~7 根环绕胞浆的鞭毛，末端尖细(图 46.2)。螺旋体具有典型螺旋状前进的运动性，这有助于其穿透并向覆盖于结肠上皮的粘膜移动。螺旋体的外层含有决定血清型的脂质寡聚糖，不同菌株血清型不同（Lee 和 Hampson 1999）。对于菌毛样螺旋体的许多外层膜蛋白和脂质蛋白已经有大量研究，但还需要大量工作来确定它们在疾病中的作用，包括它们是否参与吸附和/或是否产生保护性免疫（见 Trott 等综述，2001）



46.2. (A) 电镜下结肠菌毛样螺旋体 P43/6/78T 菌株放大的细胞一端，可见尖细的尾部，5 个周边胞质鞭毛，以及插入吸盘（标线= $0.1\ \mu\text{m}$ ）
(B) P43/6/78T 光镜下的整个细胞，可见螺旋体的螺旋状形态（标线= $0.5\ \mu\text{m}$ ）

结肠菌毛样螺旋体与猪痢疾密螺旋体所需的厌氧培养条件相同。在胰酪胨

血琼脂上培养 3-5 天，菌毛样螺旋体形成一层厚的表面展开呈雾状菌落，周围围绕着一圈弱 β 溶血环。分离该菌时，培养基一般添加黏菌素（25 μ g/ml）、万古霉素（25 μ g/ml）和或壮观霉素（400 μ g/ml）（CVS; lenkinson 和 Winger, 1981）。推荐使用利福平和螺旋霉素分离赤痢螺旋体；因这两种抗生素抑制菌毛样螺旋体的生长，因此不用于分离菌毛样螺旋体（Duhamel 和 Joens, 1994; Duhamel 等, 1995b; Trott 等, 1996c）。初次接种将琼脂切成块，正如培养赤痢螺旋体一样，可提高菌毛样螺旋体复苏。不过，与赤痢螺旋体不同的是，这种方法培养菌毛样螺旋体溶血环或戒指现象不明显。一旦分离出来，螺旋体可以在各种液体培养基中增殖，如胰冻大豆肉汤和脑心浸液肉汤。

近十年来，对猪肠道螺旋体的分类学有了很大的改动（Hampson 和 Trott, 1995; Hampson 和 Stanton, 1997）。目前，定植于猪体内有四种弱 β 溶血厌氧螺旋体，只有菌毛样螺旋体被证实具有致病性。另有一些报道表明猪肠道螺旋体还有其它的表型，分类也不确定（Thomson 等, 2001），据说菌毛样螺旋体无这种表型，或是菌毛样螺旋体以溶血活性降低的形式出现（Zuerner 等, 2004）。

1997 年将强溶血性赤痢密螺旋体、弱溶血性无害密螺旋体和结肠菌毛样螺旋体归于短螺旋体属（Ochiai 等, 1997; Validation list, 1998），直到最近才将四种定植于猪弱溶血短螺旋体归在密螺旋体属。但有两种猪弱 β 溶血螺旋体，即中间密螺旋体和 *murdochii* 密螺旋体（Stanton 等, 1997）没有归属过来。不过在研究螺旋体科学界，这两种细菌不成文地指中间短螺旋体和 *Murdochii* 短螺旋体（Hampson, 2000）。这四种弱溶血性螺旋体在血琼脂上具有相似的外观，只能通过生物化学和遗传学分型技术来区分。无害短螺旋体、中间短螺旋体、*murdochii* 短螺旋体感染实验猪不引起发病，人们普遍认为它们是猪非致病性共生生物（Lee 等, 1993; Jensen 等, 2000）。另外，禽类的中间短螺旋体对商品鸡具有致病性（Hampson 和 McLaren, 1999），其中一猪源的菌株可引起实验感染 1 日龄鸡盲肠损伤（Trott 和 Hampson, 1998）。而且，将中间短螺旋体接种到离体结肠上可引起损伤（Binek 和 Szykiewicz, 1984），偶尔会引起田间猪的腹泻（Fellstrom 和 Gunnarsson, 1995）。总之，中间短螺旋体是否会引起猪的肠道疾病尚未定论。从患有腹泻的猪分离到的非致病性短螺旋体的某些菌株，给无菌猪接种可引起腹泻和损伤（Neef 等, 1994），但在田间条件（例如某些特定情况）

下是否引起显著病变尚不得而知。明确存在于短螺旋体种间的毒力决定子有助于解决这些问题。目前，由于弱溶血性肠道螺旋体这些共生物存在，影响了 PCS 和/或猪痢疾的诊断。最近，在芬兰发现一种短螺旋体样螺旋体与结肠损伤有关。令人惊奇的是，这种螺旋体可以和细小螺旋体核酸探针而非短螺旋体探针杂交（Lensen 等 2004b）。这一发现的重要性尚不清楚，但假如这种细菌存在并广泛分布的话，将使螺旋体所致结肠炎的诊断更复杂化。

流行病学

PCS 的详细流行病学情况还没有完全搞清楚，一般认为是通过粪便/口的途径感染，和猪痢疾一样，引进带菌猪很易在没有免疫力的猪群中引起发病。菌毛样螺旋体可以长期在环境中存活；因此如果环境不清洁以及消毒不彻底，这种病很容易在不同批次猪再次发生。事实上，不同温度下积粪中的菌毛样螺旋体比赤痢螺旋体的存活时间长（Barcellos 等，2000b）。Oxberry 等（1998）实验表明菌毛样螺旋体可以在 4℃ 的湖水存活 66 天，比赤痢螺旋体存活时间长。其它的研究表明菌毛样螺旋体可以在土壤中存活 119 天，在含 10% 猪粪的土壤或 10℃ 条件下的猪粪中均能存活 210 天（Boye 等，2001）。螺旋菌对许多日常使用的消毒剂敏感，但如果有粪便等有机物质存在下，有些消毒剂的有效性下降（Corona Barrera 等 2004a）。

各种研究表明可以从任何一个阶段的生长猪分离到菌毛样螺旋体，但感染最容易发生于断奶仔猪和保育猪。由于缺乏血清学检测方法，因此难以检测到活体内抗体滴度。因此，活体检测菌毛样螺旋体是通过将猪粪进行细菌学培养来完成，培养后对可疑菌落通过 PCR 扩增短螺旋菌种属特异性核酸序列，见下述。

使用这种检测方法对不同地理区域的菌毛样螺旋体流行情况进行了评估。瑞典的一个研究表明，患有腹泻的 7 个猪群中有 6 个猪群检测到菌毛样螺旋体（85.6%），而从没有腹泻的 8 个猪群中只有 1 个猪群检测到菌毛样螺旋体（Fellstrom 等，1996）。在英国 1992 年到 1996 年调查表明了 85 个存在结肠炎和腹泻的猪场，结果有 21 个猪场菌毛样螺旋体是主要的病原（25%），而另 23 个猪场菌毛样螺旋体是混合感染病原之一（27%）（Thomson 等，1998）。后续 1997 到 1999 年间对 98 个存在腹泻和结肠炎的猪场调查表明，18 个猪场菌毛样螺旋体是主要病原（18.4%），24 个猪场菌毛样螺旋体是混合感染病原之一（24.5%），

这些结果表明 PCS 在英国一直是个重要的问题 (Thomson 等, 2001)。在丹麦, 72 个存在腹泻的猪场有 10 个猪场 (13.9%) 分离到菌毛样螺旋体, 而没有腹泻问题的 26 个猪场没有分离到菌毛样螺旋体。在后续的研究中, 随机选择 79 个猪场, 有 15 个猪场 (19.0%) 被菌毛样螺旋体感染, 猪场内的感染率达到 5-10% (Stegge 等, 2000)。1997 年芬兰的一项调查表明, 在 50 个健康状况良好的猪场 14 个猪场 (28%) 分离到菌毛样螺旋体 (Heinonen 等, 2000), 1998 年巴西的一项调查表明 17 个患有腹泻的猪场, 有 7 个 (41.2%) 猪场生长猪的粪便中分离到菌毛样螺旋体 (Barcellos 等, 2000a)。瑞士最近的研究表明生长猪生产性能差主要与菌毛样螺旋体和 *L.intracellularis* 相关 (Jacobson 等, 2003)。总之, 这些研究表明有持续腹泻问题存在的猪场通常大多与菌毛样螺旋体感染有关, 而没有腹泻问题的猪场感染菌毛样螺旋体的比率低或没有。个别研究得到的特定流行状况在解释的时候需要小心谨慎, 因为有很多因素影响这种状况, 包括同时使用的抗生素, 猪的年龄, 采集方法, 样品的运输, 粪便中其它物质的污染, 所有这些都会影响检测菌毛样螺旋体。

有关猪群内菌毛样螺旋体感染模式的详细流行病学研究相对较少。最近, Oxberry 和 Hampson (2003) 对澳大利亚患有 PCS 的两个猪场进行平行和群组研究。研究表明猪场内菌毛样螺旋体流行病学变异很大。A 猪场 (2000 多头母猪) 感染率达 2.4%, 感染大多限于生长/育肥猪。所有的分离培养物相同, 这种情形与猪痢疾相似, 即一个猪场的所有感染均是由于赤痢螺旋体这一株引起。

对 B 猪场引进 A 猪场的 80 头母猪进行研究, 生长和肥育猪的感染率为 12.2%, 断奶猪也有感染。这里不仅感染率高, 而且所分离到的 10 株细菌遗传上不同型, 包含 7 个不同基因型。这一结果与早期对一个小型猪场的研究一致, 从该猪场获得的 14 株细菌, 菌毛样螺旋体有 9 个基因型 (Trott 等, 1998)。这种在某些猪场出现菌毛样螺旋体多基因型的现象, 可能是康复猪或者用抗生素治疗的猪再次出现 PCS 的原因。因为这种情况下, 被不同菌株重新感染, 可能具有不同的抗原决定簇, 抗生素敏感性不同, 从而侵入肠道而引起发病。可能确实存在不同致病性的猪的菌毛样螺旋体不同菌株 (Thomson 等, 1997; Jensen 等, 2004a)。

菌毛样螺旋体内菌株存在广泛的遗传多样性 (Lee 和 Hampson, 1994)。各

个菌株显然可以进行遗传重组和重排 (Trott 等, 1998; Zuerner 等, 2004), 部分可能是由于普遍性转导噬菌体活性的原因 (Stanton 等, 2003)。最近芬兰对分离菌株多样性进行研究表明多数猪场具有特异基因型的菌毛样螺旋体, 而在不同猪场很难找到同一基因型 (Fossi 等, 2003)。但有趣的是猪场内的基因型相当稳定, 因为检测过三个猪场, 三年后检测菌毛样螺旋体还是同一基因型。

Oxberry 和 Hampson (2003) 对 B 猪场的研究中, 从鸡、池塘水以及池塘里的野鸭身上也检测到菌毛样螺旋体。池塘的一株细菌和猪身上分离的一株基因型相同, 这与以前的研究结果一致, 表明野生水禽可能污染水源, 成为猪感染菌毛样螺旋体的一个潜在宿主 (Oxberry 等, 1998)。有研究强有力地证明鼠类是赤痢螺旋体的永久携带者, 但不是菌毛样螺旋体的宿主。至今只有一个报道野生鼠自然感染了菌毛样螺旋体 (Fellstrom 等, 2004)。实验条件下要给实验鼠感染菌毛样螺旋体, 必须饲喂特定饲料来增加大肠发酵, 这可能是自然条件下感染少的原因 (Sacco 等, 1997; Jamshidian 等, 2004)。

除了猪, 菌毛样螺旋体可以自然感染其它很多动物 (见 Duhamel 综述, 2001), 在所有这些种类的宿主中, 都发现了与 PCS 有关的典型临床症状和病变, 其中包括人类。来源于猪、犬和人的分离株具有遗传学的密切相关性 (Lee 和 Hampson, 1994; Trott 等, 1998), 但还没有证据表明这是一种动物传染性共患病。不过, 人源结肠菌毛样螺旋体菌株接种到普通猪上引起发病 (Trott 等, 1996b), 并且能在 1 日龄鸡 (Duhamel 等, 1995a; Trott 等, 1995; Muniappa 等, 1997; Muniappa 等, 1998; Trott 和 Hampson, 2003) 和成年鸡 (Jamshidi 和 Hampson, 2003) 体内生存, 所以人和动物之间潜在的交叉感染是不能忽视的。人群感染菌毛样螺旋体通常是由于免疫力低下或生活环境卫生恶劣, 尤其在一些发展中国家, 经常可见饮水被粪便污染的现象 (Margawani 等, 2004; Munshi 等, 2004)。因此, 在发达国家, 很难见到农场健康工人与患有 PCS 的猪群接触而感染发病的情况发生。

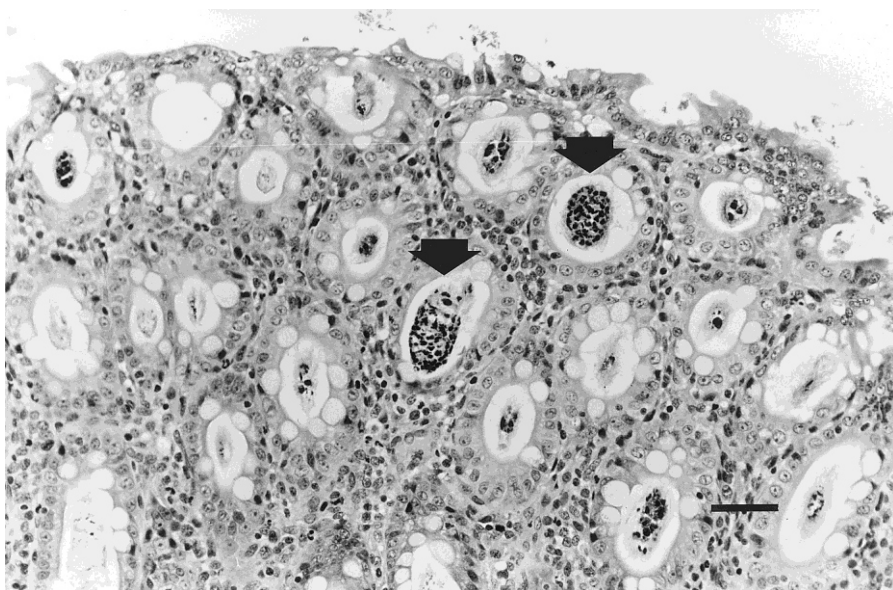
发病机理

PCS 的发病机理尚未完全明确, 但它与猪痢疾有几个重要区别 (Johnston 等, 1999)。感染时常见大量的螺旋体以菌体的一端附着在盲肠和结肠的上皮细胞表面。此外, PCS 发生引起的结肠炎比猪痢疾要轻得多, 与猪痢疾早期症状相似。

与猪痢疾一样，菌毛样螺旋体繁殖和/或疾病发生受猪的日粮影响。对猪场风险因子分析表明使用家庭混合和/或非颗粒饲料可以降低发病率（Stege 等，2001）。降低饲料中的能量和蛋白含量也可以减轻临床发病率（Spearman 等，1988；Wilkinson 和 Wood，1987）。在断奶仔猪日粮中添加羧甲基纤维素可以实验性增加肠道内容物的粘性，因此容易使菌毛样螺旋体定殖（Hopwood 等，2002）。研究人员就此推测日粮中含大量淀粉多聚糖（“可溶性纤维”），比如大麦和黑麦等这些谷类，同样可以增加肠道内容物粘性，因此有利于菌毛样螺旋体定殖。而猪日粮以煮熟的白饭（高度易消化，可溶性纤维含量低）为主要成分，可以减少菌毛样螺旋体的定殖，这与上述结果相一致（Hampson 等，2000；Lindecrona 等，2004）。Lindecrona 及其同事的研究（2004）表明，给猪饲喂颗粒料而非粉料，有利于菌毛样螺旋体的定殖，但饲喂发酵液体饲料或乳酸不影响菌毛样螺旋体的定殖。

为了能够定殖于肠道，菌毛样螺旋体细胞必须能够穿透并移行过覆盖在结肠粘膜表面的粘液。菌毛样螺旋体细胞可以移动，但不象赤痢螺旋体的强毒株吸附在结肠粘液素（Milner 和 Sellwood，1994）。它们的趋化性似乎受到生长介质的某些物质的调节（Witters 和 Duhamel，1999）。PCS 康复猪血清中存在菌毛样螺旋体膜脂蛋白 Ig G 抗体，菌毛样螺旋体膜脂蛋白与 MgIB 类似，是存在于致病性螺旋体 *burgdorferi* 中参与葡萄糖和半乳糖的运输和化学受体脂蛋白，也是引起 Lyme 氏疏螺旋体病以及梅毒螺旋体 *Treponema pallidum* 的成分（Zhang 等，2000）。由于这种蛋白与螺旋体运动调节信号转导相关，在 PCS 康复猪体内可以识别，因此必然在感染期间表达，可能是在清除结肠粘液素的糖缀合物期间表达。所以这种蛋白在粘膜联接中具有一定作用。

实验性接种后，2~7 天内粪便中检查到菌毛样螺旋体，但潜伏期亦能长达 20 天。感染初期，大量的结肠菌毛样螺旋体菌体吸附到盲、结肠上皮细胞的表面，致使微绒毛消失，终末网微丝损伤。粘附作用只发生在位于隐窝之间成熟的肠上皮细胞顶端，螺旋体不会吸附在肠道隐窝内未成熟细胞上（Trott 等，1996b）。上皮细胞的损伤导致隐窝细胞有丝分裂增加，隐窝延伸，扁平细胞或立方细胞代替成熟的柱状上皮。上皮损伤在肉眼可以见到粘膜表面有小的粘附结节（图 46.3）。



46. 3. 慢性猪结肠螺旋体病的结肠粘膜。注意愈合处的病变，粘膜可见充血和出血

在肿胀的结肠隐窝可观察到菌毛样螺旋体 (Trott 等, 1996b), 并侵入结肠上皮细胞紧密连接处、杯状细胞内(Thompson 等, 1997)、固有层内 (Duhamel, 2001)。隐窝和固有层内出现菌毛样螺旋体, 引起嗜中性粒细胞胞外分泌(隐窝脓肿)和水肿性结肠炎, 并伴有固有层, 有时进一步扩展到肠壁中嗜中性粒细胞和淋巴细胞混合浸润。慢性感染时, 固有层被大量单核细胞、淋巴细胞和浆细胞浸润 (Duhamel, 2001)。浸润可以与螺旋体吸附到上皮细胞同时发生, 也可单独出现。从患有结肠炎严重临床表现或免疫受损的病人血液中分离到了菌毛样螺旋体(Trott 等, 1997; Kamayaki 等, 2002)。尽管还没有在猪身上观察到全身性的螺旋体菌血症, 但不能排除它的存在。

上皮损伤后, 局部侵害并出现结肠炎, 这些因素引起盲肠和结肠内容物中含水量增加, 产生过多粘液, 并且偶尔出现血块。上皮损伤后由不成熟细胞代替, 使结肠吸收水分、电解质和挥发性脂肪酸的面积减小, 因此影响饲料转化率和增重(Duhamel, 1998; Thomson 等 1997)。

除了菌毛样螺旋体的“毒力生活方式”基因与运动和趋化性有关, 另有一些尚需进一步鉴定的引起发病的毒力因子。研究表明菌毛样螺旋体不存在以下因子, 包括结肠耶尔森菌属编码吸附和侵害因子 *inv*, *ail* 和 *yadA*, 肠道致病性大肠杆菌的 *eae*, 以及志贺菌属的毒性质粒, 研究也未发现同样的基因 (Hartland 等, 1998)。尽管使用肠上皮细胞系体外研究证实菌毛样螺旋体可以吸附到上皮细胞

上,但至今还未鉴定到假定的吸附或宿主细胞受体(Muniappa 等,1998)。在菌毛样螺旋体的细胞膜上至少发现了三种不同蛋白酶,包括枯草杆菌蛋白酶类似的丝氨酸蛋白酶,这与其它革兰氏阴性细菌的一样(Muniappa 和 Duhamel,1997; Dassanayake 等,2004)。但这些酶在疾病中的作用尚不清楚。由于还没有菌毛样螺旋体基因组信息,制约了对这种螺旋体毒力决定子的研究。而且,跟赤痢螺旋体不同,至今还没有成功地进行有关菌毛样螺旋体基因灭活的实验。

直接针对结肠菌毛样螺旋体的宿主免疫机制还不清楚。早期研究中,实验感染后的康复猪体内可以检测到抗体(Taylor 等,1980)。一般给断奶猪攻毒后 2-7 周,血清中出现对抗细胞粗提物和细胞膜制备品的抗体(Zhang 等,1999; Zhang 等,2000; Zhang 和 Duhamel,2002)。在另一项研究中,实验感染猪之后,尽管观察到细菌定殖和轻微结肠炎,但 18 天中都未检测到对菌毛样螺旋体整细胞制备品的抗体(Hampson 等,2000)

已经成功地将悉生猪(Neef 等,1994)、1 日龄鸡(Duhamel 等,1995a; Trott 等,1995; Muniappa 等,1998; Trott 和 Hampson,1998),成年鸡(Jamshidi 和 Hampson,2003)和鼠(Sacco 等,1998; Jamshidian 等,2003)作为实验感染的模型。对猪的各种实验感染,有 17%和 100%的猪感染,17%-67%的猪出现腹泻,8%-100%的猪表现结肠炎(见 Duhamel 综述,2001)。只在部分发病猪观察到螺旋体一端吸附在结肠上皮上(Thomson 等,1997)

临床症状

PCS 的症状类似于其它形式的结肠炎和早期的猪痢疾。通常出现在刚刚断奶后及刚混养在一起的置换了一种新日粮的生长猪。但也可见于育成猪、怀孕母猪和新引进的种猪群。PCS 可以影响到猪群中同一单元相同年龄的猪,或是出现于同一个猪舍里不同年龄的猪。在同一个猪场的断奶猪、育成猪和育肥猪中可见到不同 PCS 表现,这一点不足为奇。由于盲肠和结肠的强大的功能,因此并不是所有感染猪都发生腹泻,但亚临床感染仍会造成生长速度减慢。

最初症状多为腹部塌陷和粪便稀软,粪便粘附于圈舍地板上,持续发病,粪便可变为粥样,且外观闪光,这种情况一般仅见于育肥猪。断奶仔猪和保育猪通常出现绿色或棕色水样到粘液样腹泻,偶尔出现典型的浓厚粘液,一般很少出现血便。腹泻通常能够自愈,持续 2~14 天,不过有的动物在康复或治疗后会复发

并出现临床症状。

感染猪瘦弱，会阴处沾有粪便，拱背，有时发热，但能继续采食。PCS 猪常伴有其它疾病，特别是一些肠道疾病如猪痢疾、沙门氏菌病或增生性肠炎。田间混合感染很普遍（Duhamel 等，1995a； Girard 等，1995； Moller 等，1998； Thomson 等，1998； Stege 等，2000； Stege 等，2001； Thomson 等，2001）。出现猪拉软粪这种 PCS，猪主要表现增重减缓，饲料转化率降低，达到上市体重的时间较延长（Thomson 等 1997； Thomson 等 1998）。PCS 通常不引起死亡。

病变

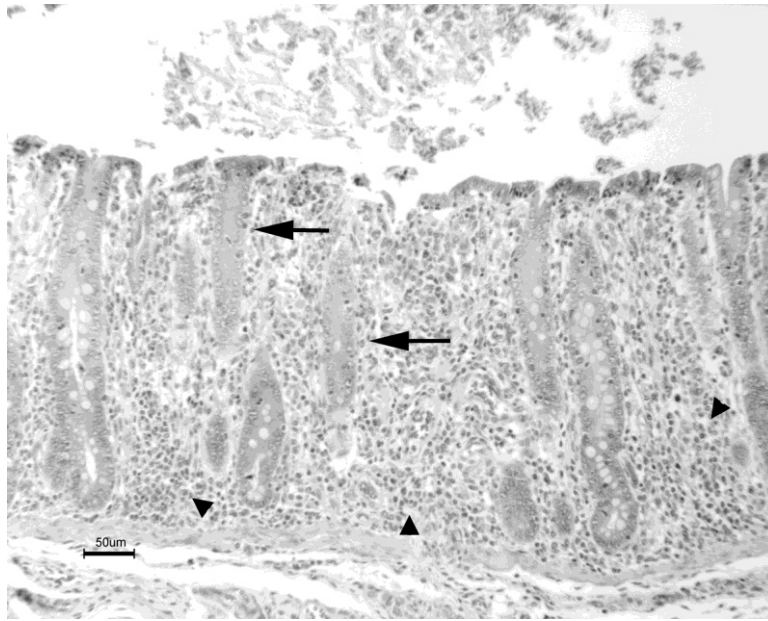
眼观病变

PCS 的眼观病变仅见于盲肠和结肠，在疾病早期病症很轻微。在出现临床症状后即进行剖检，常可见松弛的、充满液体的盲肠和结肠，表面水肿，有浆膜炎，肠系膜淋巴结和结肠淋巴结增大。肠内容物充盈，绿色水样，有时黄色和泡沫样。粘膜表面可能出现中度充血，有时伴有溃疡和坏死灶。疾病后期，由于炎症的进一步发展，可能导致弥漫性溃疡或粘膜出血性结肠炎，但没有猪痢疾病那样严重。粘膜增厚，表面可能出现局部渗出或出血。慢性病例或损伤恢复期，出血处被附着性纤维所覆盖，或覆盖坏死物和某些在消化的东西，看上去像一个锥形的鳞片附着在粘膜的表面(图 46.3)。这些附着物可以冲洗下来，去除冲洗液后可见到其沉淀物（Johnston 等，1999）。

显微病变

PCS 被描述为一种卡他性的、弥散性、糜烂或溃疡性结肠炎。病变通常局限于粘膜和粘膜下层，也会延伸至肌肉层。粘膜增厚、水肿，有时充血；粘膜病变的特征是：肠道隐窝扩张变长，充满粘液，细胞碎片及变性的炎性细胞(图 46.4)。隐窝细胞有丝分裂率增加，隐窝间粘膜表面可见不成熟的、立方形或扁平状上皮。结肠表面仍存在柱状上皮，经常覆盖着由螺旋体一端吸附形成的较暗的条纹(图 46.1)。用银染法（Webb 等，1997）或特异性寡核苷酸探针进行荧光原位杂交（Boye 等，1998； Jensen 等，2000）可以证实吸附在结肠细胞表面、肿胀的肠隐窝中或固有层中的螺旋体。在患有 PCS 猪的结肠表面常可见到大量的结肠纤毛虫(Taylor

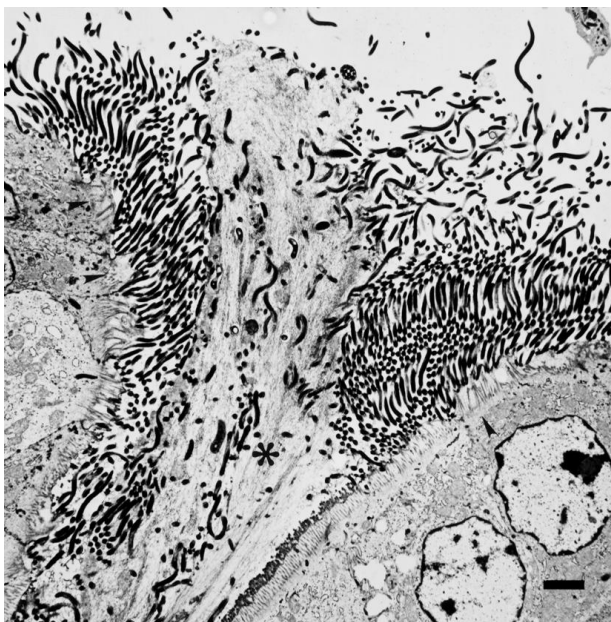
等, 1980; Trott 等, 1996b)。



46. 4. 消化道内接种菌毛样螺旋体后 21 天光镜下结肠病变。隐窝整个消失, 留存的隐窝上皮增生 (箭头所示), 隐窝间的固有层被大量混合性单核炎性细胞浸润, 多数是巨噬细胞和淋巴细胞 (箭头)。苏木精和伊红染色。

电镜病变

使用透射电镜, 可见螺旋体有 4~7 根鞭毛附着在每个细胞末端, 内陷入到周边内质网中, 影响到微绒毛, 并扰乱微丝, 但没有侵入到宿主细胞的胞质膜(图 46.5)。在扫描电镜下, 附着的螺旋体像结肠上皮细胞表面的不完整的边缘。在相邻隐窝之间的突起区域的上皮细胞间也可见螺旋体侵入(Duhamel, 1996)。



46. 5. 自然发生的猪结肠螺旋体病结肠的透射电镜照片。注意大量螺旋体一端附着于肠上皮，引起微绒毛消失，终末网微丝稀少(箭头所示)。很多螺旋体游离于隐窝内腔和开口处的粘液(星形所示)。乙酸双氧铀 和柠檬酸铅染色；标线=2.5 μm

(Johnston 等 1999，经允许)

诊断

若断奶仔猪临床出现粘液样或麦片粥样腹泻，无出血和死亡情况这些典型的临床症状，就可怀疑是 PCS。PCS 的临床表现很难同细胞内劳森氏菌引起的增生性肠炎区别。除了增生性肠炎，PCS 还可以和其它胃肠道疾病同时发生，包括沙门氏菌病、断奶后大肠杆菌病、猪痢疾、耶尔森氏鼠疫杆菌肠道病和鞭虫病。所有这些在 PCS 鉴别诊断中都应考虑到。还要考虑到与日粮有关的对颗粒饲料高度敏感的“非特异性结肠炎”(Smith 和 Nelson，1987)。

为做出诊断，须剖检几头感染的猪，还须做常规组织学和细菌学检验 (Johnston 等，1999)。用于短螺旋体培养和/或 PCR 的粪便样本也应该采自所有感染猪。直接从结肠壁取样可以用于制备湿的抹片，通过相差显微镜观察，或进行固定和革兰氏染色观察。两种情形下观察到大量螺旋体就可确诊。盲肠组织切片特别是结肠组织切片出现螺旋体吸附在结肠粘膜上，就可诊断为 PCS，但这种情况不是每个病例都会出现。与 PCS 有关的其它组织病变通常是非特异性的，因此对 PCS 确诊需要进行菌毛样螺旋体细菌学培养和/或 PCR。在等待确诊结果出来之前，就应开始治疗，因为有时确诊需要花费 1-2 周的时间。

通过表 46.1 中所述的一系列生化试验，可以将 4 种弱 β 溶血螺旋体及猪痢疾密螺旋体 互相区分开。然而这些试验要求菌毛样螺旋体纯培养物，此过程可能要几周才能完成，特别是初代的培养物中严重污染了其它杂菌。另外，由于具有异常表型的分离株，如菌毛样螺旋体马尿酸盐阴性分离株 (Fossi 等，2004)，使得实验结果难以解释。通常实验室可通过 β 溶血增强、马尿酸盐水解、核糖代谢，以及 API-ZYM 中缺少 β 葡萄糖苷酶活性等试验来鉴定菌毛样螺旋体 (Fellslrm 和 Gunnarsson，1995；Trott 等，1996c)。目前，使用特异性 PCR 诊断更有说服力。

表 46.1 通过胰酪大豆血琼脂培养溶血特性，生化反应和糖利用来鉴别五组猪肠道螺旋体

试验	赤痢螺旋体	中间短螺旋体	无害短螺旋体	Murdochii 短螺旋体	菌毛样螺旋体
溶血	强	弱	弱	弱	弱

吲哚	+ ^a	+	-	-	- ^a
马尿酸盐	-	-	-	-	+ ^b
API-ZYM	1	1	2	3	4
D-核糖	-	-	-	-	+

注： +=阳性反应； -=阴性反应；

a 赤痢螺旋体 吲哚反应阴性株，菌毛样螺旋体 吲哚反应阳性株也有报道。

b 菌毛样螺旋体 马尿酸盐反应阴性株也有报道

1=α-葡萄糖苷酶阳性，α-半乳糖苷酶阴性

2=α-葡萄糖苷酶阴性，α-半乳糖苷酶阳性

3=α-葡萄糖苷酶阴性，α-半乳糖苷酶阴性

4=反应可变，包括两种酶都阳性，β-葡萄糖苷酶阴性。

有一些报道描述了几种 PCR 方法，包括基于特异性 16S rRNA 序列（Park 等，1995；Fellstrom 等，1997；Muniappa 等，1997），基于 23S rDNA 序列（Leser 等，1997），或者 NADH 氧化酶基因（Atyeo 等，1999）而建立的 PCR 方法。如果用于初培养物，联合培养/PCR 技术比单独培养更灵敏，并且诊断时间显著缩短，既使对于污染了大量其它粪便微生物的情况也一样（Atyeo 等，1998）。最近诊断方面取得了一项研究进展，即使用二重 PCR 同时检测菌毛样螺旋体和赤痢螺旋体，并且可以直接用粪便提取 DNA 来扩增，这种方法可以在样品送检的当天获得结果。已经有研究在二重 PCR 反应中添加细胞内劳森氏菌，从而使单一粪便样本的致病原检测范围扩展（La 等，2004）。使用 PCR 方法结合样品培养可以用于菌株分型和/或测定抗生素敏感谱。

正如前面提到的，另一项诊断上的研究进展是荧光原位杂交技术（FISH），这项技术使用特异性识别菌毛样螺旋体 16S 或 23S rRNA 序列的荧光寡核苷酸探针（Boye 等，1998；Jensen 等，2000）。这种技术的方便之处是可以同时鉴定和定位肠粘膜上的螺旋体。使用 FlaB 外周胞质鞭毛中心蛋白的短螺旋体特异性单克隆抗体以及抗生物素蛋白-生物素-碱性磷酸酶复合物方法进行免疫组化染色，可以对福尔马林固定石蜡组织切片上的肠道螺旋体进行定位（Fisher 等，1997；Webb 等，1997；Johnston 等，1999）。这些技术对于研究方案中有关 PCS 致病机理方面很有帮助。

其它一些用于检测和/或鉴定猪的弱溶血性肠道螺旋体，以及赤痢螺旋体，而不需要培养和生化分析的方法也有一定发展。包括 PCR 扩增特异基因序列，然后用限制性酶消化产物获得种属特异性条带。用于这种方法的基因包括 16S

rRNA (Stanton 等, 1997), 23S rDNA (Barcellos 等, 2000c; Thomson 等, 2001), NADH 氧化酶基因 (Rohde 等, 2002)。使用 MABs 来检测特异性 NADH 氧化酶基因外膜蛋白的间接荧光抗体检测方法也可以用于粪便中螺旋体诊断 (Lee 和 Hampson, 1995; Tenaya 等, 1998)。不过, 这种基于单抗的免疫方法分离粪便中的菌毛样螺旋体敏感性低于通过 PCR 扩增标准培养物的方法。

对菌毛样螺旋体的菌株进行分型可以提供重要的流行病学资料, 从而有助于制定控制措施。早期研究使用多轨道酶电泳 (MLEE) 来区分肠道螺旋体分离物的种和株 (Lee 等, 1993; Stanton 等, 1996), 但这种方法太耗时, 已经不再使用。目前普遍使用的是脉冲场凝胶电泳技术用于菌毛样螺旋体菌株鉴定, 并且比 MLEE 获得的结果要好 (Atyeo 等, 1996; Trott 等, 1998; Fossi 等, 2003)。

由于弱 β 溶血肠道螺旋体存在严重血清交叉反应性, 目前还没有用于测定血清中种属特异性血清抗体的检测方法。

治疗和控制

PCS 治疗和控制大体上采取与猪痢疾相似的措施, 由于 PCS 对养猪业经济损害不是很严重, 所以需要做一些修正。现在还没有生产出有效的疫苗。自家菌苗可以诱导良好的抗体滴度, 但实验性攻毒以后免疫猪仍然可以被细菌感染并出现腹泻症状 (Hampson 等, 2000)

实施随机抗生素治疗可以降低菌毛样螺旋体感染, 提高集约化饲养条件下猪的适应性, 从而提高生产力。对感染猪应采取与 48 章中推荐的治疗猪痢疾相似的方法, 采用相似的治疗剂量和治疗时间。对于患病严重的猪要慎重使用不经肠道给药法。

体外对菌毛样螺旋体抗生素敏感性研究不是很多, 不过许多对赤痢螺旋体有效的抗生素, 如泰妙菌素、valnemulin、卡巴多司、二甲硝咪唑以及低水平的林可霉素, 对于猪菌毛样螺旋体分离株最小抑菌浓度值(MIC)都较低 (Trott 等, 1996c; Cizek 等, 1998; Duhamel 等, 1998; Hommez 等, 1998b; Fossi 等, 1998; Duhamel 等, 1998; Hommez 等, 1998b; Fossi 等, 1999; Kinyon 等, 2002; Brook 等, 2003)。很少有分离株对泰乐菌素敏感 (Cizek 等, 1998; Hommez 等, 1998b; Kinyon 等, 2002)。Olaquinox 对菌毛样螺旋体的 MIC 低于 $1.0 \mu\text{g/ml}$, 如果猪群之前使用的饲料中添加了 100ppm Olaquinox, 则很难从猪群中分离到

该细菌（Fellstrom 等，1996）。不过目前限制使用这种药物。有报道表明对单个的抗生素，尤其对泰乐菌素表现耐药性，对通常用于治疗 PCS 抗生素合并用药也表现出耐药性（Kinyon 等，2002）。最近在芬兰（Fossi 等，1999）和北美（Kinyon 等，2002）出现的菌毛样螺旋体分离株对泰妙菌素出现抗性引起很大的关注。

采取管理措施，尤其减少猪群周围环境受到粪肥污染，从而降低 PCS 的损害。实施全进全出（批量生产），比连续流水线生产感染的风险要小（Stege 等，2001）。改善圈舍卫生也可以减少传播。实践中对日粮组成加以调整，并且/或调整饲料的物理形态，有助于控制感染。在饲料中添加 3kg/吨的氧化锌有助于控制 PCS（Love，1996）。这种方法对非特异性结肠炎简单病例也有效（Kavanagh，1992）。不过在蛋鸡饲料中添加 50ppm 的杆菌肽锌反而会增加菌毛样螺旋体定殖（Jamshidi 和 Hampson，2002），这一点是否对猪同样的效果尚不得而知。

在 48 章所述控制猪痢疾的方法对于消除 PCS 也有效，但因为 PCS 没有猪痢疾严重，经济危害也没有猪痢疾大，因此一般不用采取类似猪痢疾那样强制措施。Fossi 等（2001）提出清除 60 个母猪的猪群菌毛样螺旋体的一套措施，首先用泰妙菌素治疗，接着转移走种猪群，彻底打扫和消毒，再将种猪转移回来。这套措施对于更大的猪群难以实施，而且由于菌毛样螺旋体存在寄生宿主，如野生水禽，容易重新引进 PCS。

对于 PCS 成为地方病的猪群，应该间隔一段时间，在饲料或饮水中添加抗生素治疗由于新引进猪、日粮改变、或其它应激引起得发病率突然增加的状况。

由于养猪业全球化以及可用于有效抗菌毛样螺旋体的抗生素数量很少这些事实，出现耐药性毒株的可能性引起国际性关注。为了将来有效控制 PCS，必须对菌毛样螺旋体抗生素耐药性加以监测，对出现抗性的基本机制进行研究，并研究疫苗生产或其它控制方法的可行性。

（周向梅 译 李玉荣 校）