

第 38 章 大肠杆菌感染

J. M. Fairbrother

前言

大肠杆菌是以德国儿科医生 Theodor Escherich(1857~1911)的名字而命名的。大肠杆菌是属于肠杆菌科,需氧或兼性厌氧的革兰氏阴性杆菌。大肠杆菌属包括胃肠道的部分正常杆菌及引起猪肠道内外疾病的病原菌。

细菌学

大肠埃希氏菌是革兰氏阴性杆菌,能运动,周身鞭毛长短不一,直径约 1 μm 。在固体培养基上,24 h 即可长成较大菌落,菌落表面平滑或粗糙,可在多种选择性培养基上生长。一些菌株能产生溶血素,主要根据生化特性进行菌种鉴定,但应记住任何单一的生化特性都有例外。因此,应用市售诊断试剂盒需鉴定至少 50 个特性以获得高度准确性,并通过计算辅助程序对数据进行分析。确定 DNA 相关性即菌种鉴定的科学基础仅局限于实验室研究。

血清分型

血清型可用多种方法分类,到目前为止,各血清型一般与菌种的毒力相关。完整的血清分型应包括菌体抗原(O 抗原)、荚膜抗原(K 抗原)、鞭毛抗原(H 抗原)及菌毛抗原(F 抗原)的鉴定。血清分型局限于已证实或被怀疑的病原分离株,因此,与沙门氏杆菌不同,只有少部分大肠杆菌分离株可以通过现有抗血清来分型。到目前为止,已有 173 个 O 抗原,80 个 K 抗原,56 个 H 抗原及 20 多个 F 抗原被正式鉴定。在诊断室通常使用 1 类或 2 类抗原和限定的抗血清进行血清分型。这种方法非常适用,因为在特定地区,动物种类、器官、病原菌的血清型保持它们特有的抗原成分,可以通过使用简单的活培养物玻片凝集试验来推测完整的血清型。血清分型对有限数量的血清型引起的传染性疾病,如断奶后大肠杆菌性腹泻及水肿病等的诊断有帮助。

毒力因子

能够引起病理变化的细菌性状被称为毒力因子。在过去的很多年里,这个术语一直在致病性大肠杆菌中应用。根据大肠杆菌毒力机制,致病型这个术语可以

用来鉴定其类型。这个方法将致病性大肠杆菌分为很多类：

肠毒素性大肠杆菌（ETEC）；

水肿病大肠杆菌（EDEC）；

粘附和损伤性大肠杆菌(AEEC) (Gyles and Fairbrother 2004)。

外毒素可以在 ETEC 感染时使动物肠道大量分泌液体，同时也是造成 EDEC 引起系统病变的原因。已证明，内毒素一般在大肠杆菌细胞外膜，在肠道外感染起主要作用，如毒血症、乳房炎及泌尿系统感染。

多数大肠杆菌的感染需要附着粘膜。ETEC 和 EDEC 之所以能吸附在小肠，主要依靠宿主特异性菌毛。有些菌株的荚膜多糖有助于细菌的吸附。AEEC 是通过吸附及定居机制而附着在胃肠道后段，但对猪泌尿道感染机制还不十分清楚。

在肠道外，本菌必须抵抗由血清造成的自然杀菌作用，又称血清拮抗。有些大肠杆菌有极强的铁离子纳入系统，因而与宿主争夺铁离子。一个特定的病原菌株可能存在一系列致病因子，即多个毒素及三个以上吸附因子，有希望检测到更多的毒力因子。

毒力因子的遗传学特征

引起某种特别的疾病需要非常特异的毒力因子，因此，引起肠道内疾病的菌株不引起肠道外病变，反之亦然。可以根据大肠杆菌特定的毒力因子来确定其致病特性。目前许多被检测的毒力因子都是确定的质粒。这尤其适用于溶血素、毒素及 ETEC 的粘附素。在多数肠外感染的品系中，菌毛基因、细胞毒素基因及溶血素基因多在染色体上。在实验室很容易将质粒从供体转到受体菌株中，但在实际情况中这种转导不是主要的。致病性大肠杆菌的遗传物质非常稳定，这是因为特定品系的毒力因子是受许多因素影响的，而有些受体菌不表达转导的质粒特征。临床上较为重要的抗菌剂抗性的产生是个例外。

目前杂交技术和聚合酶链式反应技术(PCR)已经逐渐地取代了费时又繁琐的毒力因子检测法。

生态学

致病性大肠杆菌特殊的生态学特性在一定程度上被忽视。由 ETEC 和 EDEC 引起的肠道感染多是传染性的。同样的菌株通常发现于许多病猪中，也常见于连

续几批猪中。当丹麦流行水肿病时，人们发现 63%病猪多是来自一个感染种猪群(Jarsal 等，1996)；另一方面，由交易接触而引发临床水肿病的猪群少于 5%。这些菌株多在健康猪群存在但不发病，通常仅在几天内大量排出。这种显著的减少与局部免疫有关。

但是肠道外感染的表现不像传染病。在特定群中个别的猪可被不同菌株感染，通常发生多种菌株的混合感染。人类粪便中的菌群显然是病原菌的蓄存库。猪大多数肠道外感染具有内源特性。例如在 67 例母猪乳房炎病例中，有 18 例可从粪便中分离出与在乳汁中存在的同样的 O 型大肠杆菌(Awad Masalmeh 等，1990)。

猪的大肠杆菌多存在于胃肠道，个别猪的大肠杆菌群较为复杂。联合运用 O 血清型生物分型 和抗革兰氏性分型的方法进行细菌分型，在一个猪体中可鉴定出 25 种以上的菌株(Hinton 等，1985)。很多显性品系在肠道内 1 天或数周内就发生改变而引起显性菌群的连续变化(Katouli 等，1995 年)。大肠杆菌的繁殖多在小肠内进行，一般在回肠与结肠间数量极少或甚至没有(McAllister 等，1979)。在每克大肠流动物中可分离出 1×10^7 左右的活菌，但大肠杆菌数小于全部细菌数的 1%。大肠杆菌可在饲料饮水及土壤中发现，这多是来自于粪便的污染。在诸多因素中，低温和 充足的水分是大肠杆菌在环境中长期存在的促进因素。在从 5 个泥土样品中分离出的猪大肠杆菌 O139、K82(B)可保持其活力在 5~11 周以上(Burrows 和 Rankin，1970)。

参考文献

新生仔猪大肠杆菌性腹泻

J. M. Fairbrother

随着产仔管理的加强，猪的腹泻成为一种具有很重要经济意义的疾病。此病可以分成三大 类：新生仔猪腹泻(出生后头几天)、仔猪腹泻(生后 1 周到断奶)及断奶后腹泻。大肠杆菌是造成新生仔猪腹泻和断奶后腹泻的最重要的病原。引起仔猪腹泻的病原有许多，其中包括传染性胃肠炎病毒、轮状病毒、球虫和大肠杆菌(Biehl 和 Hoefling，1986)。由肠大肠杆菌引起的具有出血性胃肠炎大体病变

的急性休克综合征并不多见，Alexander 在 1994 年曾对新生仔猪腹泻做了综述。

病原学

由大肠杆菌引起的新生仔猪腹泻多发生在 0~4 日龄。致病菌产生一种或多种肠毒素，这种菌 被称为肠毒素性大肠杆菌(ETEC)。ETEC 利用一种或多种菌毛粘附素，如 F4(K88)，F5(K99)， F6(987P)或 F41 吸附在新生仔猪小肠粘膜上(见表 38.1)。本菌吸附在小肠并产生一种或几种肠毒素，如 STa(STI)、STb(ST II)或 LT。直到最近才发现新生仔猪腹泻中最常见的 ETEC 属于血清型 O149、O8、O147 及 O157 呈 F4 阳性，并产生 LT、STb 肠毒素(Harel 等，1991；Soderlind 等,1988；Wilson 和 Francis,1986)。越来越多的 ETEC 的血清型 O8、O9、O64、O101 被分离出来，这些血清型是 F5、F6 及 F41 阳性并产生肠毒素 STa 或很少产生 STb。ETEC 主要引起 0~6 日龄仔猪腹泻，稍大的猪少见，但 F4 阳性 ETEC 可在出生到断奶后病猪中分离。F4 阳性的 ETEC 属于血清型 O149，也是造成断奶后腹泻的主要病因。

伴发休克的肠道大肠杆菌病也常见于断奶前后的仔猪。与此病有关的大肠杆菌或是（1）ETEL，常属于血清型 O149、O157、O8，它们都是 F4 阳性，产生 STb 和 LT，但很少产生志贺样毒素（SLX2e）(Faubert and Drolet 1992)；或是（2）产生 SLX2e，并与水肿病有关。后者将在以后的部分中讨论。

表 38.1 与新生仔猪腹泻有关的主要大肠杆菌致病型、毒素、O 血清型

致病型	毒力型	O 血清型
ETEC	STa:F5:F41,	8,9,20,45,64
	STa:F41,	101,138,141
	STa:F6,	147,149,157
	LT:STb:EAST1:F4,	
	LT:STb:STa:EAST1:F4,	
	STb:EAST1:AIDA	

来源: 蒙特利尔大学大肠杆菌实验室

流行病学

大肠杆菌性腹泻与病菌、环境条件和宿主因素的相互作用有关。只有食入大量携带有前章所描述毒力因子的大肠杆菌才能产生腹泻。新生仔猪从脱离母猪子宫到吃奶的期间，接触了产床、母猪的皮肤等严重污染的环境导致食入来自于母猪肠道菌群的细菌。这样，在一个卫生条件不好或污染的产仔系统中，环境中致

病性大肠杆菌的增加都可能导致新生仔猪大肠杆菌性腹泻的暴发。初乳中含有非特异性杀菌因子及特异性抗体(IgG 和 IgA)可以抑制致病性大肠杆菌在肠道的附着。如果母猪在产仔前未曾接触过致病性大肠杆菌,也不会 在初乳中有特异性抗体,因而,仔猪就会对大肠杆菌易感。同样,如果个别仔猪由于受伤,缺少竞争 力,母猪乳汁缺乏,乳头不足等原因不能获得初乳,也会对大肠杆菌易感。产房的温度也较为重要,饲养于温度低于 25℃条件下的猪肠管蠕动力显著降低,结果细菌的排出及保护性抗体的分泌都降低(Sarmiento,1983)。这些猪比饲养于 30℃条件下的猪肠道内致病性大肠杆菌的数量多,腹泻更严重。

发病机理

在特定环境及宿主条件下,致病性大肠杆菌在宿主肠道内繁殖并通过特异的毒力因子导致腹泻。根据毒力因子的产生而确定大肠杆菌的分类来讨论发病机理。

肠毒素性大肠杆菌

致病性大肠杆菌产生一种或数种菌毛粘附素而有助于在小肠粘膜上皮细胞及结膜层上附着。这些如毛发状的附着物从菌体上伸出,由结构蛋白亚单位组成,常起支持菌毛顶端的粘液蛋白的作用。菌毛以血清学反应或受体特异性而分类。后者通过不同动物品种的血凝试验来证明。菌毛有不同的命名法,例如,猪 ETEC 首个菌毛粘附素在发现后曾被认为是荚膜抗原被命名为 K88 和 K99。基于对流免疫电泳中的血清学活性及 F 命名法的更标准的命名法已被采用(Orskov 和 Orskov,1983)。本章将使用该命名法。

尽管大量(30 种以上)的菌毛粘附素已被描述,多数粘附素(除 F1 外)都与从特异动物品种分离到的大肠杆菌特异血清型有关。F1 菌毛存在于多数大肠杆菌分离株上,并引起豚鼠的红细胞凝集,该凝集能被 D-甘露糖抑制。F1 菌毛在猪 ETEC 吸附到肠粘膜上所起的作用还不清楚(Jayappa 等, 1985; To 等, 1984)。

我们在致泻性 ETEC 菌株中仅发现 F1 而非其它菌毛粘附素(Broes 等,1988)。新生仔猪 ETEC 的 4 个重要的粘附素是 F4(K88)、F5(K99)、F6(987P)和 F41。根据血清学交叉反应,F4(K88)又被分为三个变种,F4ab、F4ac 和 F4ad(Guinée 和 Jansen, 1979)。许多 ETEC 分离株产生数种菌毛粘附素,常见组合有 F5 和 F6, F5 和 F41 及 F4 和 F6。菌毛的产生是由位于细菌染色体(F1、F41)或质粒(F4、F5、

F6)上的基因控制的。许多菌毛(例如 F1 和 F6)可能变异或经过多次传代后而表达不佳。其它菌毛(如 F5 和 F41)可能有量的变化, 仅在低葡萄糖或丙氨酸的培养基中表达良好, 如 Minca 培养基(Guinée 等, 1977)。

弥散性粘附相关粘附素 (AIDA), 是一种能自表达 100KD 成熟蛋白的粘附素, 最初在引起人类腹泻的大肠杆菌分离物中发现, 最近已经在来自于腹泻猪的大肠杆菌中发现 (Mainil 等, 2002; Niewerth 等, 2001)。从 STb 或 STb: EAST-1 毒力型新生或断奶猪中分离 ETEC 可以是 AIDA 阳性, 并导致新生仔猪腹泻 (Ngeleka 等, 2003)。

菌毛与小肠粘膜上皮细胞膜的特异受体结合, 特异或非特异地吸附在肠上皮外的粘膜上。产生菌毛 F5、F6 和 F41 的 ETEC 多吸附在空肠或回肠下部, 而 F4 阳性的 ETEC 趋于吸附在整个空肠和回肠部。某些猪肠上皮细胞上没有 F4 粘附素的受体, 因此对 F4 阳性的 ETEC 感染有抵抗力(Sellwood 等, 1975)。对感染的抗性遗传是遵循孟德尔定律, 其受体的等位基因是显性的。后来的研究表明, 根据不同猪肠粘膜上皮的刷状缘对产生不同变种 F4ab、F4ac 和 F4ad 的分离株的粘附敏感性, 猪至少分 5 种表现型(Bijlsma 等, 1982; Hu 等, 1993)。F4ab 和 F4ac 的小肠受体基因最可能是相连在 13 号染色体上(Edfors Lilja 等, 1995)。其它新生仔猪 ETEC 菌毛的相同遗传抗性还未被发现。另外, F5 和 F6 阳性的分离株感染具有年龄抗性, 而 F4 阳性分离株无此特点。仔猪多在出生后头几天对 F5 和 F6 阳性 ETEC 感染敏感而后有抵抗力, 其抵抗力可能与随着年龄的增加在小肠上皮细胞受体数量减少有关(Runnels 等, 1980)。在成年猪体内, F6 介导的肠粘附被抑制, 这可能与 F6 优先与粘液中的 F6 受体结合而不是与肠上皮细胞的 F6 受体结合有关 (Dean-Nystrom 和 Samuel, 1994)。

ETEC 粘附在小肠粘膜上产生肠毒素, 继而使小肠中水分和电解质的量改变, 如果大肠不能将来自小肠的过多水分吸收则导致腹泻。猪 ETEC 主要产生两类肠毒素: 热稳定毒素(ST), 可抵抗 100℃ 15 min 条件; 另一种是热敏感毒素(LT), 在 60℃ 15 min 条件下被灭活(Guerrant 等, 1985)。根据在甲醇中的溶解性和生化特性, ST 又进一步分为 STa 和 STb(Burgess 等, 1978)。最近, 从猪 ETEC 中分离出了与 STa 有关的 EAST1 基因。有人已对大肠杆菌肠毒素做了综述(Gyles 和 Fairbrother, 2004)。

LT 是高分子量的毒素，是由 5 个 B 亚单位和一个具有生物学活性的 A 亚单位组成，前者能与小肠上皮细胞表面神经节甾脂受体结合 (Gill 等，1981)。结合后，A 亚单位激活腺苷酸环化酶而产生 cAMP。细胞内大量 cAMP 导致 Cl、Na、HCO₃ 及水在小肠管内的分泌增加。过量的分泌导致脱水、代谢性酸中毒，最终死亡。LT 有两个亚单位，LT I 和 LT II 已有报道(Holmes 等，1986)。只有 LT I 可被抗霍乱毒素中和。由猪分离株产生的 LT 属于 LT I 亚型。根据编码毒素的基因的细微差别，由人和猪 ETEC 产生的 LT 被命名为 LTh 和 LTp。

STa(STI, ST1, 鼠 ST)是小分子无免疫原性蛋白，其分子量为 2 000(Lallier 等，1982)。STa 结合于小肠上皮受体的鸟苷酸环化酶上(De-Sauvage 等，1991)，并激活鸟苷酸环化酶，继而刺激 cGMP 的产生。细胞内大量的 cGMP 抑制 Na/Cl 共转运系统而减少由肠道分泌的水分和电解质的吸收(Dreyfus 等，1984)。STa 在乳鼠和 2 周龄内仔猪体内有活性，但在 2 周龄以上仔猪体内活性较低，这可能是由于在不同日龄猪体内肠道受体量不同(Cohen 等，1988)。同 LT 一样，根据编码毒素的基因差别，由人和猪 ETEC 产生的 STa 分别被命名为 STah 和 STap。

STb(ST II、ST2、猪 ST)是小分子蛋白，其分子量为 5 000，其抗原性及基因与 STa 无联系，并且免疫原性差(Dubreuil,1997)。STb 刺激肠道内与环核苷酸的液体分泌无关(Kennedy 等，1984)，但似乎与前列腺素 E₂ 和其它可能的促分泌素的介导有关(Harville 和 Dreyfus, 1995; Peterson 和 Whipp, 1995)。胰酶能灭活 STb，在胰酶灭活因子的作用下，小鼠、大鼠和牛小肠内的 STb 具有活性(Whipp, 1990)。74%的猪 ETEC 分离株发现有 STb (Moon 等，1986)。尽管在实验感染的新生仔猪中只产生 STb 的 ETEC 能诱导腹泻(Fairbrother 等，1989)以及诱导猪肠道环状结构的绒毛萎缩(Rose 等, 1987)，人们对 STb 在腹泻发生中所起的作用仍不清楚 (Casey 等，1998)。

EADT1 最初是从人 ETEC 中被发现，随后在猪 ETEC 中也有报道(Yamamoto 和 Nakazawa, 1997)。EADT1 常见于引起猪腹泻的 F4 阳性 ETEC 株和引起猪水肿病的 F18:Stx_{2e} 株中 (Choi 等，2001)。EADT1 不同于 STa 和 STb，它由 38 个氨基酸残基组成，分子量为 4100，但它与 STa 的肠毒素区域有 50%的同源性(Savarino 等，1993)并同 STa 受体鸟苷酸环化酶 C 作用产生 cGMP。因此，一般认为 EADT1 作用机制与 STa 相同，但是它在腹泻中的作用仍然不清楚。

粘附和损伤性大肠杆菌

猪的粘附和损伤性大肠杆菌(AEEC)粘附在肠粘膜，引起的损伤类似于从婴儿腹泻中分离得到的致肠病性大肠杆菌(EPEC)所引起的病变(Hélie 等, 1990)。本菌通过细菌外膜蛋白,即 intimin 或 EPEC 粘附和脱落因子(Eae),紧紧粘附在小肠上皮细胞上,然后微绒毛脱落,侵入上皮细胞 (Zhu 等, 1994)。

临床症状

肠道大肠杆菌感染主要表现为腹泻,其程度与大肠杆菌毒力因子及仔猪的年龄和免疫状况有关。严重时临床表现为脱水、代谢性酸中毒及死亡。有些情况下,特别是幼龄猪常常在没有出现腹泻时就已经死亡。

新生仔猪下痢可在仔猪出生 2~3h 后发生,可影响单个猪或整窝猪。初产母猪所产的仔猪比经产母猪所产的仔猪更易感。如果产房中大量仔猪被感染,死亡率在出生头几天会更高,腹泻症状可能非常轻,无脱水表现或腹泻物清亮,呈水样。粪便颜色不一,从清亮到白色或稍带程度不一的棕色。粪便可能仅从肛门滴落到会阴部,须经过会阴部的仔细检查才可见到。在较严重流行时,少量病猪可能呕吐,由于体液流进肠管可造成体重下降 30~40%并伴发脱水症状,腹肌松弛、无力,猪精神抑郁、迟钝,眼睛无光,皮肤蓝灰色,质地枯燥,水分丢失和体重下降,不久仔猪死亡。在慢性或不很严重时,猪的肛门和会阴部可能由于与碱性粪便接触而发炎。脱水不严重的病猪可能还饮水,治疗及时可以恢复,只是有一点长期病变。

出生后到断奶后期的仔猪下痢与初生仔猪症状相似,但多趋于缓和。发病率可能相似但死亡率低。其粪便颜色在没断奶的仔猪呈灰白色,而在刚断奶仔猪呈褐色。当肠道大肠杆菌病与 ETEC 菌株合并感染时可出现休克症状,特别是在刚出生到断奶前或刚刚断奶仔猪 (Faubert 和 Drolet, 1992)。有些看上去健康仔猪突然死亡或突然衰竭,并伴有末梢发绀,有时可见黄褐色粪便。

病变

肠道大肠杆菌感染很少有特异病变,大体病变包括脱水、胃扩张(在断奶后仔猪腹泻病例,排泄物可能包括未消化的凝乳、饲料),胃大弯部静脉梗死,局部小肠壁充血,小肠扩张。在并发休克的 ETEC 感染时,其特征性病变是小肠壁和胃壁显著性充血及血性肠内容物。

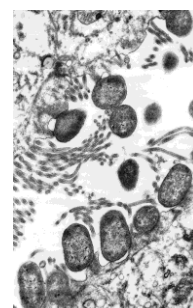
组织学病变与感染的大肠杆菌有关。F4 阳性 ETEC 分离株感染时，在粘膜上皮细胞发现大肠杆菌，并多在空肠和回肠，而其它 ETEC 分离株感染时病变多在空肠和回肠后端。一般仅在李氏隐窝处发现粘附细菌，或见于隐窝表面和绒毛顶端。透射电镜下，细菌常定殖于距微绒毛半个细菌宽度处，有时看到菌毛在菌体与微绒毛间(图 38.1)。组织学变化包括固有层血管充血、肠腔出血、固有层中中性白细胞和巨噬细胞增加、肠管迁移以及绒毛萎缩。在 ETEC 肠感染并发休克时，可见大肠杆菌粘附在小肠粘膜上皮细胞上。胃、小肠和结肠的肠系膜可见充血、出血，严重病例还可见绒毛坏死及毛细血管内纤维蛋白血栓形成。

图 38.1 肠道中 987P 阳性大肠杆菌株粘附的电镜图



AEEC 菌株感染的猪，在成熟肠细胞的刷状缘上可观察到有多灶性的栅栏状排列的大肠杆菌定殖，肠细胞变性和固有层轻度至中度炎症多见于回肠(Hélie 等，1990)。在十二指肠和盲肠细菌定殖最多，有时可在肠细胞浆内的液泡中发现细菌，小肠中有轻度至中度绒毛萎缩。在透射电镜片中，可见细菌紧密吸附于成熟肠细胞的胞膜上，并呈规则的栅栏状排列，与微绒毛平行，可见临近绒毛脱落(图 38.2)。细菌细胞壁和肠细胞的细胞膜顶部凹陷处有一条窄的规则宽 10 nm 的缝隙隔开，吸附位点处可见致密区域。

图 38.2 AEEC 病变电镜图



诊断

未断奶仔猪肠道大肠杆菌感染应与引起同龄仔猪腹泻的普通感染区分开。这些病原包括魏氏梭菌、传染性胃肠炎病毒、轮状病毒或球虫。一种特定动物暴发感染的病原不止一种。粪便 pH 测定可能有助诊断。肠道 ETEC 感染造成的分泌性腹泻液 pH 为碱性，而由传染性胃肠炎病毒或轮状病毒引起代谢紊乱的腹泻液 pH 多是酸性。

对肠道大肠杆菌感染的诊断要基于临床症状、组织病理学变化及在小肠粘膜上检出革兰氏阴性细菌(Wilson 和 Francis, 1986)。要进一步确诊，必须分离出具有特定血清型的大肠杆菌，更重要的是检测出毒力因子中的一种或多种。通过

对毒素生物学特性的检测可以发现产生的肠毒素及细胞毒素。STa 的活性测定用幼鼠试验，STb 用猪试验，更多的是采用大鼠肠结扎试验，而 LT 及 VT 是用细胞培养物鉴定法。菌毛粘附素测定可用血清学方法，例如，凝集法、免疫荧光法、采用兔多克隆抗血清的 ELISA 等。F5 和 F41 只有当大肠杆菌用特殊培养基培养时才能产生，而 F6 在体外生长不良。通过冰冻切片的免疫荧光法或福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片的免疫过氧化物酶技术，可直接检测出病猪体内粘附在小肠粘膜上的大肠杆菌。

最近的先进技术大大提高了对大肠杆菌毒力因子的检测 (Wray 和 Woodward, 1994)。应用单克隆抗体可对 STa、F4、F5、F6 及 F41 进行特异、敏感及易重复的检测。这种抗体已应用于诊断试剂盒中，并用于对感染仔猪的粪便或小肠内容物中致病性大肠杆菌的直接、快速的鉴别诊断。现在，探针和聚合酶链式反应(PCR)已经发展起来，用于猪 ETEC 的菌毛粘附素和肠毒素的编码基因的检测(Francis, 2002; Frydendahl, 2002; Osek, 2001; Wray 和 Woodward, 1994)。对猪 ETEC 菌毛粘附素和肠毒素而言，采用标准血清学和生物学鉴定法检测与运用基因探针的检测有高度相关性(Harel 等, 1991)。基因探针技术常涉及到放射性，因此，必须在具备控制条件的实验室内操作。引起猪腹泻病的致病性大肠杆菌无论是从培养物中或直接从粪便或肠内容物中分离，多重 PCR 技术都可以快速检测到其编码毒力因子的基因 (Tsen 等, 1998)。后者可以更加快速的发现致病性大肠杆菌的存在，但是无法鉴别特定的毒力型。因此，通过血清定型来确定致病性大肠杆菌的传统方法仍是必要的，至少在参考实验室是如此，其目的是为了监测改变趋势以及确定新的即将出现的大肠杆菌毒力因子，而这些因子可能对于流行的主要毒力因子的免疫抵抗力具有重要的作用。

治疗

对肠道大肠杆菌感染的治疗目的在于：消除致病性大肠杆菌，改变其致病影响及提供最佳环境条件，治疗应尽快并尽可能有效。通过细菌培养来确诊大肠杆菌感染和进行药敏试验都很重要，因为大肠杆菌分离株间的抗生素敏感性差异很大(表 38.2)。在知道药敏试验结果前，开始时可以应用广谱抗生素。近年来，体外的大肠杆菌对许多抗菌剂的抵抗力已大大增强。对于新生仔猪，通过口服或注射途径使用抗生素。通常使用的抗生素包括氨苄青霉素、安普霉素、新霉素、

奇霉素和增强磺胺类药剂。另外，在实验室中还成功应用噬菌体作为治疗肠道大肠杆菌感染的另一方法，但实际中此法还未被广泛应用。

口服含有葡萄糖的电解质替代溶液的补液疗法对脱水和酸中毒很有效。具有抑制肠毒素分泌作用的药物，如氯丙嗪和硫酸黄连素可能治疗腹泻有用，尽管这些药多有副作用。对如 bencetimide 和 loperamide 等抑制分泌药物，建议单独使用或与抗菌剂合用(Solis 等，1993)。

表 38.2 分离 0~7 日龄仔猪腹泻的大肠杆菌对抗微生物制剂的敏感性，魁兆克，1994~1996

抗生素	敏感率(%) (n=38)
阿米卡星	100
氨苄西林	46
安普霉素	79
头孢噻呋	92
先锋霉素 I	70
恩氟沙星	100
庆大霉素	63
新霉素	56
壮观霉素	41
四环素	7
硫母林	5
增效磺胺甲基异噁唑	71

来源: 蒙特利尔大学大肠杆菌实验室，1994-1996

确保较小仔猪的生活环境保持 30~34℃ 恒温，而刚断奶猪应生长在无穿堂风、29.5℃ 左右恒温的条件下，这一点是很重要的。

预防

肠道大肠杆菌感染的预防在于通过加强良好的卫生管理，保持适宜的环境条件，提供高水平的免疫程序，减少致病性大肠杆菌在环境中的感染。由于大多数致病性大肠杆菌属于有限数量的血清群，所以在某些猪群可以消除肠道大肠杆菌的感染。

饲养管理

肠道大肠杆菌的最重要预防措施之一是保持仔猪足够的环境温度(未断奶仔猪温度为 30~34℃)，无穿堂风及热传导差的地板，特别是对低于平均体重的仔猪，因为它们单位体重皮肤表面积大，进而失热快。

产房内的良好环境有利于减少仔猪与大肠杆菌的接触，在一定程度上，可通

过仔猪自身防御 体系得以控制。

产房的设计是很重要的，因为它关系到母猪粪便的排泄问题。在过长的猪圈，大部分地板都 排满了粪便，因而增加了严重污染的面积。理想的话，应调整猪圈，为仔猪提供一个比母猪稍短的猪圈。采用升高、穿孔地板的猪圈可以让粪便掉下，远离仔猪；采用这种地板的妊娠母猪群腹泻发生率明显比采用水泥地板的猪群低。

干燥温暖的环境可以降低有效湿度而提高大肠杆菌的存活率。它受通风率影响很大，如果温 度过高，母猪会躺在水中散热，这样会不利于卫生。母猪应在 22℃左右的温度条件下，为仔猪提供一个较暖和的爬行区是很必要的。

对猪群要进行检疫，以控制不同大肠杆菌致病型和其它感染菌引入猪群。未接触过大肠杆菌 菌毛抗原的猪群对此无任何免疫力。产房要彻底清洁，避免猪群中窝间感染。对每批妊娠母猪实行全进全出制，产房严格消毒可减少环境中大肠杆菌的繁殖。

饲料要严格管理以减少大肠杆菌定殖肠道(Thomlinson 和 Lawreuce, 1981)。给小猪饲喂粪便链球菌培养物可降低其腹泻发生率(Morkoc 等, 1984)。

免疫

对大肠杆菌感染的免疫主要是体液免疫，初期靠初乳、母乳中的母源抗体，后期靠肠道局部 的免疫反应。特异性抗体可以抑制细菌对小肠上皮细胞上受体的结合及对大肠杆菌产生的肠毒和细胞毒素的中和作用。

母猪的初乳中含高水平免疫球蛋白(IgG)，在泌乳期间 IgG 水平很快下降，而 IgA 成为主要免疫球蛋白(Bourne, 1976)，并可保护肠道抵抗大肠杆菌的感染，多数母乳中的 IgA、IgM 和 IgG 似乎是由乳腺产生的。在妊娠期，抗原刺激的淋巴细胞由小肠移行至乳腺而产生抗肠道致病菌的特异抗体，这些抗体主动传入初乳及泌乳期的母乳。

新生仔猪在出生后头一周内就产生特异抗体及肠道内免疫力(Butler,1973)。初期以 IgM 为主，2~3 周后 IgA 取代 IgM，成为肠道内最重要的免疫球蛋白 (Blanchi, 1999)。因此，出生后第一周的初乳是仔猪免疫蛋白的主要来源。

初乳保护失败可能有几种原因。如果母猪以前未接触过仔猪环境中的 ETEC，则生产后，其初乳中就不会含有抑制 ETEC 粘附和繁殖的特异抗体。另外，能导

致母猪无乳的任何疾病都减少初乳的分泌。系统感染可以影响初乳产生，乳头损伤或乳腺炎也影响泌乳。仔猪由于出生时畸形感染，个体弱小，损伤得不到初乳，也会对 ETEC 感染易感。

母源性免疫是控制新生仔猪 ETEC 腹泻最有效的手段之一。在过去几年中，鉴定在 ETEC 腹泻致病机理中的重要作用以及毒力因子应用重组 DNA 技术导致更有效的疫苗的生产。最早的疫苗是将感染猪肠内容物在奶中培养后再饲喂给妊娠母猪，一般在产仔前一个月左右进行(Kohler,1974)。这种方法较为有效，其免疫力可持续整个哺乳期，现仍在应用，尤其是美国。

在市场上常用的疫苗是通过非肠道途径进行免疫的，多为灭活全细胞菌苗或纯化的菌毛苗，两种疫苗的效果相似 (Fahy,1987)。菌苗多含有较重要血清型的菌株，并能产生菌毛抗原 F4、F5、F6 及 F41(Nagy,1986)。这种疫苗多在分娩前 6 周和 2 周前进行非肠道给予，在某项研究中，表明添加有共有菌毛抗原 F1 的菌毛菌素具有保护性(Javappa, 1985)；而在另一项研究中却表明无保护性(To 等, 1984 年)。重组 DNA 技术有助于纯化的菌毛抗原的大量生产，用于母猪肠道外免疫(Clarke 等, 1985 年)。

如果免疫无效，鉴定可能的血清型并尽可能制成自家苗是非常重要的。对分离株的进一步鉴定可能鉴定出在 ETEC 腹泻中致病机理起重要作用的新的或变异的菌毛粘附素。另外一种解决已知菌毛阴性的 ETEC 感染的方法是用无毒力的 LT-B 肠毒素与无免疫原性的 STa 并用来免疫 (Klipstein, 1986 年)。这样，STa 就有了免疫原性，并可在实验动物中起保护作用。增加这些成分到菌毛苗中可以预防具有新菌毛抗原的 ETEC 和已知菌毛阴性的 ETEC。Isacson 在 1994 年就对预防大肠杆菌病的免疫进行了综述。

最后，新的预防仔猪 ETEC 腹泻的方法是口服外源性蛋白酶，如菠萝蛋白酶(Mynott 等, 1996 年)。这样的酶可以抑制 F4 阳性 ETEC 在肠粘膜上附着，因为此酶可以改变受体附着点。

参考文献

断奶后大肠杆菌性腹泻及水肿病

J. M. Fairbrother 和 C. L. Gyles

断奶后的大肠杆菌性腹泻与水肿病常在一起讨论，因为它们常发生在一个猪群，病原菌毒力因子也有相同之处，一些大肠杆菌株可以造成两种疾病，但是它们也有一些明显的区别。

断奶后大肠杆菌性腹泻(PWD)是由肠毒素引起的一种传染性腹泻，主要见于断奶后。此病也称为断奶后肠道大肠杆菌病。

水肿病(ED)是一种由某种定殖于小肠的大肠杆菌引起的传染性肠毒素血症，这种大肠杆菌可产生一种侵入血流并破坏血管壁的外毒素。因为胃粘膜下和结肠系膜的水肿是此病的主要特点，因此将此病称为“水肿病”和“肠水肿”。

这两种病之间无明显区别，因为某些大肠杆菌可同时引起这两种病。Sojka 在 1965 年就对这两种病的早期研究进展做过详细的回顾。

大肠杆菌是引起断奶仔猪死亡的一个主要病原。由于 PWD 造成的死亡在全世界都有报道，而由 ED 造成的死亡率在北美没有在欧洲的高。

ED 与由肠出血型大肠杆菌(EHEC)引起的人的疾病颇为相似，这些大肠杆菌可产生密切相关但又不完全相同的类志贺氏菌毒素。然而，人的 EHEC 以一种区别于水肿病大肠杆菌(EDEC)的机制在猪的消化道中定殖(Tzipori 等，1986)。ED 的血清型与 EHEC 的血清型不同。

病原学

PWD 和 ED 由具有某种粘附因子并能产生一种或多种外毒素的大肠杆菌菌株引起，这些粘附因子可使大肠杆菌定殖于小肠。几乎所有的这些大肠杆菌都是 α 溶血性的。它们大多属于有限的几种血清型。在一给定的区域内，血清型与一系列相当恒定的粘附因子和毒素紧密相关。这样，血清型 O139 携带菌毛变体 F18ab 的情况相当普遍，从澳大利亚分离的这个血清型的菌株常引起 PWD，从欧洲分离的则一般诱发 ED。血清型 O149 携带菌毛变体 F4ac 并导致 PWD。

现在，与猪 PWD 有关的最主要的大肠杆菌血清型是 O149。在表 38.3 中罗列了全世界与 PWD 有关的大肠杆菌最重要的毒力型和 O 血清型。这些毒力型通常包括作为菌毛粘附因子的 F4 和 F18。位于 Quebec 和其他地方的大肠杆菌实验室在感染 PWD 的猪中鉴定出来一些 F4 和 F18 阴性的菌株 (Frydendahl, 2002)。这些毒力型的菌株对腹泻的作用机制还不清楚。在世界各地存在的主要毒力型有一些不同，例如，1999-2000 年，丹麦 PWD 或 ED 猪中的菌毛型 F4 和 F18 的检

出率分别为 45%和 39% (Frydendahl, 2002)。在 F4 阳性分离菌中, 都是 O149 型, 三分之二是 LT:STb:EAST1:F4 毒力型, 三分之一是 LT:STa:STb:EAST1:F4 毒力型。分离出来的 F18 多是不同种类的, 最常见的血清型或毒力型是 O149:LT:STb:EAST1:F18, O138: STa:STb:F18, O138:LT:STb:EAST1:Stx2e:F18 和 O139: Stx2e:F18。2001-2002 期间, 从美国南达科他州猪腹泻病例中分离的 ETEC 半数以上都是 LT:STb:F4, STa:STb:F18, 或 STa:STb:Stx2e: F18 毒力型, F4 比 F18 略占优势 (Francis, 2002)。1994-1998 从加拿大魁北克省分离的猪腹泻性 ETEC (Fairbrother 等, 2000) 和引起 17 个猪场在断奶后 3 周内至少 15% 腹泻(个人观察)的主要菌毛粘附素都是 F4。在上述的研究中, 半数以上的 ETEC 都产生 F4。所有 F4 阳性分离菌都是 O149 型, 一半是 LT:STb:EAST1:F4, 一半 LT:STa:STb:EAST1:F4 毒力型。只有 2%的分离菌是 F18 阳性菌, 且大多数是 STa:STb 毒力型。F4, F18 阴性的 ETEC 一般是 STa:STb 和 STb:EAST1:AIDA 毒力型。最近在引起猪水肿病和断奶后腹泻的大肠杆菌株中发现了 AIDA, 尤其是 Stx:F18 和 F18 毒力株中 (Mainil 等, 2002)。从断奶仔猪中分离的 STb 或 STb:EAST-1 毒力型 ETEC 可能是 AIDA 阳性。

在德国死于 PWD 和 ED 病例分离的 380 份样品, 用血清学的方法测定出了 F18 菌毛的抗原变异(Wittig 等, 1995)。在分离物中, 变异株 F18ab、F18ac 和 F4 各占比例 40%、35%和 14%。其余分离物没有 F18 和 F4。

现在研究发现了 O149 毒力型的演化。我们回顾加拿大的研究, 可以发现在 1990 年以前 O149 株主要是 LT:STb:EAST1 毒力株 (Fontaine 等, 2002; Noamani 等, 2003), 但是自从 1990 年, 出现了 LT:STa:STb:EAST1 毒力型, 这种新毒力型与旧毒力型相仿 (Fontaine 等, 2002; Frydendahl, 2002) 或几乎完全代替旧毒力型 (Noamani 等, 2003)。这种趋势并不普遍, 从波兰 4-6 周龄断奶腹泻猪中分离的大多数 O149 株是 LT:STb:EAST1 毒力型 (Osek, 2003) , 在 2001-2002 美国南达科他州的研究也支持了这种观点 (Francis, 2002)。

PWD 和 ED 都是由毒素引起的, 大肠杆菌的肠毒素可引起 PWD, 类志贺氏毒素可引起 ED。值得注意的是, ETEC 和 EDEC 株多分离自缺乏 PWD 和 ED 症状的猪群中。在这些病例中, 致病性大肠杆菌在粪便大肠杆菌中含量很低, 但是在发病猪的粪便中, 其含量很高。

有关肠毒素更加细致的描述在前面一小节已给出。类志贺氏毒素(Stx2e)这一术语是 Vero 细胞毒素、水肿病因子、神经毒素和血管毒素的同义词。Macleod 和 Gyles(1990)提出了一种纯化方案,用此方案可制备出无内毒素的 Stx2e 的均质的制备物。每千克体重仅用 3mg 纯化的 Stx2e 给青年猪静脉注射,即可诱发出疾病。临床、显微和大体病变都有 ED 的典型特征,这样就证实了 Stx2e 和 EDP(水肿病因子)为同一种物质。疾病的潜伏期及严重程度直接和毒素剂量相关。

表 38.3 造成断奶后猪病大肠杆菌重要的致病型、毒力型、O 血清型

疾病	致病型	毒力型	O 血清型
断奶后 腹泻	ETEC	LT:STb:EAST1:F4, LT:STb:STa:EAST1:F4, STa:STb, STa:STb:Stx2e1:F18ac, STa:F18ac, LT:STb, STb:EAST1:AIDA, LT:STb:STa1:EAST1:F41:AIDA1:Stx2e1:F18ac, AIDA:F18ac	8, 38, 139, 141, 147, 149, 157
水肿病	EPEC	Eae:EAST11	45, 103
	EDEC	Stx2e:F18ab:AIDA1	138, 139, 141

来源: 蒙特利尔大学大肠杆菌实验室 Francis, 2002; Frydendahl, 2002; 和 Mainil 等, 2002

很多研究者都描述过一种与 PWD 不同的肠道综合征。其特征是大肠杆菌引起的吸附和损伤(AEEC)。它感染的临床暴发是很难评价的,因为它经常混合感染,例如与 F4 阳性的 ETEC 混合感染经常发生。AEEC 不具备 PWD 和 ED 菌株的任何毒性因子(Zhu 等, 1994)。它们的毒性特征在新生仔猪大肠杆菌性腹泻一节中加以讨论。人工感染悉生猪可以复制这种疾病(图 38.2)。断奶仔猪日粮中有大豆和野豆可促进细菌的定殖和吸附损伤病变的产生,但不引起腹泻(Neef 等, 1994)。本章不再继续讨论 AEEC。完整的综述关于大肠杆菌在动物疾病中的作用在其它地方可以看到 (Gyles,1994; Gyles 和 Fairbrother, 2004)。

流行病学

PWD 和 ED 的流行病学具有很多共同的特征。初次感染 PWD 和/或 ED 与断奶日龄有关。F4 阳性和 F18 阳性的大肠杆菌之间有一些差异。前者可导致新生仔猪,断奶前及断奶后仔猪腹泻,最常导致刚断奶几天的仔猪腹泻。在断奶后,

农场采取下面这些管理，例如添加高水平的动物源性蛋白、血浆、酸化食品、氧化锌物质，都可在断奶后 3 周，甚至 6~8 周引起腹泻和休克性肠大肠杆菌高发（Fairbrother，没有发表的发现）。后者多导致断奶后 5~14 天的或转入育肥群仔猪腹泻(Svendsen 等，1974)。未断奶仔猪亦可感染 PWD 和 ED，在哺乳仔猪，该病的严重程度与乳中母源抗体浓度有关(Sarmiento 等，1988b)。

感染猪群的发病率有很大变化。在某个窝发病率可高达 80%或更多，但平均仅为 30%~40%。发生 ED 后的死亡率在 50%~90%，甚至超过 90%，病程 4~14 天，平均病程 1 周以内。疾病可能和它的出现一样突然消失。再次发生也很普遍(Kurtz 等，1969)。PWD 的致死率较低，未治疗猪群可达 26%(Svendsen 等，1974)。

断奶猪所处的环境最有可能是致病性大肠杆菌的来源。未断奶仔猪在产圈中感染，可能来源于相同的感染来源，并把它携带到断奶猪群。常规的清洁和消毒措施不足以打断感染环节(Hampson 等，1987)。然而，在实验条件下可用严格的卫生措施预防病原菌的传播(Smith 和 Halls，1968；Kausche 等，1992)。其感染的最低剂量未知，但在以 F4 阳性的 ETEC 株的传播试验中，常可观察到间隔 1.5 m 的铁笼中饲养猪只经空气传播(Wathes 等，1989)。任何暴发通常仅由一种 F4 阳性大肠杆菌株引起，偶尔可分离到两种致病菌株，但常是以一种为主。在 87 个猪群中的检查中，涉及到一种以上血清型的混合感染占 47% (Awad Masalmeh 等，1988)。

致病性大肠杆菌可通过灰尘、饲料、运输工具、病猪或其它动物进行传播。有很高隔离条件的原代 SPF 猪场，一般间隔 1~2 年都可观察到有大肠杆菌致病菌株进入。一旦某一地点为某株菌株污染，可持续存在很长一段时间。与断奶后疾病相关的血清型在邻近很大区域内差异不大。1994 年丹麦发生 ED 时，它迅速地从 一个 SPF 种猪场通过猪只贸易扩散到 37 个以上其它猪场，确定了病株间的关系(Aarestrup 等，1997；Jorsal 等，1996)，有 22 个猪群感染，但没有已知的贸易往来。

发病机制

为清楚起见，以下将分别阐述大肠杆菌在肠道的定殖和毒血症。

细菌在小肠的定植

造成 PWD 和 ED 的大肠杆菌通过被摄取的方式进入动物体内，在达到一定数量后，就会通过鞭毛粘附素与小肠上皮细胞受体或上皮细胞粘液层结合，以这种方式定植到小肠上。这些细菌在回肠上快速增长，迅速达到 10^9 。定植的程度决定了感染能否引发疾病，用 O139 型的 2 株细菌人工感染，在猪的小肠粘膜上发现了粘附的细菌菌群或细菌层(图 38.3)(Bertschinger 和 Pohlenz, 1983; Methiyapun 等, 1984; Bertschinger 等, 1990)。EDEC 与 ETEC 相似，都粘附于刷状缘上。在这里我们讨论一些影响致病性大肠杆菌定植的因素。

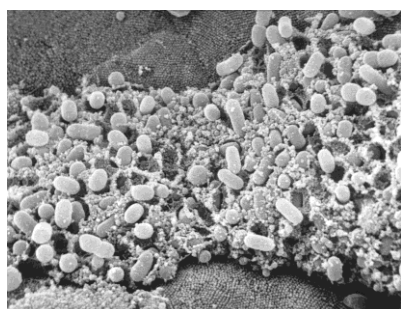


图 38.3 给断奶仔猪经口服人工接种大肠杆菌 O139 : K12 : H16 天 后可见细菌呈斑块状粘附于小肠粘膜上皮的微绒毛上

并非每头猪都有大肠杆菌的刷状缘受体。Sellwood 等(1975)首次描述了由于缺乏 F4 受体而具有的遗传抗性(详见新生猪大肠杆菌病一节)。F18 菌毛的受体也在一个位点受到控制，并且该受体的出现显著多于缺失的情况(Bertschinger 等, 1993)。F18 受体不同于 F4 受体，编码 F4 的基因位于 13 号染色体上(Guérin 等, 1993)，而编码 F18 受体的基因位于和控制应激易感性位点靠近的 6 号染色体上。在对一瑞士猪为主体的猪群的调查表明，对应激的抵抗力与是否易被 F18 菌毛大肠杆菌粘附有关(Vogeli 等, 1996)。鉴于应激易感的猪只较少，具有 F18 受体猪的数量一定很多。

菌毛受体可能是一种糖基化受体，它可用含豆科植物饲料中的植物血凝素加以调节(Kelly 等, 1994)。据推测，在断奶后最初几天，饲料诱导的受体变化可减少 F18 阳性大肠杆菌的定殖的可能性(Bertschinger 等, 1993)。内源性或口服的蛋白酶可减少 F4 菌毛受体活性(Mynott 等, 1996)。F4 受体不论是初生猪还是成年猪都表达的很充分，而 F18 受体在 20 日龄以下的猪只还未表达完全(Nagy 等, 1992)。这就解释了为何有 F18 菌毛的大肠杆菌不引起新生仔猪的疾病。这种不断表达的受体构成了断奶后具有 F4 的大肠杆菌在 F4 和 F18 阳性菌性地方性流行的猪场中早期出现的基础。

Sarmiento 等(1988b)在猪乳中检测到了特异的抗体，并指出：在整个哺乳期只要能吃到乳汁，乳中的抗体就能防止大肠杆菌的定植。

猪肠道中可有多种病毒感染，这样可能改变肠道的菌群环境。在实验性断奶后腹泻的模型中，用轮状病毒和没有 F4ETEC 菌株的复合感染，可引起比两者单独接种更加严重的腹泻(Lecce 等，1982)。研究人员认为，病毒对上皮的损伤有利于大肠杆菌的定殖。被 PRRS 病毒感染导致免疫系统功能下降，从而使 ETEC 造成败血症并导致死亡 (Nakamine 等，1998)。

酸性条件对大肠杆菌有抑制作用。断奶后仔猪胃内容物 pH 开始下降(Risley 等，1992)。一些研究人员发现，酸化饲料不能使空肠的 pH 值降低。靠近空肠刷状缘的 pH 值偏酸且可调节，并且不受食糜 pH 值的影响(McEwan 等，1990)。

兽医和农场主多年前已深信，饲料营养在疾病的发展中起的作用很大，因此 ED 被命名为“蛋白质中毒”。Smith 和 Halls(1968)给采用不同饲料配方的猪接种一株血清型为 O141 : K85ac 的 EDEC，他们发现，限饲猪发病少且粪便中的菌含量低。自由采食高纤维低养分饲料的猪也得到了相似的结果。研究人员推论，也许是小肠上皮的生理状态影响了细菌的粘附。后继实验由 Bertlinger 等(1978)展开。他以一株血清型 O139 : K12 的 EDEC 给猪接种，证实了 Smith 和 Halls(1968)的结果。然而，日粮质量差会引起仔猪发育不良。当用传统日粮替换后，细菌的定殖和疾病又开始增多。当用鱼粉添加到较差日粮中时，会消除这种抑制的效果，而添加淀粉或脂肪也可以，这种现象的详细机制还有待阐明。

据报道，断奶猪圈中温度低会使断奶后腹泻的情况更加严重(Wathes 等，1989)。在实验条件下，ED 不为冷应激所恶化(Kausche 等，1992)。

腹泻

前面一节讨论了肠毒素诱发腹泻的机制(新生猪大肠杆菌性腹泻)。几乎所有 PWD 致死病例所涉及的大肠杆菌都可生成 LT(Imberechts 等，1994)。断奶后 12 天由可生成一种或两种热稳定性肠毒素的 ETEC 定殖的猪很少发生腹泻(Sarrazin 和 Bertschinger，1997)。新生和断奶猪的这种差异至少部分可解释为断奶后最初几天开始的抗分泌因子的骤然上升(Lange 等，1993)。

肠道毒血症

用纯化的 Stx2e 毒素静脉接种猪可诱发与 ED 类似的疾病(MacLeod 和 Gyles，1990)。因为 Stx2e 与红细胞具有特殊的亲和力，所以血管受毒素作用时间最长(Boyd 等，1993)。利用免疫学方法可以在小肠小血管内皮细胞及位于绒毛底部肠

细胞的微绒毛膜中检测到毒素(Waddell 等, 1996)。

在自然感染病例中, 人工接种注射部分经纯化的毒素(Clugston 等, 1974b; Gannon 等, 1989)与给猪口服活的培养菌(Methiyapun 等, 1984; Kausche 等, 1992)后可见到的最为一致的损伤是小动脉的退化性血管病。在多种组织的水肿液中都发现其蛋白含量较低, 这可能是血管通透性轻微增加的结果。有关 ED 病理生理方面的资料还很少。Clugston 等(1974a)发现人工静脉接种 ED 病原后血压会升高, 由于高血压症状的出现晚于水肿, 因而它被认为是血管损伤的结果而不是原因。高血压可使已经受损的血管的损伤恶化。神经系统病变的发展可能与因血流受损而造成的缺氧有关(Clugston 等, 1974b)。

典型的 ED 后期出现血性下痢及胃贲门部、回肠和大肠出血(图 38.4)(Bertschinger 和 Pohlenz, 1983)。Gannon 等在 1989 年, Macleod 和 Gyles 在 1990 年都发现, 给与猪大剂量的 SLT-II_e 会引起急性出血性胃肠炎。小动脉及内皮细胞的坏死可能是导致肠腔出血的原因。



图 38.4 给猪接种大肠杆菌 O139 : K12 : H1 培养物 5 天后猪出现血性腹泻, 剖检可见结肠系膜广泛出血和轻度水肿

临床症状

断奶后大肠杆菌性腹泻

Svendsen 等在 1974 年报道, 由大肠杆菌 O149(无 F4)引起的自然暴发的大肠杆菌性 PWD 病例中, 首先发现的症状是一只或多只仔猪在断奶后 2 天左右突然死亡, 与此同时, 被感染猪群采食量显著下降并出现水样腹泻。发病时一些猪表现特征性的尾部震颤, 直肠温度正常。受感染猪出现脱水和抑郁症状, 饮食不规律, 即使到发病后期仍表现出极度的饮欲。很多猪的鼻盘、耳和腹部发绀, 即使受感染最严重的猪也竭力以蹒跚不协调的步态到处走动。死亡高峰在断奶后 6~10 天, 存活猪恢复良好, 有些猪甚至完全康复。

用携带毒力因子 F4、LT 及 ST_b 的菌株去感染仔猪, 1~2 天后出现腹泻, 在有些猪群中表现出暴发性和致死性特征, 而其它的猪则腹泻 3~4 天后即可恢复

(Sarmiento 等, 1988a)。仔猪一般在接种后头 2 天体重减轻, 而在 5 天后, 其生长曲线与那些有遗传抵抗力的猪大致平行。后者既不感染也不表现任何临床症状。

断奶后大肠杆菌性腹泻与水肿并发性疾病

1968 年, Smith 和 Halls 报道由 O141:K85a,c 菌株人工诱发疾病时, 该菌株可生成 Stx2e 和肠毒素。第一个症状是厌食, 开始于接种后 3 天(2~5 天)粪便中的排菌数量超过 10⁹ 集落形成单位(CFU)/克粪便时, 大多数猪表现此现象。厌食症状在恢复猪只中持续几天, 或一直持续到快要死亡时进行的安乐扑杀。腹泻出现在接种后 4 天(1~8 天), 通常很严重, 但持续时间短暂, 很少出现死亡。大多数猪只在接种后 6 天(5~13 天)神经症状开始明显时腹泻症状便不再出现。与此同时, 出现眼睑水肿, 共济失调, 常伴有不同程度的痴呆, 而且通常是渐进性的, 被感染猪不久便不再活动, 晚期常见严重的呼吸困难。大多数共济失调猪只在神经症状出现的当天不得被处死。猪只在接种后 7 天(5~13 天)进入濒死状态, 直肠温度一直保持在正常范围内。

水肿病

给猪接种血清型为 O139:K12:H1 的非肠毒素性 ED 菌株后, 产生一种非常相似的疾病(Bertschinger 等, 1978)。然而不同的是腹泻与细菌定殖无关, 并且一些病例发生了更严重的水肿。在这些病例中水肿多见于耳、前肢皮下、鼻和唇(图 38.5)。轻度者皮下水肿与搔痒同时存在, 恢复后消失。一些有或没有呼吸困难的猪, 呼吸时伴有鼾声。

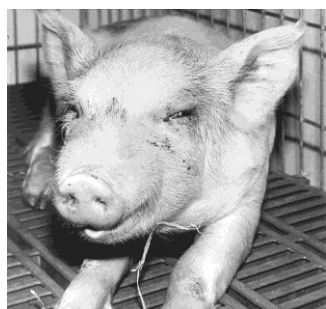


图 38.5 经口给断奶仔猪人工接种大肠杆菌 O139:K12:H1 培养物, 4 天后出现眼睑、前额和唇部肿胀, 张口呼吸, 不能起立

一些猪后期出现水样腹泻, 排泄物中有新鲜的血凝块 (Bertschinger 和 Pohlenz 1983)。给予大剂量毒素 Stx2e 的猪还出现了出血性大肠炎(Macleod 等, 1991)。

慢性 ED 由不同比例(常很低)的急性大肠杆菌性 PWD 或 ED 恢复的猪只转变而来(Bertschinger 和 Pohlenz, 1974; Nakamura 等, 1982)。这种情形在它与 ED

的关系明显之前被称为脑脊髓血管病。在肠道感染后几天到几周内，病猪生长停止、共济失调、头部扭曲或前肢萎缩、皮下水肿不多见，被感染猪应该被扑杀。接种 Stx2e 和 STb 为阳性的大肠杆菌 O139 菌株后 2 周，存活的大多数猪出现亚临床症状。这些猪临床表现正常，但发生了血管病变，2 周之内都要被扑杀 (Kausche 等, 1992)。

病理变化

断奶后大肠杆菌性腹泻

大体病变 死于大肠杆菌性 PWD 的猪一般大体状况良好，但有严重脱水，眼睛下陷和一定程度的发绀；肺苍白、干燥，与放血后的肺相似(Svendsen 等, 1974)；胃里常常充满干燥的食物，底区胃粘膜可见不同程度的充血；小肠扩张充血、轻度水肿，内容物水样或粘液样有异味，肠系膜高度充血；大肠内容物黄绿色，粘液样或水样。在急性暴发中死亡较晚的猪，外观消瘦，尸体散发出浓烈的氨味；胃底区有形状不规则的较浅的溃疡，大肠中也有相似的较小面积的病变，粪便黄褐色，眼前房液体尿素反应呈阳性。

一些作者使用“出血性胃肠炎”或“大肠杆菌性休克”来描述一种大肠杆菌性腹泻。这种腹泻的特征是胃底区和小肠的严重充血，小肠或有时上段大肠内容物有或无血染，粪便带血(Faubert 和 Drolet, 1992)。此种类型病变常由带有 F4 菌毛的大肠杆菌引起。因败血病复杂化了的肠道大肠杆菌损伤综合症。最近在无茵猪中重现，LT 基因的敲除可引起 F4 介导的细菌定殖减少、脱水减少，较少出现败血病 (Berberov 等,2004)。

显微病变 经常能发现吸附在回肠及空肠粘膜表面的细菌。细菌层多局限于纤毛，外观呈层片状(Sarmiento 等, 1988a;Casey 等, 1992; Faubert 和 Drolet, 1992)，粘膜及上皮细胞变得不完整。一些研究人员报道，固有层浅表中性粒细胞数量增加。患所谓“出血性胃肠炎”的猪，胃和小肠粘膜的极度充血常与微血管纤维蛋白样血栓相关。严重病例出现绒毛的坏死并伴有中性粒细胞的显著渗透。回肠和空肠固有层中不常见到出血(Svendsen 等, 1974; Faubert 和 Drolet, 1992)。

水肿病

大体病变 死于 ED 的猪大多营养状况良好，皮肤略显苍白，尸体外观新鲜，水肿的部位不定，有些动物并无水肿症状。可能会出现皮下水肿。当出现时，胃

粘膜下层的水肿具有特征性，且常位于近贲门的区域(图 38.6)，厚度可从几乎看不到到 2 cm 或更多。水肿液一般为浆液性，有时在粘膜附近有血染。如果水肿严重，病变可延伸到基底部的粘膜下层。食管贲门部由急性溃疡引起的炎性水肿不要与 ED 引起的水肿相混淆。

有时可见胆囊的水肿。结肠系膜是水肿的常见部位。仔细检查心周、胸膜和腹腔有时可以发现白色的纤维素丝和浆液的轻微增多。肠系膜和疝气结外观从正常到轻度肿胀和充血不等。一般胃内充满干燥、新鲜的食物，而小肠相对空虚，结肠内容物数量减少。据推论，这是胃排空延迟的表现，因为一些动物在临死前都有一段时间的厌食。而且实验显示，患 ED 的猪在死前 48 h 内摄食很少，尸检时胃部充盈(Smith 和 Halls, 1968)。一些被 ED 感染的猪同时有便秘症状，这与上面的结果相吻合。

肺脏表现不同程度的水肿，次级小叶有特征性的、斑块状的充血。在一些病例中，这是惟一可观察到的病变，有些也见到喉部水肿的病例。心内膜和心外膜附近可能出现瘀血点，此病变不要与桑葚心相混淆。



图 38.6 一大肠杆菌 O139:K12:H1 感染的田间病例，胃贲门区域粘膜水肿，胃壁切面上可见粘膜下有胶冻样物

一些自发或人工诱发 ED 的猪可能会出现一种与大肠杆菌性 PWD 完全不同的出血性胃肠炎。除显著水肿外，胃的贲门区、小肠下段及大肠上段粘膜下层出现广泛的出血。一些猪死前出现水样腹泻，排泄物中混有血凝块(Bertschinger 和 Pohlenz, 1983)。一些病例还会出现内皮细胞肿胀、空泡变性和增生，微血栓形成，内皮下纤维变性、轻度坏死和血管周水肿(Methiyapun 等, 1984)，这与人出血性结肠炎惊人的相似。

如果致病的大肠杆菌也能产生肠毒素，还会加重断奶后腹泻的症状，但水肿的症状轻微或没有。

显微病变 在 ED 的早期病程中，粘附的细菌呈层片状出现在整个小肠段中(Bertschinger 和 Pohlenz, 1983; Methiyapun 等, 1984; Bertschinger 等, 1990)。与大肠杆菌性 PWD 相比，ED 病例在濒死时细菌的定殖现象常常消失(Smith 和

Halls, 1968)。

最重要的显微病变是小动脉和毛细血管的退行性血管病(Clugston 等, 1974b; Kausche 等, 1992)。病变可能发生在多种组织和器官, 最常受感染的部位是靠近结肠淋巴结的结肠系膜内稠密的小动脉网。早期急性病变是被膜中部平滑肌细胞的坏死, 特征是细胞核固缩、破裂和细胞浆的透明变性。一些受感染的血管壁有纤维素样物质的沉积(图 38.7), 也可见内皮细胞肿胀。人工感染的急性病例会出现柔脑膜和血管周的水肿。旧的病灶伴有外膜和中膜细胞的增生(图 38.8)。急性病例的血管病变难于见到, 但在存活猪或亚临床感染的猪体则很容易看到(Kausche 等, 1992)。血栓通常不是在 ED 感染中简简单单自然出现的特征。

在自然发病中恢复或急性症状出现后存活几天的猪只, 脑干部有局灶性脑软化并伴有小动脉和毛细血管的病变(Kurtz 等, 1969; Kausche 等, 1992)。这些病变被认为是可导致水肿和局部缺血的血管损伤的结果。多年来, 猪脑脊髓血管病一直被看做是临床病理学的范畴。显微病变特征是以上描述的和被感染血管周围出现 PAS 阳性的滴状物。这种血管病被认为最有可能是水肿病的表现(Bertschinger 和 Pohlenz, 1974)。

诊断

断奶后大肠杆菌性腹泻

断奶后腹泻是一种非常复杂的疾病(见 3 章)。在断奶早期出现腹泻, 极度脱水, 至少会出现一些死亡是帮助早期诊断 ETEC 的一些特征。大体病变, 包括特征性的气味对确诊也有帮助。但最终的确诊需检测 ETEC (见新生仔猪大肠杆菌性腹泻), 它可以很高的数量发散。溶血不是确定 ETEC 的一个有效的原则。不具备鉴定毒性因子条件的实验室至少应有抗该区域最常见血清型的 OK 抗血清, 用于对培养物进行血清分型。

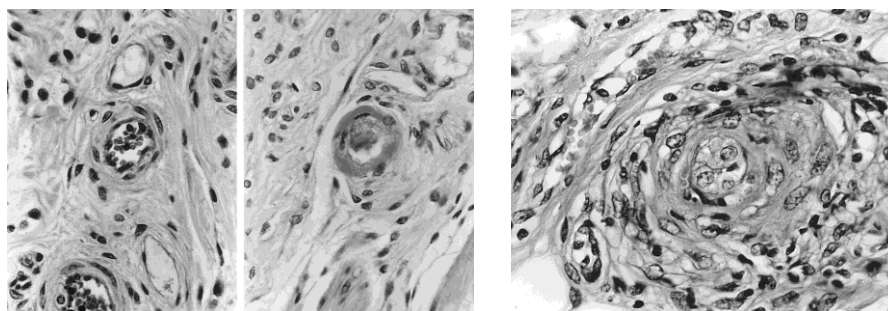


图 38.7 膀胱

粘膜下小动脉：(左)正常；(右)纤维或透明变性，人工感染急性 ED 病例(Clugston 等，1974b)

图 38.8 人工接种 EDP(含 SLT-IIe 的水肿病因子)17 天后胃贲门区域粘膜下层；呈现增生性血管病的小动脉 (Clugston 等，1974b)

水肿病

诊断急性 ED 是基于断奶后 1~2 周生长旺盛的仔猪中突然发生并出现神经症状。活猪最重要和最恒定的诊断性症状是轻度共济失调或步态蹒跚，眼睑和前肢皮下的水肿也是一个主要的症状。剖检时，当出现特征性病变-水肿时，非常有助于确诊，但很多病例缺乏此症状，尤其当急性腹泻先于 ED 出现时。对成年猪 ED 的诊断需作额外的工作，例如，对 1 头以上的猪进行死后剖检和组织学检查。

对小肠和结肠的细菌学检查应得到纯的或近乎纯的溶血性大肠杆菌培养物。然而，在迁延不愈的病例，细菌的数量可能已经下降(Bertschinger 和 Pohlenz, 1983)。在死后，这些少量的微生物的生长不如其它肠道细菌旺盛。与 ETEC 感染相比，出现阴性的细菌学结果并不能排除诊断为 ED 的可能性。附加的根据就是通过普通的血清学方法来鉴定与 ED 相关的常见血清型。血清分型很重要，因为和其它毒性因子无关的溶血性大肠杆菌在小肠菌群中经常能够见到，并且可能数量很多。Stx2e 和 F18 菌毛基因的 PCR 扩增可能被用来获得快速的权威性的 EDEC 鉴定。

亚急性 ED 和慢性 ED 可通过小动脉病变和局灶性脑软化得以确诊。在急性死亡的病例，鉴别诊断必须包括微血管病和循环障碍。当猪表现神经症状时，应同时考虑病毒性脑炎(肠病毒性脑脊髓灰质炎、伪狂犬病)和细菌性脑膜脑炎(猪链球菌病、副猪嗜血杆菌病)以及缺水等情况。

治疗

与新生仔猪大肠杆菌病的发病机制及治疗相比，对该病的治疗了解得还很少。

抗生素治疗

用化学药物的方法控制细菌的繁殖，在大肠杆菌性 PWD 中比在 ED 中有效。

因为对后者而言，当临床症状明显时，肠道中的毒素已经被吸收到循环中，且与受体结合。细菌能对广谱抗生素抗性的增强 (表 38.4)，使得这种方法的可靠性变得不确定。不可能提供出有关抗药性的通用数据，因为不同猪群情况多样化依赖于其习惯使用的抗生素。

必须通过给母猪用药对患病仔猪进行治疗。仔猪饮食很少，即使其所处位置靠近奶头。必须挑选能到达小肠腔的药物，如阿莫西林/克拉维酸、氟喹诺酮、头孢菌素、阿泊拉霉素、新霉素或三甲氧苄二氢嘧啶。如果是群体问题，一定要做药敏试验

对 PWD 的支持疗法

支持疗法包括抗脱水和抗酸中毒。补液可通过饮用或腹腔内注射(如果仔猪没有饮欲)。所补充的液体应该是含有葡萄糖、电解质、枸橼酸和磷酸二氢钾的等渗溶液(Bywater 和 Woode, 1980)。补液的量应和损失的量相等(即 $\leq 25\%$ 体重)。

水肿病

出现症状如严重皮下水肿、呼吸困难或不能站立，猪存活的机会很小。评价疗效很困难，因为疾病的严重程度不能定量。在过去用过的很多种药物，都因疗效不佳而废弃不用了。

表 38.4 瑞士猪场患 PWD 或 ED 猪和魁北克患 PWD 的猪分离的大肠杆菌 O149 对抗生素敏

	感性	
	分离 O149 药物敏感百分比	
	瑞士 1 n = 59	魁北克 2 n = 52
抗菌素		
氨苄西林	73	36
阿莫西林/克拉维酸	100	NT3
头孢西丁	100	NT
链霉素	37	NT
壮观霉素	19	NT
新霉素	81	73
安普霉素	93	58
庆大霉素	91	81
四环素	47	0
氯霉素	81	NT
恩氟沙星	100	98
粘菌素 A	100	NT
头孢噻呋	NT	100
氨苯磺胺	15	NT
甲氧苄啶	73	NT
磺胺甲噁唑	NT	30

1 Bertschinger 等, 1996

2 蒙特利尔大学大肠杆菌实验室, 1996-2000

3 未试验

4 改良琼脂稀释技术 (Bertschinger 等, 1996)

预防

选育有抵抗力的猪

从长远来看, 这种预防方法最有效也最经济。这方面工作正在向前进行。重要的是, 必须避免同时筛选出不希望出现的与编码 F4 和 F18 受体位点紧密连锁的特性。不可预知是否还会出现可以和未经确定的受体相结合的一些其它类型的粘附性菌毛或已知类型的新的变体。

EDEC 的根除

PWD 和 ED 的可传播的特性是很明显的。最近, 在丹麦, 大部分 ED 的扩散是通过猪贸易的途径(Jorsal 等, 1996)。应采取一些在猪场中根除该病的措施, 包括受感染猪场的减群和猪舍的消毒(Johansen 等, 1996b)。采取这些措施的 15 个猪场中, 只有一个例外, 一直可以保持不发生临床性疾病至少 4~7 个月。到目前为止, 还没有用于证实一个给定猪场中没有致病性大肠杆菌的方法。大肠杆菌在环境中生命力很强。

免疫防护

获得性免疫可以对防止大肠杆菌在小肠的定殖和/或抵抗毒素的作用, 取得完全的保护力。对断奶猪可采用被动或主动的方式进行免疫保护。

被动免疫 用妊娠晚期母猪乳饲喂断奶仔猪, 每日 525ml, 可以完全防止细菌的定殖, 而喂等量牛奶的仔猪仍可排出大量的 ETEEC 细菌(Deprez 等, 1986)。给仔猪饲喂喷干的猪血浆(Spray-dried), 每日 90g, 在饲喂期内, 可以达到相似的免疫效果。如果对提供血浆的猪进行免疫, 效果将更好(Deprez 等, 1990, 1996)。对 F4 和 F18 阳性大肠杆菌定殖的免疫保护可以通过给仔猪饲喂经免疫母鸡所产的鸡蛋的方法达到(Imberechs 等, 1997; Marquardt 等, 1999)。这种保护力是通过给猪接种和疫苗株仅有一共同的 F18 菌毛的攻毒菌株而达到的(Zúiga 等, 1998)。这种含抗体的鸡蛋粉末是否能低成本制造还有待进一步研究。

主动免疫 商业疫苗很少能阻止断奶后仔猪 PWD 和 ED 大肠杆菌的发生。可注射性疫苗比如说那些可用于母猪来预防仔猪腹泻的疫苗主要引起系统免疫而不是

粘膜免疫,可使循环中抗体的浓度升高,但此类抗体不能以足够高浓度水平到达肠道从而有效抑制其中的细菌 (Van den Broeck 等. 1999)。在继发的经口感染致病型大肠杆菌病程中,这类疫苗甚至可能抑制粘膜免疫反应(Bianchi 等. 1996)。目前,几种控制断奶仔猪大肠杆菌性腹泻的方法正在研究。大多数控制策略都是特异性针对 adhesin 或 O 血清型大肠杆菌。因此,对 adhesin 型进行正确的诊断和鉴别是确保更有效地控制腹泻的关键。新的接种疫苗策略包括给小猪经口免疫活的携带有菌毛 adhesins 的致弱型大肠杆菌。在腹泻发作前,这种疫苗可以通过饮水的方式给予断奶仔猪或通过经口定量给料的方式给予未断奶仔猪至少 1 周,通过这些细菌在肠道定殖并诱导局部肠道抗体来阻断致病型大肠杆菌的粘附,从而阻止腹泻的发展。看来只要使用携带适当 adhesin 的疫苗株,这个方法就能够有效地控制 F4 和 F18 两种大肠杆菌性腹泻。在美国,大规模的农场调查证明:断奶后马上给猪口服活的非内毒素基因型 F4 大肠杆菌能降低死亡率,减少抗生素的使用(Fuentes 等. 2004)。曾被能产生 STI 和 STII 的 F18 ETEC 定殖过的猪仅能对和免疫株有相同菌毛 F18 的异种 ETEC 的再次定殖起到防护作用。但是,菌毛变异株 F18ab 和 F18ac 之间的交叉保护作用可能不是太强(Bertschinger 等, 2000)。目前研究的目的是用可口服的纯化 F4 菌毛替代全菌作为疫苗来控制断奶仔猪大肠杆菌性腹泻的暴发(Van den Broeck 等. 1999)。这种亚基因疫苗的使用能导致肠道中特异性的粘膜免疫反应和排泄物中致病性 F4 的显著减少。

对于猪而言,小肠是 IgA 和 IgM 产生的主要场所。IgM 可能在粘膜免疫中具有重要的地位(Bianchi 等. 1999)。在猪 4 周龄时, lamina propria 中 IgM 分泌细胞的出现频率与 IgA 分泌细胞的出现频率相似,而之后则会增加。从 IgM 到 IgA 的转变大约发生在 12 周龄左右。为了诱导保护性粘膜免疫,预防 PWD 的疫苗应该能激活粘膜免疫系统激发抗原特异性的 IgA 或 IgM 反应(Van den Broeck 等. 1999)。

据 Gannon 等(1988)报道说,有或无临床型 ED 猪场的新生或断奶仔猪的血清,不含抗 Stx2e 的中和抗体。然而, Wielew 等(1995)用 ELISA 的方法检测到了 ED 急性暴发中恢复的病例血液中有抗 Stx2e B 亚单位的抗体。

用经戊二醛灭活 EDEC 超声裂解液制备 Stx2e 类毒素疫苗,并通过给青年

猪静脉内接种，可诱导产生主动免疫 (Dobrescu, 1982)。猪在断奶前 1 周也曾使用过相似的类毒素进行免疫(Awad Masalmeh 等, 1989)。给仔猪经口接种 EDEC 血清型 O139:K12 可诱导产生坚强的保护力。接种猪排出少量用于接种的细菌，并且，与对照组相比增重较多。

用戊二醛处理的 Stx2e 并未完全失去毒力。因此，应对毒素用诱发特定位点突变的方法进行修饰。经证明，这种经遗传修饰的毒素对被免疫猪的生长没有阻碍作用，并能够防止用 Stx2e 和 STb 阳性的大肠杆菌 O139:F18 攻毒引发猪只出现明显的和亚临床型 ED(Bosworth 等, 1996)。Macleod 和 Gyles(1991)采用了另外一种不同的途径，他们用戊二醛将经纯化的 Stx2e 除去毒力，大肠杆菌 O139:F18 对用佐剂疫苗进行免疫的两个猪群进行感染。免疫后，由 ED 所造成的死亡率大大减少，并且还显著提高了哺乳仔猪的日增重。另一猪群却未能防止由 ETEC 引起的死亡(Johansen 等, 1996)。然而，这些类毒素疫苗目前还没有市售。

化学预防

目前，在饲料中加入药物的预防方法在很多国家被广泛采用。尽管该方法有如下缺陷：消费者不接受，损害免疫力的建立，选择了有抗性的细菌，耐药性几天或几周内即可产生。从 PWD 大肠杆菌和 ED 中分离细菌试验表明，猪大肠杆菌产生耐药性几率最高。除了以上提到的用于母源性治疗的几类抗生素外，氨基糖苷类和多粘菌素也被广泛地应用。后者具有稳定，低毒，不易产生耐药性等优点。对于多粘菌素，用琼脂扩散技术检查细菌抗药性的方法不可靠(Bertschinger 等, 1996)。研究人员报道说，氧四环素的浓度在低于最小抑菌浓度的条件下即可减少大肠杆菌的粘附。Sarmiento 和 Moon(1988)报道，在由抗四环素菌株引起的 PWD 大肠杆菌，不论在饲料中是否添加四环素，猪体中都发生相同的过程。氧化锌可以替代抗生素使用。饲料中锌的含量在 2400 至 3000ppm 时，可降低腹泻和死亡并促进生长。这种活性可解释为一种抗菌效应(Holm 和 Poulsen, 1996)。然而，在氧化锌含量高的情况下，应考虑环境因素。

营养措施

据报道，限制饲料摄入量、高纤维日粮或自由采食粗纤维可减少 ED 和断奶后腹泻的发生(Smith 和 Halls, 1968;Bertschinger 等, 1978;Rantzer 等, 1996)。

增加饲料中的粗纤维含量到 15%~20%，将粗蛋白和可消化能量降低到正常含量的一半，可降低饲料的营养价值(Bertschinger 等，1978)。向正常日粮中添加额外的纤维的方法也许有好处。Dunne(1975)提倡饲喂优质三叶草并限制饲料的日摄入量。为有效起见，在断奶后 2 周内，必须保证营养物质的摄入量足够低，以维持日增重不超过体重的 1%。这样可防止细菌的定殖，但也像抗生素一样损害免疫力的建立，会经常看到后来疾病的暴发。

引入酸结合能力差的日粮后，由大肠杆菌肠毒素血症造成的死亡率降低，增重增加。有机酸也可起到相似的效果。将无机酸和有机酸混合后添加于饲料中的做法不能降低 ED 造成的死亡率(Tohansen 等，1996b)。鉴于靠近肠道粘膜表面 pH 的高度可变性，这种结果一点也不足为奇(McEwan 等，1990)。

给早期断奶仔猪（10 日龄）饲喂含猪血浆干粉(SDPP)的日粮，可见体重增加，腹泻频率降低（Owusu-Asiedu A 等，2002）。其原因一部分是 SDPP 中含有特异性的抗 ETEC 抗体。另外有研究表明，给断奶仔猪添加 SDPP 虽然能增加体重，但并不能预防人工感染 ETEC 造成的损失(Van Dijk 等，2002)，原因可能主要归功于实验模型的严重性。

外源和内源性蛋白酶可降低小肠 F4 受体的活性。给猪经口服一种从菠萝树干提取的蛋白酶——菠萝蛋白酶，可抑制 F4 阳性 ETEC 结合于刷状缘，并且具有剂量依赖性(Mynott 等，1996)，它的临床效果有待进一步证明。

斯堪的纳维亚研究工作者发现，抗分泌因子可减少由热稳定性肠毒素诱发的腹泻。在饲料中添加葡萄糖和一些氨基酸可提高血浆中的抗分泌因子浓度。据报道，经治疗的断奶猪腹泻的发病率降低，增重增加(Goransson 等，1993)。抗分泌因子可能是通过作用于肠神经系统的方式发挥作用(Hansen 和 Skadhauge，1995)。

细菌生命学

最近，研究人员将粪肠球菌、无乳链球菌和蜡样芽孢杆菌给人工感染猪（De Cupere 等，1992）或自然感染猪(J ohansen 等，1996b)进行饲喂，结果没有记录到防护性效果。Schulze(1977)对断奶和未断奶仔猪胃肠道菌群进行了早期相对定量研究，但没有证据表明大肠杆菌和该菌群内的其它细菌之间存在相互依存的关系。

一般管理措施

管理断奶猪应做到尽量减少环境或其它形式的应激，如没有必要的仔猪混群、寒冷、运输、转群入新的圈舍等。Wathes 等(1989)观察到，与饲养在较高温度的对照组相比，人工感染并饲养在 15℃的仔猪，由 PWD 大肠杆菌引起的腹泻和死亡明显增加。因为忽略了遗传抗性，本实验的结论并不完美。

参考文献

全身感染

J.M.Fairbrother

大肠杆菌可由菌血症引起全身性感染，如败血症或局部肠道外感染，如脑膜炎或关节炎(Fairbrother 和 Ngeleka, 1994;Fairbrother 等, 1989; Morris 和 Sojka, 1985)。大肠杆菌引起的败血症可以是原发的，主要发生于新生至 4 日龄猪，也可以继发于腹泻或其它一些危害青年猪的疾病。

病原学

据报道，只有相对少数几种大肠杆菌血清型引起自然发生的败血症病例，其中从败血症分离物中最常见到的血清型是 O6, O8, O9, O11, O15, O17, O18, O20, O45, O60, O78, O83, O93, O101, O112, O115 和 O116 (Morris 和 Sojka, 1985;Gyles, 1986;Nielsen 等, 1975a;Faibrother 等, 1989)。其它报道与猪全身性感染有关的格兰氏阴性菌有克雷伯菌和假单孢菌(Nielsen 等, 1975b)。在我们大肠杆菌实验室所做的一项为期 4 年(1989~1992)的研究中，从原发性败血症病例的分离物中最常见到的血清型是 O9(10%)和 O20 (18%)(Fairbrother 和 Ngeleka, 1994)。血清型 O1, O18, O60, O78, O101, O141 和 O147 检出率相对较低(分别为 2%~4%)，但有 49%的分离物不能确定血清型。并非所有的大肠杆菌分离物都能引起不食初乳的仔猪发生败血症(Meyer 等, 1971; Murata 等, 1979)。

大肠杆菌与猪败血症有关的一些特性至今未深入的研究过，但已知一些能引起败血症的菌株能表达致病因子，包括菌毛、多糖荚膜和 O 抗原荚膜，脂多糖(LPS)，气溶素系统，溶血素及其它一些细胞毒素(表 38.5)。从具有败血症的仔

猪体内分离到的大肠杆菌菌毛粘附素包括 F1651，F1652(Contrepolis 等，1989；Fairbrother 等，1986)，和其它菌毛如 P、S、和 F1C 菌毛科(Dozois 等，1997)。

表 38.5 由猪大肠杆菌引起的肠外疾病的重要病变，毒力因子和 O 血清型

疾病	致病型	毒力因子	O 血清型
败血症	SEPEC	Aerobactin	6,8,9,11,15,
		F165-1 (P fimbrial family),	17,18,20,45,
		F165-2 (S fimbrial family),	60,78,83,93,
		CNF1 or CNF2,	101,112,115,
		CDT	116
泌尿生殖器感染	UPEC	P, S, aerobactin, CNF1	1,4,6,18

来源：蒙特利尔大学大肠杆菌实验室

肠毒素型大肠杆菌(ETEC)可能与继发性败血症有关，尤其在年龄较大的仔猪。这些分离物最常属于表 38.3 病毒型。

猪原发性败血症分离物及可诱发新生不食初乳仔猪败血症的分离物中最常见到的致病因子为 F1651、F1652，或其它菌毛 P、S 及 F1C 菌毛科，大肠杆菌素 V，含铁血黄素巨噬细胞气溶素和抵抗血清杀菌效力的物质(Fairbrother 和 Ngeleka ，1994)。原发性败血症病例中分离到的细菌有时可生成细胞毒素的中和因子(CNF1)。

流行病学

原发性败血症常为散发，小规模暴发比较罕见(Nielsen 等，1975a)。该病可发生于整个泌乳期，在有些病例可延续发生至 80 日龄。继发性全身感染的流行病学由潜在的疾病决定。

致病机理

新生期原发性败血症发生于缺乏免疫力的仔猪。这种免疫力的缺乏，或是由于没有食到初乳，或是由于初乳中缺乏特异性抗体。细菌侵入没有免疫力宿主的呼吸道或胃肠道后，即可发生疾病。出生后脐部受到感染也可引发大肠杆菌性败血症。然而，小肠常被认为是大肠杆菌侵入的主要部位，因为该病可通过口服或胃内投喂这种微生物人工诱发(Ngeleka 等，1993)。

继发性败血症在肠毒素型大肠杆菌(ETEC)侵入后发生。大多情况下，新生期原发性败血症的发生常与以下因素有关：大分子物质可透过小肠，免疫系统的某些缺陷(如初乳母源抗体水平低)，出生体重低和亚致死性畸形(Gyles 和

Fairbrother, 2004;Murata 等, 1979)。

细菌可穿过消化道的粘膜,可能是通过肠上皮细胞的胞吞作用,亦可能是直接穿过由邻近上皮细胞的侧血浆膜形成的肠上皮细胞膜间隙,在进入血流之前先侵入肠系膜淋巴结。细菌的这种侵入并随血流分布到各种肠道外器官,如肺、肝、脾、肾、脑和心可引起全身感染(如败血症、多发性浆膜炎),或局部感染(脑膜炎或关节炎)(Morris 和 Sojka, 1985)。在母猪,产后不久即可由肠道型大肠杆菌引起脓毒症(Sojka, 1965)。

用猪的病料经胃内接种可人工诱发不食初乳仔猪败血症(Fairbrother 和 Ngeleka, 1994;Ngeleka 等, 1993)。然而,该病亦可由接种其它动物来源的病料如牛、猪和家禽的病料复制(Fairbrother 等, 1993;Murata 等, 1979;Meyer 等, 1771)。由于细菌内毒素或细胞毒素或由这些细菌产物引起机体产生的炎症细胞因子的作用,动物可发生发热、厌食、腹泻、呼吸困难或神经症状等(Nakajima 等, 1991;Jesmok 等, 1992)。

与大肠杆菌诱发的败血症相关的一些致病因子的作用仍不十分明了。有人认为,细菌的脂多糖荚膜、K 型荚膜和 O 抗原荚膜以及含铁血黄素巨噬细胞的产物,如气溶素,能使细菌侵入机体并逃避机体的防御机制。这些致病因子增强了细菌对补体和吞噬细胞杀菌力的抵抗作用,并使得细菌能在低浓度自由铁离子的体液环境中生长(Crosa, 1989;Ngeleka 等, 1992,1993)。

菌毛在细菌的存活、体内的扩散以及随后的致病过程中发挥重要的作用。这种作用的发挥部分是通过增加对吞噬杀菌效力的抵抗而实现的(Ngeleka 等, 1992,1993,1994)。这种抑制的一种作用机制就是抑制氧化反应。

临床症状

感染后的临床症状包括精神抑郁、跛行、不愿活动、厌食、被毛粗糙和呼吸困难(Nielsen 等, 1975a)。感染仔猪俯卧,腹部稍膨大,有时仔猪意识丧失,并伴有痉挛和划桨运动;有可能体况良好但可见到身体末梢部位瘀血发绀。一些仔猪发现时即已死亡,而其它猪只昏迷并未见任何腹泻症状。这些临床症状在出生后 12 h 即可发生,48 h 内出现死亡(Taylor, 1989)。在年龄较大的仔猪,临床症状有周期性腹泻,在急性败血症出现前的一些疾病与新生仔猪相似。

病理变化

在急性原发性败血症，可能除了小肠、肠系膜淋巴结和一些肠道外器官的充血外没有其它大体病变。在亚急性病例，可见浆膜下或粘膜出血，并经常可见到纤维素性多发性浆膜炎，且常伴有化脓性脑膜炎和关节炎(Morris 和 Sojka, 1985;Waxler 和 Britt, 1972)。肺脏的组织学检查可见肺泡间的间质性肺炎并伴有水肿和中性粒细胞浸润，但肺泡内没有渗出物。在继发于肠源性大肠杆菌病的败血症，浆膜表面可见出血斑，脾脏肿大并伴有急性腹泻，一些病例还可见到脱水(Svendsen 等, 1975)。在继发性全身感染大肠杆菌的许多病例中，感染可能发生在原发性疾病的晚期，变化常很轻微或根本看不到任何病变。

诊断

当出现以上所述的症状时，一般怀疑为全身性大肠杆菌病，然而，当发生多发性浆膜炎时，需与猪鼻霉形体和副猪嗜血杆菌病做鉴别诊断。在猪鼻霉形体感染的情况下，感染后 6 天即可检查到大体病变，并且死亡率常低于大肠杆菌感染。由大肠杆菌引起的多发性浆膜炎、渗出物多为浆液纤维性或纤维脓性，而在副猪嗜血杆菌病例，渗出物多为浆液纤维性。在中枢神经系统和关节，常为纤维脓性到脓性渗出物(Waxler 和 Britt, 1972)。由副猪嗜血杆菌引起的感染很少见于早期哺乳阶段，而在 2~3 月龄的仔猪中较为常见，欲确诊需做仔细的微生物学检查。对大多数病例，死后剖检和微生物学检查对确诊很有帮助。对原发性大肠杆菌病的诊断可通过分离纯化培养或在肠道外组织中大肠杆菌存在优势得到进一步证实，尤其是以上提到的一种血清型的大肠杆菌，或更为重要的是有一个或一个以上的毒力因子，如 P 或 S 菌毛科的粘附素，血清抵抗因子或气溶素的产生表(38.5)。这些毒力因子基因可通过杂交探针和多元聚合酶链式反应(PCR)来进行检测，正如新生腹泻那章所描述的一样。确诊继发性全身性大肠杆菌病要靠纯培养中分离到大肠杆菌或肠道外组织中大量发现具有一个或一个以上肠毒素 LT, STa 或 STb 和一种与 ETEC 相关的菌毛粘附素(尤其是 F4)的大肠杆菌。

预防和治疗

卫生状况不良和环境温度控制不好可增加感染的可能性。因此，感染的预防应着眼于减少或消除仔猪生活环境中主要的致病性大肠杆菌，并保证仔猪在初生时吃到充足的初乳。保持卫生，尤其是对产仔圈的清洗和消毒，可有效降低感

染率。仔猪出生后第一周，应饲养在温度恒定(35℃)的舍内，舍内必须保持干燥、清洁、温暖。如有必要，可对被感染仔猪进行治疗，同时注意其它可疑的猪只。然而，在小群暴发的情况下，最好对可疑血清型进行仔细监测，并对怀孕母猪进行自家苗免疫。

在确诊为大肠杆菌感染和做完药敏试验后可尝试进行治疗，同时，在等待实验室诊断的同时，推荐对感染仔猪采用经口或给予母猪广谱抗生素的方法进行治疗。这种治疗措施对亚急性感染病例也许有效，一旦出现临床症状便大多无效。然而，应对窝中剩下的仔猪以及邻近窝中感染的仔猪及同窝猪进行治疗。

参考文献

大肠杆菌性乳房炎

J.M.Fairbrother

本文用“大肠杆菌性乳房炎”(CM)一词来命名与奶牛的 CM 相类似的产后母猪的乳房炎，其他一些国家使用过的用于命名 CM 和相关疾病的术语在本书第 58 章有详细的介绍。对无乳症母猪的剖检结果显示，在全部被检 72 头母猪中有 59 头(82%)表现乳房炎的大体病变(Ross 等，1981)。

CM 呈世界性分布。Hermansson 等(1978)指出，产后无乳症的发病率平均为 12.8%，不同猪群的变化范围为 0.5%~50%。在丹麦管理体制优良的猪场所作的一项涉及 72000 头母猪的研究表明，发病率可达 9.5%(Jorsal, 1986)。在这些研究中，未确定出大肠杆菌性乳房炎真实的发病率。另一研究表明，在有所谓乳房炎、子宫炎、无乳综合征(MMA)问题的猪场，13 1 头患有乳房炎的猪乳腺中有 79%分离到大肠杆菌或肺炎克雷伯氏菌 (Wegmann 等，1986)。

CM 带来的经济损失源于多种因素，因而不易估测。被感染母猪的死亡率低，额外的用于特殊照看和治疗的费用难于评估。另一方面，患有 MMA 的经产母猪所产仔猪的死亡率为 55.8%，而健康母猪所产仔猪的死亡率为 17.2%(Bäckström 等,1984)，在另一研究中两组死亡率分别是 21%和 17%(Madec 等,1992)。仔猪的死亡可能是由于分娩时间的延长，母猪的挤压、饥饿以及由于初乳免疫球蛋白摄入不足而对某种感染因子易感。3 头患有 CM 的母猪在分娩后前 2 天的平均奶产

量仅为健康母猪的 1/2，同时患病母猪所产的仔猪重量减轻(Ross 等，1975)。吃患亚临床型 CM 母猪乳汁的仔猪，仅在产后 1~4 天增重缓慢(Bertschinger 等，1990)。

病原学

“大肠杆菌”这一术语，在用于乳房炎的情况下，涵盖了埃希氏菌属、克雷伯氏菌属、肠杆菌属和枸橼酸杆菌属。然而，在多种研究中用于鉴定的方法还不足以确定大肠杆菌的“属”，就更不用说“种”了。大肠杆菌是奶样及被感染乳腺组织中最常见到的微生物(Ringarp, 1960; Armstrong 等, 1968; Bertschinger 等, 1977a; Ross 等, 1981; Wegmann 等, 1986)。患有 CM 的母猪奶样中还未分离出与大肠杆菌有关的血清型 (Morner 等, 1998)。虽然血清抗性和与 fibronectin 的可结合性已被证明同这些分离物有关，但来自 CM 的大肠杆菌的毒力因子并不为人所知。然而，从患有乳房炎母猪分离到的大肠杆菌极度不同，表现为 DNA 基因型的随机扩增多态性 (Ramasoota 等, 2000)。Ross 等(1975)和 Jones(1976)所调查的病例中，克雷伯氏菌尤其是肺炎克雷伯氏菌最为普遍，具有乳房炎症状母猪的乳腺中还可见到表皮葡萄球菌和多种链球菌，它与大肠杆菌混合存在或单独存在。然而，非大肠杆菌微生物很少与乳房炎的显微病变有关(Bertschinger 等, 1977a; Ross 等, 1981)。

流行病学

母猪的 CM 似乎不具有传染性。对乳房炎分离物的血清分型结果表明，血清型的多样性不仅体现在一个猪群中，而且体现在每一头母猪的每一只乳腺中。有很高比例的次级乳腺中大肠杆菌的血清型在一种以上(Bertschinger 等, 1977a; Awad Masalmeh 等, 1990)。与 CM 有关的大肠杆菌的多样性表明，潜在致病菌数量很多。引起乳房炎的大肠杆菌可源于猪体自身亦可能来源于外界环境中。有约 1/3 的患乳房炎的母猪，从它们的乳腺、尿液及膀胱得到了相同的分离结果(Bertschinger 等, 1977a)。母猪肠道中、新生仔猪口腔及外界环境中的细菌群均可能是引起乳头污染的来源。Awad-Masalmeh 等(1990)发现，67 头患有 CM 母猪的乳腺分泌物及粪便中，约有 1/4 都分离到了 O 型大肠杆菌。Muirhead(1976)认为，母猪的垫料非常重要，粪尿可污染乳房。克雷伯氏菌也可来源于用作垫料的刨花。Bertschinger 等(1990)比较了在传统的产仔箱中以及母猪躺在干净区域的

实验圈中的 12 次分娩情况，结果发现，后一种情况下母猪乳头上的细菌数量低的多，而乳内大肠杆菌感染的发生率低于箱中生产的母猪 10 倍。

发病机理

侵入乳腺

通过乳腺内注射，不超过 120 个肺炎克雷伯氏菌即可在母猪体内复制出乳房炎。用同一菌株 外部大量污染乳头后，所检查的 142 个次级乳腺中有 60 个可分离到该菌株。外部污染乳头，不论是在分娩后 2 h 进行或是在妊娠后 111 天进行，结果均一样成功(Bertschinger 等，1977b)。在自发病例，微生物在何时侵入乳池仍很不清楚。McDonald(1975)发现，分娩前对乳腺进行培养，约有 1/4 的乳腺中发现大量的大肠杆菌。在对乳腺分泌物所作的一项连续的检查中，从 30 只乳腺中分离到大肠杆菌，其中 17 只乳腺是在产第一胎前分离到(Bertschinger 等，1990)。新的感染在产后 2 天前出现。

细菌出现在腺管或腺泡腔中，或自由存在或存在于吞噬细胞内，粘附到表面的现象不明显。在死后剖检时，最常在附近的淋巴结中分离到致病菌，而分离自肝、脾、肾的情况少见(Armstrong 等，1968;Bertschinger 等，1977a;Ross 等，1981)。

细菌在乳腺分泌物中的繁殖可用抗菌机制加以控制。牛乳中的抗菌活力归因于多种抑制因子，这些抑制因子联合发挥作用，可使干乳期的乳房中大肠杆菌的繁殖几乎完全停止(Bramley，1976)。分娩时，母猪乳腺分泌物中可见较低的调理素活性（Osterlundh 等，1998），和初乳中多核细胞较低的吞噬能力（Osterlundh 等，2001），这就可以解释分娩时 CM 易感性的增强。单个母猪乳腺分泌物中，一种给定的大肠杆菌菌株的体外生长情况变化很大，萎缩乳腺的分泌物具有杀菌效力(Wegmann，1985)。CM 是一自愈的疾病，细菌通常在分娩后 1~6 天内消失(Wegmann 和 Bertschinger，1984;Bertschinger 等，1990)。然而在严重病例，它们可在坏死灶中持续存在整个泌乳期(Löpfe，1993)。

乳腺炎

猪发生 CM，其被感染乳腺的腔中常有大量中性粒细胞的聚积。将仔猪移走后，同步诱发多只乳腺发生 CM，在 24 h 内，可导致严重的白细胞数下降(Bertschinger 等，1977b)。乳池内注入相同的细菌接种物之后，进行标准的尸体

剖检, 结果变化很大, 从发生严重的局部症状和大体症状到出现亚临床型乳房炎不等(Löpfe, 1993; Mossi, 1995), 严重反应的出现是由于接种物大量持续繁殖的结果。Löfstedt 等(1983)所做的一项实验结果表明, 对人工接种的易感性与循环中中性粒细胞的功能被削弱有关, 而中性粒细胞功能减弱的原因仍是一个谜。Magnusson 等(2001)认为在分娩前 4 天直接进行实验性感染, 母猪的易感性更强, 此时血液中中性粒细胞的数量比以前更多。这就暗示了循环中中性粒细胞的数量在母猪 CM 感染发展过程中的作用。然而, Osterlundh 等(2002)在实验性免疫研究中发现, 分娩时母猪血液中粒细胞趋化能力和吞噬能力的削弱与其对 CM 易感性无关。对细胞学检查结果的解释必须谨慎。仔猪不选择的乳腺在分娩后很快退化, 退化的同时伴有总体细胞计数及多形核(PMN)细胞比例的升高(Wegmann 和 Bertschinger, 1984)。在一些母猪, 多只乳腺在无细菌的情况下表现为总体细胞和多形核细胞的增多(Bertschinger 等, 1990)。

全身反应

CM 的全身症状由细菌内毒素引起, 全身症状的概要在第 4 章给出。缺乏全身症状的 CM 常可用 检查乳腺分泌物的方法诊断(Wegmann, 1985; Bertschinger 等, 1990; Persson 等, 1996b)。

免疫

CM 显然对感染的再次发生没有保护作用(Bertschinger 和 Bühlmann, 1990)。Ringarp(1960)报道说, 大母猪比小母猪发病率高, 并且个体母猪的重复感染最高可达 10 次。

临床症状

Ross 等(1975)描述了经证实有 CM 母猪的临床症状, 并证明与前述具有哺乳障碍疾病的母猪的 变化非常相似。由于出现外观健康的亚临床型 CM, 使得对临床指标的解释更加困难(Nachreiner 和 Ginther, 1972; Middleton Williams 等, 1977; Persson 等, 1996b)。

初期症状最常见于产后第 1 天或第 2 天, 第 3 天少见, 然而也可在早至分娩期间见到(Martin 等, 1967)。初期症状主要表现为体温升高、精神倦怠、衰弱无力和对仔猪失去兴趣。被感染母猪喜俯卧。严重者表现晕眩、不愿站立甚至出现昏迷, 采食及饮水减少甚至废绝, 体温轻微升高, 很少超过 42°C。也有报

道过不发热的病例；另一方面，许多正常母猪在分娩当天或其后 2 天，直肠温度可超过 39.7°C(King 等，1972)。被感染母猪的心率和呼吸次数增加，一般而言，临床症状的持续时间不超过 2~3 天。

仔猪行为对泌乳障碍的早期检查很有帮助。营养不良的仔猪外观瘦弱，它们不时地试图吮吸，从一个乳头转移到另一个，轻咬垫料，舔食地面上的尿液。如果母猪给予其接近乳头的机会，吮吸的时间很短，吮吸后仔猪会四处游荡，而不是在同窝仔猪附近休息。

乳腺病变常不可能确切定位，因为皮肤的发红、发热常涉及多个次级乳腺。皮下脂肪及皮下的极度水肿常给对真正乳腺组织状态的可靠的临床评价造成很大的困难。触诊发现乳腺组织坚硬，并且触摸可造成疼痛，皮肤的红色指压变白。只靠临床检查最多只能诊断出部分被感染的次级乳腺(Persson 等，1996b)。腹股沟淋巴结可能肿大。

从乳头中流出的液体可来源于一个以上的次级乳腺，因为每个乳头内有 2 个，或少数情况下 3 个乳头管开口，因此，取自一个乳头的样品中，来源于未受感染的、产量高的次级乳腺的分泌物占主要。来自受感染次级乳腺的渗出物外观呈浆液性到粘液性，类似脓汁，其中可能有纤维素或血液凝块。pH 的诊断价值有限(Ross 等，1981；Persson 等，1996b)，但用细胞学检查方法至少可在分娩后 48 h 内鉴别出健康的或是患乳房炎的乳腺(Wegmann 和 Bertschinger，1984)。因为乳房炎为一局部病理过程，所以样品必须取自单个乳腺，不能混合。每个研究者所总细胞计数的评价价值各不相同。Bertschinger 等(1990)报道认为，每毫升样品中有 5×10^6 个细胞，其中多形核细胞的比例低于 70%。Persson 等(1996a)所做的一项近期的研究结果显示，每毫升样品中有 10×10^6 个细胞。然而，这些作者未对吮吸过的乳腺和未被吮吸过的乳腺做出区分。一些乳腺的退化可始于早至分娩后 1 天(Wegmann 和 Bertschinger，1984)，它可引起总细胞计数的显著升高并伴有多形核细胞比例的暂时性增加(最多可达 60%)。因此，在分娩后 2~7 天乳腺退化和乳房炎的细胞学区分常很困难或不可能(Wegmann，1985)。在不明原因的病例，有必要对分泌物做细菌学检查。持续几天的感染仅限于严重被感染的乳腺(Lpfe，1993)。

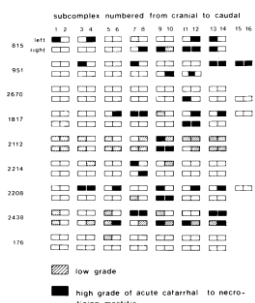


图 38.9 发生 CM 的 9 例田间病例，组织学病变的分布和严

重程度(源自 Middleton Williams 等，1977 发表的结果)

病理变化

尽管 CM 的发生率很高,对尸检结果的报道并不多见(Martin 等,1967; Jones, 1976; Middleton Williams 等, 1977; Ross 等, 1981)。一般而言, 病变局限于乳腺和局部淋巴结, 乳房被感染部分的皮下水肿。为确诊乳房炎, Middleton Williams 等(1977)推荐了一种方法, 沿乳腺的排列方向, 在乳头处纵行切开乳腺。使用该方法, 在 1~23 个次级乳腺中检查到了 规则的散在分布的乳房炎病灶(图 38.9)。受感染乳腺组织的外观变化不一, 从质地轻度增加和颜色变灰到出现界限清晰、红色、坚硬、干燥的斑驳状区域(图 38.10), 分泌物稀薄有时混有凝块。

通过组织学检查可以发现一般检查不能识别的额外病变。每一病例伴有充血 的急性化脓性乳房炎, 病变的严重程度变化很大, 从只在肺腺泡腔中出现少数几 个中性粒细胞到伴有坏 死的严重的脓性浸润(图 38.11)。病变严重程度不一, 不 仅体现在各个次级乳腺之间, 而且体现在同一次级乳腺内部, 可以看到未感染组 织紧靠炎区。腹股沟及髂下淋巴结出现急性 脓性淋巴结炎(Middleton-Williams 等, 1977)。人工乳池内接种后连续作显微病变检查发现 , 在急性病例, 这种被 结缔组织所包裹的大的脓性坏死灶可持续存在整个泌乳期(Löpfe, 1993)。在显微 镜下的病变偏好分布于乳腺内某一特定区域的现象不明显, 衬于乳池的粘膜不受 感染。

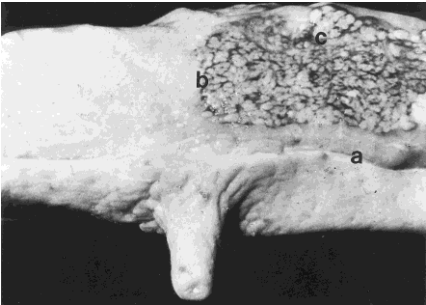


图 38.10 乳腺纵切面上,有急性 CM 症状的邻接正常乳腺组织的次级乳腺

- (a)皮下水肿;
- (b)与周围正常组织界限分明;
- (c)被感染组织的斑驳状外观。

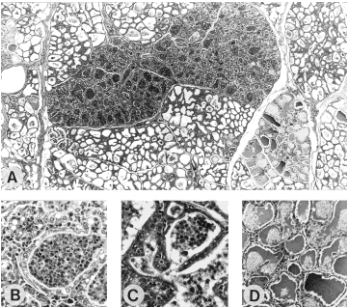


图 38.11 人工接种肺炎克雷伯氏菌培养物 24 h 后,一乳腺的组织学变化。

(A)对单一次级 乳腺的低倍放大, 显示不同类型的乳腺炎与邻近的正常的分泌腺泡。

(B)黑色区域内有 大量的多核白细胞及邻近被破坏的上皮细胞。

(C)只含有少量多形核白细胞, 外观近于 排空的腺泡。

(D)正常分泌的腺泡(Zurich 大学兽医病理学系)

诊断

在泌乳初期出现的任何少乳情况均可疑为 CM。发热、厌食、不愿起立、俯卧、对仔猪失去兴趣等症状的出现可辅助诊断。急性病例的乳腺发红、肿胀、坚硬, 分泌物外观异常。还没有一种可供猪场使用的快速、可靠的检测手段。因为母猪乳汁中富含细胞, 所以并不推荐使用改进的测试方法。细菌学和细胞学检查分泌物的方法只有在对所有乳腺均进行取样或被感染乳腺已知的情况下才可行。有关 CM 的鉴别诊断见第 4 章。

治疗

在母猪出现泌乳障碍的症状前, 一般不采取治疗措施。因而, 治疗至多能起到使仔猪食乳不足期缩短。

化学治疗因为抗生素有效性的不一致而变得复杂化, 这种不一致既体现在猪群体中, 也体现在猪个体中。因此, 药敏试验对单个病例的价值不大。

对抗生素的药动学的关注还很少。土霉素缓释剂, 注射剂量每千克体重 20 mg, 奶中的浓度不超过 2 μ g/ml, 即刚好超过对可疑大肠杆菌的最低抑菌浓度(MIC)(Schoneweis 等, 1982)。恩氟沙星, 一种喹诺酮类抗生素, 口服, 每日 2 次, 给药剂量每千克体重 25 mg, 初乳或乳中的平均浓度可达 1.2 μ g/ml, 是最低抑菌浓度的 20 倍(Oliel 和 Bertschinger, 1990)。Awad-Masalmeh 等(1990)分离自 43 个猪场患 CM 母猪的 107 株大肠杆菌, 发现均对恩氟沙星无抗性(表 38.6)。治疗试验的效果难于评价, 因为治疗效果不能定量, 而且经常与自发性好转难于区分。可供选择的支持疗法见第 4 章。

应对仔猪给予很大的关注, 或由其它母猪哺育或仍留下来食用乳汁代替品。可用浓缩的甜奶和水以 1:1 混合给猪食用, 而不用市售的产品。可用 5%灭菌葡萄糖溶液, 腹腔内注射, 剂量 15 ml, 每间隔几小时一次, 或用更高浓度的葡萄糖溶液经胃内灌服。当仔猪得不到充足的奶时, 防止感冒变得尤为重要。

表 38.6 瑞典和澳大利亚病猪乳腺中分离的大肠杆菌对不同抗生素的敏感性

抗菌素	分离菌对抗生素的敏感百分比		
	瑞士	澳大利亚	
	n = 801	n = 1072	n = 1073
氨苄西林	90	86	74
四环素	19	42	16
氯霉素	95	81	64
链霉素	21	21	21
新霉素	96	92	86
庆大霉素	100	100	100
磺胺甲噁唑	100	84	51
恩氟沙星	NT4	NT	100

1Bertschinger 等, 1977a.

2Wegmann 等, 1986.

3Awad-Masalmeh 等, 1990.

4 未试验

预防

卫生措施

Muirhead(1976)和 Jones(1979)指出, 防止乳头被细菌污染可能是一种预防 CM 的有效方法。B ertschinger 等(1990)对两种类型产仔圈的情况做了比较研究后指出, 乳头上大肠杆菌的数量反映了休息区域内的污染程度, 最佳预防措施是合理设计产仔圈, 以使母猪不躺在其排泄物中为原则; 另一方面, 对产仔圈和新转入的母猪进行清洗和消毒, 预防效果不大, 在 CM 病例增加的情况下, 有必要检查垫料。

母猪的营养

在母猪分娩前不久大幅度降低母猪的日粮配给量是广泛采用的措施。在一设计严谨的对成对 同窝仔的一项长期的研究中发现, 市售饲料的日配给量从 3.2 kg 下降到 1.0 kg, 可使无乳症的发病率从 26.6%下降到 14.4%(Persson 等, 1989)。很多患无乳症的母猪发生了乳房病变, 80%以上的无乳症病猪检查到了大量的细菌。Plonait 等(1986)报道了与之相符合的观察结果。人工诱发 CM, 对采取低和高的日粮配给制的母猪而言, 发病途径相似(H.U.Bertschinger 和 A.Bühlmann, 未发表数据)。由以上结果可以看出, 降低日粮的采食是通过使休息区域内粪尿量的减少而减少了乳头和细菌的接触。

免疫预防

接种疫苗并不一定能够控制乳房炎。诱导特异性免疫很困难, 因为分离自

CM 母猪的细菌抗原类型太多。用某一大肠杆菌素诱发的免疫力，对抵抗用于制备该菌素的同种菌株的乳腺内攻毒保护力很差(R.Ross,Ames,Iowa, 未发表的数据, 1982)。对于牛来说，有相当多的证据可以证明用一种大肠杆菌 R 突变株进行接种，可使 CM 的发生频率急剧减少(Tyler 等, 1993)。接种疫苗新出现传染病的发生频率几乎没有影响，但能降低已知疾病的发生频率。目前，没有这些猪疫苗的功效报导。

激素

一些研究者发现，有哺乳障碍的母猪妊娠期延长。妊娠期限可用前列腺素控制。然而，预防措施的效果不一。没有关于 CM 的研究。

化学预防

目前，在圈舍条件不能改进的情况下，化学预防是最有前途的一种控制方法。挑选药物时必须考虑该猪场常用药物的抗性(表 38.6)及与该病相关的细菌的多样性。拌料大群投药的方法必须用少量饲料拌药分别投服的方法替代，因为围产期母猪的采食量变化很大。尽量缩短治疗期可减少抗药性的出现。田间试验中，给药剂量为每 150 kg 体重给 0.4 g 三甲氧苄氨嘧啶，1 g 磺胺二甲基嘧啶，1 g 磺胺噻唑，每日 2 次，可将 MMA 的发病率从 30%减少至 20%。治疗在妊娠 112 天开始，不管分娩时间，治疗时间持续 4 天(Bullwahn, 1978)。肌肉内注射安普霉素(6.25 mg/kg)，间隔时间为 12h，连续 6 次，可降低人工诱发乳房炎的严重程度(Ross 和 Zimmermann, 1982)。

Oliel 和 Bertschinger 等(1990)评价了口服恩氟沙星对人工诱发 CM 的预防作用。每头母猪 3 个乳腺接种大肠杆菌，3 个乳腺接种肺炎克雷伯氏菌；8 头母猪不做治疗(治疗方案I)，8 头母猪用药剂量 2.5 mg/kg 体重(治疗方案II)，8 头母猪用药剂量 5.0 mg/kg 体重(治疗方案III)，每日 2 次。用于接种的细菌从被接种乳腺中的再分离率为：治疗方案I100%，方案II10%，方案III2%。可预期有一个好的奶产量，但不能证明，因为对照组母猪不表现临床症状。

参考文献

尿路感染

J.M. Fairbrother

正常无菌的尿路某部分一旦有细菌的定殖，就会出现尿路感染(UTI)。UTI 是一种可能有也可能没有临床或亚临床症状的疾病。在猪，特异性 UTI 是由猪放线菌引起的（见第 9 章），这与非特异性的 UTI 不同，后是由多种微生物引起的，本章将进行讨论。根据 Liebhold 等(1995)的报道结果可知，这种非特异性的 UTI 为猪放线菌感染铺平了道路。

UTI 是造成 1 岁以上猪只死亡的主要原因 (Häni 等, 1976)。在对被淘汰母猪的一项调查中，发现有 17%的母猪膀胱中有细菌定殖，有 80%显示有膀胱炎的组织学病变(Coman 等, 1988)。

很多人认为菌尿症与繁殖障碍，包括乳腺炎子宫炎无乳综合征(MMA)之间存在着一定的关系。患有 MMA 的母猪与正常生产母猪相比，在妊娠前期，UTI 的流行率更高 (Miquet 等, 1990)。根据 Petersen(1983)，检查怀孕晚期母猪的尿液可预测母猪在随后的分娩时患 MMA 的可能性。但是，Becker 等(1985)报道了有或没有 MMA 的猪群 UTI 的发病率相似。Berner(1988)详细探讨了 UTI 和 MMA 发病机理之间的潜在关系。

病原学

严重的尿道疾病常常与猪放线菌有关。非特异性 UTI 可能是由一种或多种细菌（常包括有大肠杆菌）引起。在对患有急性尿道疾病的母猪的研究中发现，猪放线菌是最常检测到的细菌，多数同时有两种或三种细菌（如大肠杆菌，链球菌，表皮葡萄球菌，克雷伯氏菌，假单孢菌，气单孢菌和类细菌）存在(Stirnimann and Tschudi, 1985)。患有肾盂肾炎的病例多数为混合感染，猪放线菌也是可检测到的一类最普通的细菌(Carr and Walton, 1993)。在尿路上段分离出大量大肠杆菌，多与肾脏创伤有关。

在一研究中，患急性尿路感染疾病的母猪大多数表现为膀胱炎，且常伴有肾盂肾炎，较少的病例可检测到猪放线菌，大肠杆菌是主要的病原，接下来是链球菌和假单胞菌(Stirnimann, 1984)。在另一研究中发现，有一半患有菌尿症但无肾盂肾炎的母猪，感染有肠道菌和链球菌，但未发现放线菌(Liebholol 等, 1995)。Colman 等(1988) 在一屠宰场用抽吸法从母猪膀胱中收集样品，大多数都分离出了多种细菌。也分离到了 *S. aureus*, *S. hyicus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. dysgalactiae* 和不同的革兰氏阳性菌，但感染程度较轻。细菌学检测为阳性者大多数患有膀胱

炎。在此次研究中没有检查出猪放线菌。

泌尿道是一动态的微生物生态系统。随时间推移，猪泌尿道主要细菌的组成比例自动发生了明显变化(Berner, 1990)。当用抗生素治疗时，这种变化的频率加快。

流行病学

非特异的 UTI 就像一种自生的不具有传染性的疾病。在犬，同一只犬的尿和直肠样品中分离的大肠杆菌，在连续性的基因型和表现型试验中表现出一致性(Low 等, 1988)。在猪，缺乏该方面的相关研究。雌性动物与雄性动物相比，其粪便中的细菌更易进入泌尿道。在集约化养殖条件下，母猪的外阴常很容易接触到粪便(Smith, 1983)。犬坐姿势也可协助粪便物质进入阴部。长时间休息的母猪排尿间隔时间延长。然而，就 UTI 问题，还没有对畜舍条件做过相关的研究。

UTI 的患病年龄分布也支持了持续接触粪便污染物的观点。UTI 的流行率从只产过 1~3 窝的年轻母猪的 18%上升到产过 7 窝以上的母猪的 38%(Becker 等, 1985)。

发病机理

在人和犬，主要通过菌毛尤其是 1 型和 P 型菌毛粘附的尿路病原大肠杆菌特别容易在生殖道和泌尿道的下段定殖 (Gyles 和 Fsrbrother, 2004)。同样，在患有菌尿症猪尿道分离出的大肠杆菌中发现 P 型菌毛和甘露糖敏感性红血球凝聚，提示 1 型 pili (de Brito 等, 1999)。据测，大多数病原是顺着尿道上行的(Smith, 1983)。雌性动物的尿道短而宽，妊娠晚期和分娩时括约肌的松弛，性交和分娩对尿道和膀胱的创伤，细菌在泌乳生殖道及生殖器官的不正常的定殖，瓣膜关闭不全，膀胱的导管插入术等因素更加有利于细菌的侵入(Berner, 1988)。对个体猪只的反复检查可以得出如下结论，无症状的菌尿症可暂时性的恶化成膀胱炎(Berner, 1988)。Liebhold 等(1995)推测，非特异性感染可促进猪放线菌在膀胱的定殖。Carr 等(1990)推测，细菌的定殖可引起输尿管瓣膜的收缩和变形，这样就更加有利于尿液的反流。在发生急性肾盂肾炎的病例，后者很容易在死后剖检中得到证实。

在患肾炎的母猪常可检查到抗传染性大肠杆菌的血清抗体，在患膀胱炎的母猪较少检测到，有无症状菌尿症的母猪更少检测到(Wagner, 1990)。尽管尿液

中有着高浓度的抗体，大肠杆菌还是可能在尿道中持续存在。

UTI 可通过一条或多条途径，使母猪更易患 MMA(Berner, 1988)。似乎很可能发生分娩时细菌延生殖道上行入侵和休息区域污染物 污染乳腺的情况。但是，其它途径的可能性也不能排除。在 3 头母猪的生殖道和膀胱中，以及做死后检查的 9 头患 MMA 的母猪中的 1 头，其乳腺和膀胱中，发现相同血清亚型(O, K)的大肠杆菌(Berts chinger 等, 1977)。

临床症状

大多数非特异的 UTI 没有临床症状(Berner, 1988)。Akkermans 和 Pomper(1980)从一段时间的田间研究中得出结论：具有严重菌尿症的母猪趋于产仔数少，再次分娩时间延长，配种率低，身体状况差。在很多患有膀胱炎的母猪，经仔细观察可发现其排尿不正常(Becker 等, 1988)。母猪站立不动，用尽力气才能排出少量的尿液，更常见猪呈犬坐姿势。与大肠杆菌感染相比，感染猪链球菌的母猪更易出现蛋白尿，尿液 pH 值升高(Liebhol 等, 1995)。

阴道排出物呈干痂状，粘在外阴周围、尾下部，更见于母猪身下的地面上(Dial 和 McLachlan, 1988a)。排出物呈粘液性、粘液血性、脓性，最常见于排尿后期。然而，这种排出物亦可由尿生殖道某一部分的炎症引起。严重的排出是子宫内膜炎的结果而非 UTI 引起。

有 40%的病例，在产后前 2 周，严重的肾盂肾炎的临床症状开始表现出来(Stirnemann, 1984)。典型的病例表现直肠温度低于 38℃，心率超过 120 次，呼吸迫促，发绀，共济失调，全身震颤症状少见(Stirnemann 和 Tschudi, 1985)，血液中尿素和肌醇的浓度高于正常。

病理变化

Berner(1981)检查了 118 头淘汰母猪的细菌感染和病变情况，29 头患 UTI 的母猪中有 26 头表现膀胱炎症状，其中有 12 头同时还伴有肾盂肾炎。

膀胱炎的大体病变为粘膜的局灶性或弥散性充血(Dial 和 Maclachlan, 1988b)。随后，感染区域会出现伴有纤维脓性渗出物的粘膜溃疡。膀胱壁变厚。如果感染沿尿路上行，在生殖道和肾盂会出现相同的病变。在肾盂肾炎，炎症病变可延及到肾实质。楔形的病灶从扭曲的肾盂延伸至皮质，随发病时间的延长可发生肾脏的纤维化。

即便在患有非特异 UTI 且无蛋白尿的母猪，都可发生膀胱的显微病变。病变包括杯状细胞明显增生，上皮细胞内含有少量吞噬颗粒，上皮细胞层中有中性粒细胞浸润，在固有层中以单核细胞为主(Liebhold 等，1995)。

诊断

只靠临床检查对诊断 UTI 价值不大(Stirnemann, 1984)， 大多数病例必须对其尿液进行检查。阴道和尿道远端正常菌群的定殖给细菌学检查带来困难。因此，污染及感染的区别就在于尿液中细菌的数量。细菌计数为 105 集落形成单位(CFU)/ml，可以肯定发生了感染，而 104CFU/ml 只能疑为感染。浸片法(即市售的涂有细菌培养基的载玻片)可给予令人满意的定量计数结果(Akkermans 和 Pomper, 1980)。然而，此方法具有漏检厌氧菌如猪放线菌和生长缓慢的细菌的缺点。

给母猪导尿可行(Stirnemann, 1984)，但并不能避免污染还有可能造成新 UTI 的问题。欲诱导母猪排尿，可于清晨饲喂前刺激母猪(Becker 等，1985)。当试图收集中途排出的尿液时，取样者应尽量避免碰到尿液，因其中可能含有一些传染性病原体，如钩端螺旋体。

除了亚硝酸盐的诊断外，人工取尿的诊断试验是可行的。由于猪尿液中亚硝酸盐的浓度过低，导致亚硝酸盐的检测敏感性很小(Becker 等，1985)。最有用的参数是尿液中的蛋白质、血红蛋白和 pH 值。在有猪放线菌的病例，尿液呈强碱性(大于 8.5)(Carr 等，1995)。细胞学检查可对菌尿症、膀胱炎和肾盂肾炎做出鉴别。尿液中抗体的出现及其浓度与疾病的严重程度之间关联不大(Wagner，1990)。此试验可快速确诊尿血(Liebhold 等，1995)。浓度大于 10mmol/L 说明发生了尿毒症。

治疗

几乎文献上推荐的所有治疗方案都是着眼于用抗生素杀灭细菌。由于涉及易感性不同的众多细菌和 R 因子的经常出现给治疗造成了很大的困难(表 38.7)。关于传染性微生物种类或抗生素治疗的方案的变化，Berner(1990)推荐，使用广谱抗生素或联合用药，并建议加强寻找替代方法的研究。

表 38.7 从比利时和瑞士猪场患 UTI 的猪分离的主要微生物所做的药敏试验

敏感性百分比(%)	
比利时 1	瑞士 1

	革兰氏阴性	革兰氏阳性	大肠杆菌
抗菌素	n = 62	n = 18	n = 21
青霉素 G	NT ³	44	NT
青霉素酶 e-稳定的青霉素类	NT	72	NT
氨苄西林	68	44	71
阿莫西林/克拉维酸	100	72	NT
链霉素	40	44	NT
新霉素	98	61	86
壮观霉素	85	72	NT
庆大霉素	100	61	100
四环素	47	61	33
氯霉素	82	83	67
呋喃妥因（坦啉）	95	94	14
氨苯磺胺	37	50	52
甲氧苄啶	76	61	NT
增效氨苯磺胺	NT	NT	76
大环内酯	NT	61	NT
林可霉素	NT	72	NT

1Colman 等，1988

2Stirnemann, 1988

3 未试验

Becker 等(1988)通过饲料投药，每头母猪的给药剂量为磺胺二甲基嘧啶 1.0 g，磺胺噻唑 1.0 g 和 0.4 g 土霉素，每日 2 次，对 9 头母猪进行治疗。治疗 1 周后有 2 头母猪出现明显的菌尿症，8 周后又有 3 头出现该症状。相同的药物疗程为 4 天，效果大为降低。用庆大霉素第 1 天按 2.5 mg/kg 体重给 15 头母猪肌肉注射，后 3 天注射剂量为 2.0 mg/kg 体重。治疗 1 周后，10 头母猪不再出现菌尿症。作者得出结论，延长治疗时间效果好。抗药性的问题未做检查。

Stirnemann(1988)报道了对严重感染母猪的治疗情况。每组各 34 头母猪，将注射氨苄青霉素(3g/头·日，连续 4 天)与相同抗生素和安乃近联合应用(10g/头)的情况进行比较，结果发现，联合用药后，需要急宰的动物数目较少，半数成功治疗的母猪仍持续存在亚临床型 UTI。

Dia 和 MacLachlan(1988b)声称对猪尿生殖道感染的治疗效果通常不能令人满意。

预防

目前，还没有长期研究的结果。Berner(1988)推荐将所有的怀孕母猪定期检查 UTI，并用抗生素在分娩之前不久对阳性母猪进行治疗。Smith(1983)指出应对难控制的猪场中所有处于干奶期的母猪进行治疗，每个疗程 7~10 天，每隔 6 周

一次。经验表明，治疗间隔时间可逐步拉长。抗生素如四环素或一种合适的青霉素已成功地被应用于拌料投服。鉴于 Berner(1990)所报道的结果不能令人满意，对于这些建议的采纳应谨慎进行。

根据 Wagner(1990)报道的结果，免疫预防的前景不容乐观。这样，Smith(1983)和 Carr 等(1995)推荐，根本措施是通过改善粪便排水装置和畜舍条件以减少母猪接触环境中的细菌。以上这些因素和饮水的作用应做进一步研究。当水的摄入量增加以及母猪能到运动场活动的情况下，母猪的排尿量增加，而饮水的增加是由于饲料中含有 1% 的盐造成的(Smith, 1983)。

(范运峰 译 孙斌 校)