 DOI: https://doi.org/10.12349/rwae.v7i2.10847

Pathogen Typing and Antimicrobial Resistance Analysis of Swine Clostridium Perfringens Enteritis

Jinlu Li[1] Wei Zhang[2] Feng Hou[2] Pengfei Liu[1] Lanling Cheng[1*]

1. Xinjiang Agricultural Vocational and Technical University, College of Animal Science and Technology, Changji, Xinjiang, 831100, China
2. Xinjiang Tiankang Biopharmaceutical Co., Ltd., Urumqi, Xinjiang, 830000, China

Abstract

Swine Clostridium welchii enteritis is an intestinal infectious disease caused by Clostridium welchii infection, which a serious food safety risk in the pig farming industry and causes huge economic losses. This article mainly focuses on the prevention and control program of swine Clostridium welchi enteritis and future research directions, and elaborates in detail on the classification technology, drug resistance detection and new prevention and control technology, so as to provide scientific references for better prevention control of the disease.

Keywords

pig; clostridium welchii; clostridium welchii enteritis; clostridium perfring; enterotoxemia

猪魏氏梭菌性肠炎的病原分型与耐药性分析

李金璐[1] 张伟[2] 候凤[2] 刘棚菲[1] 程兰玲[1*]

1. 新疆农业职业技术大学动物科技学院，中国 · 新疆 昌吉 831100
2. 新疆天康生物制药有限公司，中国 · 新疆 乌鲁木齐 830000

摘　要

猪魏氏梭菌肠炎是由魏氏梭菌感染引起的肠道传染病，在养猪业中存在严重的食品安全风险并且会造成巨大的经济损失。本文主要从猪魏氏梭菌肠炎的防控方案与未来研究方向出发，分别就分型技术、耐药性检测与新型防控技术进行详细阐述，为能更好地预防与控制疾病的发生提供科学参考。

关键词

猪；魏氏梭菌；魏氏梭菌性肠炎；产气荚膜梭菌；肠毒血症

1 引言

猪魏氏梭菌性肠炎是由 C 型产气荚膜梭菌引发的一种高致死性急性肠道传染病，是危害全球养猪业的重要疫病之一[1]。此病多发于 1-3 日龄仔猪，发病快、病程短、病死率高。猪流行性腹泻病毒和 A 型产气荚膜梭菌共感染会使疾病更加严重[2]。猪魏氏梭菌芽孢对高温、干燥和常用消毒剂存在耐受，在土壤、饲料、猪舍可长期存在[3]。魏氏梭菌是人畜共患致病菌，耐药性强的菌株可通过食物链传染给人，要监测耐药性预防交叉感染，切实保证食品安全，减轻公共卫生压力。

【课题项目】高层次人才创新项目（项目编号：XJNZYBS 202408）；乌昌石国家自主创新示范区科技发展计划项目（项目编号：2022LQ03022）；新疆维吾尔自治区“天山英才”培养计划青年科技拔尖人才项目（项目编号：2022TSYCJC0018）。

【作者简介】李金璐（2006–），女，中国河南新乡人，在读本科声，从事动物疫病防控研究。

【通讯作者】程兰玲（1981–），女，中国河南淮滨人，博士，副研究员，从事动物疫病防控与病原分子生物学研究。

2 猪魏氏梭菌性肠炎概述

2.1 疾病特征

临床症状为腹泻，排黄色或灰白或血样粪便，呈水样或糊样，脱水、消瘦乏力，食少，生长受阻，死亡前没有任何前驱症状等[4]。

2.2 病理变化

常见有小肠黏膜充血、出血，严重时可见溃疡，肠道内充满气体和液体，部分有血液，肠壁变得脆弱且透明。显微镜下可见小肠绒毛缩短或消失，上皮细胞损伤，肠黏膜可见大量的中性粒细胞、淋巴细胞浸润等[5]。

2.3 魏氏梭菌的生物学特性

2.3.1 分类

根据其产生的毒素可分为 A、B、C、D、E 五种血清型。A 型菌最广泛，会使人产生气性坏疽、猪猝死症、牛肠道感染 [6]，B 型会引起羊肠毒血症，C 型会引起仔猪红痢，D 型菌多发于反刍动物；E 型菌极为少见。

2.3.2 形态和生长特性

革兰氏阳性粗大杆菌，两端钝圆，单在或成双排列，菌落直径 2~5 毫米，有荚膜，无鞭毛，不具运动性。菌落形态：圆形、隆起、光滑，表面可见辐射状“勋章样”条纹。生长特性：专性厌氧菌，生长适宜温度为 37-47℃，高温快速培养法，可对本菌进行选择分离 [7]。

3 病原分型方法

3.1 分子分型技术

3.1.1 PCR 技术

聚合酶链式反应用于对目的 DNA 片段的靶基因进行扩增，检测目的基因，特异性强，适合临床样品快速分型 [8]。

3.1.2 16S rRNA 基因测序

扩增测序，可确定不同类型魏氏梭菌及与其它微生物的关系，以区分魏氏梭菌和其他梭菌，可提高诊断混合感染的准确性，但难以分辨出各个近缘种间的差异，需通过毒素基因来检测分析进行区分 [9]。

3.1.3 全基因组测序（WGS）

对整个基因组进行测序，提供高分辨率的分子分型，包括毒力基因、耐药基因、进化关系分析，能提供最全面的遗传信息，适用于疫苗研发与耐药机制研究 [10]。

3.1.4 脉冲场凝胶电泳（PFGE）

高水平的分子分型技术。先利用限制性内切酶消化基因组 DNA，再用脉冲电场作用于凝胶使不同长度片段的 DNA 具有不同的泳动速度，从而获得酶切后的大片断 DNA 的独特指纹图谱 [11]。能分辨亲缘关系较近的菌株，适合大规模的研究工作。

3.1.5 多位点序列分型 (MLST)

利用几个管家基因的核苷酸序列的差异来鉴定菌株，给出序列型 (ST) 作为唯一编号 [12]。其标准化程度高、方法统一，方便数据共享，可做长期监控和大范围数据分析。

3.2 血清分型方法

3.2.1 凝集试验（Agglutination Test）

细菌抗原和特异性抗体结合发生反应，抗毒素血清能与魏氏梭菌毒素结合，有肉眼可见的颗粒状凝集物；常用有玻片凝集法和试管凝集法，采用的是标准毒素型特异性抗血清，一般需 3~5 天，用量较大 [13]，但这种方法敏感性不高，易受到其他抗原干扰。

3.2.2 酶联免疫吸附试验（ELISA）

通过固相化的毒素特异性抗体捕获样本中的毒素，结合酶标记的二抗显色，定量或定性分析毒素类型 [14]。高通量、快速，无需活菌培养，适合基层养殖场筛查，但交叉反应、制备流程标准化要求高。

3.2.3 其他血清学技术

免疫荧光法（IFA）、毒素中和 -ELISA 联用等。

4 耐药性分析

4.1 耐药性检测方法

4.1.1 纸片扩散法（Disk Diffusion Method）

将含有一定浓度抗生素的滤纸片放在接种细菌的凝胶板上，药物扩散形成浓度梯度，菌株的敏感性由抑制圈的直径决定 [15]。操作简单、价格低，适合基层实验室的批量检测，但无法直接获得 MIC 值，对厌氧环境要求高。

4.1.2 最小抑菌浓度（MIC）测定

肉汤微量稀释法是将菌液与抗生素在 96 孔板中孵育，直接测定抑菌圈大小来判断抑制细菌生长的最低药物浓度 [16]。

4.2 常用抗生素耐药性模式

青霉素耐药性在猪源菌株中高达 66.67% 以上，耐药机制是由于 β - 内酰胺酶基因的传播引起 [17]。四环素耐药性在猪源菌株中耐药率达 80%，耐药基因 tetM、tetO 水平转移为主导原因，在高密度饲养环境更易转移，不同的链球菌均有耐药性，在这几种药物中最易发生耐药。

4.3 耐药性流行趋势

普遍使用抗生素的地方耐药率高于使用抗生素较严格的地方。魏氏梭菌对四环素类、大环内酯类的耐药率随着使用时间而递增，但对氯霉素、喹诺酮类等其他类型的耐药性则较为平稳。动物源性的魏氏梭菌对于四环素类、大环内酯类的耐药率一般要高于人类来源的魏氏梭菌。越南有分离株对四环素和克林霉素的耐药率最高，对亚胺培南和头孢呋辛的耐药率最低 [18]。

5 耐药机制与防控

5.1 魏氏梭菌耐药性的分子机制

5.1.1 耐药基因类型

四环素类耐药基因 tetM 和 tetO，与核糖体结合后阻断了四环素作用；大环内酯类耐药基因 ermB，修饰核糖体靶点使得大环内酯类不能与其结合；磺胺类耐药基因 sul1/sul2，抑制了磺胺类对叶酸合成的干扰作用；β - 内酰胺类耐药基因 blaZ，能够水解青霉素类抗生素的 β - 内酰胺环。

5.1.2 耐药基因的获得

可通过水平基因转移 [19]（拼接、转化和转导）和内源性基因突变（自身基因突变获得抗性，有靶点基因突变、药物外排泵相关基因的突变引入细菌）。

5.1.3 耐药基因的转移

tet(M) 可通过质粒、整合子、转座子等多种载体转移。质粒是可接合的移动遗传元件，可介导不同菌株间的耐药基因共轭转移，常见有 tet(M) 和 tet(W) 的四环素耐药基因及

erm(B) 等大环内酯类抗生素耐药基因；整合子具备捕获重组功能，I 型整合子常含 bla(β 内酰胺酶基因) 等耐药基因，II 型则是喹诺酮类耐药基因的携带者 [20]；转座子可在基因组内自我复制转移。

5.1.4 耐药基因的表达

受多种调控机制影响 [21]。主要表达方式有：转录调控，由特定启动子和调节因子控制。效应机制，耐药基因表达后，通过靶点修饰、药物外排和酶解失活可赋予细菌耐药性。

5.2 耐药性防控策略

5.2.1 精准用药

选敏感药物，高耐药药物应避免使用 [22]; 每季度更换不同作用机制的抗生素，推迟耐药发生；加强监督，减少抗生素滥用。

5.2.2 建立耐药性监测体系

AI 预警系统，将气象数据、抗生素使用情况、病例报告纳入其中，运用 LSTM 神经网络模型判断疫情爆发的风险 [23]。

5.2.3 环境污染治理

强化废水处理、减少农业抗生素残留，防范耐药菌株与基因入环境。使用 0.5% 过氧乙酸每周对牲畜进行两次消毒，可减少芽孢 80% 以上 [24]。对粪便进行无害化处理，堆肥发酵（60℃，7 天）以杀灭芽孢并阻断粪 - 口传播链。

5.2.4 免疫预防强化

疫苗免疫，通过加强免疫、精准用药可有效提升了育成率。母猪产前 4 周接种 C 型氢氧化铝菌苗，仔猪通过初乳获得被动免疫，保护率≥ 75%[25]。

6 研究价值

6.1 制定精准防控策略

6.1.1 病原分型指导疫苗设计

C 型菌株的 β 毒和 A 型菌株 α 毒是主要的致病因子，可通过分型方法确定区域内优势菌株的毒素类型，并据此制备多价疫苗 [26]。

6.1.2 耐药性监测优化用药方案

研究发现，猪源 C 型菌株中存在四环素、磺胺类高耐药 (＞ 80%)，磷霉素、阿奇霉素低耐药 (＜ 5%) 的现象 [27]，可借助药物敏感性试验确定有效治疗方案延缓耐药菌的出现与扩散。

6.2 改进养殖的管理模式

6.2.1 环境与生物安全控制

用 0.2%~0.5% 过氧乙酸带猪消毒能杀灭大部分芽孢。进行粪便无害化处理，切断传染源，降低疫情复发风险，减少环境污染。健康猪粪便中分离出的枯草芽孢杆菌 G2B9-Q，经筛选后发现具有抗产气荚膜梭菌活性 [28]，可运用生物安全方法防控。

6.2.2 应激因素管理

高密度的养殖、温湿度的突变等都可以诱发疾病。优化通风条件、控制饲养密度通过改善动物生活环境来降低发病率和减少条件性致病菌爆发。

6.3 促进突破新型疗法与耐药机制

目前研究调节肠道菌群以及抑制毒素基因的表达发现能够达到 75% 以上的治愈率。噬菌体联用抗生素破坏生物膜，减少毒素释放，降低对抗生素的依赖，能解决多重耐药问题 [29]。

7 结语

研究猪魏氏梭菌肠炎对于增加养猪经济收益、保证动物健康及食品的安全极其重要。猪魏氏梭菌肠炎、产气荚膜梭菌 C/D 型外毒素、环境等之间存在协同的致病效应。检测毒力因子并研发疫苗、通过酸化剂等抗性物质对猪早期间接补给应用等可减缓疾病暴发的急性期发展。目前的防控仍存在着很多问题：如疫苗的保护效力低下，耐药性的压力等。未来要聚焦于黏膜免疫调控机理、微生态动态监测技术等，从多维度构建防控体系，抑制其传播链条。

参考文献

[1] Stuart Johnson, Andrew M Skinner, Calob Lostutter et al. Enteritis necroticans and Clostridium perfringens type C; Epidemiological and pathological findings over the past 20 years[J]. PLoS Negl Trop Dis. 2025, 19(2): e0012836. doi: 10.1371/journal. pntd.0012836. eCollection 2025 Feb.

[2] Duri Lee, Guehwan Jang, Kyeng-Cheol Min, et al.Coinfection with porcine epidemic diarrhea virus and Clostridium perfringens type A enhances disease severity in weaned pigs[J]. Arch Virol. 2023, 168(6):166. doi: 10.1007/s00705-023-05798-3.

[3] 刘燕泽,张新宇,苏红萍,等.苦豆子提取物对产气荚膜梭菌的体外抑制研究[J/OL].饲料工业,1-7[2025-06-15].

[4] 刘煜铭.猪梭菌性肠炎的防治[J].今日养猪业, 2023, (05):64-66.

[5] 黎裕培,黎益图.猪梭菌性肠炎的综合防控措施[J].山东畜牧兽医,2024,45(09):52-53+56.

[6] 王帅帅,刘玉梅,李双军,等.一株兔源A型产气荚膜梭菌的分离鉴定及其生物学特性和药物敏感性[J/OL].湖南农业大学学报(自然科学版),1-8[2025-06-15].

[7] Sara Heidarpanah, Kevin Li, Alexandre Thibodeau, et al. Genomic Diversity and Virulence Factors of Clostridium perfringens Isolated from Healthy and Necrotic Enteritis-Affected Broiler Chicken Farms in Quebec Province[J].Microorganisms. 2024, 12(12):2624. doi: 10.3390/microorganisms12122624.

[8] Wenqing Wu， Lei Wang,Rui Xie, etal. Development and application of a triplex real-time PCR method for the detection of Lawsonia intracellularis, Brachyspira hyodysenteriae, and Clostridium perfringens[J]. Microbiol Spectr.2025,3;13(6):e03237 24. doi:10.1128/spectrum.03237-24. Epub 2025 May 14.

[9] 赖建彬,彭诗,刘娟,等.头功铁药散对A型魏氏梭菌 α 毒素的mRNA表达及损伤小鼠免疫功能的影响[J].西南大学学报(自然

科学版),2015,37(03):65-70.

[10] 朱莉仙,艾尔青萨仁高娃,聂慧,等.产气荚膜梭菌对哺乳动物的致病性及其检测方法[J].畜牧兽医科技信息,2024,(12):57-59.

[11] 刘倩倩.陕西部分地区牛屠宰场产气荚膜梭菌污染情况及遗传多样性分析[D].西北农林科技大学,2019.DOI:10.27409/d.cnki.gxbnu.2019.000543.

[12] 吴丹.牦牛源产气荚膜梭菌流行病学及Qinghai-1菌株生物学特性研究[D].西藏农牧学院, 2023.DOI:10.27979/d.cnki.gadce.2023.000009.

[13] 姜轩,刘梦月,付超,等.天津地区规模化生猪场产肠毒素大肠杆菌的分离鉴定[J].天津农学院学报, 2018,25(03):52-56.DOI:10.19640/j.cnki.jtau.2018.03.011.

[14] 刘绍峰.猪梭菌性肠炎的诊断和防治要点分析[J].畜牧兽医科技信息, 2025,(03):211-213.

[15] 秦桢富,尹杨燕,谭文宝,等.一例牛魏氏梭菌病的临床诊断与防控[J].广西畜牧兽医, 2023,39(05):219-220.

[16] 陈瑞亮.板蓝根生物碱的体外抗菌抗病毒作用研究[D].河南农业大学,2010.

[17] 吴璆,巴其其格.羊腹泻的治疗措施[J].北方牧业, 2024,(24):35.

[18] 辛禾妍,刘彩英,尚远昊,等.牛源产气荚膜梭菌分离鉴定和耐药性分析[J].动物医学进展,2025,46(04):35-39.

[19] 孙婕妤,朱雨豪,石智诚,等.大肠杆菌K4无抗生素表达系统的构建与果糖软骨素合成途径优化[J/OL].食品与发酵工业,1-19[2025-06-15]. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.042436.

[20] 胡小婕,秦超,高彦征.有机污染物对抗生素抗性基因水平转移的影响及机制[J].科学通报,2022,67(35):4224-4235.

[21] 邓益琴.水产动物弧菌病及其生物防治研究进展[J].大连海洋大学学报,2023,38(04):553-563.

[22] 宋庆华.仔猪大肠杆菌腹泻病诊断及不同病型的治疗方法[J].特种经济动植物,2022,25(08):68-70.

[23] 杨家岭,王愿愿,庞梅,等.合肥市县级综合医院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌临床分布特点及耐药性分析[J/OL].安徽医学,1-7[2025-06-15]. http://portal.sclib.cn/interlibSSO/goto/11/+jmr9bmjh9mds/kcms/detail/34.1077.r.20250611.2149.026.html.

[24] 李亚波,张容萍,付航,等.1例山羊魏氏梭菌病的调查与诊断[J].养殖与饲料,2025,24(05):53-57.

[25] 陈昌海,李向东.仔猪梭菌性肠炎的病因及防治方法[J].农家致富,2023,(21):37-38.

[26] 徐文德,邓兵.仔猪传染性腹泻病的类型、临床症状及综合防控[J].畜禽业,2023,34(10):83-86.

[27] 黄会文,胡志刚,佘振华,等.一例野生水鹿的救助过程与死亡原因分析[J].湖南畜牧兽医,2024,(04):34-36.

[28] Zhiqiang Xu, Xin Feng, Zhanyun Song, et al. Cell-Free Supernatant of Bacillus subtilis G2B9-Q Improves Intestinal Health and Modulates Immune Response to Promote Mouse Recovery in Clostridium perfringens Infection[J]. Curr Microbiol. 2024,81(8):243.doi: 10.1007/s00284-024-03669-x.

[29] 赵伟.猪大肠杆菌性腹泻的预防与治疗[J].中国动物保健,2023,25(11):15-16.