

乳源致病性 无乳链球菌表面蛋白研究

主 编◇布日额

副主编◇吴金花 彭永刚 锡林高娃

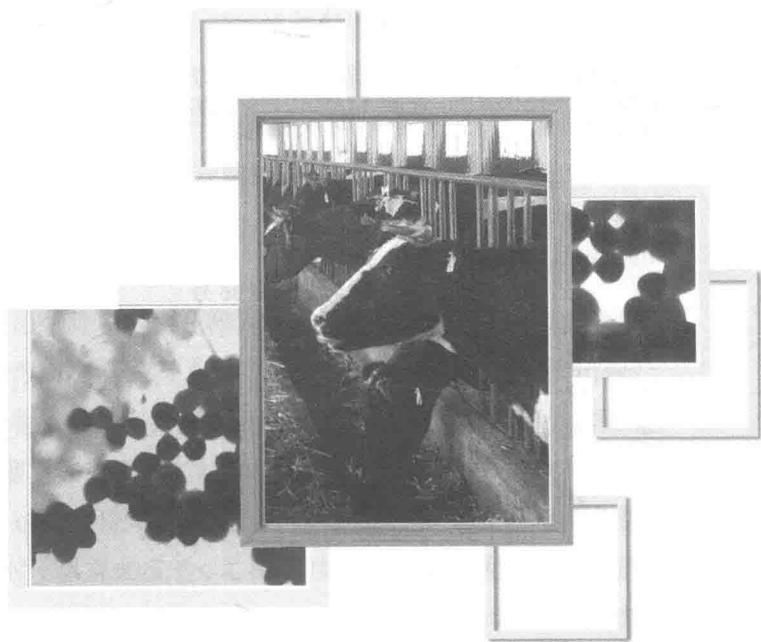


黑龙江大学出版社
HEILONGJIANG UNIVERSITY PRESS

乳源致病性 无乳链球菌表面蛋白研究

主 编◇布日额

副主编◇吴金花 彭永刚 锡林高娃



图书在版编目 (CIP) 数据

乳源致病性无乳链球菌表面蛋白研究 / 布日额主编

— 哈尔滨 : 黑龙江大学出版社, 2016.12

ISBN 978-7-5686-0078-1

I. ①乳… II. ①布… III. ①无乳链球菌—表面—蛋白
质—研究 IV. ①Q939.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 011686 号

乳源致病性无乳链球菌表面蛋白研究

RUYUAN ZHIBINGXING WURU LIANQIUJUN BIAOMIAN DANBAI YANJIU

布日额 主编

责任编辑 于 丹

出版发行 黑龙江大学出版社

地 址 哈尔滨市南岗区学府三道街 36 号

印 刷 哈尔滨市石桥印务有限公司

开 本 720×1000 1/16

印 张 15.25

字 数 212 千

版 次 2016 年 12 月第 1 版

印 次 2016 年 12 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5686-0078-1

定 价 45.00 元

本书如有印装错误请与本社联系更换。

版权所有 侵权必究

前 言

人类进入 21 世纪后,乳源安全的重要性日益凸显。人类肠道微生物菌群的形成是从婴儿饮入开始的,人类肠道微生物菌群及其宏基因组研究成为目前和未来解决人类很多健康问题的新方向,因此,研究人类消费最多的牛乳的乳源安全问题对于人类自身的健康、繁衍均具有特殊的意义。国以民为本,民以食为天,食以乳为先。乳是哺乳动物在漫长的遗传进化基础上形成的哺育新生生命需要的,由乳腺分泌的高级天然营养物质。据考古记载,人类早在 6 000 年前的石器时期就开始饮用牛乳了,这与在《旧约圣经》中赞美肥沃土壤时“流淌着乳和蜜的土地”的描述相一致。我国的相关文字记载是在西汉时开始的,如我国唐代孙思邈认为“牛乳,老人煮食有益”,可见我国至少在唐朝时期于中原地区就开始喝牛乳了,蒙古族等少数民族至少在 5 000 年前就已开始饮用牛乳了。牛乳在人类千百年来的繁衍生息、自身发展中发挥了重要作用。但是到了 21 世纪初,牛乳安全问题屡屡出现,其中包括由化学物质(如三聚氰胺)污染导致的危害,也有微生物毒素(金黄色葡萄球菌耐热肠毒素、黄曲霉毒素等)造成的中毒,也有由抗生素残留导致的过敏反应等种种危害。随着人类食品安全意识的提高,广大消费者对于乳品的安全,尤其是对婴儿奶粉的安全和其他乳品中化学物质掺加等极为关注,从而导致国内乳品遭到冷落,而国外进口乳品深受青睐的尴尬局面。在其背后有一重要的乳品危害没有得到消费者的广泛关注,那就是牛乳中广泛存在的致病菌非毒素性的

危害(如直接感染)及免疫性疾病的发生(如无乳链球菌的部分抗原引起人类过敏性肾炎、红斑狼疮等)。牛乳中残留致病微生物最主要的来源就是“乳腺炎乳”,而这种牛乳在世界各个国家广泛存在,是世界乳业健康发展的最大障碍之一。牛乳腺炎是奶牛三大疫病之一,目前全世界对于牛乳腺炎也没有一种十分有效的控制措施,主要原因是其病原微生物种类繁多(保守估计有 80 种以上,且多数属于人畜共感染性致病菌),病原微生物的致病性和抗原性具有明显的地域及生态特异性,因此在某一地区有效的防控措施(如传统疫苗免疫)很难向其他地区推广使用,从而出现对于牛乳腺炎采用五花八门的抗生素随意投服治疗的乱象,其后果是多种耐药菌株甚至“超级细菌”的出现。如果这种状况再延续下去,那么就意味着人类由乳腺炎乳的传递造成感染后将面临“无药可治”的局面,这也是人类极不愿意面对的现实。

据于上述严峻的潜在危害,本研究团队基于内蒙古自治区乳源性致病菌防控工程技术研究中心这一平台,自 2007 年开始,围绕牛乳安全,针对无乳链球菌等主要的乳源性致病菌进行了系统研究,获得了较好的成果积累,并将研究的主要成果以专著《乳源致病性无乳链球菌表面蛋白研究》的形式奉献给广大读者。如果有人问本书“新”在哪里,我们的回答是:本书的创新之处在于突破了传统的定式思维和研究方式,以生物信息学、分子生物学、基因工程、分子微生物学及分子免疫学的方法和技术为研究手段,对内蒙古东部地区主要存在的乳源性致病菌进行了分子层面的系统剖析研究,主要着眼于致病菌表面具有致病性和抗原性的亚单位蛋白进行了基因克隆、序列分析、体外表达、致病性和抗原性鉴定与分析,鉴定获得亚单位蛋白的抗原性和功能,最终建立了相应的免疫及抗体检测技术和新型免疫制剂,丰富了牛乳腺炎有效防控的科学理论,同时也提供了相应的技术支撑。

全书共包括七章内容,共 21.2 万字。第一章是对无乳链球菌性乳腺炎的总体介绍(1.6 万字),第二章介绍了牛乳腺炎无乳链球菌临床分离株 *FbsA* 基因的克隆与序列分析(1 万字),第三章介绍了牛乳腺炎无乳链球菌菌毛辅助蛋白 API 的研究(5 万字),第四章介绍了牛

乳腺炎无乳链球菌菌毛辅助蛋白 AP2 的研究(4.8 万字),第五章介绍了牛乳腺炎无乳链球菌表面蛋白 SIP 的研究(3.9 万字),第六章介绍了牛乳腺炎无乳链球菌表面蛋白 PGK 的研究(3.9 万字),第七章介绍了牛乳腺炎无乳链球菌表面蛋白 SIP 及 PGK 对奶牛的免疫保护试验(1 万字)。其中,布日额撰写了 5.9 万字,吴金花撰写了 5.1 万字,彭永刚撰写了 5.1 万字,锡林高娃撰写了 5.1 万字。

本书的撰写和出版得到了国家自然科学基金项目《牛乳腺炎 I a 型无乳链球菌菌毛岛屿 PI-2a 多亚基不同组合融合蛋白抗原性研究》(批准号:31560689)、内蒙古自治区乳源性致病菌防控工程技术研究中心开放课题《牛乳腺炎无乳链球菌基因型分析及菌库建设》(批准号:MDK2016036)的资助。在该书的研究和撰写中,内蒙古民族大学硕士研究生郎景民、张海宝、刘洋、白文丽、于辰龙、杜长智做了大量的工作,在此一并深表谢意。

本书的撰写与出版意在为我国的乳品安全工作者和乳源性致病菌研究人员提供新颖的研究理论、技术和方法,以期为我国的乳品安全、民生健康保障做出应有的奉献。由于水平有限,不妥之处在所难免,敬请广大读者批评指正。

主编:布日额
2016 年 9 月

目 录

第一章 无乳链球菌性乳腺炎研究	1
1.1 牛乳腺炎的病原学	1
1.2 无乳链球菌性乳腺炎的发病因素	3
1.3 无乳链球菌性乳腺炎的症状和危害	5
1.4 无乳链球菌性乳腺炎的诊断	6
1.5 无乳链球菌性乳腺炎的治疗	7
1.6 无乳链球菌性乳腺炎的防治	9
参考文献	13
第二章 牛乳腺炎无乳链球菌临床分离株 <i>FbsA</i> 基因的克隆与序列分析	18
2.1 试验材料	18
2.2 试验方法	19
2.3 试验结果	20
2.4 讨论	23
参考文献	24
第三章 牛乳腺炎无乳链球菌菌毛辅助蛋白 <i>API</i> 的研究	26
3.1 试验材料	28
3.2 试验方法	29
3.3 试验结果	50
3.4 讨论	76

3.5 结论	81
参考文献	82
第四章 牛乳腺炎无乳链球菌菌毛辅助蛋白 AP2 的研究	84
4.1 试验材料	84
4.2 试验方法	85
4.3 试验结果	105
4.4 讨论	127
4.5 结论	129
参考文献	129
第五章 牛乳腺炎无乳链球菌表面蛋白 SIP 的研究	139
5.1 试验材料	139
5.2 试验方法	140
5.3 试验结果	155
5.4 讨论	177
5.5 结论	180
参考文献	181
第六章 牛乳腺炎无乳链球菌表面蛋白 PGK 的研究	183
6.1 试验材料	184
6.2 试验方法	185
6.3 试验结果	203
6.4 讨论	221
6.5 结论	223
参考文献	223
第七章 牛乳源性无乳链球菌表面蛋白 SIP 及 PGK	
对奶牛的免疫保护试验	227
7.1 试验材料	227

7.2 试验方法	228
7.3 试验结果	230
7.4 讨论	231
参考文献	232

第一章 无乳链球菌性乳腺炎研究

1.1 牛乳腺炎的病原学

牛乳腺炎是一种多因素性疾病,病因比较复杂,易爆发病情,不易治愈,从而给乳品行业造成了不可估量的经济损失。导致牛乳腺炎的因素有物理刺激、化学刺激、微生物等,其中微生物是重要原因。这些微生物大致可分为环境性病原微生物和传染性病原微生物两大类,其中环境性病原微生物包括铜绿假单胞菌、大肠杆菌、化脓性放线菌、乳房链球菌、酵母等,传染性病原微生物包括无乳链球菌、金黄色葡萄球菌、停乳链球菌和支原体等。以上这些病原微生物中,链球菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌所引发的牛乳腺炎占有所有乳腺炎病例的 90% 以上。

无乳链球菌是最常见的一种病原链球菌,也是危害最大的一种,在自然界中分布极为广泛。无乳链球菌除了能引起动物的疾病外,也能引起人类的疾病,尤其是对新生儿,无乳链球菌可导致败血症和肺炎等疾病,甚至引起新生儿死亡,所以有效地预防和治疗无乳链球菌所引发的疾病是当代的研究热点,也是难点。

1.1.1 无乳链球菌的分类

无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)按照 Lancefield 血清学分类划归为 B 群链球菌(GBS),是链球菌的一个种属。无乳链球菌分为

I a、I b、II、III、IV、V、VI、VII、VIII 9 种血清型,它们的划分是以荚膜多糖特异性为依据的。有研究表明,这些荚膜在结构上有关联性,而且所有菌株都含有末端唾液酸成分,但是它们的免疫性质却完全不同。大多数临床分离的无乳链球菌属于 I a、I b、II、III 型,其中 III 型是导致感染的主要血清型。无乳链球菌是革兰氏阳性菌,大部分为 β 溶血,呈球形或者卵圆形,链状排列,在培养基上生成的菌落较大、圆满、乳白色,在低温情况下不易生长。

1.1.2 无乳链球菌的组成成分

1.1.2.1 多糖

细菌荚膜多糖由两种性质不同的糖类组成,一种是群特异性多糖,一种是型特异性多糖。无乳链球菌的荚膜多糖是后者,因为该种多糖在细胞的最表面,所以具有优先的识别功能。根据荚膜不同的抗原性,我们将无乳链球菌分为 9 种血清型,这 9 种血清型荚膜多糖都含有半乳糖、葡萄糖、唾液酸和 N-乙酰神经氨酸。在这 9 种血清型中,除了 VI 型、VII 型之外,都含有 N-乙酰葡萄糖,而鼠李糖只在 VIII 型中被发现。多项研究表明,无乳链球菌的多糖成分是通过抑制补体旁路激活途径干扰 C3 的调理作用产生毒力的。

型特异性多糖是一种炎症诱导剂,可使特异性入侵的细胞增多。群特异性多糖具有很强的炎症刺激作用,当二聚体分子 CD11/CD18 参与时,更增强了炎症刺激作用。这两种多糖都由共价键相连。

1.1.2.2 肽聚糖

肽聚糖(PGN)别名黏肽,是细胞壁的主要组成部分,是原核细胞特有的一种物质。肽聚糖是由 β -1,4 糖苷键连接 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰葡萄糖胺形成的杂多糖,四肽侧链和五肽交联桥组成的。荚膜多糖与 N-乙酰葡萄糖胺组成的磷酸二酯是肽聚糖的装配成分。将无乳链球菌细胞壁进行消化后制成的消化物成分通常是 L-二氨基酸、

L-丙氨酸、D-谷氨酸等,这些成分可以用于锚定细胞壁的糖蛋白,从而激活细胞免疫。

1.1.2.3 脂磷壁酸

脂磷壁酸(LTA)是细胞壁的重要组成成分,它的功能类似于革兰氏阴性菌的内毒素。它的一端可以与细胞膜糖脂结合,另外一端可以穿过肽聚糖层在细胞壁表面呈游离状态。细胞表面的脂磷壁酸受体还可与细胞壁中的脂磷壁酸结合,使链球菌易黏附感染。金黄色葡萄球菌的脂磷壁酸结构中D-丙氨酸被N-乙酰葡萄糖胺代替,而无乳链球菌的脂磷壁酸结构中的甘油磷脂被D-丙氨酸代替,但是糖脂的构型、甘油磷脂和N-乙酰葡萄糖胺对无乳链球菌的影响还不明确。

1.1.2.4 表面蛋白

无乳链球菌的表面蛋白能刺激保护性免疫的产生,因此表面蛋白是无乳链球菌疫苗研究与发展的热点。

1.2 无乳链球菌性乳腺炎的发病因素

1.2.1 环境因素

因为牛舍的环境卫生条件差,无乳链球菌有滋生的条件。手工挤奶时操作不规范、挤奶人员的手和挤奶工具没有严格消毒、同一条抹布多头牛使用等,都可以为无乳链球菌的生长和传播提供有利的条件。使用机器挤奶时,脉动器的脉动频率忽高忽低,会对奶牛乳头造成创伤,细菌便会趁机而入。

1.2.2 物理防御因素

乳头管是乳腺的重要组成部分之一,可以阻止病原体的入侵,乳

头管上皮分泌的角蛋白还具有杀菌的作用。乳头管和乳头末端是无乳链球菌最易感染的部位,挤奶时乳头管长期张开,卸下挤奶机时,乳头管就易受到无乳链球菌的感染,继而引发奶牛无乳链球菌性乳腺炎,带来巨大的经济损失。

1.2.3 免疫调节因素

无乳链球菌细胞壁上的脂磷壁酸与动物的皮肤和黏膜表面有高度的亲和作用,使菌体容易吸附于皮肤和黏膜上,其荚膜成分与 M 蛋白都具有抗吞噬功能,有利于细菌发挥毒力作用。早期研究表明,在链球菌中主要的致病毒力因子有脂磷壁酸、荚膜多糖、神经氨酸酶等,其中荚膜多糖是重要的毒力因子,多糖中的唾液酸具有抗补体介导吞噬细胞的吞噬作用。自从相关研究指出无乳链球菌具有菌毛结构后,菌毛成为毒力因子研究的热点,后续研究也有力地证明了菌毛蛋白在感染过程中起关键作用,菌毛是细菌黏附宿主的重要结构基础,是由 BP 骨架蛋白、AP1 和 AP2 辅助蛋白组成的,黏附是细菌定植致病的关键环节,其中菌毛辅助蛋白 AP1 是胶原结合蛋白,具有黏附功能,无乳链球菌菌株 NEM316 的缺失试验表明,骨架蛋白基因的缺失对菌毛的黏附能力没有太大影响,而辅助蛋白基因的缺失却使菌毛的黏附能力下降,降低无乳链球菌感染细胞的能力。其他毒力因子在感染过程中也发挥着不同的功能,例如溶血素、M 蛋白、致热外毒素、黏肽-多糖复合物、细胞壁上的受体以及菌体本身都有不同的感染作用。

当奶牛受到病原体的侵袭后,自身的细胞免疫调节也发生变化。当乳腺被无乳链球菌感染后,乳汁中的脂肪和酪蛋白酶抑制嗜中性粒细胞的杀菌作用,嗜中性粒细胞吞噬脂肪和酪蛋白酶后产生饱食现象,对病原体的吞噬作用就大大降低了,酪蛋白酶还能抑制溶菌酶的活性。这样无乳链球菌可以更加充分地发挥自身毒力作用,使奶牛更易感染,导致乳腺炎发生。

1.3 无乳链球菌性乳腺炎的症状和危害

1.3.1 无乳链球菌性乳腺炎的症状

奶牛乳房受到无乳链球菌入侵后,会产生腺体组织充血、水肿,动物体会产生自我保护免疫作用,产生大量的白细胞来杀灭外来病原体,因此此时乳汁中含有大量的白细胞。

乳腺炎的发病过程大致分3个阶段,每个阶段的症状有所不同。第一个阶段是体细胞增多期,这时候体细胞可达到每毫升50万个以上,而且还有继续升高的趋势,但此阶段乳腺和排出的乳汁没有明显的肉眼可见的变化,只表现出轻度炎症,这个阶段也常被称为隐性乳腺炎期,此期间乳汁的质量和数量下降。第二个阶段叫絮状物期,随着病原微生物数量的增加,其代谢产生的酸性物质增多,乳房中的蛋白质发生沉淀,形成奶豆腐状,这时期肉眼就可见到奶牛乳腺的异样。第三个阶段乳清和液状渗出物出现,这是人们常称的临床型乳腺炎期,这个时期奶牛的乳房和乳汁都可明显看出异样,乳腺间质和实质都有炎症,乳房红、肿、热、痛,乳腺有大小不一的硬块,乳汁甚至出现血块、呈水样,奶牛出现全身性症状,体温升高,食欲减退,疼痛不适,产奶量下降甚至产奶停止。无论哪个阶段,如果不能及时正确地给予治疗,都将会产生奶牛今后不能再产奶的严重后果。

1.3.2 无乳链球菌性乳腺炎的危害

随着生活水平的不断提高,人们不仅对乳产品的需求量增大了,而且对乳产品的品质要求也越来越高,因此保护好奶牛、保护好奶牛的乳腺,是极为重要的。奶牛一旦患上乳腺炎,产奶能力就会大大下降,直接影响经济效益,美国由奶牛乳腺炎导致的经济损失每年高达20亿美元,而我国更是奶牛乳腺炎发病率居高不下的国家,每年有

70% ~ 80% 的奶牛患乳腺炎。奶牛患无乳链球菌性乳腺炎后,体内会产生大量的白细胞,用来杀灭外来的病原体,但是大量的白细胞会堵塞乳腺管道,乳腺的分泌系统被破坏,泌乳细胞总量减少,牛乳中乳脂的含量降低,甚至分泌的乳汁无法排出,影响产奶量。为了防治奶牛乳腺炎,人们不断地给奶牛注射大量抗生素,这种防治方法使乳源受到污染,给养殖者带来了巨大的经济损失。另外,为了保证产奶量,养殖者需要不断地更新牛群,淘汰不合适的奶牛,引进健康的奶牛,这增加了养殖成本。

奶牛乳腺炎是人畜共患病,其中由无乳链球菌引起的奶牛乳腺炎危害性强、发病率高、影响范围广,该病不仅直接给养殖者带来经济损失,还会严重危害人类的健康。无乳链球菌可以混入原料乳或乳制品中,食用了含有无乳链球菌的乳产品后,有的人会出现周身不适等症状。消费乳产品最多的人群是婴幼儿,虽然牛乳中分离的无乳链球菌和人体中分离出的菌株性质有所不同,但已经有许多报道指出,长期食用含有无乳链球菌的乳产品,会大大增加新生儿患败血症和肺炎的概率。可见无乳链球菌引起的奶牛乳腺炎对人类健康和乳业发展造成的危害极大,该病已成为公共食品安全必须攻克的难题之一。

1.4 无乳链球菌性乳腺炎的诊断

1.4.1 临床型无乳链球菌性乳腺炎的诊断

临床型无乳链球菌性乳腺炎的症状比较明显,用肉眼就能看出乳汁和乳房的变化,病牛的乳房出现红、肿、热、痛等现象,乳汁为灰白色或者黄色,有的甚至含水样的脓血,乳汁产量明显降低,奶牛出现高热、拒食等现象。

1.4.2 隐性无乳链球菌性乳腺炎的诊断

隐性无乳链球菌性乳腺炎虽然肉眼看不到病理变化,却是对奶牛

危害最严重的,所以近年来出现了很多针对它的快速检测、诊断的方法。其中常规检测方法有生化检测法、cAMP 法、乳汁导电性检测法、体细胞检测法、胶乳法等。生化检测法是根据含有酯酶酶促底物培养基和无乳链球菌发生特异性反应来断定的,例如无乳链球菌能发酵蔗糖、葡萄糖、乳糖,而不能发酵棉子糖和山梨糖醇,能水解水杨苷、胆汁,不能水解七叶苷和明胶等。采用 cAMP 法是因为无乳链球菌能产生 cAMP 因子,能与金黄色葡萄球菌产生 β 溶血素,在两种菌的生长交界处会出现透明的溶血区。采用乳汁导电性检测法是因为当乳汁的离子浓度升高时,导电性随着增强,可用导电性的变化来判定乳腺炎。乳汁中体细胞数量超过每毫升 50 万个证明牛患有乳腺炎。相关方法中,CMT 法最出名,其根据破坏乳汁中的细胞后释放出的 DNA 量来间接计数。胶乳法经过多年研究已经生产出试剂盒,在试剂盒使用卡的圆圈内出现凝集就可判定为阳性。虽然能检测出乳腺炎的方法很多,但是这些检测方法都有不尽如人意的地方:生化检测法虽然准确,但是时间太长;cAMP 法步骤烦琐,受外界条件影响大;乳汁导电性检测法需考虑每个牛群的不同导电值,误差也较大;体细胞检测法主观因素很强,试验误差也很大;胶乳法是快捷简便的方法,不过因其成本高,全面推广还需时日。随着科技的发展,基于细菌的 rRNA 区域序列的 PCR 技术日渐成熟,研究者利用已知无乳链球菌的 16S rRNA 保守序列,使用 PCR 技术便可快速检测出牛乳中的病原菌,后来还相继出现了巢式 PCR 法和多重 PCR 法。这些分子生物学检测方法较传统的检测方法快速、简单、灵敏度高,并且可以检测大量的牛乳,适合做流行病学的调查,整个过程于 24 h 内便可完成,这些方法对隐性无乳链球菌性乳腺炎的预防和治疗都起到了关键作用。

1.5 无乳链球菌性乳腺炎的治疗

当确定奶牛患有无乳链球菌性乳腺炎的时候,饲养者应该从加强饲养管理和抗生素治疗两个方面一起入手。

在饲养管理上,首先饮食方面,患牛不宜食用含动物性脂肪和糖

多的饲料,也不宜喂辛辣饲料,应多喂青绿多汁饲料;其次应定时按摩,每天奶牛进食后,在乳房两侧下部进行乳房按摩有助于促进乳房血液及淋巴液的回流,在发病的后期,除了按摩,还可采取热敷的方式,加快血液循环,提高抵抗力,使炎症消散、病变局限化,减轻局部肿块疼痛。对患有乳腺炎的奶牛,挤奶过程要严格消毒,给患牛单独配备已消毒的擦乳头的毛巾,工作人员应对手和手臂进行消毒清洗,如果是机器挤奶,应对挤奶机进行全面消毒,如发现挤奶机不适合,应及时更换,这样可有效避免病原菌扩散。

可使用青霉素、红霉素、头孢菌素等治疗,采取乳房局部给药和患牛全身用药相结合的方法效果更加明显。在治疗过程中,需要特别注意的问题是干乳期奶牛的治疗是有效控制无乳链球菌的主要环节,因为感染往往在干乳期就已经发生,如果干乳期没有及时治疗,不仅会影响泌乳期奶牛的产乳数量和质量,还会增加病情的复杂性,泌乳期的奶牛病情往往易反复,外界与内在的原因也比干乳期的要复杂,想要有效彻底地治疗往往很困难。在泌乳期的前期和中期,治疗还有一定的经济价值,到泌乳期的后期,治疗成本将明显提高,但要是 not 实施治疗,这些患牛将会成为传染源,危害整个牛群。所以,发现病情时不应拖后诊治。近年来抗生素治疗已经普及,但是后续问题更为严重,由于长期使用抗生素,致病菌产生了耐药性,有的甚至出现了“泛耐药性”(即“超级细菌”),而且药物残留在乳汁中,会通过食物链传递给人类。人们食用这样的乳制品,会产生身体不适、过敏等反应,严重危害身体健康,也违背了乳制品强身健体的初衷。人们认识到不能只靠抗生素来治疗乳腺炎,奶牛乳腺炎的治疗前景不容乐观。虽然现在正在研制新型、低残留的药物以代替抗生素,例如我国的中草药,不会产生抗药性,残留低,弥补了抗生素的缺点,但是因为其药效慢,治疗时间长,也不被市场看好,因此我们应更加注重奶牛乳腺炎的预防工作,从预防入手,弥补治疗的空白区。国内外学者为此做出了许多努力,但是都不能明显减少奶牛无乳链球菌性乳腺炎的发生,因此研发出安全、有效、广谱的新型免疫制剂,是亟待解决的重要民生课题。