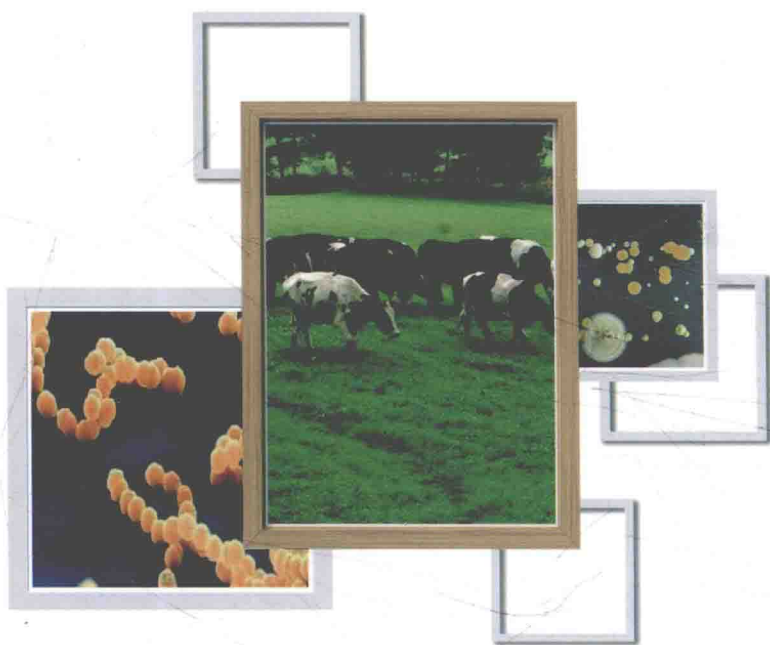


乳源致病性

金黄色葡萄球菌防控技术研究

锡林高娃◇著

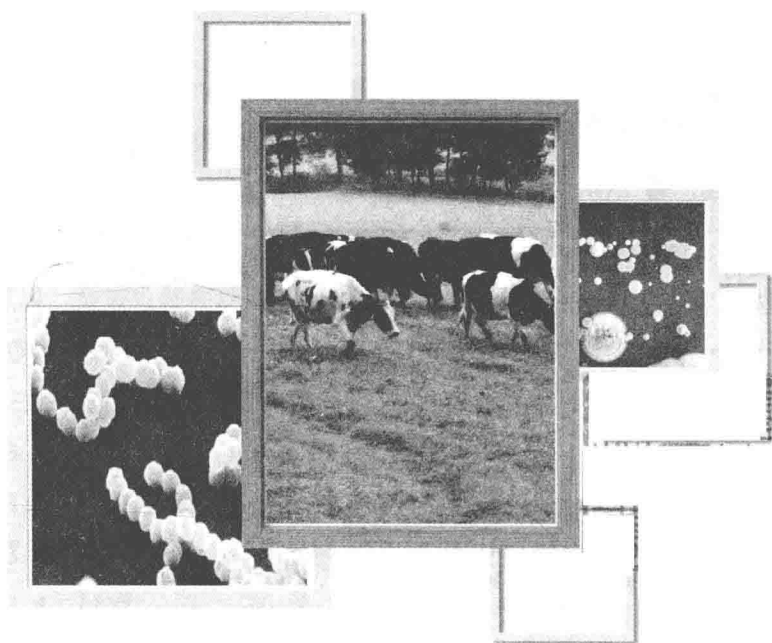


黑龙江大学出版社
HEILONGJIANG UNIVERSITY PRESS

乳源致病性

金黄色葡萄球菌防控技术研究

锡林高娃◇著



图书在版编目 (CIP) 数据

乳源致病性金黄色葡萄球菌防控技术研究 / 锡林高娃著. — 哈尔滨: 黑龙江大学出版社, 2016. 12
ISBN 978-7-5686-0074-3

I. ①乳… II. ①锡… III. ①葡萄球菌属—研究
IV. ①Q939.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 298675 号

乳源致病性金黄色葡萄球菌防控技术研究

RUYUAN ZHIBINGXING JINHUANGSE PUTAOQIUJUN FANGKONG JISHU YANJIU

锡林高娃 著

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 8
字 数 104 千
版 次 2016 年 12 月第 1 版
印 次 2016 年 12 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5686-0074-3
定 价 23.00 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

目 录

第一章 奶牛乳腺炎概述	1
1.1 奶牛乳腺炎的危害	2
1.2 奶牛乳腺炎的类型及发病机理	3
1.3 奶牛乳腺炎的主要病原微生物	5
1.4 奶牛乳腺炎的免疫机制及防治	6
参考文献	10
第二章 乳源性金黄色葡萄球菌的研究进展	14
2.1 金黄色葡萄球菌概述	15
2.2 金黄色葡萄球菌的检测方法	18
2.3 金黄色葡萄球菌疫苗的研究	22
2.4 金黄色葡萄球菌表面蛋白的研究	23
参考文献	23
第三章 乳源致病性金黄色葡萄球菌抗药性的研究	30
3.1 试验材料	31
3.2 试验方法	34
3.3 试验结果	40
3.4 讨论	48
3.5 结论	49
参考文献	49
第四章 乳源致病性金黄色葡萄球菌表面蛋白 EBPS 的研究	52
4.1 试验材料	53

4.2 试验方法	55
4.3 试验结果	77
4.4 讨论	101
4.5 结论	105
参考文献	105
第五章 牛防御素体外原核表达与分析研究	109
5.1 试验材料	110
5.2 试验方法	110
5.3 试验结果	113
5.4 讨论	119
参考文献	120

第一章 奶牛乳腺炎概述

在奶牛养殖中,奶牛乳腺炎是一种高发性疾病,不仅给养殖户带来巨大的经济损失,同时也直接或间接地引起人畜共患病,危害人类的健康。我国奶牛乳腺炎发病率一般在 20%~75%,其中临床型乳腺炎为 9.7%~55.6%,隐性乳腺炎高达 61.03%~79.62%,给我国奶牛业及乳制品业造成的经济损失远高于世界水平。

奶牛乳腺炎是由多种病原微生物,通过化学刺激或物理作用引起的乳腺组织发生病理变化的疾病,根据病原菌的来源、途径分为非特异性乳房内感染、特异性乳房内感染。一些来源于环境的病原菌如化脓棒状杆菌、大肠杆菌、念珠菌、铜绿假单胞菌等通过伤口感染乳腺组织引起的感染称为非特异性乳房内感染,这些病原菌在肠道、生殖道中也可分离出来。特异性乳房内感染多发生于干奶期,主要是由一些特定性感染牛乳腺组织的病原菌引起的感染,例如无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和停乳链球菌(*Streptococcus dysgalactiae*)等,常常存在于乳头导管及外伤损伤部位,挤奶时易引发感染。其中以无乳链球菌、金黄色葡萄球菌引发奶牛乳腺炎所占比例比较大,临床症状多表现为乳房红肿有硬块、泌乳量减少、乳汁蛋白质含量少、有凝块或絮状沉淀、体温升高等,但有时也无明显的临床症状,常常影响人们诊断,日后加剧会造成乳腺纤维化,失去产奶性能,造成奶牛淘汰,给养殖户造成巨大的经济损失。

1.1 奶牛乳腺炎的危害

奶牛乳腺炎的危害主要体现在牛乳产量和质量下降、对奶牛养殖业造成巨大的经济损失、病牛乳对消费者造成危害等方面。

1.1.1 对牛乳产量和质量的影响

奶牛乳腺受到病原菌的侵染时,乳腺细胞损伤,体内天然免疫系统发挥作用,聚集大量的白细胞消灭病原菌和修复损伤组织,导致部分乳腺导管堵塞,分泌的乳汁无法排出,从而使泌乳细胞总量减少,影响整个胎次甚至终生产乳量。损伤的乳腺细胞分泌的乳汁中主要组成成分(乳脂、乳糖和酪蛋白等)含量明显减少;同时,由于炎症反应导致血浆白蛋白、免疫球蛋白、氯和钠等血浆成分大量渗入到乳汁中,乳腺炎还可以改变乳汁的 pH 值,使其由 6.7 上升到 7.4 左右,引起乳品质的降低。乳腺炎乳成分变化程度在一定的范围内与乳腺炎的发病程度呈正相关。传统抗生素治疗方式使得乳中抗生素残留严重,造成“抗生素奶”。英国、法国等许多国家严格控制牛乳中体细胞数量。

1.1.2 对奶牛养殖业造成的经济损失

奶牛养殖生产中,奶牛乳腺炎会造成巨大经济损失。美国国家乳房炎委员会(NMC)报告称,由于奶牛乳腺炎,每年美国损失约 20 亿美元,德国损失 10 亿欧元,日本损失 5 亿美元,英国损失 2.67 亿英镑,加拿大用于奶牛乳腺炎的花费每年每头 140 ~ 300 美元,丹麦大约每年每头 225 美元。而我国每年奶牛乳腺炎所造成的损失高达 30 亿元,远远高于发达国家。乳腺炎所造成的损失,主要表现为牛乳的品质下降、病牛淘汰数增加、治疗和饲喂成本提高。乳腺炎造成的经济

损失中,70%来自于产乳量的降低,15%是因为患病奶牛的提前淘汰,另外15%中,牛乳因含有细菌污染而废弃占7%,兽医治疗费用占8%。

1.1.3 对消费者的危害

奶牛乳腺炎的致病菌大多数属于人畜共患性微生物,而且病牛乳汁中病原菌数会随病情的加重有不同程度的升高。如监管不当,病牛乳汁掺入到正常乳中,病原菌就会通过乳或乳制品危害消费者的健康,有可能发生食物中毒,甚至还可能造成公共卫生安全危害。例如,无乳链球菌,又称作B群链球菌,对新生儿及围产期的妇女危害比较大。无乳链球菌是新生儿感染的首位病原菌,新生儿感染无乳链球菌后常表现为败血症、脑膜炎、肺炎,严重时可危及生命。据报道,在美国、英国、芬兰,新生儿的无乳链球菌感染率分别为61%、28%、30%,病死率为20%~50%。美国、巴西、印度孕妇生殖道无乳链球菌带菌率分别为2%~29%、18.6%、5.8%。成人感染以围产期妇女为主,主要包括绒毛膜羊膜炎、子宫内膜炎、败血症等。

1.2 奶牛乳腺炎的类型及发病机理

1.2.1 奶牛乳腺炎的分类

美国国家乳房炎委员会根据乳腺及乳汁肉眼可见的变化,将乳腺炎分为临床型乳腺炎、亚临床型乳腺炎,亚临床型乳腺炎又可分为隐性乳腺炎和慢性乳腺炎。临床型乳腺炎仅占乳腺炎极小一部分(约占4.9%),患临床型乳腺炎奶牛有肉眼可观察到的异常变化,例如乳腺间质、实质或间质实质组织有炎症,患病乳区乳腺可触摸到硬块,高烧

疼痛,产乳量骤减,乳汁颜色呈不正常的灰白色或淡黄色,常伴有絮状物甚至脓血,有些乳汁呈水样,奶牛出现拒食等。隐性乳腺炎常常用肉眼观察不到明显变化,乳腺呈现为轻度炎症,乳汁中体细胞数(SCC)明显升高,一般可查到病原菌,常引起产乳量减少、乳品质下降,是奶牛乳腺炎中较为多发、造成损失最严重的类型。慢性乳腺炎通常是急性临床型乳腺炎没有及时处理或处置不当,造成的乳腺组织渐进性发炎,一般无临床症状或临床症状不明显,可导致乳腺组织纤维化、乳房萎缩等症状。隐性乳腺炎对奶牛养殖业的危害超过临床型乳腺炎,同时隐性乳腺炎在一定条件下可转化为临床型乳腺炎。

1.2.2 奶牛乳腺炎的病因及发病机理

奶牛乳腺炎是乳房组织受到刺激所发生的炎症性疾病,微生物入侵是最主要原因,病原微生物的多样性使该病变得复杂。到现在为止,全世界有 150 多种病原微生物能引起奶牛乳腺炎,包括细菌、真菌、病毒等。根据传播途径和来源,病原微生物可分为传染性病原微生物和环境性病原微生物。传染性病原微生物特异性侵染乳腺细胞及其周围组织,主要包括无乳链球菌、停乳链球菌、金黄色葡萄球菌和支原体等,容易在奶牛群中传播流行。环境性病原微生物主要包括乳房链球菌(*Streptococcus uberis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、真菌或酵母菌等,其主要存在于周围的环境中,定植于乳头、皮肤的创口处,其中以链球菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌为主。环境中的病原微生物主要经过血液或皮肤表面创伤进入乳房而造成感染。感染初期,受损害乳区血管扩张,血流变慢,血管通透性增加,炎性介质如组胺、白细胞、细菌毒素及凝血因子等增多,加剧炎性反应。由于凝固因子的存在,渗出物很快在乳房组织内凝固,堵塞乳腺导管造成泌乳障碍。如果病原微生物短时间内得到控制,血管的炎性反应也相应减退,乳房机能可完全或部分恢复。

若感染严重,得不到有效的控制,则可导致乳腺分泌细胞损伤,失去泌乳功能。其他因素也可造成奶牛乳腺炎,如遗传、管理、环境、季节、气温、胎数、生理和行为因素等,据统计,约有 20% 的奶牛乳腺炎归咎于遗传因素,25% 为环境因素,50% 为畜群管理因素。可见环境因素和饲养管理对奶牛乳腺炎的发病率有很大影响。

1.3 奶牛乳腺炎的主要病原微生物

能够引起奶牛乳腺炎的病原微生物种类较多,达 150 余种,其中细菌的比例最大。细菌以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无乳链球菌、铜绿假单胞菌等为主。

1.3.1 大肠杆菌

大肠杆菌作为环境性微生物,分布广泛,适应性强,具有多个致病因子,包括菌毛、内毒素、外毒素、细胞毒素、K 抗原、O 抗原等。大肠杆菌性乳腺炎临床症状明显,体温升高,食欲急剧下降,发病乳区肿胀、有硬块、疼痛明显。

1.3.2 无乳链球菌

无乳链球菌是一种接触传染性病原菌,它专性寄生于奶牛乳腺组织,通常导致乳腺的轻度持续性感染,且自愈率较低。在缺乏良好卫生条件和防控措施的情况下,无乳链球菌常在挤奶时,通过挤奶器、挤奶工、清洁用具,由感染乳区向未感染乳区扩散,甚至能迅速扩散至整个牛群。无乳链球菌感染多呈现亚临床型,被感染奶牛没有明显的临床症状,乳腺及乳汁用肉眼看不出明显变化。无乳链球菌感染一般导致牛乳中体细胞数增多、乳汁成分改变、产乳量下降,若没有及时进行

治疗,就会转化成慢性乳腺炎,最终导致无乳。无论在国内还是国外,无乳链球菌感染导致的乳腺炎在牛群中均较为普遍,造成的损失也比较大。

1.3.3 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌是引起奶牛乳腺炎的主要病原菌,能在奶牛的乳腺、皮肤等各种器官组织迅速繁殖。金黄色葡萄球菌产生的酶和毒素是直接导致乳腺炎的重要因素,产生的酶和毒素有耐热核酸酶、纤维蛋白溶酶、凝固酶、肠毒素和 α -溶血素等。产乳量下降和乳汁黏稠度增加是金黄色葡萄球菌引起的乳腺炎较为明显的临床表现。由金黄色葡萄球菌引起的奶牛乳腺炎具有传染性强、发病周期长、治愈率低和造成永久性实质破坏等特点。

1.4 奶牛乳腺炎的免疫机制及防治

1.4.1 奶牛乳腺炎的免疫机制

动物机体对于外来病原菌的侵袭,具有多种不同的防御机制。对于牛的乳腺而言,乳头管括约肌是第一道防线。乳腺导管内上皮细胞分泌的胶质蛋白,具有杀菌作用,也可作为物理性屏障阻挡病原菌突破乳腺导管,进入乳池。但是外来的病原菌能否进一步感染,还取决于病原菌的毒力和机体免疫力。

牛乳中的杀菌成分在维护乳腺健康方面也发挥着重要作用。淋巴细胞、多形核嗜中性粒细胞(PMN)、巨噬细胞(M Φ)和上皮细胞,这些细胞统称为SCC。SCC构成了乳腺细胞免疫体系的物质基础。SCC成分随个体、泌乳阶段和乳腺的健康状况不同而变化。乳腺有炎症时

MΦ 占多数,无炎症时 PMN 占绝大多数(90% 以上)。MΦ 除了吞噬和杀菌,还可以分泌具有趋化作用的细胞因子和白细胞三烯,吸引 PMN 进入乳腺,以加工处理和提呈抗原。PMN 也可吞噬和杀灭病原菌。PMN 的杀菌机制分为依赖氧的氧化杀菌机制和不依赖氧的杀菌机制。依赖氧的氧化杀菌作用能有效杀灭大肠杆菌等革兰氏阴性菌,金黄色葡萄球菌、链球菌等革兰氏阳性菌对氧化杀菌作用有抵抗性(革兰氏阳性菌被吞噬后产生降解酶,把 H_2O_2 分解为水和氧)。不依赖氧的杀菌机制指的是病原菌被 PMN 吞入形成吞噬液泡后,形成溶酶体,释放内部的酶,破坏被吞噬的微生物。当细菌侵入乳腺后,MΦ 活化,吞噬和处理抗原,并形成抗原复合体,刺激机体产生 T、B 细胞,MΦ 分泌白细胞趋化因子和一些可溶性介质,吸引外周血中 PMN 进入感染部位,吞噬和杀灭病原菌。在 PMN 吞噬病原菌的过程中,如有抗体或补体的调理,可增强 PMN 的吞噬能力。乳腺发生感染后,PMN 优先到达乳头远端,穿过实质组织而不经乳池,并与乳头的防御机制相结合,将侵入乳腺的病原菌吞噬或杀灭。由于乳汁中的一些成分抑制了 PMN 的活性,正常乳汁中的 SCC 含量远远达不到 PMN 可起到防御作用的浓度。为更好地抵御外来病原菌,机体会调动大量血液中的 PMN 进入乳腺组织,而大量 PMN 进入乳腺后往往又会引起乳腺组织的损伤,导致乳腺组织的纤维化和泌乳功能的丧失。

动物机体的体液免疫需要 IgG1、IgG2、IgM、IgA 4 种免疫球蛋白(Ig)完成。在产前 3 周,Ig 开始进入乳腺组织,使初乳中含有大量的 Ig。作为含量最高的 Ig,IgG1 具有高度的凝集和抗毒素作用,但没有调理作用。IgG2 是牛乳中的主要调理素,能显著增强 PMN 的吞噬能力,IgG2 能抑制细菌与乳腺表皮细胞的结合,激活补体。这些在抵抗金黄色葡萄球菌和链球菌感染方面起着重要作用。目前,一般认为 IgA 在局部免疫应答中起着重要作用,能有效防止金黄色葡萄球菌、链球菌与乳腺上皮细胞的结合,常乳中 IgA 含量很低,因此在乳腺中它不是主要的调理素。IgM 也是一种调理素,但它只存在于免疫后很短

一段时间内。乳腺中的淋巴细胞(T细胞、B细胞)对颗粒抗原和可溶性抗原均有反应。

1.4.2 奶牛乳腺炎的预防

对奶牛乳腺炎,要根据泌乳周期的不同阶段和奶牛乳腺炎的类型,选择是以治疗为主的措施还是以预防为主的措施。总的原则是以防为主,以治为辅。如何才能很好地预防乳腺炎的发生呢?最重要的是创造良好的饲养环境及挤奶卫生条件。

首先是确保奶牛饲养场地面设计合理,有足够的面积,有足够的清洁、干燥的垫料;确保通风顺畅,定期打扫消毒,保持适当的饲养密度,挤奶后立即供给新鲜的饲料。挤奶行为刺激了乳头部分的神经末梢,促使脑垂体释放催产素,催产素促进乳汁排出;如果粗暴对待奶牛,奶牛肾上腺素分泌量就会增加,抑制催产素的释放,使乳汁不能完全排出,影响产乳量。

挤奶前,先触摸检查乳腺有无异常和废弃1~2把乳汁(装入专门的容器),以便尽早发现病例和废弃高SCC乳汁,也给乳房一个强烈的放乳刺激。然后用消毒剂清洗或涂抹乳头,清洗或涂抹后立即擦干,注意每一头奶牛单独使用一块毛巾。

乳房清洗后1 min内套上挤奶器,调整奶杯位置,挤完乳汁先关掉真空,然后再移开挤奶器;手工挤奶则尽量缩短挤奶时间,挤奶人员应戴手套。另外挤奶次序应遵循一胎牛和健康牛先挤、感染的牛后挤的原则,这可减少奶牛乳腺炎在奶牛间相互感染。

挤奶后15 min,乳头的环状括约肌才能恢复收缩功能,并关闭乳头孔,在这15 min之内,张开的乳头孔极易受到环境性病原菌的侵袭。及时进行药浴,使消毒液附着在乳头上形成一层保护膜,可以大大降低奶牛乳腺炎的发病率。乳头药浴杯应每天清洗,药浴液应每天更换。另外要注意挤奶前后的乳头消毒剂的选择,应首选适合本地区牛

群乳腺炎控制的消毒液。

1.4.3 乳腺炎的治疗

1.4.3.1 抗生素治疗

使用抗生素治疗奶牛乳腺炎自 20 世纪 40 年代沿用至今,但现在人们认识到抗生素并不能根本解决奶牛乳腺炎问题。抗生素对大肠杆菌引起的乳腺炎疗效显著。对于无乳链球菌、金黄色葡萄球菌引起的乳腺炎,由于其特殊的致病性和耐药性,多采用全身给药结合乳腺内灌注法治疗。

1.4.3.2 疫苗防治

疫苗防治奶牛乳腺炎有很多优点,如无药物残留、降低感染程度,尤其对于亚临床型乳腺炎防控有显著优势,能有效控制奶牛乳腺炎的发病率。用于临床试验的主要有金黄色葡萄球菌疫苗、大肠杆菌疫苗和链球菌疫苗等。金黄色葡萄球菌在乳房致病菌中所占比例较大,当前对其引起的乳腺炎治疗多以传统疫苗为主,主要利用灭活细菌及菌体分离的多糖、黏附素、类毒素等制作而成。研究表明,灭活疫苗防治金黄色葡萄球菌性乳腺炎,能降低临床型乳腺炎发生率,提高乳腺炎的自愈率,但对于再感染的治疗效果不好。目前研究者广泛关注的是具有安全可靠、容易进行质量控制等优点的新型疫苗,常见的几种基因工程疫苗包括基因工程亚单位疫苗、重组载体疫苗、核酸疫苗、合成肽疫苗等。对链球菌疫苗的研究较少,总体认为灭活的链球菌疫苗对奶牛无保护力。Finch 等人研究乳房链球菌和停乳链球菌多联灭活疫苗,结果接种疫苗并没有显著减少由链球菌引起的奶牛乳腺炎的发生。到现在为止仍然没有预防链球菌性乳腺炎的商业化疫苗。

参考文献

- [1] Santos J E P, Cerri R L A, Ballou M A, et al. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactation and reproductive performance of Holstein dairy cows[J]. *Animal Reproduction Science*, 2004, 80(1-2): 31-45.
- [2] Delannoy C M J, Zadoks R N, Lainson F A, et al. Draft genome sequence of a nonhemolytic fish-pathogenic *Streptococcus agalactiae* strain[J]. *J Bacteriol*, 2012, 22(194): 6341-6342.
- [3] Mora M, Bensi G, Capo S, et al. Group A *Streptococcus* produce pilus-like structures containing protective antigens and Lancefield T antigens[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 43(102): 15641-15646.
- [4] Tazi A, Morand P C, Réglier-Poupet H, et al. Invasive group B *Streptococcal* infections in adults, France(2007-2010)[J]. *Clinical Microbiol Infect*, 2011, 10(17): 1587-1589.
- [5] Cao L T, Wu J Q, Xie F, et al. Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(8): 3980-3985.
- [6] 林锋强, 潘杭君, 胡松华. 奶牛乳房炎疫苗研究进展[J]. *中国奶牛*, 2002(1): 40-42.
- [7] Rato M G, Bexiga R, Florindo C, et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of streptococci from bovine mastitis[J]. *Vet Microbiol*, 2013, 161(3-4): 286-294.
- [8] Elias A O, Cortez A, Brandão P E, et al. Molecular detection of *Streptococcus agalactiae* in bovine raw milk samples obtained directly from bulk tanks[J]. *Res Vet Sci*, 2012, 93(1): 34-38.
- [9] Domenico M, Immaculada M, Cira D R, et al. Identification of a

- universal group B *Streptococcus vaccine* by multiple genome screen [J]. Science, 2005, 309(5731): 148 - 150.
- [10] 张先云, 王长军. 革兰阳性细菌菌毛结构和功能研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2011, 6(12): 945 - 948, 958.
- [11] 锡林高娃, 吴金花, 布日额, 等. 牛乳腺炎无乳链球菌菌毛岛屿辅助蛋白 API 基因的克隆及其表达产物的抗原性鉴定[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(6): 481 - 484, 488.
- [12] Fang W, Vikerpuur M. Potency of antibacterial drugs in milk as analysed by β - glucuronidase - based fluorometry [J]. J Vet Pharmacol Ther, 1995, 18(6): 422 - 428.
- [13] 赵香汝, 李寸欣, 郑雪花, 等. 张家口地区奶牛临床型乳腺炎病原菌的分离鉴定[J]. 中国动物检疫, 2009, 26(11): 49 - 51.
- [14] Ferguson J D, Azzaro G, Gambina M, et al. Prevalence of mastitis pathogens in ragusa, sicily, from 2000 to 2006 [J]. J Dairy Sci, 2007, 90(12): 5798 - 5813.
- [15] Foutaine M C, Perez - Casal J, Song X M, et al. Immunisation of dairy cattle with recombinant *Streptococcus uberis* GapC or a chimeric CAMP antigen confers protection against heterologous bacterial challenge [J]. Vaccine, 2002, 20(17 - 18): 2278 - 2286.
- [16] Hogan J S, Smith K L, Hoblet K H, et al. Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds [J]. J Dairy Sci, 1989, 72(6): 1547 - 1556.
- [17] Lim G H, Leslie K E, Kelton D F, et al. Adherence and efficacy of an external teat sealant to prevent new intramammary infections in the dry period [J]. J Dairy Sci, 2007, 90(3): 1289 - 1300.
- [18] Corrêa A B A, Américo M A, Oliveira I C M, et al. Virulence characteristics of genetically related isolates of group B streptococci from bovines and humans [J]. Vet Microbiol, 2010, 143(2 - 4): 429 - 433.

- [19] Duarte R S, Miranda O P, Bellei B C, et al. Phenotypic and molecular characteristics of *Streptococcus agalactiae* isolates recovered from milk of dairy cows in Brazil [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42 (9): 4214 - 4222.
- [20] Sukhnanand S, Dogan B, Ayodele M O, et al. Molecular subtyping and characterization of bovine and human *Streptococcus agalactiae* isolates [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43 (3): 1177 - 1186.
- [21] Pereira U P, Mian G F, Oliveira I C M, et al. Genotyping of *Streptococcus agalactiae* strains isolated from fish, human and cattle and their virulence potential in Nile tilapia [J]. Vet Microbiol, 2010, 140 (1 - 2): 186 - 192.
- [22] Bohnsack J F, Whiting A A, Martinez G, et al. Serotype III *Streptococcus agalactiae* from bovine milk and human neonatal infections [J]. Emerg Infect Dis, 2004, 10 (8): 1412 - 1419.
- [23] Rato M G, Bexiga R, Florindo C, et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of streptococci from bovine mastitis [J]. Vet Microbiol, 2013, 161 (3 - 4): 286 - 294.
- [24] Laport M S, Marinho P R, Santos O C, et al. Antimicrobial activity of marine sponges against coagulase - negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis [J]. Vet Microbiol, 2012, 155 (2 - 4): 362 - 368.
- [25] Lin C T, Chen Y C, Jinn T R, et al. Role of the cAMP - dependent carbon catabolite repression in capsular polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae* [J]. PLOS ONE, 2013, 8 (2): e54430.
- [26] Cieslewicz M J, Chaffin D, Glusman G, et al. Structural and genetic diversity of group B streptococcus capsular polysaccharides [J]. Infect Immun, 2005, 73 (5): 3096 - 3103.
- [27] Doran K S, Liu G Y, Nizet V. Group B streptococcal β - hemolysin/