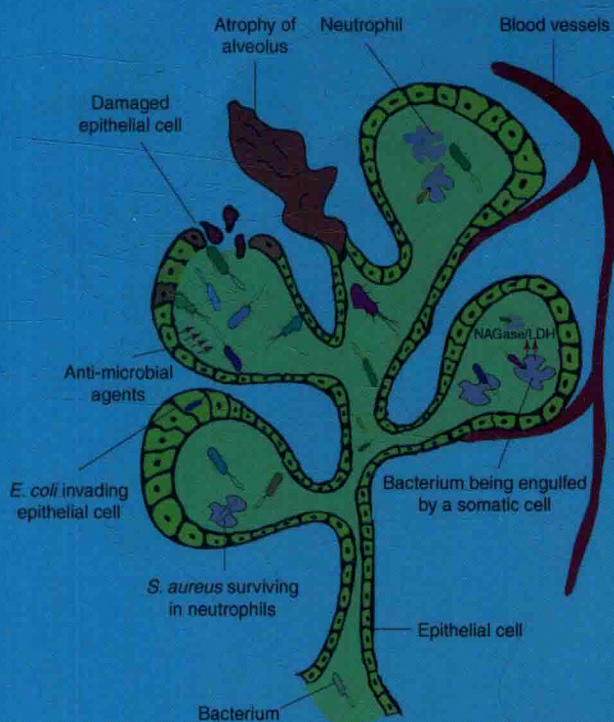


奶牛 乳腺炎防治技术

杨丰利 著



科学出版社

奶牛乳腺炎防治技术

杨丰利 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书主要介绍了奶牛乳腺炎概况、奶牛乳腺炎的流行病学、奶牛乳腺炎致病性金黄色葡萄球菌病原学特征、奶牛隐性乳腺炎诊断技术、奶牛乳腺炎的治疗措施研究、奶牛乳腺炎疫苗研究、奶牛乳腺炎的危害、奶牛乳腺炎的预防措施。在开展奶牛乳腺炎的研究工作中,作者深切体会到写作本书的现实迫切性和责任感,希望本书能够为奶牛养殖企业提供理论指导,有助于其采取相应的措施,降低生产过程中由于奶牛乳腺炎引起的经济损失,进而促进奶牛养殖业健康稳定发展。

本书可供国内奶牛养殖企业的技术管理人员和畜牧兽医师、研究奶牛方向的研究生以及科研工作人员学习和参考使用,也可供国外相关技术人员和研究生学习使用。

图书在版编目(CIP)数据

奶牛乳腺炎防治技术/杨丰利著. —北京:科学出版社, 2016

ISBN 978-7-03-048752-0

I. ①奶… II. ①杨… III. ①乳牛-乳房炎-防治 IV. ①S858.23

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 131804 号

责任编辑:王玉时/责任校对:彭珍珍

责任印制:张 伟/封面设计:迷底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京中石油彩色印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 6 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2016 年 6 月第一次印刷 印张:16

字数:400 000

定价:59.80 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

近年来,我国奶牛养殖业不断快速发展,与此同时,奶牛疾病仍然是阻碍奶牛养殖业健康发展的一个不可回避的重要因素。奶牛乳腺炎是世界范围内奶牛三大主要疾病之一,每年都会导致奶牛业遭受巨大的经济损失。

据资料报道,一头奶牛发生一次临床乳腺炎后,本胎次减少产奶量 500 kg 左右,约占总产奶量的 20%,同时影响其终身产奶水平,乳汁质量也受影响,乳脂率下降 0.3%,乳体细胞数上升到 100 万~150 万/mL。另有文献报道,在所有导致奶牛养殖收入减少的因素中,14%是由乳腺炎造成的奶牛淘汰及死亡所引起的,8%是牛奶废弃所引起的,另外 8%是治疗费用开支,剩下的 70%是由产奶量下降导致的。世界各国奶牛饲养管理技术有所差异,临床乳腺炎和隐性乳腺炎发病率差异很大,临床乳腺炎发病率常为 1.8%~37.1%,隐性乳腺炎阳性率常为 22.3%~62.9%。我国奶牛临床乳腺炎发病率大部分在 20%左右,隐性乳腺炎奶牛阳性率也在 50%左右。

奶牛乳腺炎主要致病菌有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、乳房链球菌、停乳链球菌、无乳链球菌和酵母菌。目前国内外防治奶牛乳腺炎主要靠加强牛场管理和抗生素治疗,由于抗生素疗法在公共卫生上的局限性和耐药菌株的产生,研究者进行了大量的疫苗接种实验。结果证明,利用疫苗预防和控制奶牛乳腺炎发生有一定的效果,但是由于致病菌种类繁多,采用疫苗很难将乳腺炎控制到极低的发病率。鉴于奶牛乳腺炎的危害性及其研究现状,作者将近年来关于该领域研究工作的成果在本书中进行了总结。本书内容共八章,分别对奶牛乳腺炎概况、奶牛乳腺炎的流行病学、奶牛乳腺炎致病性金黄色葡萄球菌病原学特征、奶牛隐性乳腺炎诊断技术、奶牛乳腺炎的治疗措施研究、奶牛乳腺炎疫苗研究、奶牛乳腺炎的危害、奶牛乳腺炎的预防措施,进行了系统而全面的阐述。附录以英文列出近年较有价值的奶牛乳腺炎研究成果,以供参阅。

本书在撰写过程中,得到了广西大学动物科学技术学院何宝祥教授、郑喜邦教授、钟诚副教授、李恭贺副教授,以及长江大学动物科学学院杨玉莹教授、李鹏副教授、李助南副教授、汪招雄老师和李小杉老师的悉心指导和帮助,在此向他们表示由衷的感谢!由于作者水平有限,书中难免存在一些不足,诚恳希望同行专家和广大读者予以批评指正,以便再版时修正。

杨丰利

2015 年 12 月 12 日

目 录

前言

第一章 奶牛乳腺炎概况	1
第一节 奶牛乳腺炎的定义及分类	1
第二节 奶牛乳腺炎的病因	5
第三节 奶牛乳腺炎病原学特点	10
第四节 奶牛乳腺炎的发病规律	15
第五节 奶牛乳腺炎的发病机制	15
第六节 牛奶中的体细胞	44
第七节 动物乳腺炎模型的建立	49
第二章 奶牛乳腺炎的流行病学	55
第一节 奶牛乳腺炎的发病率和主要致病菌调查	55
第二节 热应激对不同泌乳阶段奶牛日产奶量的影响	71
第三章 奶牛乳腺炎致病性金黄色葡萄球菌病原学特征	76
第一节 金黄色葡萄球菌研究进展	76
第二节 奶牛乳腺炎致病性金黄色葡萄球菌分子特征性分析	85
第四章 奶牛隐性乳腺炎诊断技术	93
第一节 奶牛隐性乳腺炎常用的诊断技术	93
第二节 奶牛隐性乳腺炎乳汁中丙二醛浓度和酶类活性分析	98
第五章 奶牛乳腺炎的治疗措施研究	104
第一节 奶牛乳腺炎治疗措施研究进展	105
第二节 中草药制剂对奶牛乳腺炎致病菌抗菌效果分析	116
第六章 奶牛乳腺炎疫苗研究	125
第一节 奶牛乳腺炎疫苗研究进展	125
第二节 奶牛乳腺炎金黄色葡萄球菌疫苗的初步研制	130
第七章 奶牛乳腺炎的危害	147
第一节 奶牛乳腺炎对生产性能的危害	147
第二节 奶牛临床乳腺炎对繁殖性能的影响	155
第八章 奶牛乳腺炎的预防措施	162
附录 (Appendix) The research results in dairy mastitis	167
Section 1 Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows	167
Section 2 Effects of vitamins and trace-elements supplementation on milk production in dairy cows	174
Section 3 Bovine mastitis in subtropical dairy farms	180

Section 4	The prevalence of heifer mastitis and its associated risk factors in Huanggang	186
Section 5	Somatic cell counts positive effects on the DNA yield extracted directly from Murrah buffalo milk	193
Section 6	Detection of virulence-associated genes in <i>Staphylococcus aureus</i> isolated from bovine clinical mastitis milk samples in Guangxi	198
Section 7	Malonaldehyde level and some enzymatic activities in subclinical mastitis milk	204
Section 8	Clinical mastitis from calving to next conception negatively affected reproductive performance of dairy cows in Nanning, China	210
参考文献		218

第一章 奶牛乳腺炎概况

随着生活水平的提高，人们的健康意识越来越强，2007 年国务院总理温家宝在重庆视察奶业时曾说过：“我有一个梦想，让每个中国人，首先是孩子，每天都能喝上一斤奶”。国家进一步推动了“学生奶计划”，提出了“一杯奶强壮一个民族”的口号，从而使我国的奶牛养殖业在国家和各级政府的积极引导和扶持下得以长足发展。但是人们在注重加快乳业发展步伐、追求高产的同时，却面临对奶牛疾病预防和治疗的压力，尤其是普通病的发病率一直居高不下，奶牛乳腺炎就是其中之一，已严重影响了奶牛养殖效益和产品质量，给养殖业造成了巨大的经济损失（张颖，2014）。

第一节 奶牛乳腺炎的定义及分类

一、奶牛乳腺炎的定义

奶牛乳腺炎又称乳房炎（mastitis），顾名思义是乳腺发生炎症，简单地定义为乳腺受到物理、化学、致病微生物等因素的刺激所产生的一种炎症变化，主要致病菌包括金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）、无乳链球菌（为传染性致病菌）、大肠杆菌（*Escherichia coli*）、链球菌和肠球菌（环境致病菌，来自垫料、粪便和土壤等）（Heringstad et al., 2000）。乳腺炎的主要特点是乳腺组织发生病理学变化，乳汁发生理化性质及细菌学变化。在炎症早期，感染的乳区血管扩张，血液增加，血流减慢，同时毛细血管的通透性增加。患病奶牛体内出现了炎症反应，血液中的炎性介质变多，肥大细胞和巨噬细胞被活化后释放了细胞因子，淋巴细胞及中性多形核白细胞等进入受损部位。此过程中的细胞因子主要有白细胞介素-1（IL-1）、白细胞介素-6（IL-6）、白细胞介素-8（IL-8）和肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）等。临床乳腺炎的奶牛全血黏度、全血还原黏度、红细胞聚积指数、红细胞变形指数、红细胞刚性指数等血液流变指数均显著高于正常奶牛和患隐性乳腺炎的奶牛，临床乳腺炎奶牛血液中 IL-1 β 、IL-8 和 TNF- α 显著高于正常奶牛，其中 IL-8、TNF- α 显著高于隐性乳腺炎奶牛（冯士彬等，2011）。

二、奶牛乳腺炎的分类

（一）国际乳业联盟对乳腺炎的分类

国际乳业联盟（IDF）（1986）对奶牛乳腺炎的分类如下：①正常乳房，乳汁外观和成分均正常，并且无病原微生物生长；②潜在性感染，乳汁体细胞数正常，但存在病原微生物；③亚临床乳腺炎，乳房没有临床症状，但乳汁体细胞数增加，成分改变；④临床乳腺炎，包括急性、亚急性和慢性，急性乳腺炎的乳腺炎性反应和乳汁变化明显，体温升高；亚急性乳腺炎有炎症反应，乳汁变化，如有絮块存在，但体温正常；慢性乳腺炎症状不明显，乳房逐渐萎缩硬化，病程较长；⑤非特异性乳腺炎（无细菌乳腺炎），也可分为临床

型和亚临床型,临床型的症状与由细菌感染的临床乳腺炎相似;亚临床型则只有乳汁变化,微生物检查均为阴性;⑥乳头管菌落形成,即病原只在乳头管繁殖,由乳头采样,菌检阳性,但乳房穿刺取样,则菌检阴性。

(二) 美国国家乳腺炎委员会对乳腺炎的分类

美国国家乳腺炎委员会(National Mastitis Council, NMC)根据乳房和乳汁有无肉眼可见的变化将奶牛乳腺炎分为:①临床乳腺炎(clinical mastitis),用肉眼观察就可见乳汁和(或)乳房的临床变化;②隐性乳腺炎(subclinical mastitis),用肉眼观察乳房和乳汁均正常,但乳汁的电导率、体细胞数(somatic cell counts, SCC)、pH等理化性质已发生变化;③慢性乳腺炎(chronic mastitis),通常是由于急性乳腺炎没有及时治疗或者没有得到彻底治愈,从而持续感染,使乳腺组织渐进性发炎引起的(刘朝, 2007)。

临床乳腺炎为乳房间质、实质或间质组织的炎症。其特征是乳房和乳汁都有不同程度的异常,乳房红肿、疼痛、发热,拒绝哺乳和挤乳,轻者乳汁中有絮片、凝块,有时呈水样,乳房轻度肿胀;重者乳区重度肿胀,乳汁出现渗出物,泌乳减少甚至停止,同时出现全身反应,如食欲降低、脉搏加快、体温升高、精神沉郁等(赵中利, 2012)。

隐性乳腺炎又称亚临床乳腺炎,是奶牛乳腺炎中最为常见的一种乳腺内感染,它既没有乳房局部和全身性的肉眼可见临床症状,乳汁从外观上也看不到任何变化,但是乳汁在理化性质及细菌学上已经发生变化。通过乳汁检查可发现体细胞数明显增加;pH 7.0 以上,呈偏碱性;氯化钠含量在 0.14%以上;乳汁中的细菌数和电导率上升等许多变化。由于乳房和乳汁看上去无异常,隐性乳腺炎经常被挤奶员和牛群管理人员忽视,许多隐性乳腺炎都是转变成临床乳腺炎后才被发现。相对于临床乳腺炎,奶牛的隐性乳腺炎很少对乳房组织造成迅速的损伤,一般也不会危及奶牛的生命,但有其明显的特点:首先,隐性乳腺炎感染牛虽然没有临床症状,却可以成为牛群感染源,继续感染周围的健康奶牛;其次,隐性乳腺炎常常发生于临床症状出现之前,而且病程缓慢,经常持续很长一段时间仍未被发现,造成产奶量长期缓慢下降,牛奶质量降低;再次,隐性乳腺炎经过长时间的发生,后期可转变成临床乳腺炎,导致产奶量急剧降低;最后,应用抗生素治疗效果不佳,治愈率低。隐性乳腺炎和临床乳腺炎一样,会直接导致牛奶品质下降,产奶量降低甚至奶牛的经济价值降低,对奶牛产业的影响十分巨大。研究表明,在一个牛群中大多数乳腺炎是隐性型,由乳腺炎造成的奶牛场的经济损失,70%是由隐性乳腺炎引起的。在奶牛业发达的美国,患有隐性乳腺炎的奶牛达 50%。据文献记载,我国奶牛隐性乳腺炎阳性率为 6.4%~75%,每头患牛每年造成损失 1526.25 元。因此,从经济角度上来说,隐性乳腺炎是所有奶牛乳腺炎中危害最为严重的一种(双金等, 2001; 李进, 2014)。

慢性乳腺炎是由乳房持续感染引起的,通常没有临床症状,多以亚临床的形式持续几个月甚至几年,偶尔可发展成临床乳腺炎,但在短时间突发以后通常又转为非临床型,每次从隐性乳腺炎变成临床乳腺炎的过程,都伴随着乳腺组织的损坏过程,慢性乳腺炎一般由急性临床乳腺炎处理不及时或治疗不完全引起,造成持续感染,使乳腺组织渐进性发炎。全身症状不明显,仅是乳房有肿块,乳汁变清,有絮状物,产乳量明显下降,长期可导致乳腺组织纤维化,乳房萎缩。慢性顽固性乳腺炎,乳房可见坚硬的、大小不一的肿块,形

状呈圆形或卵圆形，且容易复发很难治愈（Fox et al., 2003; 李进, 2014）。慢性乳腺炎病例发展的结果是乳房萎缩，成为瞎乳头。患病奶牛乳汁有不同程度的发黄和变稠，常含有块状或絮状物，患区乳房组织弹性降低，泌乳量减少，部分病牛会出现体温升高或食欲减退，甚至乳房肿大等症状（赵中利, 2012）。

（三）国内对乳腺炎的分类

国内学者主要是根据病程的长短和临床症状将奶牛乳腺炎分类如下：①最急性乳腺炎，通常是一个乳区突然发生，乳腺组织红、肿、热、痛等炎症反应明显，体温升高，乳汁稀薄或混有较多的絮状物，产奶基本停止，炎症反应可由病原微生物自身，组织或细菌产生的酶、内毒素或外毒素，白细胞产物等引起。奶牛的全身性症状（发热、厌食、抑郁，有时甚至死亡等）主要是由败血症和毒血症造成的，而且这些症状通常出现在乳汁和乳腺有明显临床表现之前。②急性乳腺炎，乳腺组织出现红、肿、热、痛等炎症反应，产奶量下降，乳汁中混有较多的絮状物和（或）凝块，全身性临床症状与最急性乳腺炎相似，但没有其严重，如体温可能略微升高。③亚急性乳腺炎，乳腺组织基本没有红、肿、热、痛等炎症反应，也没有全身性临床症状，但乳汁中有凝块或絮状物。④慢性乳腺炎，触诊乳腺组织有硬块，乳汁稀薄易分层，产奶量下降。⑤隐性乳腺炎，乳房和乳汁肉眼观察均正常，但乳汁中体细胞数增多，需借助实验室方法检查。

根据急性乳腺炎发病特点的不同，可分为浆液性乳腺炎、卡他性乳腺炎、纤维蛋白性乳腺炎、出血性乳腺炎、化脓性乳腺炎、乳房坏疽和乳头管狭窄及闭锁等类型。

1. 浆液性乳腺炎 浆液性乳腺炎是以乳房充血、皮下及乳腺小叶结缔组织内有大量浆液性渗出物和白细胞为特征的一种急性乳腺疾病。引起浆液性乳腺炎的病原微生物有链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌等。它们在乳房发生创伤和挤乳不当造成损伤时，通过皮肤和血管侵入乳房结缔组织而引起发病。浆液性乳腺炎可由胃肠或子宫疾病继发。牛患病后病程发展快，病势重。临床表现为乳房肿胀增大，皮肤充血发红，触诊发热，有疼痛反应，乳房淋巴结肿大，乳房实质坚硬。此病多发于母牛产后最初几天，4个乳区同时发病的较为少见，往往发生于4个乳区中的一个，或是乳房的一半。轻症者初期乳汁变化不大，以后逐渐变稀薄并带有絮状物，絮状物由少而多。重症病例乳房严重肿胀，患病乳区的产奶量减少，伴随病程的发展，乳汁变稀薄，内有絮状物，严重时有明显全身症状，患牛食欲减退、体温升高、精神不振。剖检可见乳腺小叶呈灰黄色，小叶间的间质及皮下结缔组织内有大量的浆液性渗出物和血管充血现象（顾有方等, 2005; 李进, 2014）。

2. 卡他性乳腺炎 卡他性乳腺炎是乳腺泡上皮和输乳管上皮发生变形而形成的卡他性炎症。其病理特征主要是腺泡、腺管、输乳管和乳池的腺状上皮及其他上皮细胞剥脱和变性，渗出的白细胞及脱落的上皮沉积在上皮细胞的表面，因炎症只涉及表皮层，故称卡他性乳腺炎。链球菌、葡萄球菌及大肠杆菌是其主要病原，当乳头黏膜受损伤、乳头括约肌松弛或乳房受冻时，病原菌即可侵入乳房引起发病。发病初期乳房不表现发热、疼痛等炎症过程，也不表现全身症状。随着病程的进一步发展，发热、精神沉郁等全身症状逐渐出现。由于病变部位的不同，症状也有所不同。腺泡卡他为个别小叶或数个小叶的局限性炎症，由炎症部位挤出的乳汁呈水样，有絮状凝块。如果炎症扩大，患部温度增高，

挤奶有痛感,并有体温升高、食欲减退等全身症状。输乳管和乳池卡他的局部症状表现为乳头壁变厚,输乳管扩大,患部充血,乳汁中含有絮状凝块,凝块可阻塞输乳管使管腔扩大,乳头基部触诊检查可摸到波动,其絮状物凝块可阻塞乳头,不易被挤出。剖检可见乳腺小叶肿大,浅黄色颗粒状,按压时小叶流出浑浊渗出物。随着病区乳汁挤尽,后挤出的奶转为正常(李进,2014)。

3. 纤维蛋白性乳腺炎 纤维蛋白性乳腺炎是一种非常严重的急性乳腺炎,其特征是纤维蛋白渗出到乳池、乳管的黏膜表面,或沉淀在乳腺实质深处,可继发乳腺坏死或脓性液化。通常由卡他性乳腺炎发展而来,患部乳区发热,严重肿胀、疼痛,乳房淋巴结肿大,触诊乳房基部时,可听到捻发音。全身症状明显,体温升高,饮食减退或废绝。

4. 出血性乳腺炎 出血性乳腺炎是以乳汁呈现血样变化为特征的乳腺炎。一般由卡他性或浆液性乳腺炎转变而来,多发生在半个或整个乳房,常为急性发病。这些类型的乳腺炎能使乳房血管渗透性增高,导致血细胞涌出血管壁而进入乳腺细胞。此外,乳房受钝性创伤引起乳房内血管破裂,是发生本病的次要原因。某些细菌或腐败菌感染也可引起疾病,由此而引发的乳腺炎,往往伴有严重的全身症状。出血性乳腺炎主要临床特征是乳腺深部或输乳管出血。在发病的初期只是乳汁中发现血液,呈粉红色血样或已凝结成血块、血丝等,挤奶时表现为剧烈疼痛。随着病情发展,患病部位显著肿胀。有时乳房上出现严重水肿、发硬,皮肤出现红色或紫红色斑点。各乳区可同时发现血液,有的仅出现在一两个乳区中。血量的多少不一,差异较大,病牛通常全身状况无明显变化。个别病牛可见体温升高、精神萎靡、食欲减少等症状(曹立亭等,2009;李进,2014)。

5. 化脓性乳腺炎 化脓性乳腺炎分为化脓性卡他性乳腺炎、乳房肿胀和乳房蜂窝织炎等几种。临床上均以患部初期发热、肿胀、疼痛,后期化脓,并伴有体温升高、乳房淋巴结肿大、饮食减少、精神萎靡为特征。化脓性乳腺炎可由细菌感染引起,也可由非感染性乳腺炎(如机械性损伤、创伤引起的乳腺炎)转化而来,但最终都有病原菌的参与。化脓性卡他性乳腺炎除了以上特点以外,还表现类似卡他性乳腺炎的症状。急性期过后,患部的炎症程度渐渐减轻,肿胀缩小,精神及饮食正常。但患部组织变性,乳汁稀薄,呈黄色或浅黄色。

6. 乳房坏疽 乳房坏疽是乳腺炎的并发症,由腐败菌通过乳管、血液循环系统或乳房创口而感染乳房所引起。临床表现为乳房的皮肤上出现圆形病灶,局部疼痛,呈红色或紫色,随着病程的发展,患部组织逐渐腐败分解,流出污秽分泌物,有臭味;患侧淋巴结增大,泌乳停止或可挤出少量的脓样分泌物。在患病期间,患牛行走时后肢展开,由于疼痛拒绝挤奶器或犊牛吸奶。

7. 乳头管狭窄及闭锁 乳头管狭窄表现为挤乳时只可挤出一股细的乳流,是由于平时挤乳操作不当,如人工挤乳动作粗鲁和机械挤乳间隔时间过长等造成乳头机械性损伤,使乳头管黏膜结缔组织增生,致使乳头管狭窄,排乳困难。外伤性或炎症引起的狭窄,可见到局部症状。当仔细捻转乳头时,可发现乳头管粗硬。此外,乳头管腔内生长肿瘤也可发生闭锁。乳头管闭锁的症状表现为乳房充满,但挤不出乳汁,仔细进行触诊检查,可发现乳头管局部有增厚变硬的地方。

8. 亚急性乳腺炎 亚急性乳腺炎是一种温和的炎症,乳房和乳汁肉眼观察无变化,

通常奶中可见小的薄片或凝乳块，牛奶颜色变淡，一般没有全身症状。有时乳房有肿胀，产奶量下降。亚急性乳腺炎通常发生于急性乳腺炎经过抗生素治疗的牛。未经治疗的牛，尽管症状温和，往往导致乳腺炎反复发作，尤其是金黄色葡萄球菌引起的临床乳腺炎。

第二节 奶牛乳腺炎的病因

乳腺炎是奶牛最常见的疾病之一，已经报道的能够引发奶牛乳腺炎的不同致病性微生物共有 137 种，包括细菌、支原体、酵母菌和藻类 (Bradley, 2002)。国内报道奶牛乳腺炎主要致病菌有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、乳房链球菌、停乳链球菌、无乳链球菌和酵母菌。某些情况下其他一些疾病也会继发乳腺炎，临床上最多见的继发乳腺炎的疾病是子宫内膜炎和阴道炎，其次是中毒性疾病、高热性疾病 (Nash et al., 2000; Riollet et al., 2001)。卫生条件、环境、奶牛年龄、泌乳阶段、温度等因素都会影响感染乳腺炎的概率。挤奶员不正规操作、未消毒挤奶设备、多重使用抗生素治疗、没有适当消毒的器具、不当的卫生习惯等因素，都会导致细菌在奶牛间的传播。

一、病原微生物方面的因素

在健康奶牛的乳房上或乳房内有大量的微生物寄居。据报道，可以从奶牛乳腺中分离出 137 种微生物。国内外众多学者调查研究发现，引起乳腺炎最主要的细菌有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌、酵母菌，其中链球菌有五类：无乳链球菌、停乳链球菌、乳房链球菌、化脓链球菌及粪链球菌。感染链球菌的奶牛，大多取慢性经过，多数无临床症状。无乳链球菌有高度传染性，潜伏期较长，可达数月，不易被发现，主要通过挤奶员的手和消毒不彻底的奶杯传染 (马吉锋等, 2010)。

病原微生物按其传染方式及生活繁殖场所大致可分为两类，一类是接触传染性病原微生物，如无乳链球菌、金黄色葡萄球菌、停乳链球菌和支原体等，这些微生物定植于乳腺内并通过挤奶员或挤奶设备传播；另一类是环境性病原菌，此类病原菌主要在粪便、垫料或褥草、污水、运动场等处生活和繁殖，奶牛因接触污染的外界环境而感染，并导致发病，主要包括致病性大肠杆菌、沙门氏菌、化脓棒状杆菌、乳房链球菌等。此外，其他的病原微生物如真菌、支原体等也可引发乳腺炎。易本驰 (2007) 在对河南信阳地区奶牛乳腺炎发病规律调查研究中发现，该地区奶牛隐性乳腺炎发病率为 51.81%，其中，葡萄球菌导致发病的占 35.36%，链球菌占 14.49%，革兰氏阴性杆菌引发的占 49.43%。

二、管理因素

管理不当也是引发乳腺炎的主要原因之一。管理不妥，如对临床乳腺炎未能采取针对性治疗，不能及时淘汰久治不愈病牛，致使传染源一直存在于牛群中，给健康奶牛造成极大威胁。

挤奶操作不当造成的乳房损伤也是引起乳腺炎最常见或最主要的原因之一，主要有手工挤奶时没有使用拳握式挤奶法或机器挤奶时真空压过高、频率过快或过慢、挤奶杯有损伤等。

另外，挤奶时间过长、挤奶工具未定期消毒或挤奶后不用消毒液浸泡、乳腺炎病牛与健康奶牛共用一套挤奶设备、牛舍和运动场有尖锐异物、牛只自己踩伤或压伤等也可引起

乳房损伤,继而发生乳腺炎(肖定汉,2002)。干奶不合理,如对已达到干奶期的奶牛不能及时科学地进行干奶或是干奶时间掌握不好;干奶前最后一次挤奶未能挤净或是挤净了但没用抗菌药物封闭乳头,以及对高产奶牛自然干奶时不能减少精料和限制饮水次数,这些都可导致干奶期或是下一个泌乳期奶牛乳腺炎发生。

三、营养因素

机体抵抗力与营养紧密相关,特别是产犊前后的营养水平对母牛产后疾病的易感性具有重要影响。饲料营养不全,如饲料中维生素或微量元素的缺乏会降低机体免疫力,进而促进乳腺炎的发生和发展。饲喂过量的氮或蛋白质也是促发乳腺炎发病的因素之一,饲料中脲的含量增多可使感染乳房的数量和敏感性增加 16%。干奶期日粮中的矿物质不平衡也会增加乳腺炎的风险,如产褥热或低血钙症的母牛,产犊后 3 天内乳腺炎风险增加 5.4 倍,乳房水肿的风险增加约 3 倍(丁丹丹,2014)。

(一) 氮和蛋白质

日粮中含有过多的氮和蛋白质是引发乳腺炎的原因之一。很多人认为,奶牛日粮中的蛋白质含量与乳腺炎的发生率没有明确的联系。有研究报道,氮不是以蛋白质的形式影响乳腺炎的发生率,而是以尿素、氨气等形式来影响的。

(二) 钙磷比例

日粮中钙磷比例失调会导致奶牛产后发生产褥热。在大型奶牛场中,如果日粮中缺乏钙元素,奶牛将会在产后几小时发生由大肠菌群引起的乳腺炎。在干乳期,低血钙症通常是由日粮中钙磷比例不协调引起的。

(三) 硒和维生素 E

有研究人员对硒和维生素 E 在乳腺炎防治中的作用进行调查发现,日粮中保持合理的硒含量有助于预防乳腺炎,能够降低感染的严重程度以及缩短感染的持续时间(Mukherjee, 2008)。另外,硒还能够通过增加白细胞的释放和吞噬细胞的功能来加强机体的免疫功能。日粮中同时添加适量的硒和维生素 E 才能够充分发挥其作用,仅添加维生素 E 能够降低乳汁中的体细胞数,但是不能改变乳腺炎的发生率。仅添加大剂量的硒对奶牛不但无益,而且还有毒性作用。奶牛日粮中每天添加 16 mg 的硒而不添加维生素 E 可增加乳腺炎的发生率(付云贺,2015)。

大量的研究表明,硒和维生素 E 增强中性粒细胞吞噬活性,降低氧化应激水平,提高机体免疫调控能力,并能降低乳腺炎发生风险(张雯,2014)。有研究证明,维生素 E 在奶牛围产期对其他肠道疾病以及临床乳腺炎仅有有限的治疗作用,对于不清楚奶牛状况的情况下使用维生素 E 反倒有不良影响(Bouwstra et al., 2010),这表明奶牛应该在有效监测或者基于硒和维生素 E 缺乏的情况下使用。此外,在补充维生素、矿物质和微量元素时,应该考虑到不同的国家和地区的差异(土壤、谷物、青贮等方面的差异)。奶牛产犊前 1 个月应该补硒以增加血液谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性,降低体细胞数(SCC)在奶牛泌乳时的含量,各种来源的硒,如注射用亚硒酸钠、钼硒或酵母硒均具有较好的预防和治疗

作用 (Ceballos-Marquez et al., 2010)。矿物质和维生素的补充与奶牛产犊前后血液及乳汁中性粒细胞的活性、数量有关, 而其与维持乳腺健康有关 (Green and Bradley, 2013)。

反刍动物严重缺硒可导致营养性肌病, 又称白肌病 (white muscle disease, WMD)。临界水平的硒缺乏在成年奶牛中常见, 长期处于临界水平的缺硒, 增加了奶牛罹患乳腺炎、子宫内膜炎和胎衣不下的风险 (Bourne et al., 2008)。多项研究表明, 添加硒能够增强细胞的吞噬活性并降低临床乳腺炎风险, 硒缺乏与牛奶中高体细胞数和泌乳早期易患临床乳腺炎有直接关系。有趣的是, 饲喂硒浓度在 16 mg/天时, 反而提高了奶牛临床乳腺炎的发病率, 因此硒浓度超过临界阈值时对机体有损伤作用 (张雯, 2014)。奶牛乳汁中硒含量水平与奶牛罹患金黄色葡萄球菌型乳腺炎风险呈负相关, 饲料中添加硒降低了放牧奶牛乳腺内感染病原菌的概率, 同时降低了泌乳早期较高的奶牛乳汁中体细胞数 (Ceballos et al., 2010)。每千克饲料干物质添加亚硒酸钠 0.05~0.35 mg 饲喂奶牛, 在泌乳 14~16 周通过乳头管人工感染大肠杆菌, 加硒组未发生临床乳腺炎, 而对照组发生了较为严重的乳腺炎症状。硒的添加浓度, 美国研究委员会 (National Research Council, NRC) 建议为 0.3 mg/kg 干物质, 英国推荐使用量是 0.1 mg/kg 干物质。多项研究均已表明, 饲料中添加适量的硒, 能够最大限度地降低乳腺炎、白肌病和呼吸系统疾病的发病率。由于奶牛机体硒浓度的提高, 人类可以通过牛奶和肉类摄取足够的营养硒, 而预防和治疗某些疾病 (Sheppard and Sanipelli, 2012)。

研究较多的与奶牛乳腺炎相关的硒蛋白是谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX), 其具有保护吞噬细胞免受氧化损伤的作用, 且其血液浓度与 SCC 呈负相关, 因此, GPX 的抗氧化作用对亚临床乳腺炎的发病率和临床乳腺炎的疾病严重程度均具有一定的影响 (Spears and Weiss, 2008)。研究表明, 饲料加硒可以显著提高超氧化物歧化酶的表达, 其血清活性 (16.01 IU/mL) 与乳腺炎组 (12.85 IU/mL) 和正常组 (14.78 IU/mL) 相比, 具有显著提高。临床添加营养硒, 特别是与维生素 E 合用时, 提高了 GPX 的表达, 同时增强了血液和乳汁中多形核白细胞的吞噬活性和吞噬指数, 与单独的恩诺沙星治疗组相比, 加硒组显著提高了乳腺中性粒细胞的抗炎作用, 降低了乳汁中的体细胞数, 提高了奶牛对乳腺内感染的抗病能力 (Ugall et al., 2008)。研究表明, 牛外周血淋巴细胞硫氧还蛋白氧化还原酶 (thioredoxin reductase, TrxR) 的活性降低导致了围产期奶牛发生氧化应激和乳腺促炎因子的表达升高, 添加亚硒酸钠显著提高了牛内皮细胞的 GPX 和 TRxR 活性, 减弱了氧化应激诱导的炎症反应和免疫亢进。围产期和泌乳中前期奶牛乳腺组织中 GPX、TrxR 与促炎细胞因子 TNF- α 、IL-2、IFN- γ 等基因表达呈显著的负相关, 因此, 硒蛋白在调节免疫功能和炎症反应方面起关键作用 (Klein, 2009)。

(四) 营养均衡

一般情况下, 奶牛乳腺炎的易感性与饲料密切相关。奶牛过多的身体能量损耗和血液高 β -羟丁酸浓度会增加牛群水肿的风险, 而这又与临床乳腺炎的发生风险较高相关 (Compton et al., 2007)。因此, 减少体质损耗和过度动员个体的能量损失似乎是降低奶牛乳腺炎易感性的一种合理策略。治疗用的离子载体 (最初被开发为抗球虫药的家禽抗生素, 用于牛生长促进饲料添加剂, 如莫能菌素) 可以降低奶牛的乳腺炎发生风险 (Parker et al.,

2008), 而离子载体在奶牛中的使用, 促使奶牛体况评分升高及 β -羟丁酸和游离脂肪酸浓度降低, 并进一步导致奶牛隐性乳腺炎感染率的降低 (Ugall et al., 2009)。虽然产犊前饲喂干草、青贮饲料、甜菜浆或玉米青贮可能会增加乳腺炎的风险, 但对其相关性阐述并不明显, 可能与特定的饲养方式或牛场管理水平抑或环境卫生有关, 而不是营养和乳腺炎之间的实际关联 (Vlieghe et al., 2012)。

铜具有抗氧化功能, 能减少奶牛临床乳腺炎发病; 锌在防止上皮细胞感染方面有重要作用, 但其在保护乳腺免受病原感染方面的作用还有待研究。维生素 A 和 β -胡萝卜素具有保护黏膜表面免受氧化应激损伤的作用 (Heinrichs et al., 2009)。哺乳奶牛对维生素和矿物质的需求一般是由生长速率和身体相对成熟时的体重决定的, 但很少有具体的数据。从管理的角度来看, 奶牛日粮维生素和矿物质的补充应因地/因群而异, 但围产期奶牛和泌乳奶牛的饮食结构务必最优化。

日粮中营养不均衡, 如蛋白质、豆科植物 (青苜蓿等) 含量过多, 胡萝卜素、维生素 A、维生素 E 缺乏都会提高乳腺炎的发病率, 因此科学合理的管理与饲养是降低乳腺炎发病率的必要措施 (李诗莹, 2015)。

四、环境性因素

气温突变、气候寒冷或过热、空气过湿或曝晒等都会使奶牛处于应激状态, 使机体免疫力下降, 直接或间接影响乳腺炎的发生率。牛舍采光不好、通风不良、空气质量差、尘埃多等是导致乳腺炎发生率上升的因素; 运动场牛粪堆积、未定期消毒、垫料不干净等在乳腺炎的发生过程中起重要作用, 不用垫料的奶牛比用垫料的奶牛乳腺炎的感染水平高一倍 (周成青, 2013)。

(一) 气候

气候对乳腺炎的发生有着直接或间接的影响, 严寒、干燥、湿度过高、热应激等均有助于乳腺炎的发生。有研究报道, 气温的剧烈变化常会导致乳腺炎发生, 但是需要与其他因素相互作用才能引发乳腺炎。夏季乳腺炎是一种特殊的乳腺炎类型, 主要是由昆虫叮咬使乳腺感染化脓棒状杆菌和其他厌氧菌而引发的, 该类乳腺炎的发生率和奶牛场所处的地理位置的气候有关 (付云贺, 2015)。

(二) 舍饲

如果一直在室内饲养奶牛, 乳腺炎的发生率会增加, 因为滞留在圈舍内乳腺损伤的风险较大, 而且室内的病原微生物数量多于室外。在草场上自由活动的奶牛群, 只有挤奶时奶牛才会进入室内, 这种情况下很少有奶牛发生由大肠菌群引起的乳腺炎。

(三) 圈舍空气质量

圈舍内过于干燥、湿度过高、温度频变等都能使乳腺炎的发病率增加。这些因素对圈舍中病原菌的密度有较大影响, 如当相对湿度较低时, 奶牛会发生肺炎杆菌感染, 而由大肠杆菌引起的感染则不会随着湿度有太大变化 (付云贺, 2015)。

(四) 垫草

感染乳腺炎的奶牛所产的乳汁,其湿度有利于微生物的生长。奶牛一天中约有 14 h 与垫草接触,没有垫草的牛场乳腺炎的发生率是有垫草牛场的两倍。另外,不同材质的垫草可能对不同病原微生物的生长有不同的影响。最常用的是稻草,切碎的稻草和锯末比报纸好,但是稻草比锯末更有利于克雷伯菌的生长(付云贺,2015)。

五、乳房形状的影响因素

从解剖学角度来看,如果乳腺位置浅及向内、4个乳房附着牢固、乳头管括约肌紧张,奶牛在活动、趴卧时,乳头不易拖地,在地上、垫草及土壤上的病原菌不易进入乳房,因此可以减少乳腺炎的发生。而且形状良好、匀称的乳房产奶量偏高。所以在选择高产奶牛时要考虑乳房的形状,避免选择乳房位置深及向外、乳房松弛,以及悬池、乳头管括约肌松弛的奶牛(李诗莹,2015)。

奶牛的乳房位于耻骨部的腹下壁,两股根部之间。其外形各异,有盆形、山羊形、发育不平衡形和扁平型等,以盆形为好(郭梦尧,2014)。乳房的外形与品种、年龄、泌乳期、护理及组织发育程度等因素有关。乳房分4个区,称乳区,左右乳区间有浅的乳房间沟,前后乳区间则无可见界限。每个乳区之下各有一个乳头。乳头大体呈圆锥形,长5~8 cm,5 cm 以下为短型,10 cm 以上为长型,其长度受挤奶方法影响很大。乳头下端中央,有一乳头孔,为乳头管的开口。20%~40%的牛有副乳头,形小,多位于后乳头后方或前后乳头之间,有一定的遗传性。个别的副乳头有小的乳腺及乳头管,但与泌乳量无关。乳头损伤引起疼痛,同时破坏乳头管内的黏膜组织,为病原的入侵提供了门户。病原微生物通过乳头管进入乳腺,通过内部各个乳导管感染乳腺小叶,继而引发感染。引起乳头损伤的因素主要包括:①挤奶的方式不正确,如挤奶手法不当、挤奶器不合格等;②乳头内陷或先天生长过小,导致幼畜吸奶用力过度,引起乳头内压增大造成损伤;③频繁且长时间的挤奶增加乳头受损的机会等(郭梦尧,2014)。

另有报道,前乳房附着松弛、乳房悬垂不良、乳房位置较深、后乳房附着松弛、乳头位置向外、长乳头的奶牛易患乳腺炎,而盆碗形乳房的发病率低于圆筒形乳房,乳头管紧的奶牛发病率低(Sabini et al., 2001; 丁丹丹,2014)。

六、遗传因素

目前,外国有报道说,乳腺炎一定程度上与遗传因素有关,发病率较高的母牛,其后代往往也具有较高的发病率。不同品种奶牛对乳腺炎的易感性也不相同,产奶量高与乳腺炎发生率有一定的相关性,高产奶牛一般情况下更易受到感染。从遗传学角度来看,乳脂率和临床乳腺炎的发病率有着一定的关系。奶牛产奶量越高,对乳腺炎的敏感性越高(Sordillo, 2005)。

荷兰斯坦奶牛乳腺炎的发生率比其他品种奶牛相对较高(Compton et al., 2007)。先天免疫水平也影响着动物乳腺炎的发生,研究显示防御素分泌多的奶牛不容易被病原菌感染,Toll样受体-2(Toll-like receptor-2, TLR-2)等病原体相关分子模式(PAMP)与乳腺

炎的发生也具有密切的联系 (Compton et al., 2009)。

研究表明, 种公牛的差异对后代患乳腺炎的概率具有重要的影响 (Heringstad et al., 2001; 郭梦尧, 2014), 高产奶牛乳腺炎的发病率一般较高。不同品种的奶牛乳腺炎的发病情况也存在差异, 最直观的证据是, 黄牛、牦牛、水牛等品种不易患乳腺炎 (高树新, 2005)。

七、年龄因素

乳腺炎发生率及乳汁中体细胞数会随着奶牛年龄的增大而增大。这主要是由于随着泌乳期的增多, 乳导管不断扩大, 使得更多的病原微生物能进入乳房, 导致乳腺组织损伤和体细胞数大幅上升。也有报道称, 这可能是由于它们机体的代谢功能减退或是被致病菌感染导致的。

八、其他因素

产后奶牛对疾病抵抗力降低, 大量的泌乳造成营养不良、贫血、应激或疲劳, 也使动物机体对病原菌的抵抗力降低。此时犊牛口、鼻、喉处的细菌, 以及工作人员带入的细菌更容易通过乳导管感染乳腺。此外, 乳腺炎病史及其他乳腺疾病也是导致乳腺炎发生的因素。

有研究表明, 产科疾病与奶牛乳腺炎的发生具有明显的相关性。乳腺水肿、乳头水肿、乳汁中带血等显著地促进产后 1 周内乳腺炎发生及后期金黄色葡萄球菌性奶牛乳腺炎的发生。产前挤奶会减少乳腺水肿及促进致病菌的排出, 降低乳腺炎的发生 (Bowers et al., 2006; Daniels et al., 2007)。瑞典的奶牛场里, 围产期产科疾病, 如胎盘滞留、子宫内膜炎、子宫积脓、难产等会诱发乳腺炎 (Svensson et al., 2006)。

第三节 奶牛乳腺炎病原学特点

已经报道的能够引发奶牛乳腺炎的不同致病性微生物共有 137 种, 包括细菌、支原体、酵母菌和藻类 (Bradley, 2002)。在过去很长的一段时间内, 世界各国的研究人员也把主要精力投入到对于奶牛乳腺炎致病微生物的分析中, 并且对各自的研究进行了报道, 如来自北美地区 (Middleton et al., 2005)、欧洲 (Piepers et al., 2010)、新西兰 (Compton et al., 2007; Parker et al., 2008) 和南美地区等的报道。国内报道奶牛乳腺炎主要致病菌有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、乳房链球菌、停乳链球菌、无乳链球菌和酵母菌。总体上可以分为两大类: 第一类是接触传染性病原微生物, 它们通过挤奶员或挤奶机在奶牛个体间和牛群间进行传播, 是引起奶牛发生乳腺炎的最主要的致病菌, 这类致病微生物包括金黄葡萄球菌、无乳链球菌和停乳链球菌等; 第二类是环境性病原微生物, 包括大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、沙门氏菌、凝固酶阴性葡萄球菌、乳房链球菌、支原体和真菌等, 它们通常存在于奶牛的皮肤、乳导管、垫料、粪便和土壤中, 甚至是来自于犊牛的口腔。在一些乳汁样品中, 可分离出两种或者两种以上病原菌混合感染。

(一) 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌引起的乳房感染主要为慢性感染, 并且难以诊断, 主要感染源为感染乳区的分泌物, 即经过挤奶员的手和挤奶设备进行传播。当挤奶设备不良或奶牛乳头有损

伤、挤奶程序不合理时,金黄色葡萄球菌就会趁机侵入乳腺组织,且金黄色葡萄球菌容易对抗生素产生耐药性,因此,金黄色葡萄球菌一旦在牛群中定植下来就很难被清除(丁丹丹, 2014)。有研究认为,金黄色葡萄球菌是奶牛乳腺炎致病菌里面最难治疗和防控的病原(Barkema et al., 2006)。感染的奶牛不仅自身发病,同时还会随乳汁将金黄色葡萄球菌分泌,致使其他奶牛被感染,对饲养人员及消费者身体健康造成危害。虽然目前的研究认为金黄色葡萄球菌主要引发亚临床型奶牛乳腺炎(Piepers et al., 2010),但也不可忽视其还可以引发临床乳腺炎。金黄色葡萄球菌的传播很容易,饲养场里的苍蝇就可以做到,而且该菌的变异及流行速度很快。金黄色葡萄球菌应该作为奶牛乳腺炎的主要病原进行更为深入的研究(Waller et al., 2009)。

金黄色葡萄球菌性乳腺炎通常表现为慢性或者呈最急性。急性患牛可致其死亡,慢性患牛其乳房被侵害。金黄色葡萄球菌主要感染源来自乳区的分泌物,经挤奶员的手臂、挤奶设备传播,引起慢性感染,对抗生素易产生抗药性。由金黄色葡萄球菌引起的慢性病例极少自愈,除了降低产量之外,病变乳区还会纤维化,造成永久实质性破坏。

金黄色葡萄球菌的感染率为 5%~50%(Leitner et al., 2003),其主要损害乳房上皮细胞和腺泡的功能,使牛奶的产量和质量下降,并且它引起的奶牛乳腺炎很难治愈和根除(Talbot and Lacasse, 2005)。金黄色葡萄球菌入侵乳腺组织的分子机制目前还不很清楚,推测主要有以下因素引起:①定植(colonization);②局部感染(local infection);③进入血液(systemic dissemination);④转移性感染(metastatic infection);⑤中毒症状(toxinosis)。此外,金黄色葡萄球菌产生的超抗原形成免疫抑制,以及它的内化作用可避免免疫系统的监视,也是它能引起疾病发生的重要因素(Ferens and Bohach, 2000)。

由于抗生素的持续选择和滥用、细菌基因突变,以及耐药质粒、转座子或整合子在细菌间的传递,使得金黄色葡萄球菌对多种药物产生抗性,如 β -内酰胺类、青霉素类、头孢类、氨基糖苷类、四环素类、氟喹诺酮类等。耐药机制主要是:①产生钝化酶,如 β -内酰胺酶使 β -内酰胺环裂解而使该类抗生素药物失效;②抗菌药物作用靶点的改变,如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的青霉素结合蛋白(PBP)要比甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)的 PBP 蛋白多个 PBP2a 蛋白, PBP2a 蛋白的转肽酶区与现有抗菌药物的亲和力极低,当抗菌药物抑制正常 PBP 蛋白活性时,它便提供转肽酶活性,继续合成肽聚糖,呈现高度耐药性;③外排泵系统,某些细菌能将进入菌体的药物泵出体外,如金黄色葡萄球菌的 MepA 泵出系统能将四环素、环丙沙星、诺氟沙星等药物泵出菌体;④细菌外膜通透性的改变,主要是细菌外膜上通透性蛋白的性质和数量改变,减少药物的摄入量而导致耐药,如大肠杆菌的 OmpF 蛋白多次接触抗生素后,其结构基因发生突变,引起 OmpF 通道蛋白丢失,而导致 β -内酰胺类、喹诺酮类药物进入菌体的量减少(苏洋, 2013)。邓海平等(2010)报道甘肃地区乳腺炎金黄色葡萄球菌的感染率为 23.08%,菌株对复方新诺明、阿莫西林、青霉素、庆大霉素及四环素等药物具有较强抗性;贵州地区乳腺炎金黄色葡萄球菌的感染率为 58.78%,菌株对复方新诺明、四环素等药物产生较强的抗性。

20 世纪 40 年代以前,金黄色葡萄球菌引起感染性疾病的死亡率很高。青霉素在 1941 年被发现后,使得金黄色葡萄球菌病例的治愈率大有改观,但仅在一年后便发现耐青霉素