北京地区奶牛乳房炎的流行状况调查

高 健，刘修权，陈立本，史为民，苏敬良，韩 博

（中国农业大学动物医学院，北京 100193）

摘要：旨在调查北京奶牛日均产奶量及月均体细胞数的变化情况，以及隐性乳房炎和临床乳房炎的发病及金黄色葡萄球菌引起乳房炎的发病情况。自2008年10月至2009年9月，随机采集北京郊区某牛场肉眼观察正常的奶样720份，用C-Reader计数仪检测奶样的体细胞数，同时分离奶样中的金黄色葡萄球菌。调查表明：1年时间，某牛场共收集到82份隐性乳房炎奶样和75份临床乳房炎奶样。其中，金黄色葡萄球菌感染的乳房炎奶样数分别为31份和25份；凝固酶阴性葡萄球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯氏菌、伤寒沙门氏菌、枯草芽孢杆菌感染的乳房炎奶样数总共为78份；细菌培养为阴性的奶样数23份。根据体细胞计数和细菌培养结果可以判断：月份对隐性和临床乳房炎的发生均有明显的影响（6～8月份乳房炎发生率明显较1，2月份高）；而对金黄色葡萄球菌引起的乳房炎发生影响相对较小。金黄色葡萄球菌引起的隐性乳房炎和临床乳房炎发病比例均较高，分别为37.8%和33.3%.

关键词：兽医学；牛乳房炎；金黄色葡萄球菌；发病率；月份

中图分类号：S8 **文献标识码**：A **文章编号**：1674-2850(2010)06-1180-6

Epidemiological survey about prevalence of bovine mastitis in Beijing region

GAO Jian，LIU Xiuquan，CHEN Liben，SHI Weimin，SU Jingliang，HAN Bo

(*College of Veterinary Medicine*，*China Agricultural University*，*Beijing* 100193，*China*)

Abstract：The objective of the present study is to investigate the variance of mean daily milk yield and mean monthly somatic cell count of lactating cows，as well as the incidence rate of sub-clinical and clinical mastitis，and prevalence of *Staphylococcus aureus* mastitis. 720 visually normal milk samples were random collected during 12 month (2008.10～2009.9) on the farm of suburban district in Beijing. Somatic cell counts of samples were examined by C-Reader calculatinginstrument and S. *aureus* isolation was performed from milk samples. During a year，82 sub-clinical milk samples and 75 clinical milk samples were determined. 31 sub-clinical samples and 25 clinical samples were infected by S. *aureus*. 78 samples were infected by several other species including coagulase negative *Staphylococcus*，*Escherichia coli*，*Klebsiella* spp，*Salmonella* spp and *Bacillus* spp. 23 samples were determined as no bacteria growing. Result of this study showed that the impact of month is apparent for total incidence rates of sub-clinical and clinical mastitis (from June to August，the incidence rate is apparently higher than that from January to Februar)，but not so apparent for S. *aureus* mastitis. The prevalence of S. *aureus* in sub-clinical and clinical mastitis are both high (37.8% and 33.3%，respectively).

Key words：veterinary medicine；bovine mastitis；*Staphylococcus aureus*；incidence rate；month

0 引言

奶牛乳房炎是牛场中的常见病之一，给奶牛养殖业造成了巨大的经济损失[1]。根据临床表现可分为临床乳房炎和隐性乳房炎，其中，隐性乳房炎没有乳房和乳汁的肉眼可见变化，仅有体细胞数的升高。目前在我国隐性乳房炎和临床乳房炎的发病率仍然很高[2]。

基金项目：“十一五”国家科技支撑计划重点项目（2006BAD04A05）；高等学校博士学科点专项科研基金（20060019045）

作者简介：高健（1982—），男，博士研究生，主要研究方向：动物疾病防控与监测

通信联系人：韩博，教授，主要研究方向：动物疾病防控与监测以及动物中毒病与代谢病. E-mail：hanbo@cau.edu.cn

病原菌感染乳房是引起乳房炎的最主要病因。能引起乳房炎的病原菌有很多种，金黄色葡萄球菌是其中一种重要的接触传染性乳房炎致病菌。1996 年，潘虎等[3]进行了一次全国性的乳房炎病原菌所占比例的调查，发现金黄色葡萄球菌在隐性乳房炎和临床乳房炎中所占比例分别为 17.44%和 18.39%.

环境温度和湿度对乳房炎发病率的影响在国内外均有报道[4~6]。环境温度和湿度的升高，均会引起乳房炎发病率的增加。研究在此基础上，调查了北京郊区某牛场 12 个月间，乳房炎（包括隐性乳房炎和临床乳房炎）发病率和金黄色葡萄球菌引起的乳房炎发病率随月份的变化情况，及泌乳牛平均体细胞数和平均日产奶量每月的变化情况。

1 材料与方法

1.1 牛群信息

研究调查对象为北京郊区的一个规模化牛场。该牛场共有奶牛 929 头，其中泌乳牛约 425 头。奶牛平均单产量约为 9 000 kg/（年·头）。牛场中的育成牛均为本牛场繁殖生产，不从外面引进牛只。成年泌乳牛运动场及挤奶厅分为 A，B 两区，相隔约 200 m. 每日挤奶 3 次，均为机械挤奶。挤奶前用一次性纸巾清洁乳房及乳头，挤奶前后均用 0.5%碘伏药浴 0.5 min. 但乳房健康管理方案不是很完善。每月进行 1 次奶牛群体改良（dairy herd improvement，DHI）监测。对临床型乳房炎首选抗生素治疗，一般应用青霉素，而很少使用其他种类抗生素。对慢性乳房炎或者持续性乳房炎一般采用姑息性治疗措施，很少予以淘汰。

1.2 仪器设备、培养基及试剂

便携式体细胞计数仪 C-Reader（韩国 Digital Bio Technology 公司）；胰蛋白胨大豆琼脂（美国 BD 公司）；高盐甘露醇琼脂培养基、葡萄球菌属细菌生化编码鉴定管 TH-16S 及其配套试剂（杭州天和微生物公司）；绵羊血采自健康绵羊，兔血浆为健康兔血抗凝处理后离心制得。

1.3 样品采集

自 2008 年 10 月至 2009 年 9 月，每月中旬采集无临床乳房炎症状的乳区奶样，每次随机采集15 头奶牛共计 60 份乳样。同时，随时收集牛场中的临床乳房炎乳区的奶样。样品收集均在无菌条件下进行。首先用一次性纸巾清洁乳房及乳头，弃掉前三把奶，用 0.5%碘伏药浴液消毒乳头 30 s，用无菌纱布擦干，再用浸有 75%乙醇溶液的棉球擦拭乳头及乳头孔，等待自然风干后，采集 15 mL 奶样至无菌处理的奶样瓶中，做好标记后，放于冰盒 4 h 内运回实验室。

1.4 体细胞计数及隐性乳房炎的判定

用便携式体细胞计数仪 C-Reader[7]检测收集奶样的体细胞数。取 100 μL 奶样与 100 μL 染色液混匀，吸取 50 μL 混合液加入塑料芯片的毛细道中，放入仪器中进行检测。体细胞数超过 50 万/mL 的无临床乳房炎症状的奶样被判定为隐性乳房炎奶样。

1.5 金黄色葡萄球菌的微生物培养

将 100 μL 隐性乳房炎和临床乳房炎奶样接种至 5%羊血胰蛋白胨大豆琼脂（tryptose soya agar，TSA）培养基内，用涂布棒将其匀涂布于整个平板，放于 37℃温箱培养 24 h. 如果平板上有 2 种以上的细菌生长，可判定为样品污染。计数样品中的菌量，金黄色葡萄球菌含量大于 300 CFU/mL 的乳房炎乳样，可被判定为由该菌引起了乳房炎。根据血平板上呈溶血、革兰氏染色阳性球菌、触酶实验及凝固酶实验阳性，以及在高盐甘露醇（manitol salt agar，MSA）培养基上生长并使其变黄，初步判定为金黄色葡萄球菌。进一步用葡萄球菌属 TH-16S 生化鉴定系统，挑取单菌落至微量生化鉴定管中，通过各鉴定管的生化反应结果鉴定金黄色葡萄球菌。

2 结果

2.1 奶牛日均产奶量及平均体细胞数随月份的变化

根据每个月对牛场的 DHI 监测结果，在调查期间（2008 年 10 月至 2009 年 9 月），2009 年 7 月的

奶牛日平均产奶量最低，为 27.7 kg/d；2009 年 4 月的日平均产奶量最高，为 33.4 kg/d（如图 1a 所示）。泌乳牛平均体细胞数在 2009 年 6 月最高，为 43.2×10^4 cell/mL；3 月份最低，为 26.3×10^4 cell/mL（如图 1b 所示）.

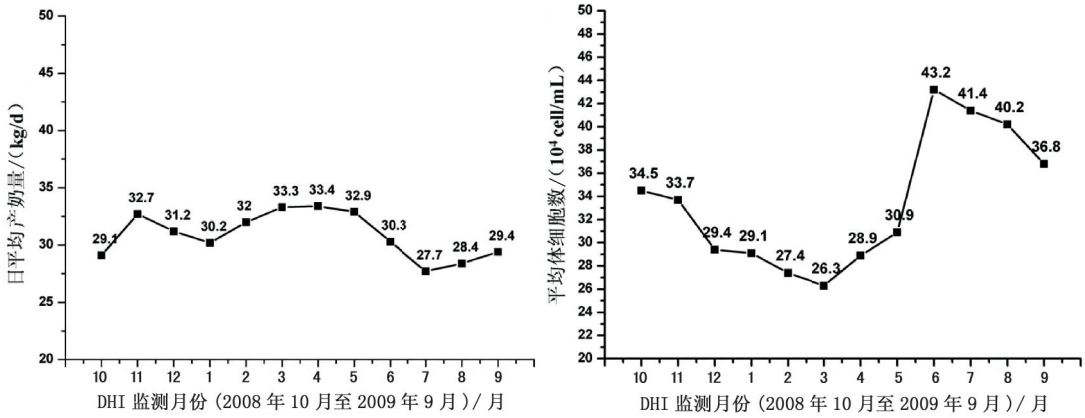


图 1 奶牛日平均产奶量及平均体细胞数随月份的变化情况

Fig. 1 Variation of daily mean milk production and mean somatic cell counts in each month

a－日平均产奶量；b－平均体细胞数

a-Daily mean milk production; b-Mean somatic cell counts

2.2 奶牛乳房炎发病随月份的变化

2.2.1 隐性乳房炎发病随月份的变化情况

在 720 份肉眼观察的正常乳样中，有 82 份为隐性乳房炎乳样。在调查期间，隐性乳房炎的乳区发病率为 11.4%. 调查期间每个月检测出的隐性乳房炎乳样数如图 2a 所示。7 月份隐性乳房炎乳样检出数最多（n=12）；12 月份检出数最少（n=2）。在气温较高的 6～8 月份，隐性乳房炎乳区发病率明显比气温较低的 12 月份和 1 月份高。

2.2.2 临床乳房炎发病随月份的变化情况

在调查期间，共检测到 75 个临床乳房炎发病乳区，其中有 12 个乳区发病呈持续性（临床乳房炎发病至少 2 次）。调查期间每个月发现的临床乳房炎病例数如图 2b 所示。在 6 月份临床乳房炎发病最多（n=15）；12 月份发病数最少（n=1）。与隐性乳房炎发病情况一致，在 6～8 月份，临床乳房炎发病数明显较 12～2 月份高。

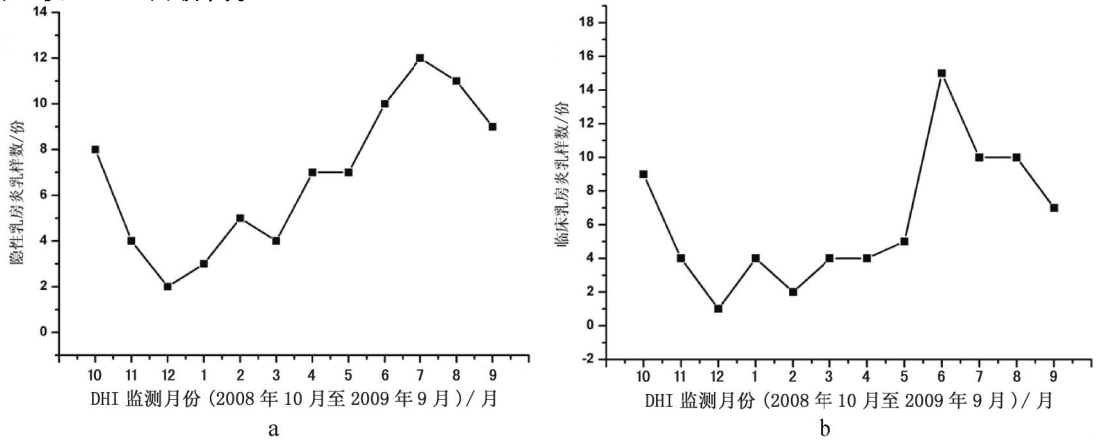


图 2 奶牛隐性乳房炎和临床乳房炎发病随月份的变化情况

Fig. 2 Variation of prevalence of sub-clinical and clinical mastitis in each month

a－隐性乳房炎；b－临床乳房炎

a-Sub-clinical mastitis; b-Clinical mastitis

2.3 金黄色葡萄球菌引起的乳房炎发病随月份的变化

2.3.1 金黄色葡萄球菌引起的隐性乳房炎发病随月份的变化情况

根据乳房炎奶样的细菌培养结果，在82份隐性乳房炎奶样中，发现31份由金黄色葡萄球菌引起的乳房炎奶样。调查期间，每个月发现的金黄色葡萄球菌引起的隐性乳房炎病例数如图3a所示。在4～7月份由金黄色葡萄球菌引起的隐性乳房炎病例数较多。

2.3.2 金黄色葡萄球菌引起的临床乳房炎发病随月份的变化情况

在75个临床乳房炎乳区收集的奶样中，25份被检测出为金黄色葡萄球菌感染。由金黄色葡萄球菌感染引起的临床乳房炎病例数如图3b所示。在6月份金黄色葡萄球菌感染引起的病例数最多，而在温度较高的7，8月份，金黄色葡萄球菌感染引起的病例数有所下降。

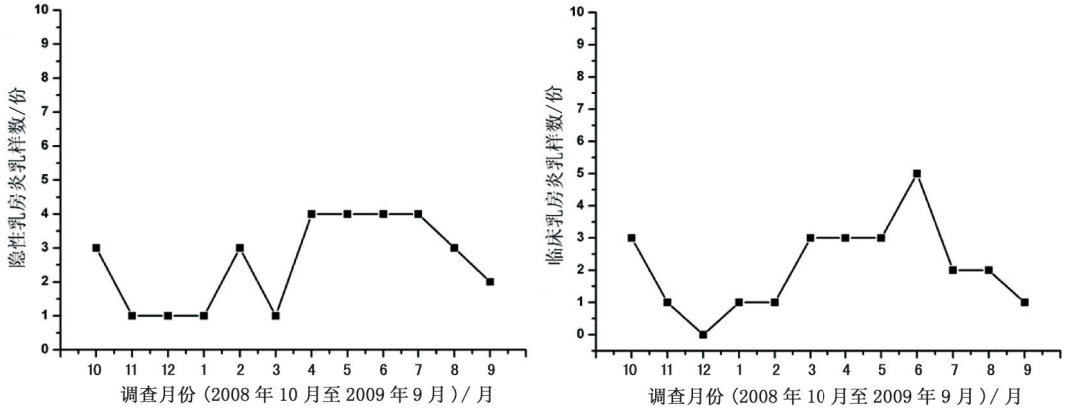


图3 金黄色葡萄球菌引起的隐性乳房炎和临床乳房炎发病随月份的变化情况

Fig. 3 Variation of prevalence of *S. aureus* derived sub-clinical and clinical mastitis in each month

a—隐性乳房炎；b—临床乳房炎

a-Sub-clinical mastitis; b-Clinical mastitis

2.4 乳房炎奶样中分离的金黄色葡萄球菌所占比例

对157乳房炎奶样（82份隐性乳房炎和75份临床乳房炎奶样）进行细菌分离培养的结果显示，其中56份为金黄色葡萄球菌感染奶样（31份隐性乳房炎和25份临床乳房炎奶样），所占比例为35.7%（隐性乳房炎和临床乳房炎中分别占37.8%和33.3%）；78份为其他致病菌感染奶样(包括凝固酶阴性葡萄球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯氏菌、伤寒沙门氏菌、枯草芽孢杆菌等，此处未详细描述其分离鉴定方法)；23份奶样细菌培养结果为阴性。没有发现金黄色葡萄球菌和其他细菌混合感染奶样。每个月份发现的金黄色葡萄球菌奶样、其他致病菌引起的奶样及细菌培养阴性奶样数量如图4所示。在2～5月份，检测到的金黄色葡萄球菌感染乳房炎奶样数均较其他细菌感染的奶样数多，但是从6月份开始，其他细菌感染的奶样数增多。在8，9月份，检测到的其他细菌感染的奶样数明显较金黄色葡萄球菌感染的奶样数多。

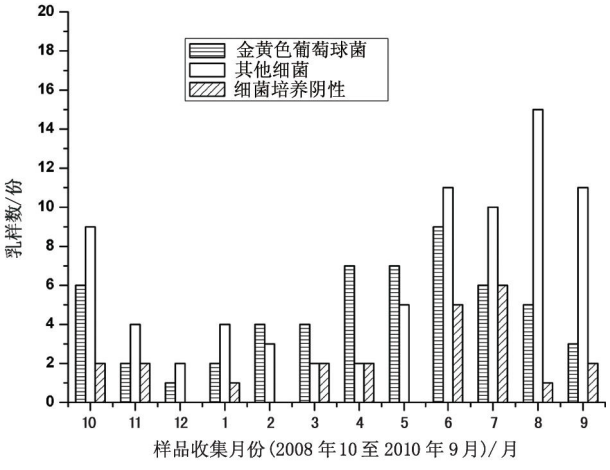


图4 金黄色葡萄球菌、其他细菌感染的奶样数及细菌培养阴性奶样数随月份的变化情况

Fig. 4 Variation of number of milk samples infected by *S. aureus* and other species as well as culture negative samples in each month

3 讨论与结论

金黄色葡萄球菌引起的乳房炎具有易造成持续性感染和对多种抗生素治疗不敏感的特点[8]，与潘虎等[3]对金黄色葡萄球菌引起乳房炎的调查结果相比，在2008年对河北及北京地区的乳房炎流行病学调查中，发现金黄色葡萄球菌所占的比例高达64%[9]. 国内其他研究也表明，金黄色葡萄球菌在乳房炎致病菌中占有很高比例[10]。这说明金黄色葡萄球菌仍然是引起乳房炎最重要的致病菌之一。因此，对乳房炎发病及金黄色葡萄球菌引起的乳房炎发病随月份的变化情况进行调查，对于针对性地制定防治乳房炎的计划，具有非常重要的意义。

通过对牛场的DHI监测，发现日均产奶量和泌乳牛平均体细胞数随月份均有一定的变化。气温升高使奶牛的日均产奶量有一定程度下降，平均体细胞数上升较为明显。由于产奶量、泌乳牛平均体细胞数和乳房炎发病率之间有一定的关系[11~12]，进一步对每个月的隐性乳房炎和临床乳房炎发病数进行检测并分析，发现在环境温度升高后（6～9月），隐性乳房炎和临床乳房炎的发病率均明显升高；而在低温环境、气候干燥的冬季（12～2月），两者的发病率均很低。这说明环境温度对乳房炎的发病率有较大影响。

通过对乳房炎乳样中金黄色葡萄球菌的分离鉴定，发现金黄色葡萄球菌引起的乳房炎发病率虽然随月份有一定变化，但不如乳房炎总发病率受到的影响大。因为金黄色葡萄球菌是一种接触性致病菌，它的主要寄主和繁殖部位是乳房炎患病乳区，在环境中存在的比例很小[13]。结合对金黄色葡萄球菌引起的乳房炎在不同月份发病率的调查结果可以推断，金黄色葡萄球菌引起的乳房炎发病率受牛场管理制度及挤奶操作程序是否规范的影响较大，受到环境温度和湿度的影响相对较小。

在调查牛场中，存在着较多持续性乳房炎奶牛，与健康奶牛在一起混合饲养与挤奶。这加大了金黄色葡萄球菌从持续性患病牛乳区传播到健康奶牛乳区的可能性。研究调查结果也显示：金黄色葡萄球菌引起乳房炎的适度升高（3～6月），可能是由于在此调查期间奶牛本身由于某种应激反应导致体质有所下降而造成的。除金黄色葡萄球菌外，分离得到其他种属的细菌大部分属于环境性致病菌，这些细菌在环境中存在的比例很大。温度和湿度升高，为环境致病菌的繁殖创造了有利条件，从而加大了乳房感染此类细菌的可能性，造成了乳房炎总体发病率升高。

金黄色葡萄球菌引起乳房炎在总体的乳房炎发病中有着不可忽视的比例，其本身又具有持续性发作和低治愈率的特点。因此，加强持续性乳房炎患病牛淘汰措施和完善挤奶操作流程，是降低其发病率的根本。同时，根据不同来源的乳房炎病原菌比例随季节的变化规律，应具体、有针对性地制定不同的乳房炎防治计划。

[参考文献] (References)

[1] SEEGERS H, FOURICHON C, BEAUDEAU F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds[J]. Vet. Res., 2003, 34(5): 475～491.

[2] LI J P, ZHOU H J, YUAN L, et al. Prevalence, genetic diversity, and antimicrobial susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Zhejiang province, China[J]. J. Zhejiang Univ. Sci. B, 2003, 10(10): 753～760.

[3] 潘虎，刘纯传，张礼华，等. 我国部分地区奶牛乳房炎的病因及发病情况调查[J]. 中国兽医科技，1996，26（2）：16～17.
PAN H, LIU C C, ZHANG L H, et al. Investigation on etiopathogenisis and prevalence of bovine mastitis in partial regions of China[J]. Veterinary Science in China, 1996, 26(2): 16～17. (in Chinese)

[4] 梁俭，张孝勉，任莲珠，等. 银川地区奶牛隐性乳房炎与气温、相对湿度、降水量的相关关系[J]. 宁夏农林科技，1989（1）：38～41.
LIANG J, ZHANG X M, REN L Z, et al. Relations between bovine subclinical mastitis and air temperature,

humidity as well as precipitation in Yinchuan[J]. Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology, 1989(1): 38～41. (in Chinese).

[5] RIEKERINK R G M O, BARKEMA H W, STRYHN H. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis[J]. J. Dairy Sci., 2007, 90: 1704～1715.

[6] OSTERÅS O, SØLVERØD L, REKSEN O. Milk culture results in a large Norwegian survey—effects of season, parity, days in milk, resistance, and clustering[J]. J. Dairy Sci., 2006, 89(3): 1010～1023.

[7] MOON J S, KOO H C, JOO Y S, et al. Application of a new portable microscopic somatic cell counter with disposable plastic chip for milk analysis[J]. J. Dairy Sci., 2007, 90(5): 2253～2259.

[8] HAVERI M, TAPONEN S, VUOPIO-VARKILA J, et al. Bacterial genotype affects the manifestation and persistence of bovine *Staphylococcus aureus* intramammary infection[J]. J. Clin. Microbiol., 2005, 43(2): 959～961.

[9] 杨红英，高健，刘修权，等. 奶牛乳汁体细胞数的快速检测及其临床意义[J]. 中国兽医杂志，2010.（已接收）
YANG H Y, GAO J, LIU X Q, et al. Fast detection of milk somatic cell count and its clinical application[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2010. (in press) (in Chinese)

[10] 叶秀娟，杜爱芳，胡松华. 金华地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医，2004 (8): 41～42.
YE X J, DU A F, HU S H. Identification and antibiotic susceptibility test for bovine mastitis pathogens in Jinhua[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2004(8): 41～42. (in Chinese)

[11] EMANUELSON U, FUNKE H. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis[J]. J. Dairy Sci., 1991, 74(8): 2479～2483.

[12] BARKEMA H W, van der PLOEG J D, SCHUKKEN Y H, et al. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis[J]. J. Dairy Sci., 1999, 82(8): 1655～1663.

[13] LARSEN H D, SLOTH K H, ELSBERG C, et al. The dynamics of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in nine Danish dairy herds[J]. Vet Microbiology, 2000, 71(1～2): 89～101.