

无乳链球菌性奶牛乳房炎及其防治研究进展



资料图片

□陈遥

奶牛乳房炎已成为影响奶牛健康的最严重疾病之一,通常是奶牛乳腺组织受到物理机械损伤、化学刺激作用以及细菌、真菌、支原体和病毒等病原微生物感染所引起的炎症,其中细菌已成为我国奶牛乳房炎最主要的病因。奶牛乳房炎的主要致病菌有链球菌、克雷伯氏菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和产气肠杆菌等。由于奶牛乳房炎的治疗周期长、恢复慢和费用高等问题,导致奶牛饲养成本增加、产奶性能下降、乳汁品质受损,给奶牛养殖业造成巨大的经济损失。

链球菌性奶牛乳房炎的致病菌有乳房链球菌、停乳链球菌和无乳链球菌,其中最常见致病菌为无乳链球菌。19世纪80年代,学者首次提出无乳链球菌是奶牛感染后导致产奶量减少的病原菌之一,更是奶牛乳房炎的高发诱因。无乳链球菌又称B群链球菌(GBS),可通过形成生物膜逃逸宿主的免疫机制,进而侵入、黏附和定植于奶牛乳腺中,从而感染引发亚临床型乳房炎,并能长时间存活于乳腺中,严重时发展为临床型乳房炎。其感染奶牛引起的乳房炎具有发病率高,传染性、隐蔽性强等特点,可造成产奶量骤降甚至无乳和高产牛淘汰等严重后果。此外,无乳链球菌也是一种重要的人类疾病病原,通过牛奶为传播媒介感染新生儿、孕妇和老人,使其患病,如链球菌性喉痛和猩红热等。目前,国内外研究表明,抗生素是治疗无乳链球菌感染的首选药物,但无乳链球菌已逐渐显现出对诸多抗生素具有较强的耐药性,导致抗生素的临床疗效逐渐变差。此外,当频繁且不合理使用抗生素时,会导致机体的免疫功能下降、耐药性增强和菌群失调等一系列不良反应,增加患病率和延缓机体恢复期。因此,本文主要综述了无乳链球菌性乳房炎的临床特征、病原学、流行病学、药物治疗、病原的致病机理并结合其耐药性详细阐明预防措施,以及疫苗研发等,旨在为无乳链球菌性奶牛乳房炎的预防控制或治疗方案及研发新型有效药物提供理论参考。

临床症状

根据临床症状的不同,奶牛乳房炎通常分为亚临床型和临床型。奶牛患亚临床型乳房炎后,无明显炎症和全身性的临床症状,主要通过产奶量显著降低和体细胞数显著增多,以及繁殖生育能力下降等指标进行判断。而患临床型乳房炎后,不仅会表现出乳房红肿疼痛、产奶量减少,还会表现出乳房红肿疼痛、产奶量减少和乳汁成分发生变化(如变色、变质、结块和黏稠等),还会伴随出现体温升高、食欲下降、精神萎靡等症状。无乳链球菌通过乳头侵入奶牛乳腺组织,引发炎症反应。尽管无乳链球菌不会诱导奶牛的乳腺组织发生纤维化和脓肿,但会通过持续感染乳腺,促使乳腺组织萎缩、变性并堵塞乳腺管,导致产奶量骤减,严重时丧失泌乳功能。

病原学

无乳链球菌属于革兰氏阳性菌,兼性厌氧菌,菌体通常呈圆形或卵圆形,多数情况下呈双球状或长度不一的链状排列。无乳链球菌的血清型主要根据荚膜多糖进行分类,目前已分离鉴定出Ia、Ib、II、III、IV、V、VI、VII和IX 10种血清型,以及不可分型(NT)。其中Ia、Ib、III和V血清型是已知感染人类的主要致病类型,且III型无乳链球菌具有较强的毒力和穿透力而受到广泛的研究。研究表明,无乳链球菌Ia、Ib和III血清型感染鱼类可引起鱼鳃失衡、食欲不振、嗜睡、单侧或双侧突出眼、角膜混

浊和脏腔肿胀等特征,致使其引发与生长发育受阻、免疫功能下降和繁殖功能障碍等相关疾病,从而对水产养殖业造成严重影响。据报道,我国奶牛养殖场中血清型Ia、II和III无乳链球菌可能是隐性奶牛乳房炎的主要致病菌。

流行病学

无乳链球菌是一种乳腺内的专性寄生菌,具有传染性强和传播速度快等特点。无乳链球菌虽然需要在乳腺内才能长期生存和繁殖,但也可短暂地存活在含乳汁的环境中,如乳头周围、挤奶器具和生活环境中等,并通过与乳汁的直接接触传播,不仅能在物种间传播感染奶牛,还能够跨越物种屏障,感染人类引发疾病。

近年来,无乳链球菌在奶牛乳房炎方面的研究备受国内外广大学者的关注。徐晶晶等对我国新疆乌鲁木齐及周边地区的5家规模化奶牛场进行检测,结果显示,无乳链球菌的分离率为8.3%。王帅等对我国东北、西北、华东和华北地区的部分牧场进行无乳链球菌分离鉴定,发现河北、山东、内蒙古、黑龙江和上海等地区的牧场无乳链球菌的分离率分别为1%、2.1%、3%、5%和7%。张晓光等对长春市某大型集约化奶牛场进行的流行病学调查显示,乳腺炎发病率约4%,分离鉴定出的菌株和检出率分别为:木糖葡萄糖菌49株、42.2%,松鼠葡萄球菌39株、33.6%,大肠杆菌15株、12.9%,金黄色葡萄球菌5株、4.3%,无乳链球菌3株、2.6%,菠萝泛菌3株、2.6%,产酸克雷伯菌和铜绿假单胞菌各1株、0.9%。WATARADEE等在泰国中部地区的集约化奶牛场中,对诊断为临床和亚临床乳房炎的58头泌乳奶牛进行分离鉴定,结果鉴定出100株无乳链球菌。FARZANA等在孟加拉国南部地区对196份牛乳样品进行检测,结果显示,通过乳房炎试验确定有146份牛乳样品呈阳性,后经PCR检测发现其中有29份为无乳链球菌阳性,占19.86%。ABD等在埃及家庭和小型奶牛场中,随机对90头奶牛采集360份牛乳样品,通过细菌学和分子鉴定调查由无乳链球菌引起的传染性乳房炎的流行情况,研究发现共有172份牛乳样本呈亚临床型乳房炎阳性(47.77%)。综上所述,无乳链球菌是国内外奶牛场中奶牛乳房炎疾病广泛流行的原因之一,且感染奶牛常无明显症状,多为隐性乳房炎。此外,无乳链球菌传染性极强,可通过患病的母牛、牛乳及挤奶时接触的肢体、器具和物品上残留的乳汁等广泛传播。

致病机理

目前,诸多研究旨在探索无乳链球菌对奶牛乳房炎的致病性和毒力因子,在很大程度上揭示了其感染作用。无乳链球菌的生存和繁殖都需要毒力因子的帮助,且被作为研发疫苗的重要靶点,但无乳链球菌引发奶牛乳房炎的致病机理仍尚未明确。

据报道,无乳链球菌可通过黏附因子、侵袭因子侵入宿主细胞,经生物膜形成相关因子并协助促进其定植于细胞内,且通过形成免疫逃逸相关因子阻碍宿主免疫系统的识别与清除,最后得以在宿主体内存活,并感染宿主引发炎症。发病后进一步攻击乳腺腺泡的管腔,使分泌细胞受损和产奶量减少。无乳链球菌的毒力因子主要有三大类,一是包括纤维蛋白原结合蛋白及黏附蛋白、富含丝氨酸的重复糖蛋白(Srr)家族、菌毛蛋白、A1p蛋白等黏附因子和生物膜形成相关因子;二是溶血素(hemolysin)、透明质酸酶和溶血促进因子等侵袭因子;三是荚膜多糖(CPS)、青霉素结合蛋白(PBP)、唾液酸、抗氧化系统和抗补体系

统等免疫逃逸相关因子。王月等利用无乳链球菌B19和C28菌株感染奶牛乳腺上皮细胞(bMECs)建立体外模型,探究假激酶混合谱系激酶样蛋白(MLKL)介导的坏死性凋亡在无乳链球菌诱导bMECs炎性反应中的分子机制。研究发现,无乳链球菌B19和C28菌株均可促使bMECs中IL-1 β 、IL-6、IL-18和TNF- α 等细胞因子水平显著升高,表明无乳链球菌感染bMECs可作用于核苷酸结合寡聚化结构域样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎性小体,进而诱发炎症反应的产生,并促进IL-1 β 等促炎因子的激活和分泌。BOCHNIARZ等从不同牛群中采集了血液和牛乳,从中检出无乳链球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和念珠菌等多种细菌。研究发现,与健康奶牛的乳汁相比,无乳链球菌性乳房炎患牛的乳汁中IL-1 β 、IL-8、IL-12 β 和TNF- α 水平较高,但细胞因子水平明显高于血清。这证实了奶牛在无乳链球菌侵入乳腺、感染引发乳腺炎时的免疫反应较强烈,说明机体免疫系统对无乳链球菌建立了第一道免疫屏障。

防治措施

1. 药物治疗

目前,药物治疗是预防控制无乳链球菌感染引发奶牛乳房炎的有效措施。其中,抗生素是治疗细菌性感染的首选药物。诸多研究表明无乳链球菌对 β -内酰胺类、大环内酯类、林可胺类、喹诺酮类、四环素类、氨基糖苷类、磺胺类等抗菌药物形成了多种耐药机制。张阳等在河南省的驻马店、焦作、商丘、南阳和三门峡5个不同地区采集患临床型乳房炎奶牛的牛乳样品,分析样品中无乳链球菌的耐药性情况,共分离鉴定出155株无乳链球菌,发现其对喹诺酮类、氯霉素类药物尤为敏感,但对青霉素类药物均具有显著的耐药性。此外,无乳链球菌还对大环内酯类和氨基糖苷类均具有较强的耐药性。据报道,多数无乳链球菌对喹诺酮类药物表现出高度敏感,但对氨基糖苷类、青霉素类、糖肽类和四环素类等药物表现出较强的耐药性。由于无乳链球菌的耐药性日益增强,导致药物治疗不佳,患病机体受损及经济损失巨大等不良后果。研发出高效安全的药物是防治无乳链球菌性奶牛乳房炎亟待解决的重要问题。中草药或天然植物等天然产物因毒性低、易获取、损伤小等优点而受到广泛关注,尤其在作为抗菌药物方面极具开发潜力。刘伯承等以15味中草药为基础拟备4种中药复方,对湖南省部分奶牛场中临床型奶牛乳房炎样品中分离出的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和无乳链球菌进行体外抑菌试验,结果显示,4种中药复方制剂均有不同程度的抑菌活性,不仅对奶牛乳腺上皮细胞具有修复作用,还能降低患牛乳中的体细胞数,以提高患牛的免疫力。牟小青等使用脂磷壁酸和无乳链球菌作用于牛乳腺上皮细胞建立牛乳腺炎细胞病理模型,以乳黄消为研究对象干预牛乳腺的炎症反应。结果表明,乳黄消能显著减轻脂磷壁酸和无乳链球菌作用引起的牛乳腺上皮细胞炎症的损伤,从而缓解炎症反应。目前,主要以抗生素防治无乳链球菌性奶牛乳房炎,而由此产生的不良影响将促进天然药物的研发进程,诸多研究表明天然药物在防治细菌性奶牛乳房炎上具有广阔的应用前景,有望成为抗生素的替代品。

2. 疫苗防控

随着我国奶牛乳房炎疾病发展带来的巨大经济损失,学者致力于奶牛乳房炎疫苗的研发,以期填补国内奶牛乳房炎疫苗领域的空白,为奶牛乳房炎疾病的发生发展提供有效的防治措施。由于奶牛在妊娠期和分娩期哺乳时,乳头底部容易受损,乳头底部的乳头管暴露于外界环境中,导致对奶牛免疫后产生的免疫力不具备有效性,且无乳链球菌一般对奶牛乳房炎不产生明显的免疫反应,给疫苗研制带来了不小的挑战,所以至今仍未研发出有效的疫苗来控制无乳链球菌性奶牛乳房炎。但是,通过学者不懈努力,奶牛乳房炎疫苗的有关探索已取得了一些进展。

蒋业慧等采集某奶牛场全群泌乳牛的奶样进行隐性乳房炎检测,发现阳性检出率高达43%,经病原菌分离鉴定发现无乳链球菌是乳样中主要病原菌之一,并制备了自家疫苗,经肌注对全群泌乳牛进行免疫接种后,发现隐性乳房炎

发病率显著降低,且无乳链球菌的检出率为0。这表明自家疫苗对无乳链球菌性奶牛乳房炎的免疫效果较好,具有一定的防治作用。布日额等使用一段蛋白连接分子linker将无乳链球菌膜表面蛋白sip与磷酸甘油激酶pgk进行串联,并利用大肠杆菌表达系统表达出具有可溶性的融合蛋白sip-pgk,经Western blot(蛋白质印迹法)鉴定发现该融合蛋白可被无乳链球菌的多抗血清识别并发生特异性反应,具有良好的生物活性,这为研发出无乳链球菌性奶牛乳房炎的亚单位疫苗提供了新的研究思路。吴金花等在前人研究基础上,将无乳链球菌膜表面蛋白sip、磷酸甘油激酶pgk和纤连蛋白FbsA进行串联,表达出三重活性的多亚单位融合蛋白sip-pgk-FbsA,经进一步Western blot和小鼠的攻毒保护性试验发现,3个基于融合蛋白对无乳链球菌具有良好的反应原性,且对小鼠的保护率高达70%,显著高于单一融合蛋白,为研发无乳链球菌奶牛乳房炎的多亚单位疫苗提供了思路和参考。

蛋白疫苗又称亚单位疫苗,其是以无乳链球菌的蛋白组分制备而成的疫苗。近年来,广大学者主要以无乳链球菌的表面蛋白和荚膜等靶点作为研究主体,并通过表达出相关蛋白制备抗原作为疫苗制备的主要思路,但疫苗的保护性和免疫效价却鲜少报道。据报道,以B群链球菌表面免疫相关蛋白(SIP)、C5a肽酶(SepA)和3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)等无乳链球菌的表面蛋白或生理的代谢酶作为候选疫苗具有广阔的应用前景。由于无乳链球菌菌株的不同,导致其表面蛋白表达的蛋白质存在差异性,以及单一蛋白疫苗的有效性,因此研究多种蛋白组合的疫苗备受关注。杜琳等将无乳链球菌的表面Sip蛋白、FbsA蛋白以及Sip-FbsA串联作为载体蛋白与血清型Ia荚膜多糖进行偶联,构建出亚单位疫苗,并将制成的亚单位疫苗应用于威斯塔大鼠以探究疫苗的免疫性。结果表明,免疫效果由强至弱分别为:多糖-蛋白偶联物CP+Sip-FbsA、蛋白偶联物Sip-FbsA、Sip蛋白、FbsA蛋白、CP荚膜,且乳腺攻毒保护试验结果发现,多糖-蛋白偶联物亚单位疫苗对无乳链球菌性乳房炎有一定的预防和保护作用。李松建等以牛IgG Fc和无乳链球菌Sip蛋白构建出重组质粒pET-22b-Fc-Sip,利用大肠杆菌表达出融合蛋白Fc-Sip,加佐剂混合制备了Fc-Sip亚单位疫苗。研究发现,无乳链球菌亚单位疫苗可有效刺激奶牛乳腺出现局部的免疫反应,并能够抑制无乳链球菌侵入机体,表明Fc-Sip亚单位疫苗在无乳链球菌性奶牛乳房炎的发生发展方面起到一定的预防和保护作用。基于此,该研发团队后续将重组质粒pET-22b-Fc-Sip与金黄色葡萄球菌的FnBPB、ClfA蛋白构建的重组质粒pET-32a-Fc-FnBPB-ClfA分别进行原核表达,进而得到Fc-Sip和Fc-FnBPB-ClfA蛋白,并将二者与1%的盐酸左旋咪唑佐剂进行按比例混合,制成Fc-Sip亚单位疫苗、Fc-FnBPB-ClfA亚单位疫苗和Fc-Sip+Fc-FnBPB-ClfA二联亚单位疫苗,对临近干奶期的奶牛进行免疫前后对比,评估三种亚单位疫苗的免疫效果。研究发现,三种亚单位疫苗中Fc-Sip+Fc-FnBPB-ClfA二联亚单位疫苗的综合免疫效果最佳,且表现出对无乳链球菌和金黄色葡萄球菌性奶牛乳房炎具有良好的防治作用。

小结

随着我国经济的蓬勃发展,牛奶需求日益显著,促使奶牛集约化养殖场的规模不断扩大。但奶牛乳房炎诱因为多样,病程较长,难以治愈,这大大阻碍了奶牛养殖业的发展。近年来,研究发现许多细菌不断进化出各种耐药机制,导致药物对细菌性奶牛乳房炎的治疗效果较差,加大了治疗的难度,因此急需开发出高效且无副作用的药物或疫苗等治疗方案。本文就近年来关于无乳链球菌性奶牛乳房炎的研究进行了综述,讨论了无乳链球菌的生物学特性,其致病机理以及防治措施等,为研发治疗无乳链球菌的新药物和疫苗提供思路。

(作者单位:贵州毕节安洛乡农业农村综合服务中心)

专家谈养殖



青贮玉米的科学种植技术

青贮玉米是制作青贮饲料的专用型玉米,将鲜嫩的玉米茎叶及果穗利用青贮技术调制或青贮饲料,可以长期保存,并保持青绿多汁的品质,营养价值也会提高,适口性好,并且可以长年供应,解决了寒冷地区冬春季节青绿饲料短缺的问题。玉米青贮饲料是畜牧养殖业,尤其是奶牛养殖业的主要饲料来源。

影响因素

1. 选地和整地工作不到位

青贮玉米植株高大、种植密度也较大,对土壤的要求要高一些,因此,选择好适宜的地块并进行科学整地是非常重要的。如果种植地选择在土壤贫瘠、土质不佳,甚至是低洼地块,会导致青贮玉米的产量和质量严重下降。

另外,青贮玉米不宜连作,需要选择适宜的前茬作物,否则会引入严重的病虫害发生,也会影响产量和质量。另外,如果整地工作过于粗放,深翻不到位,导致耕层的深度不够,土壤的蓄水保墒能力和保肥能力下降,青贮玉米的生长过程中还要根据植株生长情况做好追肥的工作,要注意不同种肥料的配比,并且追肥要结合灌溉进行。做好排灌水的管理工作,如果青贮玉米在出苗、拔节、喇叭口期、抽雄、灌浆等生育期遇到比较严重的干旱天气,要及时灌水;如果遇到雨季田间积水,也要及时排水。

2. 水肥管理不合理

青贮玉米对水肥的需求量较大,但是每一个阶段对水肥的需求量存在着很大差异。在肥料使用方面,如果基肥的使用量不足,会导致植株在生长过程中摄入不到充足的营养,抗逆性变差,抵抗自然灾害的能力变弱,如果使用的基肥没有充分腐熟,不但会影响到植株的生长,还易引起严重的病虫害。另外,在追肥时化肥使用不当,比例失调,也会影响到青贮玉米种植的质量和产量。在青贮玉米的灌溉方面,如果在需水较多的时期供水不足则会导致植株生长缓慢,而当田间积水时没有及时排水则会引发病害,引起产量下降,严重时甚至会引发绝产。

科学种植

1. 加强品种选择

近年来,随着品种繁育与选育技术的不断进步,优质青贮玉米的品种也越来越多,有的青贮玉米适用于青贮,还有属于粮饲兼用型青贮的玉米品种。不同品种用途不同,生长特性也不同,在产量上、株型上也存在很大的差异。因此,需要根据当地的种植条件、用途等选择最合适的品种,如用于青饲或者青贮时,在选择时宜选择不早衰、株型大、分蘖能力强、茎叶茂盛、果穗大而多、品质好、营养丰富、生育期短的品种,并且还需要适合当地的气候条件,抗逆性强。

2. 科学整地

青贮玉米与传统的玉米相比,植株高大、茎叶繁茂,产量高,对营养和水分的需求量较高,种植地的消耗也较大,且易发生病虫害,因此,青贮玉米种植需要做好地块的选择工作。种植地要选择土壤肥沃、土质疏松、通透性好、地势平坦的地块,不能在洼地种植。要做好整地工作,秋季前茬作物收获后进行深耕,耕深在20厘米以上,耕后要耙平耙细,达到保墒的目的。结合整地施足基肥,基肥要要充分腐熟的农家肥,辅助施用适量的化肥。

3. 种子处理

选择好品种后还要做好种子

的选择和处理工作,种子需要从正规的厂家购买,要选择成熟度好、颗粒饱满、生命力强的种子。为了提高种子的发芽出苗能力,在播种前对种子进行处理,先进行晒种,选择在阳光充足的天气将种子平摊晾晒2—3天,晒种期间要进行翻动,晒种不但可以提高发芽率,阳光中的紫外线还可以杀灭病菌,减少病害的发生。在播种前15天对种子进行发芽率的测试工作,以确定最合适的播种量。为了降低青贮玉米病虫害的发生几率,尤其是做好地下害虫的防治,需要对种子进行包衣处理,用药剂拌种,可以使用专用的包衣剂,或者使用辛硫磷溶液喷洒在种子上,可以很好地防治地下害虫。

田间管理

1. 做好水肥管理

做好青贮玉米的水肥管理工作是获得高产、高质量的关键。在施肥方面,首先要施足基肥,并且基肥要以充分腐熟的农家肥为主,配合使用适量的化肥,在青贮玉米的生长过程中还要根据植株生长情况做好追肥的工作,要注意不同种肥料的配比,并且追肥要结合灌溉进行。做好排灌水的管理工作,如果青贮玉米在出苗、拔节、喇叭口期、抽雄、灌浆等生育期遇到比较严重的干旱天气,要及时灌水;如果遇到雨季田间积水,也要及时排水。

2. 追肥与机械化的融合

玉米追肥需要根据玉米的生长情况进行适当调整,苗壮少施,苗弱多施。玉米拔节之后生长到10片叶子展开时方可进行首次中耕松土,同时配以配方施肥。用肥原则需要根据玉米的产量进行适当调整,1亩地氮肥的使用量一般在10—15千克,过磷酸钙的使用量一般在6—9千克,氯化钾的使用量一般在8—10千克。磷肥和钾肥均需要保证一次完全施入,而氮肥则可根据玉米的生长情况分期施用。玉米播种之前的底肥可以施入玉米专用长效肥,后期配合复合肥追肥,拔尖时期1亩地可施入纯氮2—5千克,大喇叭口时期1亩地需要施入纯氮6—10千克。施肥完成之后需要盖土,如有条件可用地膜覆盖,并且对地膜破口要压好,以提升保肥效果。

3. 病虫害防治

青贮玉米易受到多种病虫害的危害,导致产量大幅下降,因此,要做好病虫害的防治工作。青贮玉米的主要病害包括大小叶斑病、茎腐病、锈病等,主要虫害包括蚜虫、红蜘蛛、蝼蛄等害虫,在防治病虫害时可采取农业防治、化学防治、物理防治、生物防治等,以预防为主,防治结合。农业防治主要包括做好倒茬轮作、合理密植等;化学防治主要包括有针对性地使用化学药剂将病虫害杀灭,如防治大叶斑病时可以使用甲基托布津可湿性粉剂或者百菌清可湿性粉剂溶液进行喷洒防治;物理防治则是利用害虫趋光性等特性进行防治;生物防治则是选择害虫的天敌,或者使用生物制剂进行防治。

4. 适时收获

青贮玉米最佳收获期是在乳熟末期,此时玉米植株的营养价值最高,并且生物产量也较为理想。因此,需要根据青贮玉米的播种期和气候特点选择合适的收获期。

(任凤秋)