

Distribution Characteristics of Pathogenic Communities Associated with Bovine Mastitis across Different Regions of China

Yan Lu¹, Xininigen^{2*}, Jingli Yu^{1*}, Ji Zhao¹

¹Ministry of Education Key Laboratory of Ecology and Resource Use of the Mongolia Plateau, Inner Mongolia Key Laboratory of Environmental Pollution Control & Waste Resource Reuse, School of Ecology and Environment, Inner Mongolia University, Hohhot Inner Mongolia

²Ministry of Agriculture Key Laboratory of Clinical Diagnosis and Treatment Technology in Animal Disease, College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot Inner Mongolia
Email: *nndxng@163.com, hot-yjl@163.com

Received: May 14th, 2018; accepted: May 28th, 2018; published: Jun. 4th, 2018

Abstract

[Objective] In order to prevent and control effectively bovine mastitis, it is important to clarify distribution characteristics of pathogenic microbiome in mastitis-affected cow milk from different regions. [Methods] Based on traditional culture and universal identifications, the communities composition of the pathogenic bacteria and fungi was statistically analyzed using Excel worksheets. Furthermore, two-dimensional hierarchical clustering method based on heat map visualization of R language was used to analyze differences among pathogenic populations at species level and communities from different regions. [Results] There were a total of 30 pathogenic species with known detection rates in all mastitis-affected milk samples from 7 geographical regions, including 18 Provinces/Autonomous regions/Municipalities (PAMs) of China. The communities composition of different pathogenic microbiomes at regional scale differed greatly. Among them, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* were dominated in 9 PAMs, i.e., Gansu and so on, 3 PAMs, i.e., Guangdong and so on, Liaoning and Shanghai, Jiangsu and Hubei, Xinjiang and Guangxi, whose detection rates were 19.6% - 61.5%, 23.5% - 29.0%, 14.4% - 19.7%, 27.1% - 33.3%, 15.4% - 20.3%, respectively. Due to the significant differences of detection rates across pathogenic populations or microbiomes, *Staphylococcus aureus* and Shenyang accounted for the highest share of populations and microbiomes, respectively. [Conclusions] The detection rates of pathogenic community compositions causing bovine mastitis differed largely from 18 PAMs of China, associated with complicated causes. The results suggest that bovine mastitis pathogenic microbiome should be associated with the regional climate factors, herd-level and cow-level factors, different housing and hygienic measures using the community ecology principles and methods in future.

Keywords

Bovine Mastitis, Pathogenic Microbe, Communities Composition, Regional Distribution Characteristics

*通讯作者。

中国奶牛乳房炎病原菌群的地区分布特征

芦燕¹, 希尼尼根^{2*}, 于景丽^{1*}, 赵吉¹

¹蒙古高原生态与资源利用教育部重点实验室, 内蒙古自治区环境污染控制与废物资源化利用重点实验室, 内蒙古大学生态与环境学院, 内蒙古 呼和浩特

²农业部动物疾病临床诊疗技术重点实验室, 内蒙古农业大学兽医学院, 内蒙古 呼和浩特

Email: *nndxng@163.com, hot-yjl@163.com

收稿日期: 2018年5月14日; 录用日期: 2018年5月28日; 发布日期: 2018年6月4日

摘要

【目的】探明不同地区奶源病原菌群落的分布特征对奶牛乳房炎的有效防控至关重要。【方法】用Excel统计分析传统分离鉴定的病原菌群落组成, 基于R语言二维等级聚类法比较病原菌种群间及不同地区群落间差异性。

【结果】源于我国7个地理分区的18个省市区共获得30个已知种属及其检出率的类群。不同地区奶牛乳房炎病原菌群落组成差异大。其中, 金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、大肠杆菌、停乳链球菌和乳房链球菌分别是甘肃等9省市、广东等3省区、辽宁和上海、江苏和湖北、新疆和广西的最优势种群, 检出率分别为19.6%~61.5%、23.5%~29.0%、14.4%~19.7%、27.1%~33.3%、15.4%~20.3%。种群间检出率差异最大的金黄色葡萄球菌独占最大分支, 群落间辽宁沈阳独占最大分支。【结论】不同地区奶牛乳房炎病原菌群落组成迥异, 影响因素复杂。建议结合区域气候及畜间差异、圈舍及卫生措施等因素进行乳房炎病原菌群落生态学研究。

关键词

奶牛乳房炎, 病原菌, 群落组成, 地区分布特征

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

奶牛乳房炎是世界范围内奶牛生产中最常见、危害最大的一种疾病[1]-[19], 在奶牛疾病中位居首位[20], 给奶牛业造成了巨大的损失。乳房炎是由病原菌侵入乳腺而引起的一种炎症反应[21]。目前国内已积累了大量关于奶牛乳房炎病原菌分离培养及鉴定等研究资料[1]-[18], 但存在病原菌种属划分模糊、研究时空尺度和技术分析手段等不统一问题, 缺乏病原菌时空分布及畜间和菌群间动态变化等疾病流行和预防相关的环境背景资料。集约化和规模化养殖推广后, 奶牛乳房炎发病率呈直线上升趋势[22]。为此, 本文基于我国7个地理分区中代表性的18个省市区1998~2014年报道的文献资料[1]-[18], 从群落生态学角度比较不同地区奶牛乳房炎病原菌群落的分布特征, 以期为今后奶牛乳房炎的流行病学调查重点和早期防控提供研究思路和导向。

2. 研究对象与方法

2.1. 研究对象

中国不同地区可培养的奶牛乳房炎病原菌。

2.2. 研究方法

基于中文期刊数据库的文献计量学方法,通过“百度学术”搜索 1998~2014 年关键词“奶牛乳房炎”和“病原菌”,共获得 1270 篇文献。继续搜索筛选出具有“XX 区域”标识的文章标题以及全文中具有“菌株”及其“检出率”的数据信息,共筛选出关于 18 个省市区的文献资料 18 篇[1]-[18]。最后,将 18 个省市区奶牛乳房病原菌相关资料依据我国行政区划进行归类,共得到 7 个地理分区。

将上述文献报道的中国 7 个地理分区 18 个省市区几十个规模化养牛场或养殖户作为研究区域,基于传统分离培养法[1]-[18]及形态学和生理生化鉴定[1]-[18]获得的奶牛乳房炎病原菌为研究对象(表 1)。对

Table 1. The basic information about pathogenic microbiome of mastitis-affected cow milk

表 1. 奶牛乳房炎病原菌基本信息

	中国 7 大地理分区	代表性省市区	采样规模及样本量说明	临床症状	分离菌(株)	种群(个)	其他群(个)	报道年份
1	华北地区 1.1	北京某地	7 个奶牛场-1560 头泌乳奶牛-343 份阳性乳样	隐性	87	8	1	2012 [1]
2	华北地区 1.2	河北衡水	x 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-20 份阳性乳样	临床型	162	9	0	2009 [2]
3	华北地区 1.3	内蒙古呼和浩特	x 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-100 份阳性乳样	临床型或隐性	124	8	0	2008 [3]
4	西北地区 2.1	甘肃兰州	3 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-12 份阳性乳样	临床型	26	5	0	2007 [4]
5	西北地区 2.2	陕西渭南	奶牛场和散养户-x 头泌乳奶牛-39 份阳性乳样	临床型或隐性	48	5	0	2013 [5]
6	西北地区 2.3	新疆石河子	2 个奶牛场-122 头泌乳奶牛-84 份阳性乳样	隐性	69	11	1	2014 [6]
7	东北地区 3.1	辽宁沈阳	6 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-289 份阳性乳样	临床型	354	3	1	2014 [7]
8	东北地区 3.2	黑龙江哈尔滨	3 个奶牛场-477 头泌乳奶牛-1 092 份阳性乳样	隐性	541	8	1	2011 [8]
9	华中地区 4.1	湖北武汉	9 个奶牛场-200 头泌乳奶牛-23 份阳性乳样	临床型或隐性	24	7	0	2007 [9]
10	华中地区 4.2	河南郑州	4 个奶牛场-40 头泌乳奶牛-25 份阳性乳样	临床型或隐性	62	11	1	2005 [10]
11	华南地区 5.1	广东深圳	x 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-98 份阳性乳样	临床型	102	17	1	1999 [11]
12	华南地区 5.2	广西南宁	x 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-50 份阳性乳样	临床型或隐性	65	10	1	2007 [12]
13	华东地区 6.1	安徽多地	合肥、淮南、滁州等奶牛场和养殖户-86 份阳性乳样	隐性	121	6	0	2009 [13]
14	华东地区 6.2	江苏徐州	30 个养殖户-320 头泌乳奶牛-78 份阳性乳样	临床型或隐性	74	7	0	2014 [14]
15	华东地区 6.3	上海某地	x 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-75 份奶样	隐性	97	13	1	2013 [15]
16	西南地区 7.1	重庆某地	6 个奶牛场-118 头泌乳奶牛-13 份阳性乳样	临床型	x	5	0	1998 [16]
17	西南地区 7.2	四川成都	x 个奶牛场-x 头泌乳奶牛-23 份临床型乳房炎奶样	临床型	54	11	0	2004 [17]
18	西南地区 7.3	贵州贵阳	2 个奶牛场-1550 头泌乳奶牛-70 份阳性乳样	隐性	144	10	1	2008 [18]

临床型乳房炎:患乳房炎(体细胞数量升高)的奶牛表现出乳房肿胀或化脓、牛奶稀薄或变色并出现絮状物或血丝、甚至全身症状等临床症状;隐性乳房炎:患乳房炎(体细胞数量升高)的奶牛没有上述临床症状。

有明确种属及其检出率的病原菌进行统计分类、无明确种属名称(其他微生物、霉菌、杂菌、革兰氏阳性或阴性杆菌)或未统计检出率的所有奶牛乳房炎病原菌归为其他微生物类群。

用 Excel 2007 软件统计各地奶牛乳房炎病原菌群落组成及其检出率, 并进行基本图形绘制。用 R 语言 (<http://www.r-project.org>) 中 gplots 软件包绘制 heatmap 图以进行奶牛乳房炎病原菌种群间和地区群落间二维等级聚类分析以反映种群间及群落间差异性或相似性。具体步骤如下: 选择数据包>library("gplots")→选择数据>x<-read.table("f/mastitis.txt",head=T)→选择并运行程序>heatmap.2(as.matrix(x[1:25,]), col = redgreen(75), cexCol = 0.9, key = T, symkey = F, density.info = "none", trace = "none")→输出图形→保存图形为需要的格式。注意, R 语言使用过程中必须使用英文字符及名称, 不区分大小写。其中“f.”和“mastitis”为可变参数, 可依据个人喜好进行选择 and 命名; 其他参数均可选择固定的默认格式。“f.”为盘符, “mastitis”为文件名。

3. 结果与分析

3.1. 不同地区奶牛乳房炎病原菌群落组成及分布情况

18 个省市区共获得 30 个已知种属及其检出率的病原菌种群和 1 个无明确种属名称或未统计检出率的其他微生物类群(见 1.1)。例如, 北京报道的其他菌 6.9% [1]和广西南宁报道的其他杆菌 6.2% [13]均视为 1 个类群。上海报道的①霉菌 6.2%和②杂菌 5.1% [16]、广东深圳报道的①霉菌 2%和②其他革兰氏阴性杆菌 2%等[12]、河南郑州报道的其他杂菌 1.6% [10]、贵州贵阳报道的①革兰氏阴性杆菌 4.2%和②其他革兰氏阳性杆菌 3.5% [18]均视为其他微生物类群。辽宁沈阳报道的乳房链球菌、肺炎克雷伯菌、化脓链球菌、表皮葡萄球菌、其他革兰氏阳性杆菌、志贺菌属、木糖葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌、产酸克雷伯氏菌、腐生葡萄球菌、牛棒状杆菌、枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌、粪链球菌、产气芽胞梭菌、变形杆菌属等 16 类病原菌[8]由于没有单独计算病原菌种属的检出率, 故将其合并为其他微生物类群, 累积检出率为 52.7%。另外进行图形绘制时, 将黑龙江哈尔滨特有的柠檬酸盐杆菌 4.3% [9]、新疆石河子特有的奇形变异菌 2.9% [7]、广东深圳特有的爱德华氏菌 1%、肠杆菌 1%、蜡状芽胞杆菌 1%、星状奴卡氏菌 1% [12] 归入其他微生物类群, 见图 1 和 1.1 部分。

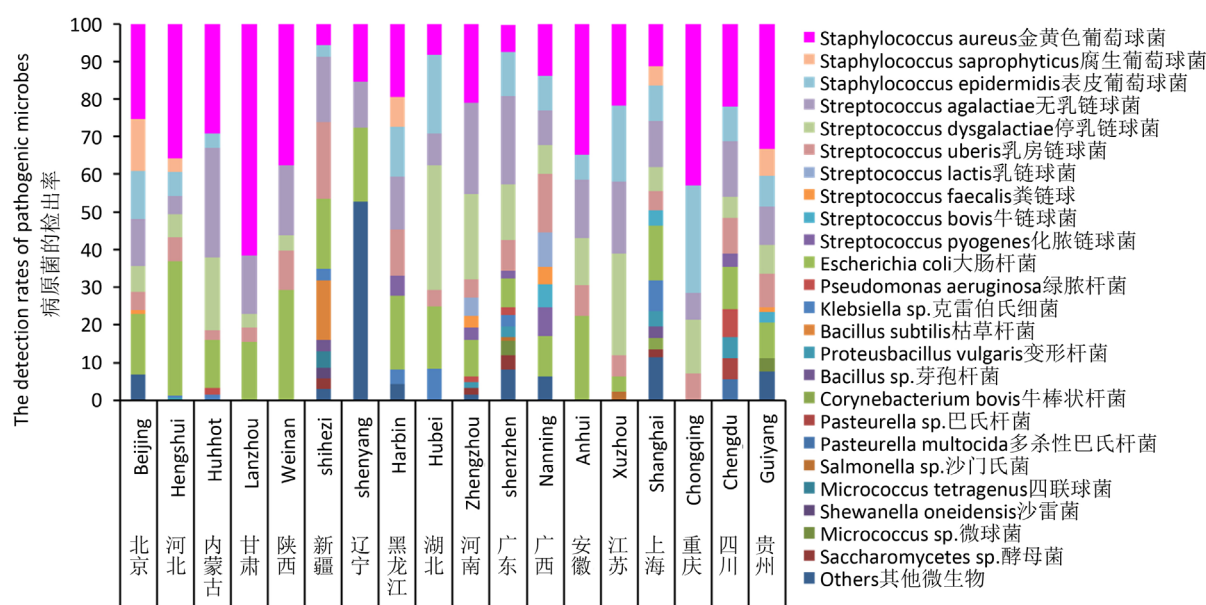


Figure 1. Distribution characteristics and compositions of pathogenic microbiomes in mastitis-affected cow milk from different regions, China

图 1. 我国不同地区奶牛乳房炎乳样病原菌群落组成及分布特征

来自 7 个地理分区的 18 个省市区奶牛乳房炎病原菌的群落组成及检出率差异明显, 表现为种群数量(表 1)、优势及罕见种群差异(图 1)。例如, 辽宁沈阳包括 15.4%的金黄色葡萄球菌、12.2%的无乳链球菌、最优势的大肠杆菌 19.7%和 1 个累计检出率高达 52.7%的其他微生物类群; 甘肃兰州包括检出率高达 61.5%的最优势金黄色葡萄球菌、15.4%的大肠杆菌和无乳链球菌种群、3.8%的乳房链球菌和停乳链球菌。

3.1.1. 优势细菌种群的地区分布特征

金黄色葡萄球菌、无乳链球菌、大肠杆菌、乳房链球菌、停乳链球菌、表皮葡萄球菌是奶牛乳房炎的优势病原菌。6 种优势病原菌检出率的累积值为 47.3%~100.0%。其中, 重庆、甘肃兰州、陕西渭南和安徽等地区为 100.0%, 江苏徐州 97.7%, 内蒙古呼和浩特 96.7%, 河北衡水 95.1%, 湖北 91.6%, 河南郑州 82.3%, 黑龙江哈尔滨 78.7%, 北京 78.2%, 贵州贵阳 78.1%, 广东深圳 72.9%, 四川成都 72.3%, 广西南宁 66.0%, 新疆石河子 65.2%, 上海 58.8%, 辽宁沈阳 47.3%。不同地区最优势种群不同, 金黄色葡萄球菌是甘肃兰州 61.5%、重庆 42.8%、河北衡水 35.8%、陕西渭南 37.5%、安徽 34.7%、黑龙江哈尔滨 19.6%、四川成都 22.2%、北京 25.4%和贵州贵阳 33.5%等 9 地区最优势的种群; 无乳链球菌是广东深圳 23.5%、内蒙古呼和浩特 29.0%、河南郑州 24.2%等 3 地区最优势的种群; 大肠杆菌、停乳链球菌、乳房链球菌分别是辽宁沈阳 19.7%和上海 14.4%、江苏徐州 27.1%和湖北 33.3%、新疆石河子 20.3%和广西南宁 15.4%最优势的种群。

3.1.2. 其他细菌种群的地区分布特征

腐生葡萄球菌和克雷伯氏细菌在少数地区分布相对丰富, 前者检出率为北京 13.8% > 黑龙江哈尔滨 7.8% > 贵州贵阳 7.0% > 上海 5.2% > 河北衡水 3.7%, 后者检出率为湖北 8.3% > 上海 8.2% > 黑龙江哈尔滨 3.8% > 新疆石河子 2.9% = 广东深圳 2.9%。化脓链球菌、牛链球菌、粪链球菌、乳链球菌等 4 种链球菌只在少数地区被检测到。其中, 化脓链球菌的检出率为广西南宁 7.7% > 黑龙江哈尔滨 5.4% > 四川成都 3.7% > 河南郑州 3.2% > 广东深圳 2.0%; 牛链球菌的检出率为广西南宁 6.2% > 上海 4.1% > 贵州贵阳 2.7%; 粪链球菌的检出率为广西南宁 4.6% > 河南郑州 3.2% > 贵州贵阳 1.3% > 北京 1.1%; 乳链球菌的检出率为广西南宁 9.2% > 河南郑州 4.8%。绿脓杆菌的检出率为 > 四川成都 7.4% > 广东深圳 2.0% > 内蒙古呼和浩特 = 河南郑州 1.6%; 变形杆菌的检出率为四川成都 5.6% > 上海 4.0% > 广东深圳 2.9% > 河南郑州 1.6% > 河北衡水 0.6%; 微球菌的检出率为广东深圳 3.9% > 贵州贵阳 3.5%; 芽孢杆菌的检出率为上海 3.1% > 新疆石河子 2.9%; 沙门氏菌的检出率为江苏徐州 2.2% > 广东深圳 1.0%。枯草杆菌、沙雷菌、四联球菌只在新疆石河子被检测到, 检出率分别为 16.0%、2.9%、4.3%; 巴氏杆菌和多杀性巴氏杆菌只在四川成都被检测到, 检出率为 5.6%; 牛棒状杆菌只在上海被检测到, 检出率为 3.1%。

3.1.3. 酵母菌种群的地区分布特征

18 个省市区中, 酵母菌只在广东深圳、新疆石河子、上海、河南郑州等 4 个省市区中被检测出, 检出率分别为 3.9%、2.9%、2.1%、1.6%。

3.1.4. 其他微生物类群的地区分布特征

辽宁沈阳其他微生物类群累计检出率占 52.7%, 包含乳房链球菌等 16 类细菌(见 1.1), 上海、广东深圳、贵州贵阳、河南郑州、北京和广西南宁其他微生物类群依次占 11.3%、8%、7.6%、1.6%、6.9%和 6.2%。黑龙江哈尔滨独有的柠檬酸盐杆菌和新疆石河子独有的奇形变异菌分别为 4.3%和 2.9%。

3.2. 我国不同地区奶牛乳房炎病原菌种群及群落间差异性 or 相似性分析

3.2.1. 病原菌不同种群间差异性 or 相似性分析

除了一些众所周知的英文缩写, 如 IP、CPU、FDA, 所有的英文缩写在文中第一次出现时都应该给出其全称。文章标题中尽量避免使用生僻的英文缩写。由图 2 纵向种群聚类分析可知, 金黄色葡萄球菌

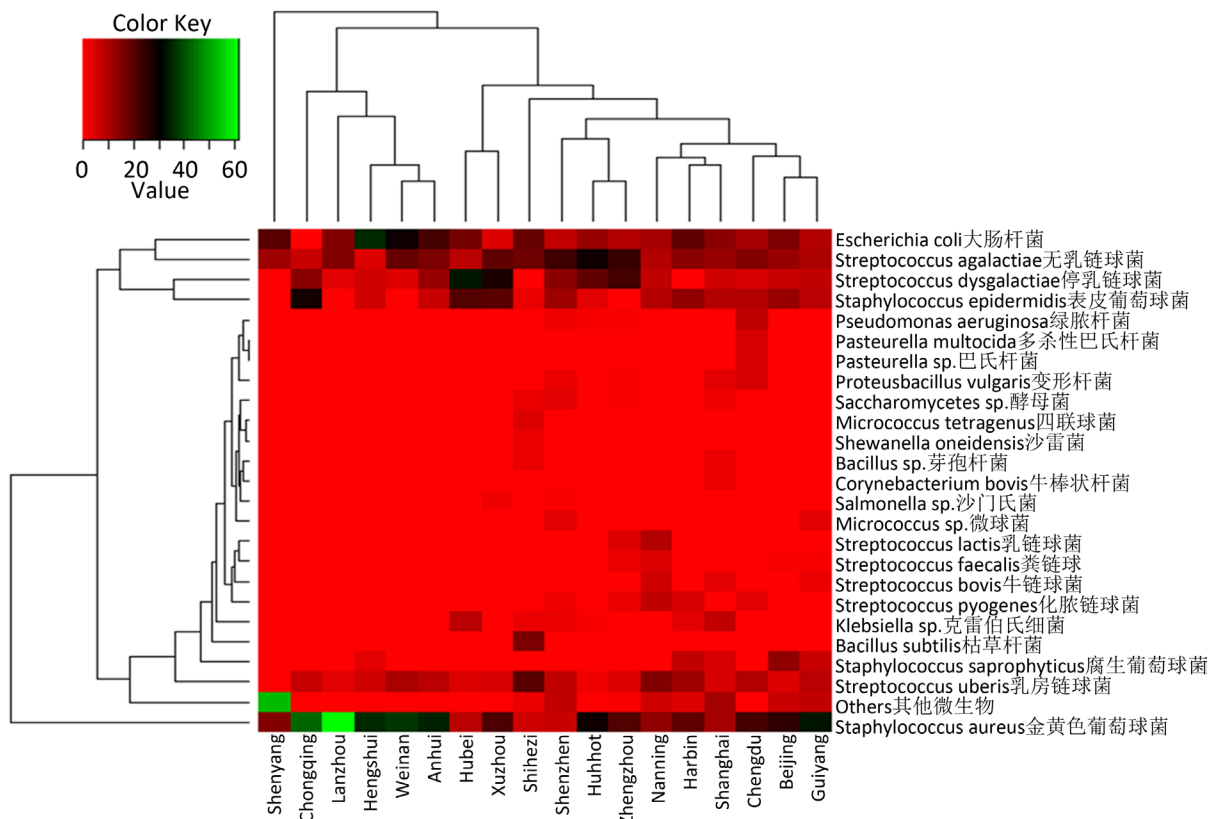


Figure 2. The differences or similarities among pathogenic populations and microbiomes in mastitis-affected cow milk from different regions, China

图 2. 我国不同地区奶牛乳房炎病原菌群间及群落间差异性 or 相似性

位居 6 大优势种群之首独占一个分支,说明金黄色葡萄球菌是致病几率最高且最普遍的奶牛乳房炎病原菌。大肠杆菌、无乳链球菌、停乳链球菌、表皮葡萄球菌等 4 个种群聚为一簇,说明其是绝大部分地区诱发奶牛乳房炎极其重要的病原菌种群。除其他微生物类群外,乳房链球菌、腐生葡萄球菌、枯草杆菌、克雷伯氏菌逐级占据一个分支,说明这些病原菌种群在整个奶牛乳房炎研究区中占有较高的份额,致病几率逐级降低。链球菌属中化脓链球菌、牛链球菌、粪链球菌、乳链球菌 4 个种群逐级聚为一簇,说明其致病几率亦呈现逐级降低趋势。变形杆菌、绿脓杆菌、多杀性巴氏杆菌和巴氏杆菌逐级占据 1 个小分支;其余 7 个种群中微球菌种群占据相对较大的份额和剩余 6 个种群聚为一类。剩余 6 个种群又划分为 2 个更小的分支,沙门氏菌与牛棒状杆菌和芽孢杆菌逐级聚在一起,酵母菌与四联球菌和沙雷菌逐级聚为一类。整体而言,检出率越高的种群所在的分支越大,致病几率越高,因此金黄色葡萄球菌种群致病几率最高,沙门氏菌、牛棒状杆菌、芽孢杆菌和酵母菌、四联球菌、沙雷菌等种群致病几率最低。具体不同种群的致病几率依次为:金黄色葡萄球菌分支 > 大肠杆菌、无乳链球菌、停乳链球菌、表皮葡萄球菌分支 > 乳房链球菌分支 > 腐生葡萄球菌分支 > 枯草杆菌分支 > 克雷伯氏菌分支。其他链球菌属小分支中化脓链球菌、牛链球菌、粪链球菌、乳链球菌的致病几率依次降低;微球菌分支的致病几率 > 剩余小分支。

3.2.2. 病原菌不同地区群落间差异性 or 相似性分析

由图 2 横向群落聚类分析可知,18 个省市中辽宁沈阳病原菌群独占一个最大的分支,这是因为辽宁沈阳奶牛乳房炎病原菌群结构非常简单(仅 4 种),而且其他微生物类群占据最高的份额(检出率为 52.7%)。另一大分支划分为重庆为首的亚分支和湖北等地区亚分支。就第二大分支不同地区群落间差异

而言, 重庆 > 甘肃兰州 > 河北衡水 > 陕西渭南 = 安徽; 湖北 = 江苏徐州 > 新疆石河子 > 其他 9 个地区; 其他 9 个地区细分为 2 簇 3 小分支。其中 1 簇 1 小分支广东深圳病原菌群落差异 > 内蒙古呼和浩特和河南郑州; 另 1 簇 2 小分支为广西南宁病原菌群落差异 > 黑龙江哈尔滨和上海, 四川成都 > 北京和贵州贵阳地区。

重庆、甘肃兰州、河北衡水、陕西渭南或安徽逐级聚为一簇是因为这些地区奶牛乳房炎病原微生物种群结构相对简单(5~9 种), 而且 1~2 个种群占据极高的份额, 例如重庆地区奶牛乳房炎病原菌群落包含 5 个种群, 金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌种群检出率分别高达 42.8% 和 28.6%, 合计占 71.4%, 因此独享 1 个分支; 甘肃兰州奶牛乳房炎病原菌群落包含 5 个种群, 金黄色葡萄球菌种群就占据 61.5% 的份额, 另外无乳链球菌和大肠杆菌种群分别占据 15.4% 的份额, 三者合计 92.3%, 因此独占 1 分支; 河北衡水奶牛乳房炎病原菌群落虽包含 9 个种群, 物种数相对丰富, 但金黄色葡萄球菌和大肠杆菌种群均占据 35.8% 的份额, 二者合计 71.6%, 因此独占一分支; 陕西渭南和安徽地区奶牛乳房炎病原菌群落分别包含 5 和 6 个种群, 相似的优势菌种群占据的份额极其相似, 所以共享 1 个分支。

湖北与江苏徐州奶牛乳房炎病原菌群落均包含 7 个种群, 除了江苏徐州金黄色葡萄球菌和无乳链球菌种群、湖北地区克雷伯氏菌和大肠杆菌种群份额相对偏高外, 优势菌种群占有大致相似的份额, 所以共享 1 各分支; 新疆石河子奶牛乳房炎病原菌群落在此分支中相对特殊, 可能和突然升高的种群数量有关(从湖北与江苏徐州的 7 个种群跨越到 12 个种群); 其他 9 个地区奶牛乳房炎病原菌群落大同小异, 除内蒙古呼和浩特、黑龙江哈尔滨和北京种群数量不足 10 个外, 其他 6 各地区种群数量都在 11~18 之间, 而且大致相似的种群分布特征, 因此 9 个地区共同占据一个较大的分支。

4. 讨论

众所周知, 动植物具有明显的地域分布特征。本研究选择水热气候条件不同的 7 个地理分区对奶牛乳房炎病原菌群落进行研究。基于传统分离鉴定的病原菌种群检出率相似性, 发现奶牛乳房炎病原菌群落未表现出明显的水热分区规律。例如, 华北暖温带半湿润区的北京[1]先和西南亚热带湿润区的贵州贵阳[18]聚为一类, 再和西南亚热带湿润区的四川成都[17]聚在一起; 华东北亚热带湿润区的上海[15]和东北寒温带-温带半湿润-湿润区的黑龙江哈尔滨[8]聚为一类, 再和华南亚热带湿润气候区的南宁[12]聚在一起; 华中暖温带-亚热带、湿润-半湿润区的河南郑州[10]和华北温带半干旱区的呼和浩特[3]聚为一类, 再和华南亚热带湿润区的广东深圳[11]聚在一起; 上述 9 个地区再和西北温带干旱区的新疆石河子[6]聚在一起。另外, 东北暖温带半湿润区的辽宁沈阳[7]作为最大的一级分支和其他 17 个省市自治区聚在一起。二级分支中, 西南亚热带湿润区的重庆[16]、西北温带干旱区的甘肃兰州[4]、华北温带半湿润半干旱区的河北衡水[10]、西北温带干旱区的陕西渭南[5]或华东暖温带-亚热带湿润区的安徽[13]逐级聚在一起; 华东暖温带湿润半湿润区的江苏徐州[14]与华中亚热带湿润区的湖北[9]和剩余 10 个省区聚在一起。

尽管权威的微生物生物地理学研究证实微生物群落也具有与宏生物类似的时空分布特征[23] [24] [25] [26], Deb 等[27]和 Roesler 等[28]认为奶牛乳房炎病原菌的空间变化取决于气候和动物自身差异。本研究中不同地区奶牛乳房炎病原菌群落组成有差异性但并未表现出有规律可循的地区分布特征。原因可能是集约化和规模化养殖推广后, 现代人为管理因素的影响远超过自然水热气候及植被等历史因素的影响。陈礼明等[17]经流行病学调查研究, 发现成都、洪雅和雅安各地的临床型乳房炎夏秋季节发病率高于春季和冬季。Olde 等[29]研究发现由乳房链球菌引起的临床乳腺炎发病率和牧场有关, 然而由大肠杆菌引起的临床乳腺炎发病率更多和圈舍有关; 季节差异对优势病原菌的影响大, 例如, 完全密闭的牛群夏季比冬季有较高的大肠杆菌型临床乳腺炎发病率[29]。本研究中分离鉴定的病原菌多为乳房炎高发季节规模化牛场和少数散养户乳样,

文献虽未具体研究区域气候及圈舍条件影响,但不排除气候及季节差异[6][7][17]和圈舍条件[1][3][5][6][7][8][9][13][14][17][18]对病原菌群结构组成的影响。Justice-Allen 等[30]认为再生砂垫层是支原体滋生和繁殖的重要场所,适宜温度和降雨是促进再生砂垫层支原体诱发奶牛乳房炎的重要环境条件。Pieper 等[28]研究发现患病牛群比对照牛群有较低的金黄色葡萄球菌发生率和较高的酵母菌发生率,但本研究 7 个地理分区 18 个省市区奶牛乳房炎牛群酵母菌发生率明显低于金黄色葡萄球菌等优势细菌发生率。Abera 等[31]研究发现泌乳后期乳房炎发生率 41.3%高于早期 25.0%和中期 22.1%,牛床垫料有无、垫料类型等饲养环境和卫生条件是诱发乳房炎的关键因素,但年龄、胎次和乳房炎病史与奶牛乳房炎的发生没有相关性。曹俊俊等[1]调查发现,隐性乳房炎感染率的高低与饲养管理、环境卫生条件、病原菌致病力强弱等因素有直接关系。邓海平等[3]研究发现内蒙古呼和浩特地区奶牛乳房炎的病原菌类群主要包括通过牛体、泥土、粪便等传播的环境性致病菌(表皮葡萄球菌、乳房链球菌、绿脓杆菌、大肠杆菌、停乳链球菌等)和通过挤奶过程接触传播的传染性病原菌(无乳链球菌与金黄色葡萄球菌等)。Lakew 等[32]研究发现不同品种间泌乳期奶牛乳房炎患病率存在显著差异,挤奶过程中良好的卫生措施、剔除慢性乳腺炎载体、治疗临床感染奶牛,干奶期治疗均能降低传染性乳房炎的患病率。Zhao 等[33]认为乳腺组织的破坏也是奶牛乳房炎的诱因。这说明畜间(品种、年龄、胎次、泌乳月、乳腺组织完好与否)差异、人为管理模式(垫层有无与类型、圈舍温湿度、卫生条件等)差异、可能的饮食结构差异等因素对奶牛乳房炎病原菌群落的分布有重要影响,但本研究中历史性的自然水热气候条件及植被因素并非驱动奶牛病原菌群落地区分布的决定性因素。Gordon 等[34]研究发现“拴养”圈舍临床型乳房炎发病率主要受区域因素(山区生产带、牛群更换系统、农场主年龄)影响;“非拴养”圈舍,临床型乳房炎发病率主要与圈舍气候、温度和垫面的舒适度等因素有关。

另外,样本采集量、采样方法、培养和分离鉴定法、检测精准度对研究结果有重要影响,尽管本文所选 7 个地理分区 18 个省市区病原菌群都源自传统的分离培养及生理生化鉴定法,但采样量有明显区别(表 1)。Oikonomou 等[35]通过高通量测序一次性获得多达 60 个已知种和几将近 50%的未分类细菌种,高通量测序获得的病原菌种群数量[35][36][37]远超过传统分离鉴定方法获得的奶牛乳房炎病原菌种群数量。此外,统计口径不同可能是造成奶牛病原菌群落差异的关键因素。例如,辽宁沈阳奶牛乳房炎病原菌群落接近 20 个种属[7],但由于大多数种属没有单独计算检出率,统计口径明显不同于其他 17 个省市[1]-[6][8]-[18],导致其独占 1 个大分支。部分资料病原菌种属划分模糊、研究时空尺度和技术分析手段等不统一问题也可能是造成不同奶牛乳房炎病原菌群落差异的重要方面。

综上所述,不同地区奶牛乳房炎病原菌种群复杂,可能与区域气候条件[3][8]、季节变化[6][8][17]、地理位置[3][5][12][13]以及不同地区牛场的卫生管理措[1][3][5][6][7][8][9][13][14][17][18]有关。因此,不同地区应根据具体情况实施对奶牛乳房炎进行及早预防和正确诊疗。同时,注意保持牛舍内外清洁和牛体卫生、避免挤奶过程中的交叉感染。

5. 结论

我国 7 个地理分区的 18 个省市区共获得 30 个已知种属及其检出率的类群。不同地区奶牛乳房炎病原菌群落组成、优势种群及稀有种群存在明显差异,影响因素复杂。建议规范病原菌种属名称,统一研究时空尺度和技术分析手段,利用宏基因组学高通量技术从群落生态学角度探究地区间温湿度差异及畜间差异,不同管理模式、饮食结构和饲养环境等因素对病原菌群变化的影响,以期为流行病学和预防医学研究重点提供基础数据。

基金项目

感谢国内外学者提供的优质文献资料,感谢国家自然科学基金项目(No. 31660724, No. 41361053)、内蒙

古自然科学基金项目(No. 2015MS0306, No. 2016MS0331)的支持。感谢审稿专家对该论文提出的宝贵意见。

参考文献

- [1] 曹授俊, 蔡泽川. 北京某地区奶牛隐性乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 山东畜牧兽医, 2012(4): 7-9.
- [2] 杨建辉, 秦建华, 冯向辉, 陈松, 韩旭东, 张爱民, 李铁拴. 衡水市某奶牛场临床型乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010(11): 110-112.
- [3] 邓海平, 俞诗源, 王玲, 蒲万霞. 呼和浩特及周边地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏实验[J]. 中国草食动物, 2008, 28(6): 51-52.
- [4] 魏小娟, 蒲万霞, 周绪正, 张继瑜, 李金善, 李剑勇, 牛建荣. 兰州地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 动物医学进展, 2007, 28(8): 113-114.
- [5] 李娟娟, 魏恒, 王伟华. 奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 中国草食动物科学, 2013(3): 53-56.
- [6] 刘长彬, 钟发刚, 卢春霞, 康立超, 李永刚, 姜志涛, 刘岗, 罗小玲. 新疆石河子地区隐性乳房炎致病菌调查及分离鉴定[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 181-184.
- [7] 孙芳芳, 何剑斌. 沈阳地区奶牛乳房炎细菌分离鉴定与优势菌株药敏试验[J]. 现代畜牧兽医, 2014(2): 44-47.
- [8] 王娜, 高学军. 哈尔滨地区奶牛隐性乳房炎病原菌的分离鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(2): 29-32.
- [9] 刘朝, 王京仁, 张成栋, 吴波, 韩永佩, 赵波, 余亚, 王建华, 刘友斌, 程贵宝, 冯哲, 田地, 陈焕春, 郭爱珍. 湖北地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 中国奶牛, 2007(7): 35-38.
- [10] 孔雪旺, 陈功义. 奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 湖北畜牧兽医, 2005(6): 27-29.
- [11] 陈坤永, 翁良树, 吴慕贞, 张火星. 深圳地区奶牛临床型乳房炎病原菌分离鉴定与药敏试验[J]. 中国畜禽传染病, 1998, 20(3): 154-156.
- [12] 刘贺生, 何宝祥, 王明艳, 杨丰利, 杜玉兰. 南宁地区奶牛乳房炎主要病原菌现状分析[J]. 中国奶牛, 2007(5): 32-35.
- [13] 杨永新, 程广龙, 赵瑞宏, 陈胜, 赵辉玲. 安徽部分地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定和药敏试验[J]. 动物医学进展, 2009, 30(6): 113-115.
- [14] 李心海, 王兵, 张林吉, 迟兰. 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, 2014(5): 68-69.
- [15] 高潮, 刘国庆, 连英琪, 朱明, 余晓峰, 张克春. 奶牛隐性乳房炎病原菌的分离鉴定与 DGGE 追溯[J]. 上海交通大学学报, 2013, 31(3): 88-94.
- [16] 周廷宣, 牟梅, 罗跃美, 景波, 颜君. 重庆部分地区泌乳奶牛乳房炎的病因及发病情况调查[J]. 中国畜禽传染病, 1998, 20(3): 154-156.
- [17] 陈礼明, 熊焰. 成都等地区奶牛临床型乳房炎病原种类及分布[J]. 中国兽医杂志, 2004, 40(3): 18-19.
- [18] 寨鸿瑞, 田甜, 王开功, 周碧君, 文明. 奶牛隐性乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 动物医学进展, 2008, 29(11): 40-43.
- [19] Yuan, Z., Chu, G., Dan, Y., Li, J., Zhang, L. and Gao, X. (2012) Brcal: A New Candidate Gene for Bovine Mastitis and Its Association Analysis between Single Nucleotide Polymorphisms and Milk Somatic Cell Score. *Molecular Biology Reports*, **39**, 6625-6631. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1467-5>
- [20] 毛战胜, 杜杨, 李广波, 王艳竹. 奶牛乳房炎的综合防治[J]. 兽医导刊, 2013(1): 39-40.
- [21] Zadoks, R.N., Middleton, J.R., Mcdougall, S., Katholm, J. and Schukken, Y.H. (2011) Molecular Epidemiology of Mastitis Pathogens of Dairy Cattle and Comparative Relevance to Humans. *Journal of Mammary Gland Biology & Neoplasia*, **16**, 357. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9236-y>
- [22] 马卫平, 徐敏, 张瑾. 奶牛乳房炎的防治[J]. 新疆畜牧业, 2011(7): 43-45.
- [23] 贺纪正, 葛源. 土壤微生物生物地理学研究进展[J]. 生态学报, 2008, 28(11): 5571-5582.
- [24] Li, J., Quinque, D., Horz, H.P., Li, M., Rzhetskaya, M. and Raff, J.A. (2014) Comparative Analysis of the Human Saliva Microbiome from Different Climate Zones: Alaska, Germany, and Africa. *BMC Microbiology*, **14**, 316. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0316-1>
- [25] Yatsunenkov, T., Rey, F.E., Manary, M.J., Trehan, I., Dominguezbelo, M.G. and Contreras, M. (2012) Human Gut Microbiome Viewed across Age and Geography. *Nature*, **486**, 222-227. <https://doi.org/10.1038/nature11053>
- [26] Ge, Y., He, J.Z., Zhu, Y.G., Zhang, J.B., Xu, Z. and Zhang, L.M. (2008) Differences in Soil Bacterial Diversity: Dri-

- ven by Contemporary Disturbances or Historical Contingencies? *Isme Journal*, **2**, 254-264.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2008.2>
- [27] Deb, R., Kumar, A., Chakraborty, S., Verma, A.K., Tiwari, R. and Dhama, K. (2013) Trends in Diagnosis and Control of Bovine Mastitis: A Review. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **16**, 1653-1661.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.1653.1661>
- [28] Pieper, L., Godkin, A., Roesler, U., Polleichtner, A., Slavic, D. and Leslie, K.E. (2012) Herd Characteristics and Cow-Level Factors Associated with Prototheca Mastitis on Dairy Farms in Ontario, Canada. *Journal of Dairy Science*, **95**, 5635-5644. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5106>
- [29] Riekerink, R.O., Barkema, H.W. and Stryhn, H. (2007) The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis. *Journal of Dairy Science*, **90**, 1704-1715. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-567>
- [30] Justiceallen, A., Trujillo, J., Corbett, R., Harding, R., Goodell, G. and Wilson, D. (2010) Survival and Replication of Mycoplasma Species in Recycled Bedding Sand and Association with Mastitis on Dairy Farms in Utah. *Journal of Dairy Science*, **93**, 192-202. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2474>
- [31] Abera, M., Habte, T., Aragaw, K., Asmare, K. and Sheferaw, D. (2012) Major causes of mastitis and associated risk factors in smallholder dairy farms in and around hawassa, southern ethiopia. *Tropical Animal Health & Production*, **44**(6), 1175-1179. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-0055-3>
- [32] Lakew, M., Tolosa, T. and Tigre, W. (2009) Prevalence and Major Bacterial Causes of Bovine Mastitis in Asella, South Eastern Ethiopia. *Tropical Animal Health & Production*, **41**, 1525-1530.
<https://doi.org/10.1007/s11250-009-9343-6>
- [33] Zhao, X. and Lacasse, P. (2008) Mammary Tissue Damage during Bovine Mastitis: Causes and Control. *Journal of Animal Science*, **86**, 57-65. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0302>
- [34] Gordon, P.F., Borne, B.H.V.D., Reist, M., Kohler, S. and Doherr, M.G. (2013) Questionnaire-Based Study to Assess the Association between Management Practices and Mastitis within Tie-Stall and Free-Stall Dairy Housing Systems in Switzerland. *BMC Veterinary Research*, **9**, 200. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-200>
- [35] Oikonomou, G., Bicalho, M.L., Meira, E., Rossi, R.E., Foditsch, C. and Machado, V.S. (2014) Microbiota of Cow's Milk; Distinguishing Healthy, Sub-Clinically and Clinically Diseased Quarters. *PLoS ONE*, **9**, e85904.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085904>
- [36] Bhandari, B.B., Jhala, M.K., Ahir, V.B., Bhatt, V.D. and Joshi, C.G. (2014) Cultural and Metagenomic Based Identification of a Microbiome from Subclinical Mastitis in Cows. *Veterinarski Arhiv*, **84**, 215-228.
- [37] Kuehn, J.S., Gorden, P.J., Munro, D., Rong, R., Dong, Q. and Plummer, P.J. (2013) Bacterial Community Profiling of Milk Samples as a Means to Understand Culture-Negative Bovine Clinical Mastitis. *PLoS ONE*, **8**, e61959.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061959>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
 下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2327-0810, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
 左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: amb@hanspub.org