

研究报告

长江下游地区中国荷斯坦奶牛生乳中菌落总数的影响因素分析

江静宜¹ 夏海磊¹ 张志鹏¹ 魏涛¹ 张慧敏¹ 毛永江¹ 尹召华² 杨章平^{1*}

(1. 扬州大学动物科学与技术学院 江苏 扬州 225009)

(2. 扬州大学实验农牧场 江苏 扬州 225009)

摘要: 【背景】随着人们生活水平和健康意识的提高,作为部分乳制品的原料,生乳的质量安全问题显得尤为重要。【目的】检测长江下游地区某集约化牧场中国荷斯坦奶牛生乳中菌落总数、总大肠菌群数的真实水平,同时对影响其变化的生理因素和环境因素进行探讨。【方法】以中国荷斯坦奶牛生乳为研究对象,用乳房炎快速诊断剂检测乳房炎感染情况,菌落总数、总大肠菌群数和环境细菌数的检测方法参照国家标准。对采集的生乳样本进行细菌常规分离鉴定,同时收集乳成分变化数据。【结果】多因素方差分析结果表明,不同泌乳阶段和不同产奶量对荷斯坦奶牛生乳中菌落总数的影响显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$); 体况、泌乳阶段、胎次、产奶量及乳区对大肠菌群数均无显著影响($P>0.05$)。夏季生乳的菌落总数、大肠菌群数均极显著地高于其他季节($P<0.01$); 场区内各牛舍的不同卫生环境及细菌数对菌落总数、大肠菌群数的影响均在显著以上($P<0.05$)。不同乳房炎的感染程度对菌落总数影响极显著($P<0.01$)。细菌鉴定结果是葡萄球菌属和杆菌属感染居多,链球菌属感染几乎没有。菌落总数的变化对乳蛋白率影响不显著($P>0.05$),对乳脂率的影响极显著($P<0.01$)。【结论】随机采样泌乳牛群的不同生理和病理状况、外界不同饲养条件及卫生环境对生乳中菌落总数和大肠菌群数有不同程度的影响,生乳的乳脂率与细菌总数变化负相关。

关键词: 中国荷斯坦奶牛, 菌落总数, 总大肠菌群数, 乳房炎, 乳成分

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31472067); Agricultural Independent Innovation Fund Project of Jiangsu Province (CX(17)1005); Agricultural Innovation Project of Jiangsu Province (SXGC[2016]322)

*Corresponding author: E-mail: yzp@yzu.edu.cn

Received: October 25, 2017; **Accepted:** May 23, 2018; **Published online** (www.cnki.net): June 12, 2018

基金项目: 国家自然科学基金(31472067); 江苏省农业自主创新基金[CX(17)1005]; 江苏省农业三新工程项目(SXGC[2016]322)

*通信作者: E-mail: yzp@yzu.edu.cn

收稿日期: 2017-10-25; **接受日期:** 2018-05-23; **网络首发日期**(www.cnki.net): 2018-06-12

Factors affecting aerobic plate count in the milk of Chinese Holstein cows in the lower reaches of the Yangtze River

JIANG Jing-Yi¹ XIA Hai-Lei¹ ZHANG Zhi-Peng¹ WEI Tao¹ ZHANG Hui-Min¹
MAO Yong-Jiang¹ YIN Zhao-Hua² YANG Zhang-Ping^{1*}

(1. Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

(2. Yangzhou University Experimental Farm, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: [Background] With the increase of living standards and health awareness, quality and safety of milk are acquiring great concern. [Objective] To investigate aerobic plate count (APC) and total number of Coliform Group (TCG) in the milk of lactating Chinese Holstein cows from an intensive farm located in the lower reaches of the Yangtze River, China, by using different bacteriological methods. The causative factors of APC and TCG were also explored. [Methods] Taking the milk of Chinese Holstein cows as the research object, mastitis detection using mastitis rapid diagnostic agents, APC, TCG and the number of bacteria in the environment detection method with reference to national standards. The collected raw milk samples were subjected to routine isolation and identification of the bacteria, and the milk composition change data was collected. [Results] The results of multivariate analysis of variance showed that different lactation stages and different milk yields had significant ($P<0.05$) and significant ($P<0.01$) effects on the total number of colonies in Holstein cows' raw milk. Body condition score, milk yield, stage of lactation, parity and udder quarters had no significant effect ($P>0.05$) on TCG; APC and TCG measured in summer were significantly ($P<0.01$) higher than other seasons. Effect of the number of bacteria in different environment on APC and TCG were significant ($P<0.05$) above. With the increase of mastitis degree, APC and TCG in milk increased, with a significant difference in aerobic plate count for different degree of mastitis ($P<0.01$). Bacterial identification results in the majority of *Staphylococcus* and *Bacillus* infections and almost no *Streptococcus* infection. The change of the total number of colonies had no significant effect on the rate of milk protein ($P>0.05$), but had a significant effect on milk fat percentage ($P<0.01$). [Conclusion] Different physiological and pathological conditions of the randomly sampled lactating cows and the external feeding conditions and hygiene environment had different effects on APC and TCG in the raw milk. The milk fat percentage of raw milk was negatively correlated with the change in total number of bacteria.

Keywords: Chinese Holstein cows, Aerobic plate count, Total number of coliform group, Mastitis, Milk composition

生乳是指从符合国家有关要求的健康奶畜乳房中挤出的无任何成分改变的常乳^[1]。生乳一旦离开牛体，牛奶中的细菌就会很快繁殖，同时在贮存过程中容易被微生物污染而导致质量下降，因此控制好生乳的质量是十分重要的。目前，我国生乳的分级标准主要是菌落总数，但世界上先进的养牛业国家大都同时使用菌落总数和体细胞来评价生乳的质量，从而能够大大提高牧场饲养管理水平及生乳的质量和产量^[2]。

在 1985 年，大肠菌群数第一次被提出作为粪

便污染的指标之一，而后用其作为饮用水的检测指标^[3]。目前，大肠菌群数作为卫生学微生物指标已经几乎运用到所有的食品中^[4]。近年来，食品微生物检验方面一直以“菌落总数”和“大肠菌群数”的检测结果作为饮水、食品等承受细菌污染的指标，这 2 个指标初步体现了致病菌污染的可能性^[5-6]。菌落总数是食品卫生状况的标志，大肠菌群数是人畜粪便污染程度的指示^[7]。

生乳质量指标主要包括乳脂率、乳蛋白率、乳糖含量和总固形物等，其中决定其质量的关键性指

标是乳脂率和乳蛋白率^[8]。脂肪和蛋白质可以提供人体必需的氨基酸和脂肪酸, 牛奶中脂肪和蛋白的变化直接关系到牛奶的营养价值和消费者的健康。

影响菌落总数的原因有很多, 排除实验误差对计数结果的影响, 主要包括两大方面: 牛群的生理因素和外界环境因素。牛群的生理因素很复杂, 包括奶牛的体况、泌乳阶段、胎次、产奶量、乳区、乳房炎感染程度等; 环境因素包括季节、牛舍环境细菌数、饲养方式等。

本研究以长江下游地区集约化牧场中国荷斯坦奶牛为研究对象, 通过对泌乳牛群牛乳中的菌落总数、大肠菌群数进行细菌学检查和细菌的分离鉴定, 调查该地区中国荷斯坦牛乳中菌落总数、大肠菌群数的真实水平和细菌感染模式, 并对其影响因素进行分析; 同时分析菌落总数的变化对乳脂率和乳蛋白率的影响, 为从生产源头减少微生物污染、提升牛奶质量、保障食品安全提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

采样牧场是长江下游地区某典型集约化牧场, 奶牛总规模 1 000 多头, 采用全混合日粮(TMR)饲喂, 散栏饲养和栓系饲养相结合, 栓系式牛舍为半开放式, 对尾氏双列站立, 牛床长 1.8 m–2.0 m, 宽 1.2 m–1.3 m, 散放式牛舍周围有运动场, 单列式排列, 鱼骨式和管道式挤奶, 牛舍人工干清粪, 并定期杀菌消毒。

控制外界环境因素一致, 于该牧场随机采集 2015–2016 年间 433 头次泌乳奶牛的奶样, 跟踪采集该牧场 107 头泌乳奶牛春、夏、秋、冬 4 个季节的 347 份奶样, 舍弃前三把奶, 人工采集生乳于灭菌采样管中, 置于 4 °C 采样箱中, 24 h 之内进行细菌分离鉴定并检测其菌落总数(APC)和大肠菌群数(TCG)。同时根据该泌乳牛群的基本情况做好记录, 记录奶牛编号、体况评分、胎次、各采样的乳区、相应产奶量、测定日期、相应的乳房炎检测(BMT)结果以及饲养方式等。

所有采样奶牛日均挤奶 3 次, 采样时间均为早晨。

1.2 主要试剂和仪器

平板计数琼脂培养基(Plate count agar, PCA)和结晶紫中性红胆盐琼脂(Violet red bile agar, VRBA)的配制均依据 GB4789.2-2010 及 GB4789.3-2010 操作。生化培养箱, 上海培因实验仪器有限公司。

1.3 体况评分、泌乳阶段划分、产奶量划分

奶牛的体况评分(BCS)采用 5 分制评判标准^[9-13]。

为保证数据的合理性, 设定泌乳时间为产后第 7–360 天, 根据牛的泌乳特点, 将整个泌乳阶段分为 100 d 以内、100–200 d、200–305 d、305 d 以上 4 个阶段^[14]。

根据该牛场全泌乳期奶牛测定日产奶量实际情况, 范围在 2–60 kg, 将其划分为 0–10、10–20、20–30、30–40、40 kg 以上 5 种类群。

1.4 乳房炎检测方法

采用基于乳抗菌肽 ELISA 的乳房炎快速诊断剂(BMT)法进行隐性乳房炎检测^[15]。

1.5 菌落总数和大肠菌群数检测

检测方法均依据 GB4789.2-2010 和 GB4789.3-2010 操作。

1.6 畜舍环境细菌数的检测

检测方法依据 GB/T18204.1-2013 操作。

1.7 细菌的分离鉴定和乳成分数据的获得

参照常規细菌分离鉴定程序操作^[16-17], 乳脂率和乳蛋白率从牧场数据库中获得。

1.8 统计分析

利用 SPSS 软件(Version 16.0) GLM 过程对数据进行统计分析, 包括方差分析(ANOVA, *F* 检验)。

2 结果与分析

2.1 奶牛生理因素对生乳中菌落总数、大肠菌群数的影响

多因素方差分析结果表明, 不同产奶量对中国荷斯坦奶牛生乳中菌落总数的影响极显著($P<0.01$), 不同泌乳阶段对其影响显著($P<0.05$), 不同体况、胎次、乳区对牛乳中菌落总数无显著影响($P>0.05$), 不同体况、泌乳阶段、胎次、产奶量、以及乳区对牛乳中大肠菌群数均无显著影响(表 1)。

表 1 不同生理因素和水平下中国荷斯坦奶牛生乳中菌落总数和大肠菌群数的平均值、标准差及 *F* 检验Table 1 Mean values, standard deviations of aerobic plate count and *F* test for aerobic plate count and total number of coliform group in the raw milk of Chinese Holstein cows under different physiological factors and levels

Factor	Level	Number	Aerobic plate count			Total number of coliform group		
			Mean±SD	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	Mean±SD	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
BCS	2.75	15	4.935±0.878	0.612	0.691	3.325±1.850	1.710	0.137
	3.00	66	5.142±0.987			3.970±1.274		
	3.25	82	4.722±0.802			3.524±1.626		
	3.50	133	4.786±0.817			3.852±1.304		
	3.75	71	4.782±0.975			3.188±1.955		
	4.00	66	4.792±0.782			4.032±1.041		
Lactation stage	0–100	111	4.946±0.964 ^b	2.802 [*]	0.042	4.048±1.062	1.877	0.137
	100–200	80	4.772±0.862 ^{ab}			3.199±1.861		
	200–305	109	4.898±0.885 ^{ab}			3.973±1.387		
	>305	133	4.698±0.812 ^a			3.533±1.560		
Parity	1	193	4.718±0.857	0.543	0.743	3.569±1.579	0.285	0.921
	2	164	4.760±0.862			3.660±1.466		
	3	46	5.197±1.046			3.973±1.588		
	4	12	5.157±0.794			4.229±1.198		
	5	12	4.771±0.807			4.365±0.489		
	7	6	5.218±0.545			4.323±0.863		
	0–10	35	5.010±1.078 ^B			4.294±1.171		
	10–20	159	4.897±0.839 ^{AB}			3.705±1.597		
Milk yield	20–30	109	4.777±0.975 ^{AB}	5.216 ^{**}	0.001	3.892±1.198	0.602	0.662
	30–40	92	4.670±0.705 ^A			3.245±1.691		
	>40	38	4.763±0.919 ^{AB}			3.660±1.499		
Udder quarters	Left front	121	4.879±0.944	0.346	0.792	3.708±1.498	0.540	0.656
	Right front	128	4.830±0.884			3.721±1.512		
	Left rear	85	4.836±0.796			3.665±1.472		
	Right rear	99	4.773±0.818			3.805±1.484		

注：肩注相同字母表示差异不显著($P>0.05$)；肩注大写字母不同表示差异极显著($P<0.01$)；肩注小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

*：差异显著， $P<0.05$ ；**：差异极显著， $P<0.01$ 。下同。

Note: Means with the same letters in superscripts indicates no significant difference ($P>0.05$); Means with different capital letter superscripts with the same row indicates greatly significant different ($P<0.01$); Means with different small letter superscripts with the same row indicates significant difference ($P<0.05$). *: $P<0.05$; **: $P<0.01$. The same in following tables.

荷斯坦奶牛的不同体况对菌落总数的影响不显著，在体况评分为 3 时，菌落总数值达到最大，其他体况下菌落总数略有波动，但是变化不大；体况评分为 4 时，大肠菌群数达到最大，总体看来，体况变化对菌落总数和大肠菌群数的变化没有相关性。

F 检验结果显示，不同泌乳阶段对菌落总数影响显著($P<0.05$)，对大肠菌群数的影响不显著。

100–200 d 这个泌乳时间段内的菌落总数、大肠菌群数较低，而且菌落总数与在 100 d 以内和 305 d 以后的有显著差异。

随着胎次的增加，菌落总数和大肠菌群数呈现上升的趋势，大肠菌群数变化更加明显。但是，胎次的增加对于生乳中的菌落总数、大肠菌群数影响不显著。

随机采样的牛群产奶量统计结果显示，本场泌

乳牛群的产奶量多在 10–30 kg 之间, 高产和低产的都较少。产奶量中等偏高(30–40 kg)的奶牛, 其生乳中的 APC、TCG 显著低于其他产奶量的, 中高产的奶牛相较于其他不同产奶量的奶牛可能有比较强的抵抗力。*F* 检验结果显示, 产奶量对菌落总数影响极显著($P<0.01$), 对于大肠菌群数则无显著影响。

试验随机采集的各乳区样本量分布不同, 统计结果表明, 不同乳区对菌落总数和大肠菌群数影响不显著。*F* 检验结果均不显著。

2.2 乳房炎感染程度对荷斯坦奶牛生乳中菌落总数的影响

由表 2 可知, 随着乳房炎感染程度的增加, 菌落总数也在不断增高。*F* 检验结果表明不同乳房炎情况对菌落总数的影响极显著($P<0.01$)。由样本量的分布可看出, 本次采样的健康乳区较多, 是样本的主体部分, 另一部分为乳房炎乳区, 可疑、弱阳性、阳性、强阳性的乳区样本量分布较均匀。大肠菌群数随着乳房炎程度的增加而增加, 但二者之间相关性不显著。

2.3 外界环境因素对荷斯坦奶牛生乳中菌落总数、大肠菌群数的影响

由表 3 可知, 随着测定季节的变化, 荷斯坦奶牛生乳中菌落总数和大肠菌群数的波动较大, 夏季所测菌落总数、大肠菌群数均极显著地高于其他季节($P<0.01$): 夏季所测的菌落总数高于秋、冬两季, 春季最低; 夏、秋两季所测的大肠菌群数最高, 冬季其次, 春季最低。可以看出外界季节的变化对于

荷斯坦奶牛生乳中菌落总数和大肠菌群数有很大的影响, 尤其是夏季高温时期。

环境细菌数检测结果显示: *F* 检验结果显示, 不同环境细菌数对荷斯坦奶牛生乳中菌落总数、大肠菌群数影响显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)。不同饲养方式下的奶牛, 其生乳中菌落总数及大肠菌群数检测结果不一, *F* 检验结果显示, 不同饲养方式对荷斯坦奶牛生乳中菌落总数、大肠菌群数的影响均达到了极显著($P<0.01$)。

2.4 细菌分离鉴定结果和菌落总数对乳脂率和乳蛋白率的影响

对 187 份奶样进行细菌分离鉴定, 该牧场细菌感染主要是葡萄球菌属感染、杆菌属感染和葡萄球菌属-杆菌属混合感染, 链球菌属感染率很低, 几乎没有。根据计数结果将 APC 划分为以下几类: $0-1.5\times10^5$ 为无细菌感染或可疑感染, $(1.5-6.0)\times10^5$ 为轻微感染, $6.0\times10^5-1.3\times10^6$ 为中度感染, $(1.3-1.9)\times10^5$ 为较严重感染, 1.9×10^6 以上为极严重感染。荷斯坦奶牛生乳中菌落总数与乳脂率和乳蛋白率的关系具体见表 4, 菌落总数对乳蛋白率的影响不显著($P>0.05$), 乳脂率在无茵($0-1.5\times10^5$)至中度感染时, 差异极显著($P<0.01$), 而且较严重感染 $[(1.3-1.9)\times10^6]$ 和极严重感染(1.9×10^6 以上)的差异也为极显著($P<0.01$)。因此, 当荷斯坦奶牛生乳中菌落总数含量达到中度感染($6.0\times10^5-1.3\times10^6$)时, 牛乳的质量会出现明显的变化。

表 2 不同乳房炎感染程度下中国荷斯坦奶牛生乳中菌落总数和大肠菌群数的平均值、标准差及 *F* 检验结果
Table 2 Mean values, SD, *F* value and significant of aerobic plate count and total number of coliform group in the raw milk of Chinese Holstein cows under different degree of mastitis infection

Different degree of mastitis	Number	Aerobic plate count			Total number of coliform group		
		Mean±SD	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	Mean±SD	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
—	319	4.701±0.852 ^A	12.868 ^{**}	0.000	3.654±1.496	1.992	0.095
±	30	4.749±0.934 ^A			3.359±1.970		
+	29	5.361±0.593 ^B			4.027±1.076		
++	29	5.247±0.868 ^B			4.043±1.343		
+++	27	5.634±0.724 ^B			4.209±1.162		
Total	434	4.843±0.882			3.719±1.489		

表 3 不同外界因素和水平下菌落总数和大肠菌群数的平均值、标准差及 *F* 检验

Table 3 Mean values, standard deviations of aerobic plate count and *F* test for aerobic plate count and total number of coliform group in the raw milk of Chinese Holstein cows under different external factors and levels

Factor	Level	Number	Aerobic plate count			Total number of coliform group			
			Mean±SD	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	Mean±SD	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	
Season	Spring	88	4.441±0.866 ^A	6.586 ^{**}	0.002	4.441±0.866 ^A	91.883 ^{**}	0.000	
	Summer	80	5.186±0.771 ^C			5.186±0.771 ^C			
	Autumn	98	4.726±0.881 ^B			4.726±0.881 ^B			
	Winter	81	5.038±0.830 ^C			5.038±0.830 ^C			
Number of environmental bacteria	0–45	5	4.855±0.339	3.050 [*]	0.010	3.576±0.327 ^{AB}	6.694 ^{**}	0.000	
	45–90	31	4.747±0.739			3.740±0.451 ^B			
	90–135	124	4.597±0.959			2.989±1.851 ^{AB}			
	135–180	79	4.816±0.774			3.661±1.424 ^{AB}			
	180–225	76	4.746±0.826			3.922±1.186 ^B			
	>225	32	4.601±0.976			2.704±1.843 ^A			
Feeding methods	Free stall feeding	240	4.707±0.860	19.997 ^{**}	0.000	3.512±1.661	29.214 ^{**}	0.000	
	Tethered rearing	107	4.998±0.876			4.002±1.243			
Total		347	4.796±0.874				3.661±1.524		

表 4 菌落总数与乳脂率和乳蛋白率的关系

Table 4 The relationship between aerobic plate count and rate of milk fat and protein

APC (×10 ⁴)	Number	Rate of milk fat (%)	Rate of milk protein (%)
0–15	82	4.557±0.745 ^{Aa}	3.053±0.359
15–60	39	4.260±0.669 ^{aBc}	3.408±0.356
60–130	33	4.110±0.772 ^B	3.359±0.282
130–190	22	3.986±0.579 ^B	3.379±0.362
>190	11	3.500±0.608 ^C	3.467±0.153

3 讨论与结论

3.1 不同生理因素对荷斯坦奶牛生乳中菌落总数、大肠菌群数的影响

乳牛不同生理病理状态的变化不同程度上影响生乳中菌落总数、大肠菌群数的变化。本实验讨论的生理因素包括奶牛体况、泌乳阶段、胎次、产奶量、乳区和奶牛乳房炎情况。奶牛体况评分是生产实践中常用的评估奶牛能量状况的方法，体况与奶牛的产奶量、繁殖性能和身体健康有着密切关系。如果奶牛过肥或过瘦，可能导致产奶量下降、妊娠率降低、引发多种疾病，致使奶牛免疫机能下降，奶品质受到严重影响。本试验中，体况评分在 3.25 左右时，生乳中的菌落总数、大肠菌群数较低，有利于泌乳奶牛生产性能的发挥。

泌乳前期，奶牛调用体脂以供产奶需求，体重逐渐下降，此时生乳中菌落总数、大肠菌群数在整个泌乳期含量最高。进入泌乳中期以后，奶牛的体况得到好转，乳中菌落总数减少。随着泌乳时间的增加，乳房及乳中的防御性机能逐渐降低，乳中菌落总数增加。到了泌乳后期、产奶量逐渐下降，干奶期乳腺组织逐渐恢复，抵抗力增强，因此乳中菌落总数、大肠菌群数减少，与张洁等^[17-20]报道符合。

本研究结果表明，处于不同胎次的奶牛菌落总数变化趋势明显，随着胎次的增加而呈上升趋势。随着奶牛年龄的增加，体况下降，机体对外界病原菌的抵抗力下降，乳房负担加重，导致乳房炎发病率增加，与肖西山等^[21]、顾维佳^[22]的研究一致。

产奶量是奶牛重要的泌乳性状，影响产奶量的因素有产犊季节、胎次、热应激、乳房炎等^[23-26]。本实验研究发现，当产奶量处于 10–40 kg 时，产奶量的增加，菌落总数和大肠菌群数很低。当产奶量 <10 kg 时，菌落总数和大肠菌群数较高，猜测可能因为采样奶牛在夏季产犊、胎次较多、感染乳房炎、奶牛的身体素质状况比较差等。Mungube 等^[27]的研究结果表明，产奶量高的奶牛更易患乳房炎，且乳房

炎和产奶量之间存在相关性,产奶量的增加会提升临床乳房炎的发生风险,可能导致牛乳中菌落总数和大肠菌群数的增加。

奶牛乳房炎发生的途径是通过病原微生物的污染或是理化因素影响乳腺组织生成炎症,从而影响乳房健康^[28-29]。引起乳房炎的病原微生物种类繁多,菌落总数反映着乳房炎的感染程度,大肠菌群体现了周围环境的污染程度,也在一定程度上反映了牛群所处的环境。当奶牛在脏乱的环境中生存时,就很有可能通过外界接触病原菌从而导致感染乳房炎。随着乳房炎感染程度的增加,生乳中的菌落总数、大肠菌群数相应增高,乳房炎的感染程度与其呈现正相关关系^[30-32]。

3.2 不同外界因素对菌落总数、大肠菌群数的影响

夏季测定的菌落总数高于秋、冬两季,春季最低;夏、秋两季测定的大肠菌群数最高,冬季其次,春季最低。分析认为,一方面夏季是高温季节,湿度较大,卫生状况相对较差,生乳较易受牛体及环境中的病原微生物污染,导致大肠菌群数量偏多,病菌易于传播;另一方面加上采食量低,荷斯坦奶牛汗腺不发达,对热敏感,容易产生热应激,机体抗病能力减弱,比其他季节更易导致乳房炎^[33-35],尤其是隐性乳房炎,在来自体内和体外双重作用下,牛乳的菌落总数升高。

对不同环境细菌数的检测,体现了各牛舍环境的卫生状况。本实验结果显示,荷斯坦牛在散栏饲养方式下所产牛乳中的菌落总数和大肠菌群数都低于栓系饲养。牛舍空气流动性在很大程度上决定了环境细菌数量,散栏饲养运动场地开阔,空气流通且有阳光照射,紫外线杀死部分病原菌^[36],而栓系饲养空气流通性差、人工清粪不及时,使得细菌大量滋生,可能致使牛乳中的菌落总数增加^[37-38]。因此,通过一系列措施,比如做好牛舍以及挤奶工具的消毒工作、加强奶牛乳头区的保养、控制环境细菌数等,可有效控制乳房炎的发病率,降低生乳中的菌落总数。

3.3 细菌分离鉴定结果和菌落总数对乳脂率和乳蛋白率的影响

奶牛乳房炎的发生主要是因为病原菌对乳腺的入侵引起的,常见的病原菌有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌属、肺炎克雷伯氏菌、铜绿假单胞菌等,这些细菌单独或者共同感染奶牛乳腺组织,从而引起乳房炎症反应^[39-40]。与细菌感染联系最为紧密的是菌落总数,一般而言,当菌落总数偏大时,奶牛的健康状态不是很理想,牧场环境的卫生情况较差。此外大量的细菌对乳腺组织造成破坏,间接影响了乳成分的变化,这些在本实验中体现为乳脂率的显著($P<0.05$)或极显著降低($P<0.01$)。在蛋白率的含量上,国内有很多研究结论,本研究的结果是乳蛋白率的变化不显著,这与王应安等^[41-42]的研究结论一致,可能的原因是乳中多种蛋白因细菌感染而减少或被细菌及其分泌物破坏,但乳腺内大量细菌的存在引起了免疫球蛋白和其他抗体的升高,再加上日产奶量的降低,这三者共同作用的结果使总蛋白率未发生显著的变化。

REFERENCES

- [1] Wang H, Shen QG, Zou MH, et al. A comparison of raw milk national standards of china and main dairy countries[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2011, 34(6): 293-295 (in Chinese)
王海, 沈秋光, 邹明晖, 等. 各国乳品的生乳标准分析对比[J]. 乳业科学与技术, 2011, 34(6): 293-295
- [2] Zhang MA, Li JH, Yu CF, et al. Study on the detection methods of the total plate count in raw milk[J]. Feed Industry, 2013, 34(5): 49-52 (in Chinese)
张名爱, 李洁慧, 于翠芳, 等. 原料乳中菌落总数检测方法的比较研究[J]. 饲料工业, 2013, 34(5): 49-52
- [3] Duan WP, Ye XW. Relationship between total coliform and *Salmonella* species in sewage in urban area of Tianjin[J]. Journal of Environment and Health, 2001, 18(1): 25-26 (in Chinese)
段卫平, 叶秀雯. 天津城市污水中大肠菌群数与沙门氏菌的关系[J]. 环境与健康杂志, 2001, 18(1): 25-26
- [4] Lin SJ. Comments on physico-chemical portion of food hygiene examination[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2005, 15(7): 854-855 (in Chinese)
林树及. 《食品卫生检验方法理化部分》的评述[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(7): 854-855
- [5] Zhang JM. Research progress of technology for food microbe

- testing[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2005, 21(2): 221-222 (in Chinese)
- 张洁梅. 食品微生物检验技术的研究进展[J]. *现代食品科技*, 2005, 21(2): 221-222
- [6] Wilson WJ, Strout CL, Desantis TZ, et al. Sequence-specific identification of 18 pathogenic microorganisms using microarray technology[J]. *Molecular and Cellular Probes*, 2002, 16(2): 119-127
- [7] Zhao CH, Chen XY, Liang H, et al. Microbiological examination of fresh milk[J]. *Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2005(11): 21-22 (in Chinese)
- 赵承辉, 陈晓月, 梁华, 等. 生乳的微生物检测[J]. *吉林畜牧兽医*, 2005(11): 21-22
- [8] Chang LL, Yang ZP, Chen RJ, et al. Study on the variability of fat percentage, milk protein percentage of holstein under immense feeding system in southern area of China[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2010, 46(1): 43-47 (in Chinese)
- 常玲玲, 杨章平, 陈仁金, 等. 南方集约化饲养条件下荷斯坦奶牛乳脂率和乳蛋白率变化规律的初步研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(1): 43-47
- [9] Tang ZQ. The dairy cow body condition score[J]. *Beijing Dairy Cattle*, 1991(4): 8-10 (in Chinese)
- 唐臻钦. 奶牛体况评分[J]. *北京奶牛*, 1991(4): 8-10
- [10] Zhang Q, Xiao YP, Liu ZM, et al. Results of mastitis detection using BMT[J]. *Feed Review*, 2010(9): 42-44 (in Chinese)
- 张琪, 肖玉萍, 刘兆民, 等. 使用 BMT 检测奶牛隐性乳房炎的结果分析[J]. *饲料博览*, 2010(9): 42-44
- [11] Yu Y, Turigen BYL, Liu HL, et al. Application of dairy cow body condition score (BCS) in feeding management[J]. *Chinese Herbivores*, 2006, 26(1): 46-48 (in Chinese)
- 于彦, 吐日根白乙拉, 刘晗璐, 等. 奶牛体况评分(BCS)在饲养管理上的应用[J]. *中国草食动物科学*, 2006, 26(1): 46-48
- [12] Lu DL. The body condition score and application of dairy cows[J]. *Xinjiang Animal Husbandry*, 2006(5): 19-21 (in Chinese)
- 陆东林. 奶牛体况评分及其应用[J]. *新疆畜牧业*, 2006(5): 19-21
- [13] Li XJ. Application in production of dairy cow body condition score[J]. *Modern Agriculture*, 2014(4): 44-45 (in Chinese)
- 李献军. 体况评分在奶牛生产上的应用[J]. *现代化农业*, 2014(4): 44-45
- [14] Yang CH, Gu XH, Liu YX, et al. Effect of lactation stage and season on somatic cell count for first-calving cattle[J]. *Journal of Domestic Animal Ecology*, 2014, 35(1): 39-43 (in Chinese)
- 杨春合, 顾宪红, 刘云祥, 等. 泌乳阶段与产奶季节对初产奶牛牛乳体细胞数的影响[J]. *家畜生态学报*, 2014, 35(1): 39-43
- [15] Xiao YP, Zhang Q, Liu ZM, et al. Analysis of Dairy Cow Subclinical Mastitis detected by BMT in large scale dairy farms[J]. *Dairy Cow Magazine*, 2010(9): 70-71 (in Chinese)
- 肖玉萍, 张琪, 刘兆民, 等. 规模化奶牛场使用 BMT 检测奶牛隐性乳房炎的结果分析[J]. *今日畜牧兽医: 奶牛*, 2010(9): 70-71
- [16] Yuan YL, Zhang YX, Hou YZ, et al. Isolation and identification procedures of bacteria from dairy cows mastitis[J]. *Veterinary Science in China*, 1991, 21(2): 7-10 (in Chinese)
- 袁永隆, 张永欣, 侯奕昭, 等. 奶牛乳房炎乳汁细菌的分离和鉴定程序[J]. *中国兽医科学*, 1991, 21(2): 7-10
- [17] Zhang ZW, Wu GJ, Liu FH, et al. Isolation, identification & drug sensitivity test of the pathogenic bacteria of cow mastitis in Beijing Area[J]. *Journal of Beijing Agricultural College*, 2002, 17(4): 42-47 (in Chinese)
- 张中文, 吴国娟, 刘凤华, 等. 北京地区奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. *北京农学院学报*, 2002, 17(4): 42-47
- [18] Zhang J, Zhang C, Hou FJ. The relationship between cow body condition and parity, lactation stage, production performance[J]. *Pratacultural Science*, 2016, 33(4): 771-777 (in Chinese)
- 张洁, 张程, 侯扶江. 奶牛体况与胎次、泌乳阶段和生产性能的关系[J]. *草业科学*, 2016, 33(4): 771-777
- [19] Qin CF, Wang JQ, Sun P, et al. Effects of clinical mastitis on productive performance, body condition score variation and serum biochemical indexes in cows at peak lactation[J]. *China Dairy Cattle*, 2016(3): 36-41 (in Chinese)
- 覃春富, 王加启, 孙鹏, 等. 临床型乳房炎对泌乳高峰期奶牛生产性能、体况评分和血清生化指标的影响[J]. *中国奶牛*, 2016(3): 36-41
- [20] Chen PQ, Liu NR, Si Y. The analysis of body condition score of holstein cow and its effect factors[J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2010, 33(1): 42-45 (in Chinese)
- 陈佩琪, 刘念锐, 司永. 成年母牛体况评分及其影响因素分析[J]. *乳业科学与技术*, 2010, 33(1): 42-45
- [21] Xiao XS, Fu JT, Hua YM, et al. Study of relationship between parity and sub-clinic mastitis of dairy cattle by using the DHI[J]. *Grass-feeding Livestock*, 2014(2): 60-62 (in Chinese)
- 肖西山, 付静涛, 华勇谋, 等. 利用 DHI 数据分析奶牛胎次与隐性乳房炎的关系[J]. *草食家畜*, 2014(2): 60-62
- [22] Gu WJ. Discussion on dairy cattle latent mastitis and parity and age[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2013, 32(1): 26-28 (in Chinese)
- 顾维佳. 奶牛隐性乳房炎与胎次、年龄关系的探讨[J]. *畜牧兽医杂志*, 2013, 32(1): 26-28
- [23] Ye DD, Zhang KJ, Rexiti-Abudurehman, et al. Analysis of factors influencing 305-days milk yield of holstein dairy cow[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48(1): 148-152 (in Chinese)
- 叶东东, 张孔杰, 热西提·阿不都热合曼, 等. 影响荷斯坦奶牛 305d 产奶量的因素分析[J]. *新疆农业科学*, 2011, 48(1): 148-152
- [24] Mu YY, Huang CS. The influences of calving month, parity and heat stress on milk yields of holstein cows[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 1990(2): 105-114 (in Chinese)
- 穆玉云, 黄昌澍. 产接月份、胎次和热应激对乳牛产奶量的影响[J]. *安徽农学院学报*, 1990(2): 105-114
- [25] Shang WB. Factors affecting dairy cows' milk yields[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2007, 26(2): 67-68

- (in Chinese)
尚文博. 影响奶牛产奶量的因素[J]. 畜牧兽医杂志, 2007, 26(2): 67-68
- [26] Yang LJ, Hou JC, Huo GC, et al. Effect of subclinical mastitis on the milk yield, milk constituents and milk physical items[J]. Heilongjiang Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2003(12): 17-18 (in Chinese)
杨丽杰, 侯俊财, 霍贵成, 等. 奶牛隐性乳房炎对产奶量、乳成分和奶中物理指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2003(12): 17-18
- [27] Mungube EO, Tenhagen BA, Regassa F, et al. Reduced milk production in udder quarters with subclinical mastitis and associated economic losses in crossbred dairy cows in Ethiopia[J]. Tropical Animal Health and Production, 2005, 37(6): 503-512
- [28] Liu JG, Guo SQ, Zhang Y, et al. Progress in subclinical mastitis[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2009, 30(10): 170-171 (in Chinese)
刘建贵, 郭生泉, 张勇, 等. 奶牛隐性乳房炎的研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30(10): 170-171
- [29] Xue XR, Yang GM. Pathogenesis and diagnosis and treatment methods of dairy cows mastitis[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2017, 47(2): 60-63 (in Chinese)
薛晓蓉, 杨桂梅. 奶牛乳腺炎发病机制及诊疗方法[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2017, 47(2): 60-63
- [30] Wang D, Yang F, Li XP, et al. Research progress on diagnosis technology of dairy cow mastitis pathogens[J]. Chinese Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2017, 44(6): 1811-1817 (in Chinese)
王丹, 杨峰, 李新圃, 等. 奶牛乳房炎病原菌诊断技术研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(6): 1811-1817
- [31] Li HS, Yu J, Li XP, et al. Study on relativity between mastitis type and pathogenic bacterial infection in dairy cows[J]. Advances in Animal Medicine, 2004, 25(6): 80-84 (in Chinese)
李宏胜, 郁杰, 李新圃, 等. 奶牛乳房炎类型与病原菌感染之间相关性的研究[J]. 动物医学进展, 2004, 25(6): 80-84
- [32] Ni CX, Pu WX, Hu YH, et al. Isolation, identification and drug sensitive test of pathogenic bacteria causing dairy cattle mastitis[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2010, 19(2): 20-24 (in Chinese)
倪春霞, 蒲万霞, 胡永浩, 等. 奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 西北农业学报, 2010, 19(2): 20-24
- [33] Liu ZW, Liu ZY, Xu D. The occurrence regularity, compromise and preventive measures of dairy cows mastitis[J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2009(1): 99 (in Chinese)
刘志伟, 刘志勇, 许达. 奶牛乳房炎的发病规律、危害及预防措施[J]. 养殖技术顾问, 2009(1): 99
- [34] Hu H, Wang YB, Chen LY, et al. Investigation and analysis of occurrence regularity of mastitis in dairy cow in a large-scale dairy farm[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2010(4): 892-895 (in Chinese)
胡慧, 王亚宾, 陈丽颖, 等. 某规模化奶牛场乳房炎发病规律的调查分析[J]. 浙江农业科学, 2010(4): 892-895
- [35] Xie JY, Wang XC, Zhang X, et al. The investigation of occurrence regularity of dairy mastitis in large-scale farm[J]. China Dairy Cattle, 2008(8): 43-45 (in Chinese)
解继洋, 王希春, 张旭, 等. 规模化养殖场奶牛乳房炎发病规律的调查报告[J]. 中国奶牛, 2008(8): 43-45
- [36] Wu QL, Jin LM, Ge JW, et al. Research on the relationship between the number of bacterium and mastitis in ambient air of dairy barn[J]. China Dairy Cattle, 2010(1): 39-42 (in Chinese)
伍清林, 金兰梅, 葛继文, 等. 乳牛舍内环境空气中细菌数量与乳房炎的关系研究[J]. 中国奶牛, 2010(1): 39-42
- [37] Jin LM, Ma F, Tan YQ, et al. Investigation on the correlation between the number of air bacteria and the occurrence of mastitis in large scale dairy farms[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2010, 42(12): 87-91 (in Chinese)
金兰梅, 马飞, 谈亦奇, 等. 规模化奶牛场空气细菌数量与乳房炎发生的相关性调查[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(12): 87-91
- [38] Xie HG, Xu SY. Investigation and analysis of dairy cow mastitis in a dairy farm[J]. Contemporary Animal Husbandry, 2003(5): 21-23 (in Chinese)
谢怀根, 许世勇. 某奶牛场奶牛乳房炎调查结果及分析[J]. 当代畜牧, 2003(5): 21-23
- [39] Yuan YL, Zhang LH, Liu CC, et al. Faunal investigation of common pathogenic bacteria in dairy cow mastitis in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1992, 25(4): 70-76 (in Chinese)
袁永隆, 张礼华, 刘纯传, 等. 我国奶牛乳房炎常见病原菌的区系调查[J]. 中国农业科学, 1992, 25(4): 70-76
- [40] Wang DM, Liu L, Wang SL. Isolation and identification of the pathogenic bacteria of cow mastitis and its pharmacosensitive test[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2005, 26(6): 81-83, 94 (in Chinese)
王冬梅, 刘磊, 王胜利. 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, 2005, 26(6): 81-83, 94
- [41] Wang YA, Zhang LX, Wang Y, et al. Determination and evaluation of parts of the componet in milk[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 1999, 29(5): 10-13 (in Chinese)
王应安, 张历新, 王勇, 等. 奶牛隐性乳房炎乳汁部分成份的检测与评估[J]. 青海畜牧兽医杂志, 1999, 29(5): 10-13
- [42] Chen YH, Mao YJ, Chang LL. The comparasion of milk composition and physical characteristics among colostrum, normal milk and mastitis of Chinese holstein[J]. China Dairy Cattle, 2011(10): 56-59 (in Chinese)
陈永华, 毛永江, 常玲玲. 中国荷斯坦牛初乳、常乳与乳房炎乳成分及理化性质的比较研究[J]. 中国奶牛, 2011(10): 56-59