

尹柏双,王秋竹,付连军,等. 奶牛隐性乳房炎与乳清中 C-反应蛋白相关性[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):214-215.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.070

奶牛隐性乳房炎与乳清中 C-反应蛋白相关性

尹柏双^{1,2}, 王秋竹¹, 付连军¹, 宋永利¹, 沙万里¹

(1. 吉林农业科技学院动物科技学院, 吉林吉林 132101; 2. 长白山动植物资源利用与保护吉林省高校重点实验室, 吉林吉林 132101)

摘要:为研究不同程度奶牛隐性乳房炎发病情况与乳清中 C-反应蛋白(CRP)含量变化的关系,选取 6 头健康奶牛和 18 头患轻、中、重度隐性乳房炎奶牛,采集乳样,分离乳清,利用 Elisa CRP 检测试剂盒测定样品中 CRP 含量。结果表明,随着隐性乳房炎病情加重、乳汁体细胞数的增加,乳清中 CRP 含量逐渐升高,与健康对照组比较升高极显著。结果表明,乳清中 CRP 含量变化与隐性乳房炎发病具有一定相关性,乳腺损伤程度与乳汁体细胞数增加和乳清中 CRP 含量呈正相关。

关键词:隐性乳房炎;奶牛;乳清;C-反应蛋白

中图分类号:S858.237.2+6 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0214-02

奶牛隐性乳房炎引起泌乳奶牛产奶量下降,牛奶品质降低,养殖成本增加,产后发情延长,妊娠时间推迟,给奶牛养殖业带来巨大经济损失,是危害奶牛养殖业最严重的疾病之一^[1]。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是一种由 IL-1、IL-6、TNF- α 刺激下肝细胞和局部炎症巨噬细胞合成的急性反应蛋白^[2]。CRP 不仅可以与侵入的细菌、真菌细胞壁上的磷酸胆碱结合,激活补体,促使内源性或外源性配体物质清除等功能^[3];还具有增强巨噬细胞对各种细菌和异物的吞噬能力^[4],从而发挥抗炎作用^[5]。研究发现,CRP 在细菌感染性脑膜炎、心血管疾病、心房颤动、冠心病和妊娠糖尿病等疾病诊断中具有重要意义^[6-10]。C-反应蛋白作为一个新的诊断细菌性感染的细胞因子指标,在感染性疾病的诊断中发挥重要作用^[11]。大多数奶牛隐性乳房炎是由链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌等细菌感染引起的一种疾病,伴发炎症反应、乳腺局部病变等临床症状,而奶牛隐性乳房炎发病与 C-反应蛋白的相关性报道较少。本试验研究乳清中 C-反应蛋白与不同程度奶牛隐性乳房炎发病的关系,为隐性乳房炎快速诊断方法的建立提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

通过乳汁体细胞计数监测后选择年龄、胎次、产奶量、泌乳期等指标相近的健康奶牛 6 头和患不同程度奶牛隐性乳房炎奶牛 18 头,奶牛由吉林市某奶牛场提供。

1.2 主要试剂与仪器

C-反应蛋白(CRP)测定试剂盒(南京建成生物试剂研究所);Fossmatic 5000 体细胞计数仪(FOSS 公司,丹麦);

收稿日期:2014-08-26

基金项目:吉林省科技厅重点科技攻关(编号:20130206040NY);吉林省教育厅科学技术项目(编号:吉教科合字 2013339);吉林市教育局杰出青年培育专项(编号:2013625019);吉林农业科技学院重点学科培育项目(编号:吉农科合字 2013X021)。

作者简介:尹柏双(1978—),男,黑龙江哈尔滨人,博士,副教授,从事奶牛乳腺疾病方向的研究。E-mail:ybs3421@126.com。

Varioskan 酶标仪(Thermo 公司,美国);离心机(Sigma 公司,美国)。

1.3 试验动物分组

通过乳汁体细胞计数监测后将试验奶牛分成健康对照组(6 头,乳中体细胞数(SCC)≤10 万个/mL)、轻度隐性乳房炎组(6 头,50×10⁴ mL<SCC≤150 万个/mL)、中度隐性乳房炎组(6 头,150 万个/mL<SCC≤500 万个/mL)、重度隐性乳房炎组(6 头,SCC>500 万个/mL)。

1.4 乳样采集

采集试验奶牛的乳汁,采样前对乳区进行清洗,然后用 70% 的乙醇消毒乳区,弃掉头 3 把乳汁,分别采乳 10 mL 装入无菌试管中,将采集的乳样放到冰盒中,带回实验室检测。

1.5 乳清制备

将采集的乳样于 3 000 r/min 离心 5 min,除去上层乳脂,然后于 16 000 r/min 高速离心机中离心 10 min,去除沉淀,保留上清,4℃保存,待测。

1.6 检测方法

乳汁体细胞计数采用体细胞计数仪测定,C-反应蛋白(CRP)含量采用 CRP Elisa 试剂盒测定,在酶标仪上比色测定 D_{450 nm},根据试剂盒说明绘制标准曲线后计算 CRP 含量。

1.7 数据处理

采用 SPSS 17.0 数据分析系统做单因素方差分析,结果以“均值±标准误”表示,分析样品间差异显著性。

2 结果与分析

患轻度乳房炎奶牛乳清中 CRP 含量为(49.01±9.46)μg/mL,与健康对照组比较升高极显著;患中、重度乳房炎奶牛乳清中 CRP 含量较健康对照组极显著升高(表 1)。随着乳房炎病情加重,乳汁体细胞数增加,乳清中 CRP 含量逐渐升高,表明乳腺损伤程度和乳汁体细胞数增加与乳清中 CRP 含量呈正相关。

3 讨论与结论

急性期蛋白是机体受感染、炎症等应激原刺激下所产生

表 1 奶牛乳清中 C-反应蛋白含量

组别	C-反应蛋白含量 ($\mu\text{g/mL}$)
健康对照组	34.99 \pm 5.58
轻度乳房炎组	49.01 \pm 9.46 **
中度乳房炎组	60.98 \pm 12.64 **
重度乳房炎组	75.75 \pm 9.54 **

注:“**”表示与对照组比较差异极显著($P < 0.01$)。

变化的蛋白,又叫应激敏感蛋白质,C-反应蛋白是急性期蛋白成员之一。CRP 是由以非共价对称连接完全相同的 5 个单体组成,分子量约为 118 ku^[12]。CRP 通过结合具有磷酸基的物质,来识别各种病原体 and 机体受伤或坏死的细胞膜,具有推动组织修复和再生的功能;细菌感染后,CRP 能与病原体结合,激活经典的补体途径,清除异物,杀死病原微生物^[13-14]。安芳兰等研究表明,血清中急性期蛋白的浓度变化可为疾病诊断、预防提供可靠的依据^[15]。伍涛等研究表明,C-反应蛋白在奶牛乳房受到病理损伤时,具有较高的敏感性,当奶牛发生乳房炎时,可以通过测定其血清和乳汁中 C-反应蛋白水平,监测乳房组织的炎症状态^[16]。杨洪森报道,家兔乳头管灌注金黄色葡萄球菌和大肠杆菌后引起家兔乳腺上皮细胞排列改变,腺泡腔扩张显著,腔内分泌物增加,中性粒细胞浸润或崩解,间质小静脉和毛细血管充血,血清中 CRP 含量显著升高^[17]。本试验结果表明,患隐性乳房炎奶牛乳清中 CRP 含量极显著高于健康对照组,随着隐性乳房炎病情加剧乳汁中 CRP 含量逐渐升高,与王洪伟报道的患乳房炎奶牛血清中 CRP 变化基本一致^[18]。在临床兽医学领域针对我国奶牛隐性高发病率和诊断技术相对落后的情况下,利用乳清中 CRP 变化的特点,开展早期快速诊断将具有广阔的研究空间和发展前景。

本研究表明,乳清中 CRP 含量变化与隐性乳房炎发病具有一定相关性,随着乳腺炎症加剧和乳汁体细胞数增加,乳清中 CRP 含量显著升高。

参考文献:

- [1] 吴美玲,付静涛,王江涛,等. 影响奶牛隐性乳房炎发病率的主要因素[J]. 黑龙江畜牧兽医,2014,2(4):49-50.
- [2] 杨永昌,王北宁. C 反应蛋白的临床研究进展[J]. 中国误诊学杂志,2007,7(4):693-695.

(上接第 197 页)

- [58] 苏秀芳,蓝金. 凤仙花的化学成分及药理活性研究进展[J]. 广西民族师范学院学报,2010,27(3):13-15.
- [59] 陈彩莲. 浅述凤仙的临床应用[J]. 中国民间疗法,2007,15(3):28-29.
- [60] 周瑞琴. 凤仙花药理作用研究进展[J]. 中国社区医师:医学专业,2011,13(25):37-38.
- [61] 马红梅,张耀辉,陈小兰. 凤仙花茎不同提取物对细菌的抑制作用[J]. 河南农业科学,2012,41(1):126-128.
- [62] 廖敏,于秀霞,阮期平,等. 航天诱变凤仙花种子抗菌肽的分离纯化及抗菌活性研究初报[J]. 时珍国医国药,2009,20(11):2781-2782.
- [63] 刘思曼,王秀峰,边清泉,等. 凤仙花植株不同部位微量元素含

- [3] Thomas L. 临床实验诊断学[M]//吕元,朱汉民,沈霞,等译. 上海:上海科学技术出版社,2004:677-682.
- [4] Eisenhardt S U, Thiele J R, Bannasch H, et al. C-reactive protein: how conformational changes influence inflammatory properties[J]. Cell Cycle,2009,8(23):3885-3892.
- [5] Black S, Kushner I, Samols D, et al. C-reactive protein[J]. Journal of Biological Chemistry,2004,279:48487-48490.
- [6] 李强,黄月艳,林娜,等. 化脓性脑膜炎患儿血清及脑脊液中 C 反应蛋白变化及临床意义[J]. 中国实用儿科杂志,2005,20(3):171-172.
- [7] Zwaka T P, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages - Implications for atherosclerosis[J]. Circulation,2001,103(9):1194-1197.
- [8] 覃桂林,秦孺子. C 反应蛋白与心房颤动[J]. 中国分子心脏病学杂志,2005,5(4):613-615.
- [9] Kinjo K, S A S, Ohnishi Y, et al. Impact of high-sensitivity C-reactive protein on predicting long-term mortality of acute myocardial infarction[J]. American Journal of Cardiology,2003,91(8):931-935.
- [10] 韩姁,牛秀敏. C 反应蛋白与妊娠期糖尿病的研究进展[J]. 国外医学:妇产科学分册,2006,33(1):20-23.
- [11] 吴少卿,文道林,曹文平. 血清降钙素原和 C-反应蛋白在细菌感染性疾病诊断中的意义[J]. 中国现代医药杂志,2009,11(4):66-68.
- [12] Eckersall P D. Acute phase proteins: form, function and analysis [R]. American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology. Tucson, Arizona, 2006.
- [13] Mold C, Gewurz H, Clos T W. Regulation of complement activation by C-reactive protein[J]. Immunopharmacology, 1999, 42: 23-30.
- [14] 伍涛. 乳房炎奶牛乳汁体细胞数与主要急性期蛋白和相关酶的相关性研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2008:57.
- [15] 安芳兰,杨保田,董文教,等. 急性期蛋白的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2009,9(1):195-198.
- [16] 伍涛,刘莉莉,杜然华,等. 急性期蛋白及其在奶牛乳房炎发展中的作用[J]. 中国奶牛,2010,20(3):30-33.
- [17] 杨洪森. 家兔乳房炎模型建立及对机体内抗氧化指标和急性期蛋白表达的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2011:45.
- [18] 王洪伟. 不同程度奶牛乳腺炎乳中相关酶与急性蛋白的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2010:35-36.

量的比较分析[J]. 化学研究与应用,2010,22(1):111-114.

- [64] 罗英,边清泉,孙建厅,等. 火焰原子吸收光谱法测定凤仙花中 15 种微量元素含量[J]. 分析实验室,2009,28(12):22-25.
- [65] 罗英,罗明华. 航天诱导凤仙花 SP₄ 植株 10 种微量元素含量变化[J]. 绵阳师范学院学报,2010,29(5):57-60.
- [66] 王东升,黄江丽,张志红,等. 凤仙花植株乙醇浸提液和固体粉剂对瘤胃体外发酵代谢参数的影响[J]. 草业学报,2013,22(2):87-93.
- [67] 刘涵,高增平,石钺. 散沫花、凤仙花的化学成分及其在化妆品中的应用现状[J]. 中国药业,2014,23(1):90-92.
- [68] 陈段芬,张岩,方正. 新几内亚凤仙花瓣发育过程中花色素苷及其相关生化物质含量的研究[J]. 河北农业大学学报,2008,31(3):28-32.