

# 我国奶牛乳房炎耐药菌基因分布机制与反复发作生理路径

张宇亭<sup>1</sup>, 卜丹蕊<sup>1,2</sup>, 窦靖岚<sup>1,2</sup>, 贺家华<sup>2</sup>, 万婷婷<sup>2</sup>, 刘墨<sup>2</sup>, 蔡子雯<sup>1</sup>,  
徐飞<sup>3\*</sup>, 刘晓晔<sup>1,2\*</sup>

1 兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京

2 北京农学院 动物医学院, 北京

3 中国农业科学院饲料所, 北京

张宇亭, 卜丹蕊, 窦靖岚, 贺家华, 万婷婷, 刘墨, 蔡子雯, 徐飞, 刘晓晔. 我国奶牛乳房炎耐药菌基因分布机制与反复发作生理路径[J]. 微生物学报, 2026, 66(7): 3121-3138.

ZHANG Yuting, BU Danrui, DOU Jinglan, HE Jiahua, WAN Tingting, LIU Zhao, CAI Ziwen, XU Fei, LIU Xiaoye. Mechanisms of antimicrobial resistance gene distribution and pathophysiological pathways of recurrence of bovine mastitis in China[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(7): 3121-3138.

**摘要:** 奶牛乳房炎是制约我国奶业高质量发展的关键因素, 而耐药菌的流行与感染反复发作已成为当前防控体系面临的严峻挑战。长期抗生素筛选压力虽能暂时缓解临床症状, 却显著加速了多重耐药(multidrug-resistant, MDR)菌的演变与扩散, 导致治疗失败率上升及病例向慢性化转变。流行病学数据显示, 我国奶牛乳房炎病原谱以金黄色葡萄球菌、链球菌属及肠杆菌科细菌为主, 其耐药基因通过质粒、转座子及整合子介导的水平基因转移机制实现跨菌种及跨区域传播。生物膜形成、外排泵激活、靶点修饰及胞内逃逸等机制与乳腺微环境相互作用, 共同构成了病原菌对宿主免疫和药物攻击的防御屏障。结合“肠-乳轴”介导的内源性炎症及代谢紊乱规律, 本文系统综述了我国奶牛乳房炎耐药菌的区域流行特征与分子扩散机制, 深入解析了感染反复发作的病理基础, 并前瞻性地提出了从精准诊断到替代治疗的综合治理策略, 为我国奶牛乳房炎的科学防控提供理论支撑。

**关键词:** 奶牛乳房炎; 耐药菌; 耐药基因; 水平基因转移; 生物膜; 反复发作

资助项目: 现代产业技术体系北京市家禽创新团队(BAIC06-2025); 国家自然科学基金(31572558); 北京市自然科学基金(6224060); 北京农学院科技创新“火花行动”支持计划(BUA-HHxD2022007); 北京市教育委员会科学研究计划(KM202310020006); 2025年北京农学院教育教学研究与改革项目(BUA025YB01)

This work was supported by the Beijing Innovation Team of the Modern Industrial Technology System for Poultry (BAIC06-2025), the National Natural Science Foundation of China (31572558), the Beijing Natural Science Foundation (6224060), the Beijing University of Agriculture Science and Technology Innovation “Spark Action” Support Program (BUA-HHxD2022007), the Beijing Municipal Education Commission Research Program (KM202310020006), and the 2025 Beijing University of Agriculture Education and Teaching Research and Reform Project (BUA025YB01).

\*Corresponding authors. E-mail: LIU Xiaoye, xiaoyeliu@bua.edu.cn; XU Fei, xufei@caas.cn

Received: 2025-11-03; Accepted: 2026-02-27; Published online: 2026-03-16

# Mechanisms of antimicrobial resistance gene distribution and pathophysiological pathways of recurrence of bovine mastitis in China

ZHANG Yuting<sup>1</sup>, BU Danrui<sup>1,2</sup>, DOU Jinglan<sup>1,2</sup>, HE Jiahua<sup>2</sup>, WAN Tingting<sup>2</sup>, LIU Zhao<sup>2</sup>, CAI Ziwen<sup>1</sup>, XU Fei<sup>3\*</sup>, LIU Xiaoye<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Beijing, China

<sup>2</sup> College of Veterinary Medicine, Beijing University of Agriculture, Beijing, China

<sup>3</sup> Institute of Feed Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China

**Abstract:** Bovine mastitis is a key factor restricting the high-quality development of China's dairy industry, while the prevalence of antimicrobial-resistant bacteria and recurrent infections have become severe challenges for the current prevention and control system. Although long-term antibiotic selection pressure may temporarily alleviate clinical symptoms, it significantly accelerates the evolution and dissemination of multidrug-resistant (MDR) pathogens, leading to rising treatment failure rates and a transition toward chronic disease. Epidemiological data indicate that the pathogen spectrum of bovine mastitis in China is dominated by *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., and *Enterobacteriaceae*, with resistance genes propagating across species and regions through horizontal gene transfer (HGT) mediated by plasmids, transposons, and integrons. Furthermore, mechanisms such as biofilm formation, efflux pump activation, target modification, and intracellular escape interact with the mammary microenvironment to establish a robust defense barrier against host immune clearance and antimicrobial agents. Incorporating the principles of endogenous inflammation and metabolic dysregulation mediated by the “gut-mammary axis”, this paper systematically reviews the regional prevalence and molecular dissemination mechanisms of resistant pathogens in China. It provides an in-depth analysis of the pathological basis of recurrence and prospectively proposes comprehensive management strategies—ranging from precision diagnosis to alternative therapies—aiming to provide a theoretical foundation for the scientific control of bovine mastitis.

**Keywords:** bovine mastitis; antimicrobial-resistant bacteria; antimicrobial resistance genes; horizontal gene transfer; biofilm; recurrence

奶牛乳房炎(bovine mastitis)是全球奶牛养殖业中发病率最高、经济损失最严重的生产性疾病,该病不仅导致产奶量下降、乳品质劣变及淘汰率升高,更因抗菌药物残留风险威胁公共卫生安全<sup>[1]</sup>。随着我国奶业向集约化、规模化转型,乳房炎的流行模式已发生显著变化,由传统的急性感染转向以隐性感染和慢性反复发作

为主,这使得现有的防控体系面临严峻挑战,病原微生物感染是奶牛乳房炎的主要诱因,其中细菌性感染占比最高<sup>[2]</sup>。临床治疗长期依赖抗菌药物,但长期经验性乃至不规范的用药策略在抑制敏感菌株的同时,也对病原菌群施加了强大的选择压力,加速了多重耐药(multidrug-resistant, MDR)菌株的富集与流行<sup>[3]</sup>。我国流行

病学数据显示, 奶牛乳房炎病原菌的耐药谱系正不断复杂化, 耐药率持续攀升, 直接导致临床疗效下降和感染慢性化, 耐药菌的影响也已不仅限于对抗菌药物的耐受, 而是表现出耐药性与毒力的协同增强<sup>[4]</sup>。诸多研究表明, 病原菌在获得耐药基因的同时, 其黏附、侵袭、生物被膜形成及胞内存活能力也显著提升, 从而使其能够躲避免疫监视并在乳腺内长期潜伏<sup>[5-7]</sup>。由质粒(plasmids)、转座子及整合子介导的水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT), 进一步加速了耐药性在不同菌群及牧场间的空间扩散, 构建了复杂的区域性耐药网络<sup>[8-10]</sup>。

乳房炎的反复发作已不再被视为单纯的局部感染问题, 而是涉及宿主全身代谢与系统免疫的病理过程。随着“肠-乳轴”理论的深化, 内源性炎症信号输入被证实是驱动乳腺慢性炎症的重要机理, 肠道微生态紊乱产生的炎症因子和代谢产物可诱导乳腺局部微环境发生改变, 为耐药菌的定殖、潜伏与再激活提供了生理土壤<sup>[11]</sup>。这种由“耐药病原-局部微环境-全身代谢状态”构成的多维互作体系, 正是乳房炎慢性化与复发化的深层病理基础。综上所述, 传统的基于单一药敏结果的防治模式已难以应对当前复杂的防控形势。深入剖析我国奶牛乳房炎耐药菌的流行特征及其传播规律, 并从分子机制与系统生理双重维度解析耐药性与反复发作的内在联系, 对于构建精准、高效的综合治理策略具有重要的学术价值和实践意义。本文旨在系统梳理我国奶牛乳房炎耐药菌的流行特征、耐药基因分布及其传播规律, 并进一步解析耐药性与乳房炎反复发作之间的内在生理机制, 这对于构建更为科学、精准的防控策略具有重要意义。

## 1 我国奶牛乳房炎耐药菌流行现状及基因分布

奶牛乳房炎作为我国奶业的主要威胁, 其

病原菌以细菌为主, 而耐药株的流行已成为防控的重点所在<sup>[8]</sup>。本文基于多省份数据, 概述耐药菌区系分布, 并分析基因流行动态及传播机制以揭示微生物异质性。

### 1.1 多地区病原菌区系分布特征

我国奶牛乳房炎病原菌区系分布异质性明显, 主要受养殖模式、气候和抗生素使用影响<sup>[4]</sup>。全国各地流行调查结果显示, 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)检出率最高, 分别为 15%–25%和 20%–30%<sup>[12-13]</sup>。隐性感染是耐药菌感染的主流形式, 临床隐性感染仅占 4%–10%, 但耐药株比例已超过 40%, 在西北和华北地区尤为突出<sup>[14]</sup>。

在西北地区, 新疆某牛场隐性乳房炎阳性率为 38.18%, 其中 *E. coli* 占比 33.33%, 远高于 *S. aureus* 的 16.67%, 这可能与当地半干旱环境和规模化挤奶设备污染相关<sup>[12]</sup>。甘肃武威 84 株分离菌株中, *E. coli* 占比 31%, 链球菌占 26.2%, 以隐性感染为主, 这强调了内陆区隐匿传播的隐忧<sup>[15]</sup>。内蒙古 2015–2024 年 12 053 份样本调查显示, *E. coli* 检出率为 13.82%、*S. aureus* 检出率为 10.28%、肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)检出率为 8.96%、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)检出率为 7.45%、停乳链球菌(*Streptococcus dysgalactiae*)检出率为 6.60%, 环境源病原比例从 2019 年起上升, 提示气候干燥加剧机会性感染<sup>[16]</sup>。宁夏地区的临床乳房炎中总共有 198 株阳性菌, 其中肠球菌检出率较低, 占样本的 6.8%, 粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)检出率为 4.7%, 屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)检出率为 1.7%, 但 MDR 率较高, 分别为 21.2% 和 26.0%, 常见耐药基因包括 *tetL* 占 92.7%、*ermB* 占 86.9%, 伴随毒力基因 *cpd* 占 94.2%、*gelE* 占 77.4% 和 *efaAfs* 占 93.4%, 这些特征提示肠球菌在临床病症中存在潜在的隐匿传播风险<sup>[17]</sup>。

华北地区河北和西北地区宁夏联合调查的

*S. agalactiae* 检出率为 43% (ST103 Ia 型), 临床感染高于亚临床感染, 毒力基因 *lacIV* 和 *gapC* 检出率为 100%<sup>[18-19]</sup>。东北地区大连的规模化奶牛场中乳房炎平均发病率为 25%–35%, 夏季高温高湿利于病原菌滋生和传播, 此时发病率会额外上升 10%–15%, 以混合型病原为主<sup>[20]</sup>。

华南地区, 广东 9 家牧场 94 份疑似样品中, *S. dysgalactiae* 检出率为 60.6%, 混合感染率高达 50.6%, 牛支原体和 *K. pneumoniae* 分别为 26.6% 和 25.5%, 反映了多雨潮湿区病原多样性和交叉传播风险<sup>[21]</sup>。

西南地区, 四川西昌某奶牛场分离的 *K. pneumoniae* 株显示高毒力, 在小鼠致病实验中 4 只接种鼠在第 3 天全部死亡, 单一株占比 100%<sup>[22]</sup>。

2021 年全国 *S. aureus* 分离研究显示, 序列型 ST1 及其所属克隆复合体 CC1 占比 33.3%, *spa* 基因变异型 *t114* 占比 31.9%, 这些分子分型通过多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)和 *spa* 分型获得, 揭示了 *S. aureus* 的克隆扩散模式, 并与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)株的流行密切相关, 进一步加剧了耐药传播风险<sup>[23]</sup>。细菌性病原以链球菌属、葡萄球菌属和肠杆菌科为主, *S. agalactiae* 检出率整体为 24%, 临床性感染为 30% 高于亚临床感染的 20%, 在 2019 年后呈显著上升趋势, 这反映了抗生素滥用和养殖密度集约化加剧的微生物生态压力<sup>[4]</sup>。

## 1.2 关键耐药基因的流行与传播动态

耐药基因是病原菌适应抗生素压力的核心要素, 我国奶牛乳房炎病原菌中常见耐药基因检出率高达 60%–80%, 其流行和传播导致感染反复发作、MDR 加剧<sup>[4,8]</sup>。奶牛乳房炎耐药基因谱系多样, 以  $\beta$ -内酰胺类、喹诺酮类、四环素类和氨基糖苷类相关基因为主<sup>[4,9,24]</sup>。

基因分布异质性受地域影响显著, 西北地区多携带质粒介导型基因(如 *blaCTX-M*), 易转

移; 华东地区以染色体整合型为主, 如 *mecA* 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)变异, 稳定整合<sup>[9,24]</sup>。内蒙古和宁夏 6 牧场 160 份样本中,  $\beta$ -内酰胺酶阳性率为 75%–100%, 分离的 14 株 *E. coli* 全携带 *blaCTX-M* 基因<sup>[16-18]</sup>。河北和宁夏联合调查的 116 株 ST103 Ia 型 *S. agalactiae* 显示, 介导四环素耐药的 *tetO/tetM* 基因和介导大环内酯耐药的 *ermB* 基因广泛存在, 且与黏附和侵袭基因共表达, 增强了细胞毒性<sup>[18]</sup>。内蒙古 105 株 *E. coli* 全部携带 *blaTEM* 基因, 其中 30.5% 有 I 型整合子, 携带 *dftr/aad/cat* 盒子, 这强化了氟喹诺酮耐药的分子基础<sup>[9]</sup>。北部 140 株 *S. agalactiae* 中, *tetM* 检出率为 95%、*lnuA* 为 80.71%、*ermB* 为 75%、*pbp1A* 为 97.14%, 这些高检出基因与临床症状严重相关<sup>[19]</sup>。

隐性乳房炎 *S. aureus* 中, *mecA* 为 50%、*tetK* 为 84.04%、*aacA-aphD* 为 45.74%、*blaZ* 为 92.55%, 这些基因与林可霉素/氨苄西林耐药高度相关<sup>[25]</sup>。*mecA* 基因(介导甲氧西林耐药)在 *S. aureus* 中检出率最高, 西北地区达 70%, 华东地区仅 40%, 变异源于单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)差异<sup>[12,15,23]</sup>。*blaTEM* 和 *blaCTX-M* 等扩展谱  $\beta$ -内酰胺酶在大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯氏菌中流行, 区域变异与抗生素残留相关<sup>[9,21,24]</sup>。北方 *E. coli* 中, *aadA* 为 62.5%、*tetB* 为 60%, 这些基因与头孢唑林耐药相关, 序列型 ST10 及其克隆复合体 CC10 中, *tetB* 和 *aadA* 基因的 SNP 变异与 MDR 密切相关<sup>[26]</sup>。北部 *S. agalactiae* 中 *tetM* 为 95%、*lnuA* 为 80.71%、*ermB* 为 75%、*ermA* 为 17.14%、*ermC* 为 13.57%、*tetO* 为 72.14%、*tetS* 为 29.29%、*blaTEM* 为 25.71%, 这些基因主要由四环素或大环内酯耐药主导<sup>[19]</sup>。介导氟喹诺酮耐药的 *qnrA/S* 基因检出率为 50%, 大连多为质粒携带型, 易跨菌种传播<sup>[20]</sup>。介导万古霉素耐药的 *rmlB* 基因和氨基糖苷修饰 *aac(3)-IV* 基因在链球菌中占比 30%–45%, 与规

模场用药模式相关<sup>[4,21]</sup>。

耐药基因的水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)是流行动态的关键驱动力,主要通过质粒、转座子和整合子实现跨菌种/种间传播<sup>[8-10]</sup>。在奶牛乳房炎中, HGT 发生率达 25%–40%, 新疆分离株质粒介导转移效率>50%, 涉及 RP4 型质粒携带 *mecA* 向 *E. coli* 扩散<sup>[9,12,24]</sup>。*Tn916* 转座子可促进 *blaTEM* 基因在链球菌间的转位跳跃; 东北地区调查显示, 这种水平转移频率与细菌生物膜(biofilm)密度呈正相关<sup>[20,23]</sup>。Class 1 型整合子则整合多基因簇, 如 *qnrA* 与 *blaCTX-M* 共存, 华东携带超广谱  $\beta$ -内酰胺酶 (extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, ESBLs) 的细菌中占比 60%, 加速 MDR 演化<sup>[9,21,24]</sup>。内蒙古 *E. coli* 株中, 30.5% 携带 I 型整合子, 这些整合子内含 *dfrA17/dfr2d/dfrA1* 介导甲氧苄啶耐药、*aadA1/aadA5* 介导氨基糖苷耐药以及 *catB3/catB2* 介导氯霉素耐药等可变基因盒子, 从而显著提升了水平基因转移(HGT)的效率<sup>[9]</sup>。四川分离的肺炎克雷伯氏菌的 16S rRNA 基因变异进一步证实, HGT 能显著增强菌株对乳腺微环境的适应性, 如低氧和高脂条件, 从而促进侵袭基因如 *khe* 溶血酶基因与耐药基因簇的协同作用<sup>[22]</sup>。初步机制研究表明, HGT 受乳腺微环境调控, 如 pH 和营养, 群体感应(quorum sensing, QS)信号增强共轭效率<sup>[10]</sup>。细菌群体感应信号通过自诱导因子(autoinducers)调控集体行为。HGT 是耐药扩散的主因, 需通过分子表征进一步量化以指导干预策略<sup>[4,8]</sup>。

## 2 奶牛乳房炎耐药菌的耐药分子机制

奶牛乳房炎常见病原菌包括 *S. aureus*、*Streptococcus*、*E. coli* 和 *K. pneumoniae* 等, 其中革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性菌大肠埃希氏菌是主要致病菌<sup>[27-28]</sup>。这些病原菌的耐药性及 MDR 已成为治疗失败的主要原

因<sup>[5]</sup>。耐药机制涉及遗传、表型和环境因素的复杂交互, 包括抗生素耐药基因 (antimicrobial resistance genes, ARGs) 的获得、生物膜形成、主动泵出系统 (efflux pumps)、酶介导的抗生素降解、靶点修饰及 HGT 等(图 1), 以下详细阐述这些机制<sup>[6-7]</sup>。

### 2.1 酶促失活与生化修饰

乳腺炎病原菌对抗生素的耐药表型不仅源于遗传基因的获得, 更取决于其产生的特异性生化防御武器失活酶与修饰酶, 这些酶通过对药物分子的化学结构进行精准破坏或共价修饰, 使其在到达靶点前即丧失杀菌活性<sup>[5]</sup>。

对于临床使用的  $\beta$ -内酰胺类抗生素, 如青霉素及各种头孢菌素, 病原菌主要通过分泌水解酶进行灭活, 其中 ESBLs 是多重耐药性的核心驱动力, 涵盖了 cefotaxime munich (CTX-M)、oxacillinase (OXA)、sulbenicillin variant (SHV) 和 temoniera (TEM) 等核心家族成员<sup>[5]</sup>。这些水解酶通过活性中心的丝氨酸或金属离子残基发起亲核攻击, 特异性断裂  $\beta$ -内酰胺环中的酰胺键。这一开环反应导致抗生素分子的空间几何结构发生不可逆的解体, 使其彻底丧失与细菌细胞壁合成酶青霉素结合蛋白 (penicillin-binding proteins, PBPs) 结合的能力, 从而保护细菌细胞壁的完整性<sup>[5]</sup>。*S. aureus* 对青霉素 75% 的耐药率和对阿莫西林 67% 的耐药率主要是由 *blaZ* 基因介导的  $\beta$ -内酰胺酶产生驱动<sup>[29]</sup>。*E. coli* 中, CTX-M 型耐药基因是全球范围最普遍的 ESBLs 类型<sup>[28]</sup>。*S. agalactiae* 和 *S. uberis* 中存在介导大环内酯类耐药的 *ermB*、*mefA* 基因, 以及介导四环素耐药的 *tetM*、*tetO* 基因<sup>[27]</sup>。

通过干扰蛋白质合成的氨基糖苷类药物, 病原菌采用更为隐蔽的生化修饰策略, 通过产生乙酰转移酶 (aminoglycoside acetyltransferase, AAC)、磷酸转移酶 (aminoglycoside phosphotransferase, APH) 和核苷转移酶 (aminoglycoside nucleotidyltransferase, ANT) 等修饰酶, 实现对药物分子的化学改造。其中, 乙

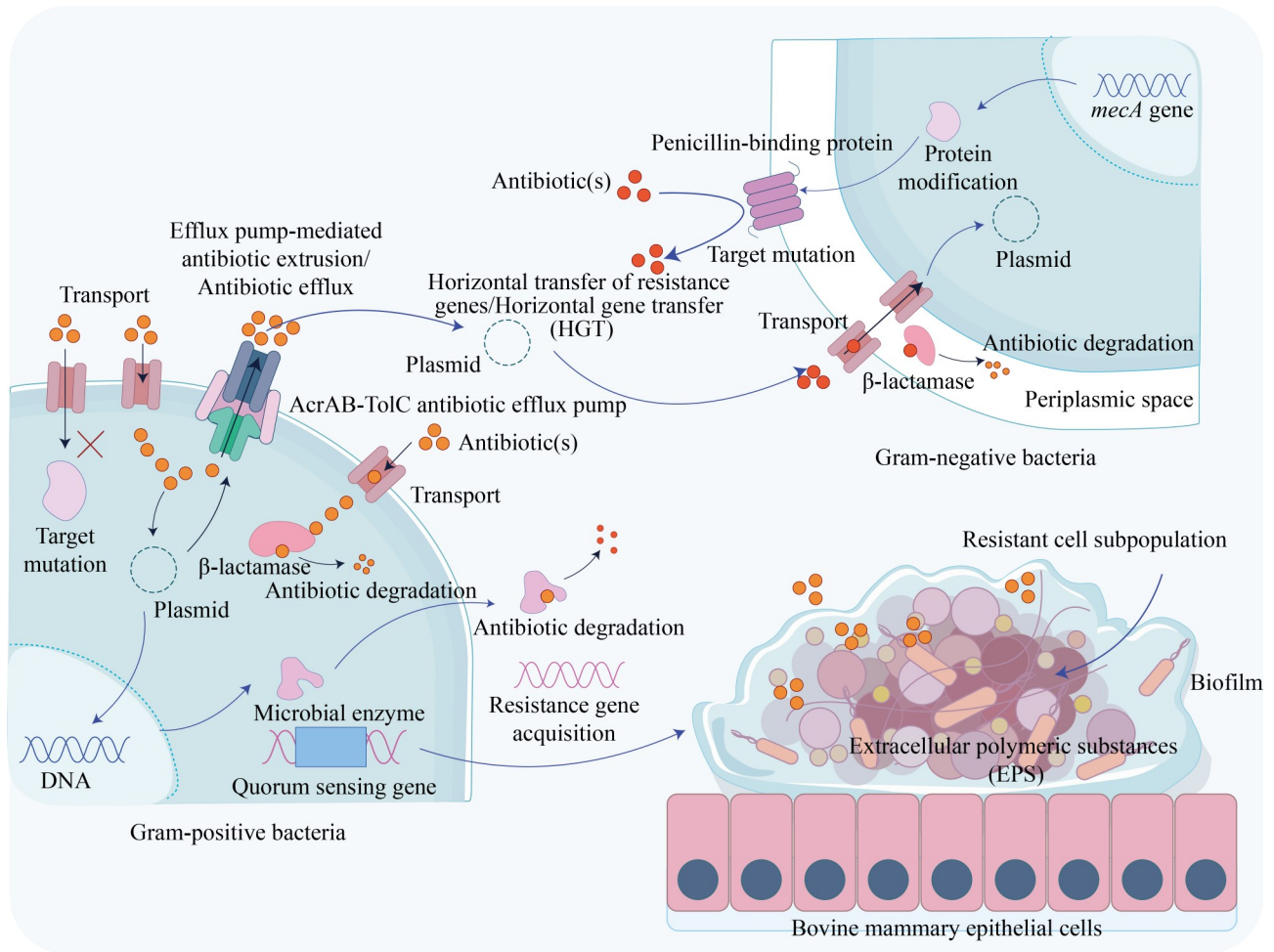


图1 奶牛乳房炎致病菌的耐药机制示意图

Figure 1 Schematic diagram of antimicrobial resistance mechanisms in pathogens causing bovine mastitis.

酰转移酶 AAC 利用乙酰辅酶 A 作为供体, 将乙酰基团共价结合到抗生素分子的特定羟基和氨基位点上, 这种共价修饰显著改变了药物分子的空间电荷分布, 产生了显著的空间位阻效应 (steric hindrance), 使抗生素无法精确嵌入细菌核糖体 30S 亚基的 A 位点, 从而阻断了药物对蛋白质翻译过程的干扰<sup>[5]</sup>。大肠埃希氏菌中存在高频的 *strA*、*strB* 及 *aadA* 基因, 这些基因的存在导致奶牛临床上链霉素 (streptomycin) 的高度耐药, 正是通过乙酰转移酶或核苷转移酶改变药物构象实现的<sup>[30]</sup>。

## 2.2 膜屏障与主动外排泵系统

主动外排泵 (active efflux pumps) 是介导奶牛乳房炎病原菌 MDR 的核心物理屏障, 这类跨膜蛋白能够利用能量逆浓度梯度将抗生素、细菌代谢副产物及宿主衍生毒性分子排出胞外, 使胞内药物浓度长期处于有效杀菌阈值之下<sup>[7]</sup>。根据结构、能量来源和底物特异性, 细菌外排泵可分为五大类: 耐药结节分化 (resistance-nodulation-cell division family, RND) 家族、主要防御机制超家族 (major facilitator superfamily, MFS)、小多药耐药 (small multidrug resistance family, SMR) 家族、多药和有毒化合物外排

(multidrug and toxic compound extrusion, MATE) 家族钠依赖性反向转运蛋白、ATP 结合盒(ATP-binding cassette transporter, ABC)转运蛋白<sup>[7]</sup>。

在奶牛乳房炎常见的革兰氏阴性病原菌大肠埃希氏菌中, RND 家族的 AcrAB-TolC 系统被认为是介导 MDR 最重要的贡献者, 它跨越了内外 2 层细胞膜, 能直接将底物排到细胞外环境中<sup>[7]</sup>。与此同时, 外排泵维持的胞内亚抑菌浓度可诱导细菌产生适应性, 促进质粒介导的耐药基因 HGT<sup>[7]</sup>。外排泵是导致乳房炎病原菌表现出交叉耐药的主要原因, 尤其是 AcrAB-TolC 系统在处理乳腺局部高浓度代谢物和抗生素时的核心地位<sup>[27]</sup>。

### 2.3 靶点突变与保护策略

部分抗生素以结合细菌细胞成分作为作用靶点。多重耐药(multidrug-resistant, MDR)菌采用的策略之一便是对这些成分进行修饰<sup>[5]</sup>。靶点修饰通过改变参与细胞壁肽聚糖合成的转肽酶(青霉素结合蛋白)的结构和数量来实现, 青霉素结合蛋白数量的降低会减弱抗生素的结合能力, 进而减弱该药剂的作用并导致细菌对其产生耐药性。隐性乳房炎中, *S. aureus* 获得介导甲氧西林耐药的 *mecA* 基因后会改变青霉素结合蛋白的结构, 从而降低抗生素的作用能力<sup>[25,29]</sup>。 $\beta$ -内酰胺类抗生素是动物和人类治疗中应用最广泛的抗生素之一, 对于这类药物的耐药性可能通过阻断靶点转肽酶 PBPs 与药物之间的相互作用等方式产生<sup>[27-28]</sup>。*erm* 基因介导的 23S rRNA 甲基化, 使大环内酯类无法结合<sup>[27]</sup>。

### 2.4 生物膜(biofilm)的物理屏蔽与代谢抑制

生物膜是奶牛乳房炎病原菌对抗生素压力的复杂集体防御策略, 金黄色葡萄球菌和无乳链球菌等微生物能够在生物或非生物表面生长并形成群落, 这些由大分子和微生物组成的集群被称为生物膜<sup>[5]</sup>。

生物膜的核心功能源于细菌分泌的胞外聚

合物(extracellular polymeric substances, EPS), 主要成分包括多糖、蛋白质和胞外 DNA(extracellular DNA, eDNA), EPS 基质可增强生物膜对极端环境波动的抵抗力, 其适应性可保护微生物以抵抗免疫反应的影响, 限制抗生素渗透, 延长炎症持续时间<sup>[31]</sup>。EPS 在生物膜中形成的层状结构可通过扩散屏障阻碍抗菌剂的渗透, 从而导致药物被截留、效力降低甚至失活<sup>[5]</sup>。带负电荷的 EPS 成分能够螯合带正电的氨基糖苷类抗生素使药物失效, 显著延缓药物渗透, 这种渗透障碍使胞内细菌长期暴露于亚抑菌浓度, 进而诱导耐药基因的表达。生物膜的形成会产生营养和氧气梯度, 造成代谢差异性, 生物膜深层区域由于资源匮乏形成了生长缓慢或休眠的耐药细胞亚群(persister cells), 这些休眠细胞可通过代谢抑制实现非遗传性表型耐药, 对抗青霉素类、头孢类等临床常用于针对处于活跃分裂期细菌的抗生素<sup>[7,29]</sup>。

在抗生素到达微生物细胞之前需经过组织、血液及生物膜这 3 个区域。局部生物膜中抗生素的浓度取决于生物膜的大小、位置及个体药物代谢情况, 感染部位生物膜处的抗生素浓度若处于亚抑制水平, 可能会因选择压力和突变增加而提高抗生素耐药性的发生几率<sup>[32]</sup>。

生物膜内部的高密度微生物集群促成了复杂的通讯与协作功能, 形成群体感应机制<sup>[5,31]</sup>。细菌通过积累和识别自诱导物(autoinducers)进行通讯协作, 协同调控耐药基因的转录<sup>[5]</sup>。在这种高度紧密的微环境中, HGT 的效率显著提升。通过加速传播耐药基因, 使多菌种间基因共享, 生物膜可加速 MDR 菌株的演化进度<sup>[5,7,32-33]</sup>。

## 3 奶牛乳房炎反复发作的生理机制

### 3.1 隐匿性感染与胞内逃逸

奶牛乳房炎的亚临床感染具有显著的隐匿性<sup>[34]</sup>。临床检测显示, 受感染乳区的体细胞数

(somatic cell count, SCC)持续升高会与健康乳区形成显著差异,长期监测结果表明在 20 个月内感染乳区 SCC 均值维持在  $3.02 \times 10^6$  cells/mL,但无奶量下降、乳头硬化发红、乳汁结块等直观症状,常规临床观察难以识别<sup>[34-35]</sup>。这种隐匿性在组织病理学上常表现为肉芽肿的形成,其内部存在 Splendore-Hoeppli 反应(嗜酸性基质包裹细菌菌落)构成了坚固的物理屏障,保护病原菌免受免疫细胞浸润和抗生素渗透<sup>[35]</sup>。

在微观机制上, *S. aureus*、*S. dysgalactiae* 等致病菌突破乳腺上皮细胞(bovine mammary epithelial cell, BMECs)屏障并实现胞内定殖是感染持久化的关键。在此过程中细菌表面的微生物表面识别黏附基质分子(microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules, MSCRAMMs),如纤连蛋白结合蛋白(fibronectin-binding proteins, FnBPs)、纤维蛋白原结合蛋白等,与宿主胞外基质及上皮细胞特异性黏附<sup>[29,36]</sup>。内化过程主要通过拉链式机制(zipper mechanism)实现,FnBPs 利用环境中的纤连蛋白作为桥梁,与宿主细胞表面的  $\alpha 5 \beta 1$  整合素结合,随后诱导蛋白酪氨酸激酶活性及 Rho GTP 酶的激活,这一信号通路迅速触发宿主肌动蛋白细胞骨架重排,导致细菌被主动内化至细胞内<sup>[36]</sup>。此外,生物膜的形成进一步介导了细菌在乳腺上皮表面的多层堆积与稳定定殖,为入侵组织提供了持续的动力<sup>[36]</sup>。

进入胞内后, *S. aureus* 展现出极强的适配与生存能力。细菌可逃逸至细胞质中,通过下调  $\alpha$ -毒素等细胞毒素的表达来减少对宿主细胞的急性损伤,从而诱导细胞凋亡或建立长期共生关系<sup>[36]</sup>。更具威胁性的生存策略是形成小菌落变异株(small colony variants, SCVs)。SCVs 体积仅为野生型的十分之一,具有生长缓慢、无色素、不溶血及天然抵抗氨基糖苷类药物等特征<sup>[36-37]</sup>。由于其代谢活性极低,SCVs 能够潜伏在巨噬细胞等专职或非专职吞噬细胞内,且不引发强烈的细胞介导免疫反应,使病原菌在乳腺组织中

处于长期低活性的隐匿状态。这种隐匿感染的维持最终导致临床治疗的失效<sup>[34]</sup>。一方面,  $\beta$ -内酰胺类、头孢类常规抗生素由于极性高、脂溶性差,难以穿透宿主细胞膜接触病原菌,其有效浓度仅能清除乳管内的胞外菌,无法根除胞内潜伏的病原菌<sup>[34,36,38]</sup>。另一方面,奶牛乳腺炎的持续性与宿主免疫应答的极化密切相关:当宿主无法有效激活 1 型免疫应答,尤其是细胞介导的免疫反应(cell-mediated immune response, CMIR),而仅代偿性激活以 IgG1 为主的体液免疫时,宿主防御系统无法识别并清除胞内的 SCVs<sup>[34,36,38]</sup>。这种药理与免疫的双重屏障,使得残存细菌在停药或宿主免疫力波动时能够重新复发,形成症状缓解-复发的慢性感染循环。

### 3.2 生物膜介导的慢性演变与反复发作机制

生物膜(biofilm)不仅是细菌防御外界压力的外壳,更是奶牛乳房炎从急性转化为慢性、导致病情反复发作的根源。

生物膜通过其复杂的 EPS 物理屏障,以及由基因表达差异介导的抗原修饰和免疫抑制,有效规避了宿主的体液免疫和细胞免疫,从而实现持续定殖。在生物膜型 *S. aureus* 的持续定殖中,生物膜疫苗比浮游菌疫苗更能降低小鼠乳腺内 *S. aureus* 载量,即生物膜内的 *S. aureus* 因结构保护,无法被宿主免疫完全清除,导致病原体持续定殖;定殖的细菌不断释放低水平毒力因子,反复刺激乳腺组织,激活中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞浸润,形成感染-炎症-无法清除-再感染的循环,最终发展为慢性炎症,表现为乳腺红肿、渗出、脓肿<sup>[29,39]</sup>。

生物膜的生命周期包括发育、成熟和分散阶段,其中程序性脱落(dispersion)是导致临床复发的关键驱动力。生物膜成熟后会进入分散阶段,在被动分散时会发生大量细胞脱落,这是生物膜侵蚀的特征,主动分散时生物膜的孤立细胞或小细胞簇会被释放<sup>[5,40]</sup>。当生物膜发育成

熟或受环境应激, 如乳腺导管内乳流剪切力变化或药物刺激时, 生物膜会发生程序性脱落, 释放大量的浮游细菌, 这些细菌随乳汁扩散至其他乳腺小叶, 进而引发新的炎症反应。辅助基因调节子(accessory gene regulator, agr)群体感应系统可以调控生物膜动态, 在生物膜早期发育阶段, agr 通常处于抑制状态, 这有助于基质积累并减少免疫检测, 但 agr 在生物膜后期会被激活以促进分散剂的产生如酚溶性调节蛋白(phenol-soluble modulins, PSMs)和蛋白酶, 使细菌能够脱离生物膜并定殖在新的部位<sup>[41]</sup>。agr 调节的灵活性使金黄色葡萄球菌和无乳链球菌等病原菌可以在宿主体内持续存在, 保持侵袭潜力<sup>[33,41]</sup>。生物膜周期性的释放机制解释了为何临床治疗后 SCC 短期下降, 但停药后迅速回升的现象<sup>[33]</sup>。

生物膜脱落细胞(dispersed cells)并非直接回归为普通的浮游菌, 而是处于一种独特的中间阶段。脱落细胞具有典型的表型遗传特征, 其小型调控 RNA 的 *rsmY* 和 *rsmZ* 的表达水平显著低于浮游菌, *rsmY* 和 *rsmZ* 的低表达会间接激活应激适应于毒力相关通路, 提升细菌应对宿主免疫压力的应激反应, 即生物膜内已启动脱落细胞应激反应通路, 且脱落细胞的表型在短期内具有稳定性, 并非依赖于基因突变, 而是通过表型状态传递<sup>[5,42]</sup>。相比浮游菌, 脱落细胞被巨噬细胞内化的效率降低了近 99%, 能够有效逃避免疫细胞的清除, 这种高度免疫逃避能力依赖于其 III 型分泌系统(type III secretion system, T3SS)的激活, 且 T3SS 的毒力通路以预处理状态高效攻击宿主细胞<sup>[42-43]</sup>。同时, 脱落细胞的低环二鸟苷酸(cyclic diguanylate, c-di-GMP)状态意味着其外排泵保持着高表达状态, 并下调铁载体合成, 表现为铁应激脆弱性, 以呈现显著的抗性记忆, 使得短期内药物敏感性大幅下降<sup>[42]</sup>。

生物膜的长期存在不仅维持了感染, 还通过其核心成分胞外多糖(poly-*N*-acetylglucosamine,

PNAG/PIA)、eDNA 和黏附蛋白, 除了介导免疫逃逸, 还会直接影响乳腺间质的修复过程, 生物膜作为支架促进了成纤维细胞的黏附与增殖, 其诱导的慢性炎症微环境导致胶原纤维的过度沉积。这种不完全的组织修复最终导致乳腺间质纤维化, 表现为乳房硬化及功能的不可逆损失<sup>[39]</sup>。

### 3.3 肠-乳轴(gut-mammary axis)与内源性感染

传统乳房炎防控理论主要聚焦于病原菌经乳头管逆行入侵乳腺的上行感染(ascending infection)模式。然而, 临床实践中大量饲养环境良好、乳头封闭完整的奶牛仍表现出亚临床乳房炎的反复发作与迁延不愈, 这一现象难以仅用外源性感染途径加以解释。越来越多的证据表明, 乳腺并非孤立的感染靶器官, 而是深度嵌入全身代谢、免疫与微生物网络之中的系统性受害器官。通过胃肠-乳腺轴(gut/rumen-mammary gland axis)介导的内源性感染路径, 已成为驱动乳房炎慢性化和复发化的重要病理基础之一<sup>[11]</sup>。

在高精料日粮诱导的亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis, SARA)、氧化应激或围生期代谢负荷条件下, 奶牛瘤胃及肠道微生物生态发生显著紊乱, 表现为假单胞菌门(*Pseudomonadota*)等促炎革兰氏阴性菌的异常扩增。基于 16S rRNA 基因测序的多组织关联分析显示, 患病奶牛粪便、瘤胃液与乳汁微生物群落之间具有较高的结构相似性, 提示肠道可能是乳腺致病菌的重要储存库和持续来源<sup>[44-45]</sup>。值得注意的是, SARA 状态下瘤胃及血清中唾液酸(sialic acid, SA)水平显著升高。SA 不仅是代谢异常的标志物, 其本身还可作为功能性分子加剧肠道菌群失调, 外源性 SA 的补充已被证实能够进一步破坏肠道微生态稳态, 并直接诱导乳腺炎症反应, 提示代谢异常与微生物失衡之间存在正反馈放大效应<sup>[11]</sup>。

肠道微生态失衡会显著削弱肠黏膜屏障功能。研究表明, SA 及相关代谢应激可下调 Occludin、ZO-1 等紧密连接蛋白的表达, 导致肠屏障通透性增加, 从而诱发代谢性内毒素血症<sup>[11]</sup>。在这一过程中, 大量增殖的革兰氏阴性菌持续释放脂多糖(lipopolysaccharide, LPS), 这些内源性毒素可经血液循环跨越血-乳屏障, 直接作用于乳腺组织并诱发炎症级联反应<sup>[11]</sup>。代谢组学研究进一步揭示, 亚临床乳房炎奶牛血浆中马尿酸(hippuric acid)水平显著降低, 而马尿酸的减少通常反映肠道屏障功能受损及系统性抗炎能力下降<sup>[45]</sup>。与此同时, 肠道菌群失调还会降低宿主循环系统中碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的活性, 而 ALP 是已知的 LPS 解毒酶, 其活性下降直接削弱了机体中和内毒素的能力, 使乳腺长期暴露于低剂量但持续存在的炎症刺激之下<sup>[45]</sup>。

当前研究表明, 肠源性信号可通过至少 4 种途径实现跨器官转运并作用于乳腺: 细菌或其结构成分易位, 活菌或其细胞壁成分通过受损的肠屏障进入血液循环; 代谢产物传递, 肠道失调产生的有害代谢产物通过血液到达乳腺; 神经系统调节, 肠道神经系统与乳腺生理功能之间可能存在远程感应; 免疫细胞介导, 免疫细胞在肠道摄取病原后, 通过淋巴系统归巢至乳腺, 无意中成为病原的搬运工<sup>[11]</sup>。这些途径共同构成了“肠-乳轴”的信息高速通道, 为内源性炎症信号的持续输入提供了结构基础。

肠源性 LPS 持续作用于乳腺组织, 通过激活 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路, 诱导一种低水平但长期存在的炎症反应, 即沉默炎症(silent inflammation)。这种背景性炎症并不表现为急性临床症状, 却会逐步削弱乳腺局部免疫系统的反应阈值, 使

免疫细胞进入类似免疫耗竭的功能状态, 从而降低其对新入侵病原的清除能力。LPS 诱导的炎症环境会刺激白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和  $\alpha$  肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等促炎因子的持续释放, 并调控长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) (如 LncRNA HULIB)的表达, 从而进一步放大炎症损伤。这种背景炎症破坏了乳腺上皮的完整性, 使大肠埃希氏菌等环境源性细菌更容易实现二次定殖<sup>[45-46]</sup>。

最新研究表明, 肠源性 LPS 对乳腺的损伤并非短暂刺激, 而是通过重塑宿主细胞的非编码 RNA 调控网络, 形成长期的病理炎症记忆。当 LPS 到达乳腺组织后, 会显著上调 LncRNA CA12-AS1 的表达<sup>[47]</sup>。长链非编码 RNA 充当了微小 RNA (microRNA, miRNA)的诱饵, 通过竞争性结合 miR-133a, 解除了机体原本对炎症反应的精准抑制, 这种分子海绵效应导致 NF- $\kappa$ B 信号通路的持续失控和促炎因子(如 IL-6、IL-1 $\beta$ )的暴发式产生<sup>[47]</sup>。这一发现解释了临床上胃肠源性乳房炎的迁延性特征: 即使血液循环中的 LPS 浓度暂时下降, 乳腺细胞内部已形成的 CA12-AS1/miR-133a 调控轴仍会使组织处于促炎阈值降低的状态, 从而诱发病情的反复发作<sup>[47]</sup>。另一关键调控因子 LncRNA HULIB 通过与 PP2AB 蛋白特异性结合, 干扰了细胞内蛋白磷酸酶对炎症通路的负反馈调节, 这种机制与 CA12-AS1 协同作用, 从消耗抗炎因子和抑制信号降解 2 个维度共同维持了乳腺细胞在 LPS 暴露下的持续高感状态<sup>[48]</sup>, 这进一步解释了“肠-乳轴”易位病原导致的炎症为何具有更强的级联放大效应, 使得微量的肠源性成分即可诱发严重的临床乳房炎。

持续的 LPS 刺激不仅激活炎症信号, 还会诱导乳腺上皮细胞发生显著的病理改变。LPS 可诱导 ARPC3/ARPC4 依赖的细胞骨架重排,

并促进热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70)与 NOD 样受体蛋白 3 (NLR family pyrin domain-containing 3, NLRP3)炎性小体的空间结合, 导致细胞凋亡及焦亡<sup>[49]</sup>。持续的 LPS 刺激会影响细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的平衡。研究显示, LPS 通过 MAPK 通路后可调控 TIMP-1、TIMP-2 和 PAI-1 的表达, 干扰乳腺组织的正常修复过程<sup>[50]</sup>。这种不完全的组织修复为慢性炎症和乳腺纤维化的发展提供了微环境基础<sup>[45]</sup>。

内源性病原挑战对乳腺的伤害不仅局限于分子级联, 更延伸至细胞的物理结构支撑系统, 内源性 LPS 的暴露激活了 ARPC3/ARPC4 依赖的细胞骨架重塑过程。这种结构的物理改变并非仅是损伤的结果, 它通过促进 HSP70 与 NLRP3 炎性小体的空间结合, 成为炎症反应的加速器。这一物理与生化信号的深度偶联, 解释了内源性感染如何从底层架构上破坏乳腺上皮细胞的屏障功能, 导致严重的组织重构和泌乳功能崩溃<sup>[49]</sup>。

除了分子信号通路的持续激活, 乳腺组织本身的空间结构与力学特性也参与了内源性炎症信号的放大与定向传播。乳腺由高度分支的腺泡与导管系统构成, 其复杂的三维几何结构在病理状态下会显著改变细胞所承受的牵引力与机械应力分布。研究表明, 内源性 LPS 暴露可通过改变细胞骨架张力激活机械敏感离子通道 Piezo1, 并促进其与 TLRs 信号复合体的空间共定位, 从而在特定腺泡区域放大炎症信号的下游级联反应<sup>[51]</sup>。这种力学-免疫耦合机制为解释内源性乳房炎的局灶性损伤和病理异质性提供了新的视角: 即在相同系统性炎症负荷下, 组织几何与局部力学环境的差异决定了炎症反应的空间分布强度。这一过程并非独立于分子通路运行, 而是通过降低炎症激活阈值, 使乳腺上皮在低剂量内源性刺激下更易进入病理放大状态, 从而加剧组织结构破坏和功能衰退。

## 4 当前防控策略与挑战

### 4.1 现有药物应用及剂型分析

我国奶牛乳房炎治疗兽药目前形成了以抗生素为主流、中药和复方制剂逐步推广、新型替代兽药不断研发的应用格局, 但同时也面临着抗生素耐药性等问题。国内注册的奶牛乳房炎兽药中, 化学药物(化药)占多数, 以  $\beta$ -内酰胺类和氨基糖苷类抗生素为主, 这些药物通过抑制细菌细胞壁合成或蛋白质合成发挥杀菌作用, 适用于急性临床乳房炎和干乳期预防。这些化药剂型多样, 包括乳房注入剂和注射液, 残留期控制在 28 d 以内, 可确保奶制品安全, 且在基层养殖场易于操作和推广。

兽用中药则以清热解毒、消肿散结为主, 多用于隐性乳房炎、亚临床期和恢复期的辅助治疗, 强调整体调节和低残留优势。兽用中药以中兽医整体观和辨证论治为指导思想, 遵循治未病原则, 通过调和阴阳、扶正祛邪来增强奶牛机体抗病力, 避免单纯对症而忽略根本, 体现了中兽医天人合一、标本兼顾的哲学基础。这些兽用中药多为复方制剂, 剂型以注射液和颗粒剂为主, 毒副作用低、残留期短, 适合产奶期使用, 尤其在抗生素耐药菌流行区作为替代或联合方案, 能通过多靶点调控提升整体疗效, 在联合应用时可降低体细胞数、改善炎症指标并缩短恢复时间, 但其对临床治愈率的提升仍主要体现在趋势性改善, 尚缺乏统一的量化标准。兽用中药指导思想从中医辨证角度提供个性化干预, 如湿热型乳房炎偏重清热利湿, 气虚型则注重补益脾肺。

本文基于农业农村部官网国家兽医基础信息库注册数据库, 总结了 46 种国内常用治疗奶牛乳房炎兽药的剂型(图 2)。

目前, 市面上针对奶牛乳房炎的剂型分类主要包括几大类(图 2A)。最多的为系统注射液, 主要用于急性感染或全身症状明显的病例, 能够快速缓解症状。其次, 乳房注入剂也占有较

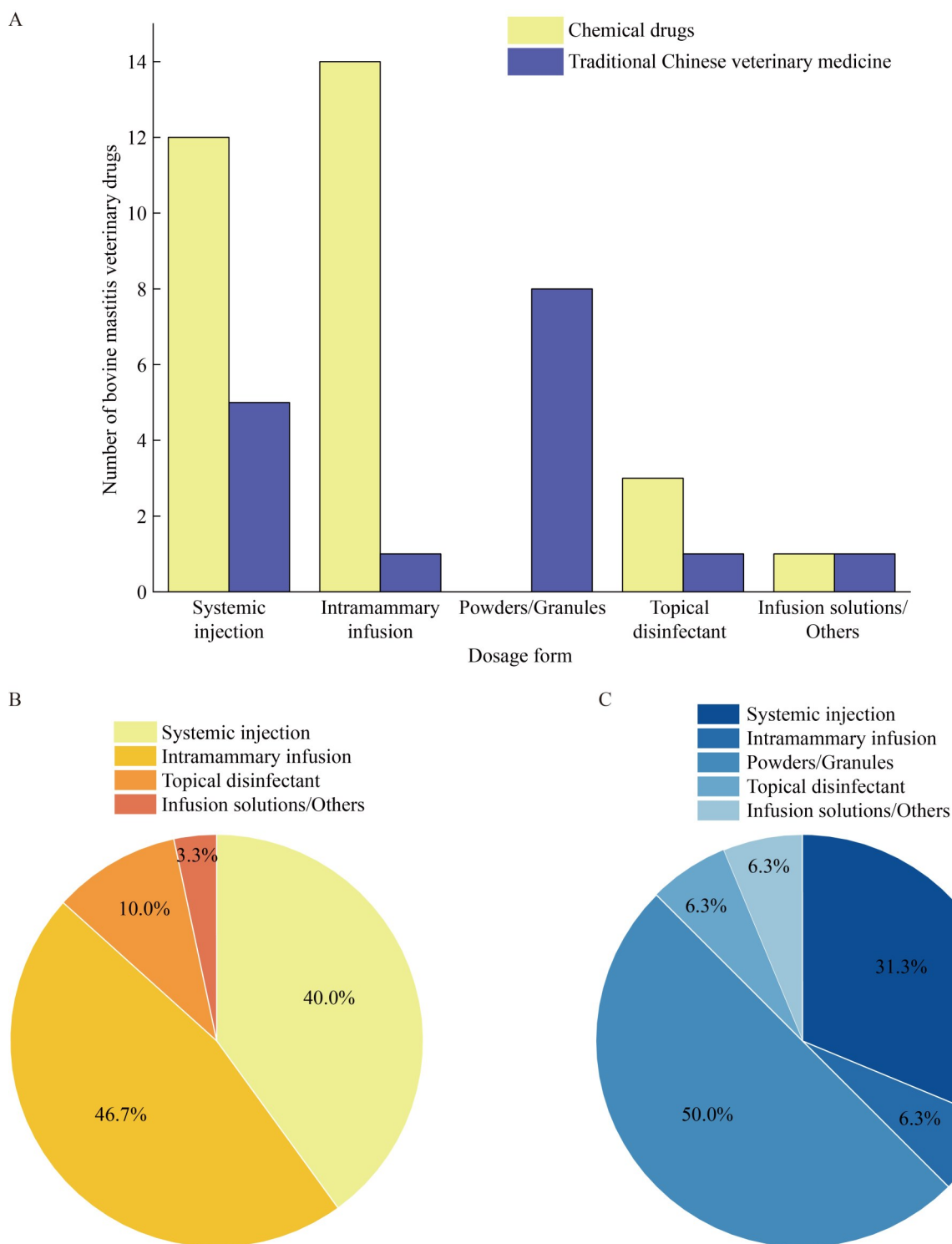


图2 奶牛乳房炎兽药剂型分析

Figure 2 Analysis of veterinary drug formulations for bovine mastitis. A: Statistical analysis of dosage forms for bovine mastitis veterinary drugs; B: Statistical analysis of dosage forms for chemical veterinary drugs for bovine mastitis; C: Statistical analysis of dosage forms for traditional Chinese veterinary medicines for bovine mastitis.

大比例。口服粉剂、颗粒剂、局部溶液、消毒剂、灌注液等占有一定比例起到辅助作用。奶牛乳房炎的治疗药物剂型选择与其临床效果和操作便利性密切相关。剂型的选择直接影响治疗效果和养殖户的操作效率,剂型的特定形态可以影响药物的释放速度、吸收部位和稳定性等关键因素。

在治疗奶牛乳房炎的化药剂型中,系统注射液占比 40.0%,是常用的剂型(图 2B)。系统注射液的药效非常迅速,可快速全身分布,适用于严重病例,结合抗炎药可降低 SCC 和产奶损失,并且使用剂量精准、作用可靠,适合不宜口服的药物,鉴于部分药物存在胃肠吸收率低或易受消化酶降解的特性,采用注射给药方式可显著提高其生物利用度和给药可靠性;缺点包括潜在系统性副作用、残留风险高,并加剧抗生素耐药<sup>[52]</sup>。

乳房注入剂也是当前化药剂型中占据优势的剂型(图 2B),乳房注入剂在化药剂型中占比 46.7%。乳房注入剂可以通过乳头导管直接作用于感染腺组织,显著提高局部药物浓度,规避口服给药的瘤胃降解和首过效应,干奶期缓释剂具有长效维持作用,泌乳期直击病灶,迅速清除病原体,缓解乳房炎症。乳房注入剂的优势在于直接靶向乳腺,提高局部浓度,减少系统副作用,并有效预防干乳期新感染;缺点是操作不便,可能导致奶中残留,且对深层感染分布不均<sup>[53-54]</sup>。

兽用中药颗粒剂或口服粉剂常作为奶牛乳房炎兽用中药剂型(图 2A、2C),通常以口服或外敷方式使用,具有清热解毒、消肿散结的功效,适合慢性或亚临床型乳房炎的调理,便于预防或恢复期使用。在兽用中药制作过程中,颗粒剂可以避免中药内主要成分被高温破坏,减少辅料干扰,并且中药内主要成分如生物碱易在液态制剂中水解,干燥制剂更利于长期保存,且受限于制药工艺,颗粒剂更能降低成本。口服制剂在奶牛乳房炎兽药中应用较少,主要

由于适口性差,奶牛拒食情况的发生易影响给药准确性,并且受瘤胃微生物降解影响,药物生物利用度波动较大,这些临床应用原因导致奶牛乳房炎化药剂型不倾向于口服制剂。局部溶液/消毒剂在化药剂型和兽用中药剂型中占比较少,分别为 10% 和 6.3% (图 2B、2C)。局部溶液/消毒剂的优势是预防性强、易操作、对环境病原有效,且具有低毒性;缺点为仅表面作用,对已感染无效,且需频繁使用。

剂型分析显示,化药偏向精准杀菌,中药注重多靶点调节,整体覆盖病程全阶段。中药制剂大部分为散剂,没能解决吸收屏障和首过效应。使用植物提取物制成的合剂潜力较大,但同样无法直达病患,目前尚未设计出更合适的剂型应用到植物提取物。总结来说,目前市面上治疗奶牛乳房炎的药物剂型种类较少,不足以发挥不同类型药物的最大效力。

## 4.2 新型制剂与替代疗法

在传统抗生素面临耐药性和残留挑战的背景下,新型制剂与替代疗法已成为研究热点。这些方法强调绿色、低毒和多靶点机制,旨在提供可持续防控选项。近年来,国际研究聚焦于噬菌体、疫苗、纳米制剂、植物提取物、精油、抗菌肽和益生菌等,部分已在体外或动物模型中验证潜力,并逐步向临床转化。

噬菌体鸡尾酒因其高度特异性、自增殖能力和对耐药菌的有效杀伤而备受关注。近期一项针对金黄色葡萄球菌诱导的奶牛乳腺炎的研究中,研究者构建了一种新型噬菌体鸡尾酒(novel phage cocktail, PHC-1),并利用泌乳小鼠模型系统评价了其治疗效果;实验结果显示,PHC-1 显著降低了感染部位的细菌载量,减轻了炎症反应,并改善了乳腺组织的病理损伤,为噬菌体制剂作为传统抗生素替代疗法提供了有力的实验证据<sup>[55]</sup>。噬菌体疗法的体外验证常采用巴氏杀菌乳作为接近乳腺分泌物的模拟介质,以评估奶中成分对噬菌体活性的潜在影响。近期一项研究分离了针对传染性和结肠杆菌性

乳腺炎的噬菌体,并在巴氏消毒法处理的牛奶(pasteurized milk)中系统考察其裂解动态,结果显示噬菌体处理组细菌负荷快速下降,提示单一噬菌体或鸡尾酒均可在奶基质中有效发挥作用<sup>[56]</sup>。

奶牛乳腺炎疫苗研发长期面临病原体多样性和免疫偏向的挑战,大多疫苗只能诱导较强的体液免疫,产生大量抗体,但对细胞免疫的激活较弱。酵母[如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)]作为抗原表达与递送载体,能有效激活T细胞响应,已在多种疾病中显示优势,酵母安全适用于肌内和乳腺内途径免疫,无明显局部或系统毒性,现有研究突显了酵母平台在诱导更均衡免疫应答方面的潜力,为后续开发表达乳腺炎主要病原(如金黄色葡萄球菌、无乳链球菌等)关键表面蛋白的重组酵母疫苗奠定基础<sup>[57]</sup>。

在奶牛真菌性乳腺炎的病原防控领域,银-铜复合纳米粒子(AgCuNPs)等金属纳米粒子对引起奶牛真菌性乳腺炎的念珠菌(*Candida* spp.)和 *Diutina* spp. 表现出显著的抗真菌活性,为开发新型非抗生素预防策略提供了有前景的体外证据<sup>[58]</sup>。在新型纳米制剂领域,纳米凝胶已被视为兽医药物递送的下一阶段,可作为药物控释载体、疫苗递送系统和黏膜给药平台的基质基础<sup>[59]</sup>。纳米凝胶具有高生物相容性、可生物降解性和刺激响应性,可负载抗生素、疫苗佐剂增强和针对畜禽常见疾病的靶向应用,纳米凝胶的优势在于软质结构、高水分含量、易于表面修饰和低毒性,尤其适合乳腺局部或黏膜给药途径,在牛等家畜中特别适用于黏膜途径递送抗菌、抗真菌药物或抗原,有望降低传统抗生素使用并改善对奶牛乳房炎的防控效果<sup>[60]</sup>。

在植物源抗菌剂领域,目前已有研究报道了蓝桉叶提取物及其活性成分熊果酸(ursolic acid, UA)和积雪草酸(asiatic acid, AA)对奶牛乳腺炎临床分离菌的体外抗菌和抗生物膜效能<sup>[60]</sup>。UA和AA对链球菌的抑制作用显著强于金黄色

葡萄球菌,且在生物膜抑制方面表现出色,研究强调,这些天然三萜化合物可作为传统抗生素的非抗生素替代策略,特别是针对生物膜形成的顽固性乳腺炎,具有局部乳腺内给药的潜在应用价值<sup>[60]</sup>。Song等<sup>[61]</sup>综述了黄酮类化合物对抗耐药细菌的多种作用模式:直接作用抗菌化合物(antimicrobial compounds, DACs)主要针对细菌本身,包括膜损伤(damage of cell membrane, DAC IM)、生物膜抑制(inhibition of biofilm, DAC IB)、外排泵抑制(inhibition of efflux pump, DAC IE)和毒力因子调控(regulation of virulence factors, DAC IV),常由prenyl取代基介导;宿主作用抗菌化合物(host-acting antimicrobial compounds, HACs)则通过酚羟基增强宿主防御、减轻炎症。

在天然精油抗菌剂领域,Aouadhi等<sup>[62]</sup>报道了8种精油对奶牛乳腺炎临床分离菌的体外抗菌效能,其中头状百里香(*Thymus capitatus*)精油表现出最优异的广谱活性,对革兰氏阳性和革兰氏阴性多重耐药菌均有效,抑菌圈大、最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)/最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)低;通过多种机制表征实验,该精油主要通过破坏细胞膜屏障、诱导胞内物质泄漏、降低渗透压耐受并促进细菌自溶来发挥杀菌作用,该发现强化了酚类富集精油在对抗生物膜相关慢性乳腺炎方面的潜力,尽管仍限于体外数据,未来需开展毒性、安全性和体内/局部给药试验以支持实际应用。Cao等<sup>[63]</sup>整合网络药理学和分子对接技术,系统解析了牛至精油治疗奶牛乳腺炎的潜在作用模式:核心活性成分百里香酚和香芹酚靶向炎症因子(TNF、IL-1 $\beta$ 、IL-6)和Toll样受体信号[TLR2/4、髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)],调控PI3K-Akt、NF- $\kappa$ B、MAPK等信号通路,实现抗炎、抗感染和免疫调节的多重效应。

在抗菌肽作为新型替代疗法领域,当前研

究对 16 种 AMPs 进行了针对奶牛乳腺炎致病菌的杀菌活性及生化特征评估, 这些肽类分子针对包括革兰氏阴性和革兰氏阳性菌在内的临床分离株, 展示了不同程度的快速杀菌作用, 活性与肽的阳离子性、两亲结构和膜破坏机制密切相关<sup>[64]</sup>。

## 5 总结与展望

我国在奶牛乳房炎耐药菌的流行监测与分子机制领域虽已取得显著进展, 但仍面临耐药性持续攀升与临床乳房炎慢性化并存的严峻形势, 亟需打破现有研究的零散局面, 建立更加系统的科学防控体系。在流行病学解析上可进一步实现跨纬度研究, 从片段化的区域调查拓展至基于全基因组测序和宏基因组学的长期动态监测。通过绘制更加精细的耐药基因传播图谱, 结合多组学整合分析, 预演奶牛乳房炎在产业链中的风险演化规律, 为精准防控提供数据基础。

要实现精准防控, 必须深入解构耐药与致病的协同演化机制。未来的研究应超越对单一耐药基因的关注, 聚焦于生物被膜、外排泵及胞内逃逸等表型机制如何与乳腺微环境相互作用, 形成抵御免疫清除和药物治疗的联合防线。深入研究耐药性与慢性炎症维持的内在关联, 将推动防控策略从单纯的杀菌向干扰与调控模式转型, 即靶向群体感应系统、阻断耐药基因转移、增强乳腺局部先天免疫。与此同时, 需重视剂型与耐药防控机制的适配性, 针对生物被膜介导的慢性感染, 可研发缓释型、靶向型剂型, 实现药物在乳腺局部的长效释放, 精准穿透生物被膜, 提升防控效果并降低耐药风险。

目前, 前瞻性的研究需将乳腺感染与宿主全身代谢稳态相结合。“肠-乳轴”理论为理解乳房炎的反复发作提供了新视角, 同时提示防控策略需兼顾治标和固本, 缓解乳腺局部感染, 通过优化日粮、调控肠道微生态和缓解围生期应激来改善宿主整体健康。这种病原-宿主-微环境

三位一体的研究框架是破解乳房炎慢性化的核心, 也为构建包含精准诊断、新型疗法与精细管理的综合防控体系指明了方向。

## 作者贡献声明

张宇亭: 研究构思、文献筛选与整合、全文撰写、图表绘制与数据整理; 卜丹蕊、窦靖岚、贺家华: 文献检索、背景资料整理、参考文献校对; 万婷婷: 论文修改、语言润色、图表优化; 刘墨、蔡子雯: 论文修改与语言润色; 徐飞、刘晓晔: 课题指导、论文修改与定稿审核、经费支持。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds[J]. *Veterinary Research*, 2003, 34(5): 475-491.
- [2] 冯浩强, 艾俊杰, 宋林卿, 王利敏, 王彦斌, 万政良, 戴小华. 奶牛乳房炎的研究进展[J]. *当代畜禽养殖业*, 2024, 44(1): 36-38.
- [3] Oliver SP, Murinda SE. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens[J]. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2012, 28(2): 165-185.
- [4] Qiu JX, Si MK, Chong XY, Wang YW, Yang BL, Chu MF, Liang YC, Cheng W, Qi YP, Chen XL, Liang Y. Prevalence and antimicrobial resistance of *Streptococcus agalactiae* associated with bovine mastitis in China: a meta-analysis[J]. *Open Veterinary Journal*, 2025, 15(9): 4060.
- [5] De de Brito FAE, de de Freitas APP, Nascimento MS. Multidrug-resistant biofilms (MDR): main mechanisms of tolerance and resistance in the food supply chain[J]. *Pathogens*, 2022, 11(12): 1416.
- [6] Janus A, Deepa PM, Vergis J, Rajasekhar R, Habeeb BP, Bipin KC, Vinu David P, Anand L, Ratish RL, Shyma VH, Vijayakumar K. Unravelling the complex mechanisms of multidrug resistance in bovine mastitis pathogens: insights into antimicrobial resistance genes, biofilm dynamics, and efflux systems[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2024, 195: 106902.
- [7] Mohammed Z. An integrated view of bacterial resistance in the antibiotic era: efflux pumps biofilms and plasmids[J]. *Journal of Biomedicine and Biochemistry*, 2025, 4(4): 97-107.
- [8] 芦燕, 希尼尼根, 于景丽, 赵吉. 中国奶牛乳房炎病原菌群的地区分布特征[J]. *微生物前沿*, 2018(2): 48-57. Lu Y, Xi N, Yu JL, Zhao J. Distribution characteristics of pathogenic communities associated with bovine mastitis

- across different regions of China[J]. *Advances in Microbiology*, 2018(2): 48-57 (in Chinese).
- [9] Zhao HX, Ma HL, Song C, Fan ST, Fan HL, Zhou WG, Cao JS. Prevalence and molecular characterization of multi-resistant *Escherichia coli* isolates from clinical bovine mastitis in China[J]. *Animal Biotechnology*, 2024, 35: 2322541.
- [10] Eidaroos NH, Algammal AM, Mohamaden WI, Alenzi AM, Alghamdi S, Kabrah A, El-Mahallawy HS, Eid HM, Algwad AA, Ali Asfor S, Neubauer H, Moawad AA, El-Tarabili RM. Virulence traits, agr typing, multidrug resistance patterns, and biofilm ability of MDR *Staphylococcus aureus* recovered from clinical and subclinical mastitis in dairy cows[J]. *BMC Microbiology*, 2025, 25: 155.
- [11] Zhao CJ, Hu XY, Bao LJ, Wu KY, Zhao YH, Xiang KH, Li S, Wang Y, Qiu M, Feng LJ, Meng XY, Zhang NS, Fu YH. Gut dysbiosis induces the development of mastitis through a reduction in host anti-inflammatory enzyme activity by endotoxemia[J]. *Microbiome*, 2022, 10: 205.
- [12] 尹金花, 李玖毅, 吴兴, 贺建忠. 新疆某牛场奶牛隐性乳房炎病原菌的分离鉴定和耐药性分析[J]. *中国兽医杂志*, 2023, 59(5): 86-90.  
Yin JH, Li MY, Wu X, He JZ. Isolation, identification and drug resistance analysis of pathogenic bacteria of subclinical bovine mastitis from dairy farm in Xinjiang[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2023, 59(5): 86-90 (in Chinese).
- [13] 张瑞瑞, 刘慧敏, 孟璐, 董蕾, 胡海燕, 郑楠, 王加启, 程建波. 乳及乳制品中病原微生物溯源技术研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(5): 1788-1799.  
Zhang RR, Liu HM, Meng L, Dong L, Hu HY, Zheng N, Wang JQ, Cheng JB. Research progress in traceability technology of pathogenic microorganisms in milk[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(5): 1788-1799 (in Chinese).
- [14] 左扬, 李田, 胡秀花, 宋志强, 孙城涛, 吴聪明, 王少林. 奶牛牧场养殖环境中产ESBL耐药菌的流行特征[J]. *畜牧兽医学报*, 2022, 53(11): 4027-4034.  
Zuo Y, Li T, Hu XH, Song ZQ, Sun CT, Wu CM, Wang SL. Epidemiological characteristics of ESBL-producing resistant bacteria in dairy farming environment[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2022, 53(11): 4027-4034 (in Chinese).
- [15] 杨红梅, 刘威, 任钰昕, 邱存义, 张进隆. 武威地区奶牛乳房炎主要病原菌的检测及耐药性分析[J]. *今日畜牧兽医*, 2025, 41(12): 3-6.
- [16] Zhao HM, Guo T, Zhou YP, Zhao FM, Sun YJ, Wang YC, Bian YC, Tian GY, Wu CX, Cui Q, Zhou X, Cui JL, Si H, Hao YQ. Major causative bacteria of dairy cow mastitis in the Inner Mongolia autonomous region, China, 2015–2024: an epidemiologic survey and analysis[J]. *Veterinary Sciences*, 2025, 12(3): 197.
- [17] Liu J, Liang ZY, Zhongla MC, Wang HS, Sun X, Zheng JS, Ding XZ, Yang F. Prevalence and molecular characteristics of enterococci isolated from clinical bovine mastitis cases in Ningxia[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2024, 17: 2121-2129.
- [18] Wang Y, Meng SY, Bahetijiang H, Li HX, Wang T, Assabayev T, Barkema HW, Kastelic JP, Han B, Deng ZJ. Phenotypic and genotypic characterization of ST103 serotype Ia *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis in China[J]. *BMC Microbiology*, 2025, 25: 662.
- [19] Liu K, Liu X, Yang JY, Gu XL, Zhang LM, Qu WJ. *Streptococcus agalactiae* isolated from clinical mastitis cases on large dairy farms in North China: phenotype, genotype of antimicrobial resistance and virulence genes[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024, 14: 1417299.
- [20] 刘丽馥. 奶牛乳房炎主要病原菌耐药性分析及防治策略[J]. *畜牧业环境*, 2025(15): 43-45.
- [21] 郭建超, 刘建营, 方露, 陈迎丰, 秦宏贤, 李品红, 许华钊, 樊福好. 广东地区部分牧场奶牛乳房炎病原菌流行情况调查[J]. *中国奶牛*, 2025(1): 31-34.
- [22] 杨克利, 周美琪, 张涛, 邹宏, 何晓露, 韦汉群, 张文丽, 郝桂英. 西昌某奶牛场乳房炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. *西昌学院学报(自然科学版)*, 2023, 37(4): 13-19.  
Yang KL, Zhou MQ, Zhang T, Zou H, He XL, Wei HQ, Zhang WL, Hao GY. Isolation and identification of bovine mastitis pathogenic bacteria and drug sensitivity test in a dairy farm in Xichang[J]. *Journal of Xichang College (Natural Science Edition)*, 2023, 37(4): 13-19 (in Chinese).
- [23] Zhu LL, Lai YX, Li XW, Ma H, Gong FJ, Sun XQ, Cao AQ, Jiang T, Han YT, Pan ZH. Molecular and epidemiological characterization of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis in China[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2024, 191: 106640.
- [24] 张树华. 奶牛源多重耐药金黄色葡萄球菌耐药机制及治疗[J]. *中国乳业*, 2024(12): 82-85, 91.  
Zhang SH. Study on drug mechanism characteristics of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* of dairy cows[J]. *China Dairy*, 2024(12): 82-85, 91 (in Chinese).
- [25] Haq IU, Kamal M, Swelum AA, Khan S, De los Ríos-Escalante PR, Usman T. Alarming multidrug resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk of cows with subclinical mastitis: antibiotic resistance patterns and occurrence of selected resistance genes[J]. *PLoS One*, 2024, 19(5): e0301200.
- [26] Li K, Hou MY, Zhang L, Tian MY, Yang M, Jia L, Liang YY, Zou DM, Liu RN, Ma YZ. Analysis of antimicrobial resistance and genetic correlations of *Escherichia coli* in dairy cow mastitis[J]. *Journal of Veterinary Research*, 2022, 66(4): 571-579.
- [27] Kazemzadeh S, Korneeva O, Shabunin S, Syromyatnikov M. Antibiotic resistance in mastitis-causing bacteria: exploring antibiotic-resistance genes, underlying mechanisms, and their implications for dairy animal and public health[J]. *Open Veterinary Journal*, 2025, 15(9): 3980.
- [28] Nery Garcia BL, Dantas STA, da Silva Barbosa K, Mendes Mitsunaga T, Butters A, Camargo CH, Nobrega DB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and other antimicrobial-resistant Gram-negative pathogens isolated from bovine mastitis: a one health perspective[J]. *Antibiotics*, 2024, 13(5): 391.

- [29] Touaitia R, Ibrahim NA, Touati A, Idres T. *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis: a narrative review of prevalence, antimicrobial resistance, and advances in detection strategies[J]. Antibiotics, 2025, 14(8): 810.
- [30] Fazel F, Jamshidi A, Khoramian B. Phenotypic and genotypic study on antimicrobial resistance patterns of *E. coli* isolates from bovine mastitis[J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 132: 355-361.
- [31] Almatroudi A. Biofilm resilience: molecular mechanisms driving antibiotic resistance in clinical contexts[J]. Biology, 2025, 14(2): 165.
- [32] Zafer MM, Mohamed GA, Ibrahim SRM, Ghosh S, Bornman C, Elfaky MA. Biofilm-mediated infections by multidrug-resistant microbes: a comprehensive exploration and forward perspectives[J]. Archives of Microbiology, 2024, 206(3): 101.
- [33] Fidelis CE, Orsi AM, Freu G, Gonçalves JL, dos Santos MV. Biofilm formation and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus uberis* isolates from bovine mastitis[J]. Veterinary Sciences, 2024, 11(4): 170.
- [34] Thompson-Crispi K, Atalla H, Miglior F, Mallard BA. Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics[J]. Frontiers in Immunology, 2014, 5: 493.
- [35] Putz EJ, Palmer MV, Ma H, Casas E, Reinhardt TA, Lippolis JD. Case report: characterization of a persistent, treatment-resistant, novel *Staphylococcus aureus* infection causing chronic mastitis in a Holstein dairy cow[J]. BMC Veterinary Research, 2020, 16: 336.
- [36] Zaatout N, Ayachi A, Kecha M. *Staphylococcus aureus* persistence properties associated with bovine mastitis and alternative therapeutic modalities[J]. Journal of Applied Microbiology, 2020, 129(5): 1102-1119.
- [37] Atalla H, Wilkie B, Gyles C, Leslie K, Mutharia L, Mallard B. Antibody and cell-mediated immune responses to *Staphylococcus aureus* small colony variants and their parental strains associated with bovine mastitis[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2010, 34(12): 1283-1290.
- [38] Hébert A, Sayasith K, Sénéchal S, Dubreuil P, Lagacé J. Demonstration of intracellular *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 193(1): 57-62.
- [39] Gogoi-Tiwari J, Williams V, Waryah CB, Eto KY, Tau M, Costantino P, Tiwari HK, Mukkur T. Comparative studies of the immunogenicity and protective potential of biofilm vs. planktonic *Staphylococcus aureus* vaccine against bovine mastitis using non-invasive mouse mastitis as a model system[J]. Biofouling, 2015, 31(7): 543-554.
- [40] Pedersen RR, Krömker V, Bjørnsholt T, Dahl-Pedersen K, Buhl R, Jørgensen E. Biofilm research in bovine mastitis[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 8: 656810.
- [41] Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms[J]. PLoS Pathogens, 2008, 4(4): e1000052.
- [42] Chua SL, Liu Y, Yam JKH, Chen YC, Vejborg RM, Tan BGC, Kjelleberg S, Tolker-Nielsen T, Givskov M, Yang L. Dispersed cells represent a distinct stage in the transition from bacterial biofilm to planktonic lifestyles[J]. Nature Communications, 2014, 5: 4462.
- [43] Marbach H, Mayer K, Vogl C, Lee JYH, Monk IR, Sordelli DO, Buzzola FR, Ehling-Schulz M, Grunert T. Within-host evolution of bovine *Staphylococcus aureus* selects for a SigB-deficient pathotype characterized by reduced virulence but enhanced proteolytic activity and biofilm formation[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 13479.
- [44] Hu XY, He ZQ, Zhao CJ, He YH, Qiu M, Xiang KH, Zhang NS, Fu YH. Gut/rumen-mammary gland axis in mastitis: gut/rumen microbiota-mediated "gastroenterogenic mastitis"[J]. Journal of Advanced Research, 2024, 55: 159-171.
- [45] Yu J, Liu CH, Wang DF, Wan PM, Cheng L, Yan XH. Integrated microbiome and metabolome analysis reveals altered gut microbial communities and metabolite profiles in dairy cows with subclinical mastitis[J]. BMC Microbiology, 2025, 25: 115.
- [46] Wang JP, Wang XP, Feng F, Pan CY, Lan XY, Luoreng Z. LncRNA HULIB promotes LPS induced inflammatory response in bovine mammary epithelial cells via PP2AB[J]. International Immunopharmacology, 2024, 143: 113496.
- [47] Feng F, Li YX, Wang JP, Dong YW, Li YH, Luoreng Z, Wang XP. LncRNA CA12-AS1 targets miR-133a to promote LPS-induced inflammatory response in bovine mammary epithelial cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 261: 129710.
- [48] Chen Y, Fang B, Liu X, Bai WK, Liu PW, Duan ZW, Lu T, Zhang QW, Dong WT, Zhang Y. PTGS2/GRP78 activation triggers endoplasmic reticulum stress leading to lipid metabolism disruption and cell apoptosis, exacerbating damage in bovine mastitis[J]. Biomolecules, 2024, 14(12): 1533.
- [49] Wang A, Chen Y, Fang B, Zhang J, Bai WK, Yang TJ, Zhang QW, Liu PW, Duan ZW, Lu T, He YX, Zhang Y, Zhao XX, Dong WT. Cytochalasin B mitigates the inflammatory response in lipopolysaccharide-induced mastitis by suppressing both the ARPC3/ARPC4-dependent cytoskeletal changes and the association between HSP70 and the NLRP3 inflammasome[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(7): 3029.
- [50] Zhang YY, Ding YL, Liang JX, Zhang K, Su H, Wang DQ, Zhang M, Zhao FF, Sun ZW, Wu ZM, Wang FL, Cao GF, Zhang Y. Impact of *Escherichia coli* and Lipopolysaccharide on the MAPK Signaling Pathway, MMPs, TIMPs, and the uPA System in Bovine Mammary Epithelial Cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(8): 4033.
- [51] Han YM, Liu XY, Qu SQ, Duan XC, Xiang YQ, Jiang N, Yang SY, Fang X, Xu L, Wen H, Yu Y, Huang SQ, Huang JY, Zhu K. Tissue geometry spatiotemporally drives bacterial infections[J]. Cell, 2025, 188(13): 3459-3476.e21.
- [52] 申纪饶, 武小虎, 张惠婷, 李新圃, 丁学智, 严作廷, 李宏胜. 奶牛乳腺炎细胞模型的建立及中药治疗作用机制

- 研究进展[J]. 黑龙江动物繁殖, 2021, 29(6): 14-19, 25.
- Shen JR, Wu XH, Zhang HT, Li XP, Ding XZ, Yan ZT, Li HS. Research progress in the establishment of bovine mastitis cell model and mechanism of traditional Chinese medicine treatment[J]. *Heilongjiang Journal of Animal Reproduction*, 2021, 29(6): 14-19, 25 (in Chinese).
- [53] Tomanić D, Samardžija M, Kovačević Z. Alternatives to antimicrobial treatment in bovine mastitis therapy: a review[J]. *Antibiotics*, 2023, 12(4): 683.
- [54] Sharun K, Dhama K, Tiwari R, Gugjoo MB, Iqbal Yattoo M, Patel SK, Pathak M, Karthik K, Khurana SK, Singh R, Puvvala B, Amarpal, Singh R, Singh KP, Chaicumpa W. Advances in therapeutic and management approaches of bovine mastitis: a comprehensive review[J]. *Veterinary Quarterly*, 2021, 41(1): 107-136.
- [55] Guo MT, Zhang YM, Wu LF, Xiong YJ, Xia L, Cheng YQ, Ma JJ, Wang HG, Sun JH, Wang ZF, Yan YX. Development and mouse model evaluation of a new phage cocktail intended as an alternative to antibiotics for treatment of *Staphylococcus aureus*-induced bovine mastitis[J]. *Journal of Dairy Science*, 2024, 107(8): 5974-5987.
- [56] Imklin N, Patikae P, Poomirut P, Arunvipas P, Nasanit R, Sajapitak S. Isolation of bacteriophages specific to bovine mastitis-causing bacteria and characterization of their lytic activity in pasteurized milk[J]. *Veterinary World*, 2024: 207-215.
- [57] Danzelle C, Cunha P, Noleto PG, Gilbert FB, Santos KR, Staub C, Pinard A, Deslis A, Barbey S, Germon P, de Craene JO, Rainard P, Blondel M, Martins RP. *Saccharomyces cerevisiae* as a platform for vaccination against bovine mastitis[J]. *Vaccine*, 2024, 42(26): 126385.
- [58] Kot M, Lange A, Jabłońska W, Kalińska A, Nasiłowska B, Skrzeczanowski W, Gołębiewski M. Nanoparticles as new antifungals in the prevention of bovine mycotic mastitis caused by *Candida* spp. and *Diutina* spp. *in vitro* studies[J]. *Molecules*, 2025, 30(10): 2086.
- [59] Soriano Pérez ML, Flores Bracamonte MC, Bellingeri R, Alustiza F, Molina M. Recent advances in nanogels in veterinary medicine[J]. *Veterinary Research*, 2025, 56: 164.
- [60] Mezzasalma N, Spadini C, Spaggiari C, Annunziato G, Andreoli V, Prosperi A, Mochen L, Cavirani S, Grolli S, Taddei S, Costantino G, Cabassi CS. Antibacterial and antibiofilm activity of *Eucalyptus globulus* leaf extract, asiatic acid and ursolic acid against bacteria isolated from bovine mastitis[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2025, 12: 1565787.
- [61] Song LY, Hu X, Ren XM, Liu J, Liu XY. Antibacterial modes of herbal flavonoids combat resistant bacteria[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 873374.
- [62] Aouadhi C, Jouini A, Maaroufi K, Maaroufi A. Antibacterial effect of eight essential oils against bacteria implicated in bovine mastitis and characterization of primary action mode of *Thymus capitatus* essential oil[J]. *Antibiotics*, 2024, 13(3): 237.
- [63] Cao GJ, Liu J, Liu H, Chen XJ, Yu N, Li XB, Xu F. Integration of network pharmacology and molecular docking to analyse the mechanism of action of oregano essential oil in the treatment of bovine mastitis[J]. *Veterinary Sciences*, 2023, 10(5): 350.
- [64] Cho HS, Kim D, Jeon H, Somasundaram P, Soundrarajan N, Park C. Bactericidal activities and biochemical features of 16 antimicrobial peptides against bovine-mastitis causative pathogens[J]. *Veterinary Research*, 2024, 55: 150.