

奶牛隐性乳房炎诊断新指标研究进展

杨德英, 曹随忠^{2*}, 刘长松, 赵兴绪

(1. 四川农业大学动物医学院, 四川雅安 625014; 2. 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃兰州 730070)

摘要 乳房炎是造成奶牛业损失最严重的传染性疾病。目前应用于奶牛隐性乳房炎诊断的常用方法有加州乳房炎试验(CMI), 乳汁体细胞计数(SCC)等,但在常规使用中都存在一定的局限性。奶牛乳汁中一些酶活性和急性期蛋白量的变化是监测隐性乳房炎很有价值的指标,可用于泌乳早期感染乳区的检测和选择感染奶牛进行干乳期治疗。结合珠蛋白(HP)和血清淀粉样蛋白A(SAA)是奶牛最为敏感的急性期蛋白,它们在急性炎症时大量增加。概述了乳酸脱氢酶(LDH)、N-乙酰基-D-氨基葡萄糖苷酶(NAGase)、乳过氧化物酶(LP)、碱性磷酸酶(ALP)、结合珠蛋白(HP)和血清淀粉样蛋白A(SAA)等指标在奶牛乳房炎诊断中的应用研究进展。

关键词 隐性乳房炎; 诊断指标; 乳酸脱氢酶; 急性期蛋白; 奶牛

中图分类号 S858.23 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)09-03665-02

Development of New Indicator in the Diagnosis of Mastitis of Dairy Cow

YANG De-ying et al (College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014)

Abstract The mastitis is the most common infectious disease affecting dairy cows, which causes the most loss for the dairy industry around the world. The different methods have been used to detect mastitis, such as the California mastitis test (CMT) and the somatic cell count (SCC). However, in practice they had some shortcoming. The valuable parameter of monitor mastitis was the kinds of enzymes and the quantity of acute phase protein, which were used to detect the mastitis for infection early and treat the infection cows in dry lactation. In cattle, the most sensitive acute phase proteins was haptoglobin (HP) and serum amyloid A (SAA), which showed a substantial rising in the response to acute inflammation. In this article the research progress in new indicators which included lactate dehydrogenase (LDH), N-acetyl-D-glucosaminase (NAGase), lactoperoxidase (LP), alkaline phosphatase (ALP), haptoglobin (HP) and serum amyloid A (SAA) in the diagnosis of mastitis in dairy cow was reviewed.

Key words Subclinical mastitis; Indicator of diagnosis; Lactate dehydrogenase (LDH); Acute phase protein; Dairy cow

乳房炎是危害奶牛业最严重的一种疾病,特别是隐性乳房炎,不仅会导致奶牛乳产量和质量的降低、医疗费用的增加,还可能传染给其他奶牛,甚至导致乳腺慢性感染奶牛的淘汰和死亡^[1]。因此,对隐性乳房炎进行监测是奶牛场最重要的工作之一,由于患隐性乳房炎的奶牛没有明显的临床症状,只有运用各种方法对乳汁进行检测。

已有不同的方法用于诊断隐性乳房炎,其中常用的检测方法有加州乳房炎试验(CMI),乳汁体细胞计数(SCC),乳汁病原微生物培养等^[2]。但是这些方法都有局限性,不能准确判断奶牛乳腺感染的严重程度。因此,研究替代现有常规检测方法的新技术非常必要。目前国内外研究的热点是酶学检测法和蛋白检测法,用于乳房炎检测的酶主要有乳酸脱氢酶(LDH)、N-乙酰基-D-氨基葡萄糖苷酶(NAGase)、乳酸过氧化物酶(LP)、碱性磷酸酶(ALP);而用于乳房炎检测的蛋白主要是炎症急性期蛋白——结合珠蛋白(HP)和血清淀粉样蛋白A(SAA)等。

1 隐性乳房炎诊断常规方法与指标

1.1 乳汁体细胞计数 乳汁体细胞计数(SCC)是目前鉴别乳区、牛只和牛群乳房炎的有效方法,可确定乳汁中体细胞数范围,较精确地判断隐性乳房炎的炎症程度^[3],对乳房炎的诊断具有重要意义。对奶牛而言,正常乳区的体细胞计数低于100 000个/ml,但一般认为体细胞数低于250 000个/ml的乳区都是健康的^[4]。但在实际诊断中,SCC步骤较繁琐,耗时较长,只适用于实验室诊断,不适于快速牛旁检查。

1.2 加州乳房炎试验 加州乳房炎试验(CMI)是一种常用

的乳房炎诊断方法,用于直接测定乳汁中体细胞数,现为世界各国,包括我国所普遍采用,方法简易,效果准确,可在牛旁进行。按CMI中试剂和乳汁的反应程度,分为N、T、1、2、3级,对应的体细胞数为N级0~20万/ml, T级20万~40万/ml, 1级40万~120万/ml, 2级120万~500万/ml, 3级500万/ml以上^[5]。间接测定体细胞数的方法除了CMI外,还有根据其原理研制的兰州乳房炎试验(LMI)、杭州乳房炎试验(HMI)和北京乳房炎试验(BMI)等。应用CMI挑选患病奶牛进行干奶期治疗,其准确率高达75%~80%^[6]。CMI的优点是对奶牛隐性乳房炎检测效果较好、经济实惠和具有实时结果的唯一牛旁测试。然而,CMI无法进行大规模检测,除非是自动机械化的检测。

1.3 乳汁微生物培养鉴定 培养乳汁进行微生物鉴定是诊断乳房炎的标准方法。利用桶奶乳汁微生物鉴定有助于在特定的牛场识别病原菌,确定这些病原菌是否为该牛群的问题所在。当在桶奶中发现无乳链球菌、金黄色葡萄球菌或霉形体时,就要注意这些病原菌可能引起该牛群乳房炎的暴发。但是对于非特异性隐性乳房炎,乳房和乳汁不但没有肉眼可见的变化,乳汁中也检不出病原菌。有些病原菌虽经常存在于乳房内,但不一定发病。因此根据乳汁中是否有病原菌判断奶牛是否患有隐性乳房炎并不可靠,只可以根据检出的病原菌的种类、数量大致作出判断^[7]。

2 酶学检测法指标

目前国内外奶牛乳房炎诊断方法的研究热点是酶学检测法。乳房炎会增强乳汁中一些酶的生物化学活性,例如乳酸脱氢酶(LDH)、黄嘌呤氧化酶^[8]、过氧化氢酶、N-乙酰基-D-氨基葡萄糖苷酶、-葡糖苷酸酶和乳酸过氧化物酶(LP)等,其活性随SCC的升高而升高。其中一些酶活性的变化特点已用于诊断奶牛乳房炎及评价奶牛乳房的健康程度,如过氧化氢酶、NAGase和抗胰蛋白酶的活性变化。

基金项目 科技部国际科技合作重点项目(2005DFA30720);四川农业大学青年科技创新基金项目(00231800)。

作者简介 杨德英(1982-),女,四川冕宁人,硕士研究生,研究方向:兽医产科学。* 通讯作者,博士,讲师。

收稿日期 2007-11-27

2.1 乳酸脱氢酶(LDH) LDH 可作为乳房炎早期诊断的指标。在试验性乳房炎发病过程中,诊断前后的时间、分娩期、泌乳阶段和奶产量都显著地影响LDH 活性^[9]。LDH 的活性在诊断的前8 d 升高,而在诊断和治疗后逐渐降低^[7]。Babaei 等据CMT 检测结果进行酶活测定,患隐性乳房炎乳区的LDH 活性显著高于正常乳区($P < 0.05$),而且按CMT 标准2 和3 级的活性显著高于1 级($P < 0.05$)^[7]。

Bogn 等报道,LDH 的平均活度在患有隐性乳房炎的奶牛乳汁中高于健康奶牛,LDH 活性升高的原因是患乳腺炎奶牛的乳汁中白细胞数增多,另一个原因是炎症过程中乳腺上皮细胞和间皮细胞被破坏。Symons 等也报道乳汁中LDH 活性是乳腺功能改变的敏感指标,而乳腺功能的改变是因疾病所引起的^[10]。黄权利等研究表明,LDH 在隐性乳房炎病理中起着重要作用,可作为诊断隐性乳房炎和乳腺损害的一个重要指标^[11]。

2.2 N 乙酰基 - D 氨基葡萄糖苷酶(NAGase) NAGase 活性在炎症期升高,已经是可靠的炎症指标,可用于诊断乳房炎感染的严重程度和治疗后乳腺的恢复情况。乳房炎改变了乳汁的组成,而各种组成成分改变的程度取决于炎症反应,即取决于引起乳房炎的病原菌和乳腺中受感染的组织数量,特别是感染的上皮区域。

乳汁中NAGase 活性测定结果很接近于SCC 检测的结果,准确地反映了炎症的程度,甚至在由优势菌群引起的乳房炎乳汁中,NAGase 水平显著高于由劣势菌群引起的^[12]。SCC 和NAGase 活性在以下动物有着显著的相关性(r),并可用来监测这些动物的乳房炎:奶牛($r = 0.88, P < 0.01$)^[13],骆驼($r = 0.38, P < 0.01$)^[13],母羊($r = 0.85, P < 0.01$)^[14]。患隐性乳房炎的乳汁中NAGase 活性在泌乳早期和末期较高,然而在健康乳区,分娩后的第5 天已经达到了正常水平。

2.3 乳过氧化物酶(LP) 任何致病条件下,乳汁中酶活性升高的同时还伴有大量的白细胞增加。LP 主要来源于白细胞的成分,属乳中固有酶,奶牛常乳中LP 含量为30 ng/L^[15],具有抗微生物效应,在乳汁中其活性随SCC 值升高而升高,因此LP 活性升高是伴随隐性乳房炎发生的,可用于山羊隐性型乳房炎的诊断^[13]。在奶牛和人的乳汁中伴随高的SCC 也会有LP 活性的升高^[13]。在初乳中,随着许多细胞功能的增强,过氧化物酶活性升高。祁克宗等研究证明,隐性乳房炎乳汁中的LP 显著高于正常乳,这也为诊断牛隐性乳房炎提供了一些科学资料^[16]。Eyassu 等报道,山羊SCC 与LP 活性之间有着显著的相关性,发现与奶牛中的报道一致^[13]。

2.4 碱性磷酸酶(ALP) 尽管ALP 活性与CMT 判定的标准不一致,但以CMT 判定的标准,在患有乳房炎和健康的奶牛乳汁之间ALP 有显著的差异性($P < 0.05$),相应地ALP 活性在检测感染乳区时有最高的灵敏度^[7]。ALP 的平均活度在患有隐性乳房炎的奶牛乳汁高于健康奶牛。Babaei 等的研究结果显示,在隐性乳房炎乳区的乳汁中,LDH 和ALP 活性高于正常乳汁,但仅有ALP 活度测试是灵敏和可靠的,可用于混合感染乳区的早期诊断^[7]。

3 蛋白检测法指标

当动物受到来自内部和外部的刺激如感染、炎症、外伤

和压力,就会激发急性期反应(APR)^[17]。在急性期反应过程中,一个最显著的表现是急性期蛋白(APP) 的增加,急性期蛋白是非特异性的先天免疫成分,参与了机体内环境动态平衡的恢复。在奶牛最为敏感的急性期蛋白是结合珠蛋白(HP) 和血清淀粉样蛋白A(SAA),在急性炎症时大量增加,它们在血清中的浓度升高可达100 倍以上^[18]。此外,1- 酸性糖蛋白(AAG) 在慢性乳腺感染情况下增加。王九峰等报道奶牛乳腺内感染金黄色葡萄球菌时,局部乳腺组织的急性期反应相应增强,进而导致肝脏内合成的HP 和SAA 的升高^[19]。

HP 作为一种急性期蛋白,在参与宿主抗感染、损伤组织的修复以及内环境稳定的过程中发挥重要作用,其血清中含量在感染、创伤、炎症、肿瘤、心肌梗死等病理状态时显著升高。在奶牛自然感染大肠杆菌引起的乳房炎的试验中,血清中HP 的浓度显著升高^[20]。对于健康奶牛和已感染金黄色葡萄球菌患乳腺炎的奶牛,Gronlund 等测定了其乳汁和血清中的SAA 浓度,结果表明在患急性和慢性亚临床乳房炎期间,乳汁中SAA 的浓度显著升高,在感染乳区更明显^[21]。

4 展望

一种有足够鉴别能力和适用于及时检测的乳房炎鉴别系统,是挤奶系统非常需要的。目前还没有一个自动化检测系统能很可靠地鉴别隐性感染的乳区,甚至是肉眼可见的异常乳汁。单一地依靠CMT 或SCC 去检测乳房炎,不准确也不可靠,还要结合酶学检测法或蛋白检测法。如果能把这些方法中的几种结合起来,形成一个能在挤奶过程中自动检测乳房炎的系统,对于提高乳产量和避免奶牛的相互感染是非常有意义的,这也是规模化奶牛场所需要的。目前酶学检测法和蛋白检测法在国内外仍处于研究阶段,应用于隐性乳房炎的临床检测还有一定难度。在研究方面仍有许多空白,如乳汁的组成、酶的活性、酶的生物学功能及酶的监测方法等方面都有许多亟待解决的问题。

参考文献

- [1] MILLER G Y, BARILETT P C, LANCES E, et al. Costs of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds[J]. J Am Vet Med Assoc, 1993, 202(8): 1230 - 1236.
- [2] MAVROGENS AP, KOUMAS A, KAKOYANNIS CK, et al. Use of somatic cell counts for the detection of subclinical mastitis in sheep[J]. Small Rumin Res, 1995, 17(1): 79 - 84.
- [3] PYRALIA S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis[J]. Vet Res, 2003, 34: 565 - 578.
- [4] 赵兴绪. 兽医产科学[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 464.
- [5] 刘峰, 迟玉洁. 乳房炎乳的检测方法[J]. 现代乳品科技, 2005, 21(1): 129 - 131.
- [6] POUTREL B, RAINARD P. California mastitis test guide of selective dry cow therapy[J]. J Dairy Sci, 1981, 64(2): 241 - 248.
- [7] BABAEI H, MANSOUR NAJAND L, MOLAEI MM, et al. Assessment of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aminotransferase activities in cow's milk as an indicator of subclinical mastitis[J]. Veterinary Research Communication, 2007, 31(10): 419 - 425.
- [8] HARMON R J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts[J]. J Dairy Sci, 1994, 77(3): 2103 - 2112.
- [9] CHAGUNDA MG, LARSENT, BJERRING M, et al. Changes in lactate dehydrogenase, N-acetyl-B D glucosaminase, and somatic cell count in relation to development of mastitis in dairy cows[J]. J Dairy Res, 2006, 73(4): 431 - 440.
- [10] SYMONS D B, WRIGHT L J. Changes in bovine mammary gland permeability after intramammary exotoxin infusion[J]. Journal of Comparative Pathology, 1997, 84(1): 9 - 17.
- [11] 黄权利, 施明华, 蔡荣湘. 隐性乳房炎中体细胞和病原菌及酶间的相关性[J]. 浙江农业大学学报, 1995, 21(3): 243 - 246.

- environmental temperatures[J]. *J Dairy Sci*, 1989b, 72: 2554-2564.
- [10] TAYLOR R B, HUBER J T, GOMEZ ALARCON R A, et al. Influence of protein degradability and evaporative cooling on performance of dairy cows during hot environmental temperatures[J]. *J Dairy Sci*, 1991, 74: 243-249.
- [11] KNAPP D M, GRUMMER R R. Responses of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress[J]. *J Dairy Sci*, 1991, 74: 2573-2579.
- [12] SKAAR T C, GRUMMER R R, DENNINE M R, et al. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and grain feeding on lactation performance and lipid metabolism[J]. *J Dairy Sci*, 1989, 72: 2028-2038.
- [13] GRUMMER R R, HOFFMAN P C, LUCK M L, et al. Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows[J]. *J Dairy Sci*, 1995, 78: 172-180.
- [14] GALLARDO M R, VALTORIA S E, LEVA P E, et al. Hydrogenated fish fat for grazing dairy cows in summer[J]. *Int J Biometeorol*, 2001, 45(3): 111-114.
- [15] DRACKLEY J K, CECLA T M, LACOUNT D W. Responses of primiparous and multiparous Holstein cows to additional energy from fat or concentrate during summer[J]. *J Dairy Sci*, 2003, 86(4): 1306-1314.
- [16] HALACHMI I, MALTZ E, IVSHIN N, et al. Effects of replacing roughage with soy hulls on feeding behavior and milk production of dairy cows under hot weather conditions[J]. *J Dairy Sci*, 2004, 87(7): 2230-2238.
- [17] 张佩华, 龚伟其, 贺建华, 等. 两种复合预混料对热应激奶牛产奶性能的影响[J]. *中国奶牛*, 2006(4): 16-19.
- [18] 禹爱兵, 王加启, 赵国琦, 等. 铬对泌乳期奶牛的生产性能和主要生理指标的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(8): 774-778.
- [19] MNCENT J B. Relationship between glucose tolerance factor and low molecular weight chromium binding substance[J]. *J Nutr*, 1994, 124: 117-118.
- [20] FUGUAY J W. Heat stress as it affects animal production[J]. *J Anim Sci*, 1981, 52: 164-174.
- [21] 陈志伟, 丁忠锋, 孙振令, 等. 日粮蛋白水平和烟酸对热应激奶牛的影响[J]. *中国奶牛*, 2004(2): 14-17.
- [22] 李秋凤, 李建国, 李运起, 等. 日粮阴阳离子平衡对泌乳中后期奶牛生产性能的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2005, 37(12): 9-12.
- [23] 吴德峰, 胡美华, 林梅, 等. “抗热应激中草药添加剂”对奶牛产奶量和乳汁成分的影响[J]. *动物医学进展*, 2004(3): 66-70.
- [24] 孙齐英. 奶牛中草药抗热应激添加剂剂量的对比试验[J]. *乳业科学与技术*, 2004(2): 87-90.
- [25] MILAM K Z, COPPOCK C E, WEST J W, et al. Effects of drinking water temperature on production responses in lactating Holstein cows in summer[J]. *J Dairy Sci*, 1986, 69: 1013-1019.
- [26] COLLIER R J, ELEY R M, SHARMA A K, et al. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and Jersey cows[J]. *J Dairy Sci*, 1981, 64: 844-849.
- [27] URDAZ J H, OVERTON M W, MOORE D A, et al. Technical note: Effects of adding shade and fans to a feed bunk sprinkler system for preparturient cows on health and performance[J]. *J Dairy Sci*, 2006, 89(6): 2000-2006.
- [28] SMITH T R, CHAPA A, WILLARDS, et al. Evaporative tunnel cooling of dairy cows in the Southeast. II: impact on lactation performance[J]. *J Dairy Sci*, 2006, 89(10): 3915-3923.
- [29] GALLARDO M R, VALTORIA S E, LEVA P E, et al. Diet and cooling interactions on physiological responses of grazing dairy cows, milk production and composition[J]. *Int J Biometeorol*, 2005, 50(2): 90-95.
- [30] RYAN D P, BOLAND M P, KOPEL E, et al. Evaluating two different evaporative cooling management systems for dairy cows in a hot, dry climate[J]. *J Dairy Sci*, 1992, 75: 1052-1059.
- [31] BERMAN A. Extending the potential of evaporative cooling for heat stress relief[J]. *J Dairy Sci*, 2006, 89(10): 3817-3825.
- [32] CORREA CALDERON A, ARMSTRONG D, RAY D, et al. Thermoregulatory responses of Holstein and brown swiss heat-stressed dairy cows to two different cooling systems[J]. *Int J Biometeorol*, 2004, 48(3): 142-148.
- [33] IGONO M O, JOHNSON H D, SIEEVENS B J, et al. Physiological, productive, and economic benefits of shade, spray, and fans system versus shade for Holstein cows during summer heat[J]. *J Dairy Sci*, 1987, 70: 1069-1079.
- [34] STRICKLAND J T, BUCKLIN R A, NORDSIEDT R A, et al. Sprinkling and fan evaporative cooling for dairy cattle in Florida[J]. *ASAE Paper*, 1988: 88-4042.
- [35] TURNER L W, CHASTAIN J P, HEMKEN R W, et al. Reducing heat stress in dairy cows through sprinkler and fan cooling[J]. *App Erg Agric*, 1992, 8: 251-256.
- [36] HANSEN P J. Effects of coat color on physiological responses to solar radiation in Holsteins[J]. *Vet Rec*, 1990, 127: 333-334.
- [37] BEATTY D T, BARNES A, TAYLOR E, et al. Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged, continuous heat and humidity[J]. *J Anim Sci*, 2006, 84(4): 972-985.
- [38] NARDONE A, VALENZINI A. The genetic improvement of dairy cows in warm climates. Proceedings of the joint ANPAEAP CIHEAMFAO symposium on livestock production and climatic uncertainty in the Mediterranean[M]. Agadir Morocco: EAAP Publication, 2000.
- [39] HANSEN P J, DROST M, RIVERA R M, et al. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation[J]. *Theriogenology*, 2001, 55: 91-103.
- [40] HENCH V A. Body temperature in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics[J]. *J Anim Sci*, 1986, 62: 531-542.
- [41] TURNER H G. Genetic variation of rectal temperature in cows and its relationship to fertility[J]. *Anim Prod*, 1982, 35: 401-412.
- [42] HOLTER J B, WEST J W, MCGLIARD M L, et al. Predicting ad libitum dry matter intake and yields of Jersey cows[J]. *J Dairy Sci*, 1996, 79: 912-921.
- [43] OLSON T A, HAMMOND A C, CHASE C C. Evidence for the existence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in Senepol cattle[J]. *J Anim Sci*, 1997, 75(Suppl. 1): 147.
- [44] RAVAGNOLO O, MISZAL I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation[J]. *J Dairy Sci*, 2000, 83: 2126-2130.
- (上接第3666页)
- [12] MANFELD R, MANSFELDS, SANIL B, et al. New aspects regarding the use of the milk electrical conductivity as a parameter for routine diagnostics in dairy production medicine programs[C]// 2nd. Int Symposium on Bovine Mastitis and Milk Quality, Canada, Vancouver, 2001: 488-489.
- [13] EYASSUS, DOKINE F, ELNA M, et al. Potential of lactoperoxidase to diagnose subclinical mastitis in goats[J]. *Small Ruminant Research*, 2007, 69(1/3): 154-158.
- [14] LETNER G, CHAFFER M, ZAMIR S, et al. Udder disease etiology, milk somatic cell counts and NAGase activity in Israeli Assaf sheep throughout lactation[J]. *Small Rumin Res*, 2001, 39(2): 107-112.
- [15] 王振阁, 田伟, 戚鑫. 乳中的酶类、激素研究进展[J]. *河南畜牧兽医*, 2004, 25(7): 11-12, 28.
- [16] 祁克宗, 田超, 潘玲, 等. 牛乳过氧化物酶活性、电导率与隐性乳房炎的关系[J]. *中国兽医学报*, 1996, 16(4): 397-399.
- [17] ANNIKA W, ALLENT W, THOMAS L, et al. *Staphylococcus aureus* lipoteichoic acid induces differential expression of bovine serum amyloid A3 (SAA3) by mammary epithelial cells: Implications for early diagnosis of mastitis[J]. *Immunology and Immunopathology*, 2006, 109(1/2): 79-83.
- [18] DONASZI I A, SCHAREK P, FALLUS A, et al. Hepatic acute phase reaction in histamine deficient gene targeted mice[J]. *Inflammopharmacology*, 2004, 12(1): 47-55.
- [19] 焦连过, 王九峰, 马金磊, 等. 奶牛金黄色葡萄球菌性乳房炎检测的敏感指标探讨[J]. *中国兽医杂志*, 2006, 42(5): 31.
- [20] OHISUKA H, KUDO K, MORI K, et al. Acute phase response in naturally occurring coliform mastitis[J]. *J Vet Med Sci*, 2001, 63(6): 675-678.
- [21] GRONLUND U, HULTEN C, ECKERSALL P D, et al. Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis[J]. *J Dairy Res*, 2003, 70(4): 379-386.