

奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌的分离鉴定

孙俊峰

(江苏省泰兴市畜牧兽医中心, 江苏 泰兴 225400)

摘 要: [目的] 为检测江苏省某奶牛场中乳房炎是否为金黄色葡萄球菌所致, 采取 4 份患病乳汁样本进行分离鉴定, 并针对金黄色葡萄球菌采用分离后鉴定。[方法] 通过细菌分离鉴定、涂片染色镜检、生化实验这几种方法。[结果] 分离到的 2 株致病菌为金黄色葡萄球菌, 以及一株大肠杆菌和一株肠球菌。[结论] 本次检测的奶牛场乳腺炎为多种致病病原菌同时引起, 主要为金黄色葡萄球菌感染。

关键词: 分离鉴定; 奶牛乳房炎; 金黄色葡萄球菌

中图分类号: S858.23

文献标识码: B

文章编号: 1001-9111(2021)06-0000-00

奶牛乳房炎在中国的发病率可以达到 60% ~ 70%, 为此造成的经济损失异常巨大^[1-2]。此病的发生严重影响着我国奶牛养殖业的健康发展, 其发病原因广且普遍发生, 主要来源于某些操作不当而引发的损伤、多种致病菌的混合感染及一系列继发的因素^[3]。奶牛乳房炎易发, 且因素复杂、药疗成本高, 是一种难防治不易诊断的疾病, 由此会引发奶类品质下降、奶牛的产奶功能降低等。其初期症状为: 奶牛乳房区域会出现轻度的肿胀、发热、痛感, 并且时常有伴随牛乳中絮状或凝块状物质, 偶尔还会呈现为水样; 严重时除了会出现初期症状外还会因炎症反应而出现不同程度的渗出, 最终导致产奶减少甚至停止产奶^[4]。为了减少奶牛乳房炎所造成的损失, 必须对其致病菌进行分离鉴定并对因对症下药。

1 材料

1.1 病料来源

奶牛乳房炎奶样品 4 份采自于江苏省某奶牛场。

1.2 样品采集

选择有明显炎症反应症状、挤出的奶样品有颜色或性状改变的发病乳房进行采样, 用温水将患病区域清理干净, 然后用消毒棉球给患病区域进行消毒, 挤掉一些乳汁后再将 10 mL 乳汁挤入事先准备好的无菌试管中, 做好标记后冷藏备用。

1.3 试验材料及仪器

吊菌环、营养琼脂培养基、无菌处理过的试管、

心脑浸液培养基、胰蛋白胨大豆肉汤培养基、麦康凯培养基、高压灭菌锅、生化试验试剂盒等。

1.4 细菌的分离与培养

对采集的无菌奶样品进行充分的摇晃直至质地均匀, 然后在准备好的营养琼脂培养基、心脑浸液培养基、胰蛋白胨大豆肉汤培养基及麦康凯培养基上分别进行划线, 将接种好的培养基做好标记并放置在 37 ℃ 培养箱中培养 24 h 后观察菌落情况。

1.4.1 涂片染色镜检 染色的时候需要在载玻片上方滴 25 μ L 左右的生理盐水, 选取单菌落与生理盐水进行混合均匀后形成适当大小的均匀涂面, 在酒精灯上面进行烘干固定处理。然后进行革兰氏染色, 于显微镜下观察其形状特征, 并结合培养基培养出的菌落特点给出初步的判定。

1.4.2 分离培养与鉴定 选择疑似金黄色葡萄球菌的菌落进行涂片, 通过革兰氏染色法染色后进行镜检, 观察其染色后的特性、形态及排列。革兰氏染色镜检中, 如果是显微镜下观察到两端钝圆的淡红色短杆菌^[5], 可以初步判定为检测到的细菌为大肠杆菌; 如果在显微镜观察到了椭圆形、阳性的球菌, 单个或者一对一对的出现在视野中, 观察不到芽孢, 可初步判定为肠球菌, 如观察到的细菌呈现葡萄状, 成串出现的阳性菌, 初步判定结果为金黄色葡萄球菌。

1.5 生化试验

将分离到的菌种, 在无菌条件下操作, 接种到表 2 中的生化管中, 于 37 ℃ 条件, 在恒温培养箱内培

收稿日期: 2021-08-07 修回日期: 2021-08-15

作者简介: 孙俊峰 (1966—), 男, 本科, 高级兽医师, 主要从事动物疫病防控研究。

养 24 h 左右^[7-8],观察反应结果。

2 结果与分析

2.1 细菌的分离培养结果

由表 1 结果显示,通过单个菌落在不同种类培

养基中的形态颜色等生长特性来初步鉴别金黄色葡萄球菌等致病菌的存在,是可行的,不同菌株在不同种类培养基中会展现出独特的光泽度、色彩形状及有无芽孢等特点,给初步鉴定工作提供了大致方向和基本依据。

表 1 细菌分离培养结果

培养基	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	肠球菌
普通营养琼脂培养基	形态良好、表面光滑、圆形微凸起的小菌落	灰白色、边缘光滑、凸起如珠	白色小菌落
心脑浸液培养基	形态良好、圆形小菌落	无	无
胰蛋白胨大豆肉汤培养基	无	无	无
麦康凯培养基	无	红色、中等菌落	生长不良

2.2 细菌的生化试验结果

由表 2 的培养结果可以看到,1 号菌符合肠球菌的生化特性,2、3 号菌符合金黄色葡萄球菌的生化特性,4 号菌符合大肠杆菌的生化特性。

表 2 试验结果

项目	1 号菌	2 号菌	3 号菌	4 号菌
葡萄糖	+	+	+	t
乳糖	+	+	+	t
麦芽糖	+	+	+	t
甘露醇	+	+	+	t
蔗糖	—	+	+	—
木糖	+	—	—	+
山梨醇	+	+	+	+
阿拉伯糖	—	+	+	+
硫化氢	+	—	—	—
尿素酶	—	+	+	—
明胶	+	+	+	—
柠檬酸盐	+	—	—	—
硝酸盐	—	—	—	+

注: + 为阳性产酸,t 产酸产气,—为阴性。

3 讨 论

金黄色葡萄球菌广泛的存在于动物生长环境、饲料中^[6],所以在饲养过程中要十分注意饲养区域以及采奶区域的消毒卫生工作。当饲养场或者养殖场饲养的奶牛出现了乳腺炎感染的时候比较适合用恩诺沙星、链霉素等抗生素治疗。但目前由于各种原因病菌的耐药性较强,需要对病牛进行有针对性的治疗才可以达到更好的治疗效果。

由于抗生素使用的不合理现象较多,耐药的问题也越来越严重,对全球的奶牛养殖业以及畜牧业都带来了许多不良的影响。由于目前对抗生素的使

用还不够规范,很多的细菌产生了耐药性,随着细菌的变异、耐药菌株的增多,也对于目前奶牛乳腺炎临床治疗添加了很多的难度。金黄色葡萄球菌是奶牛乳房炎十分常见的一种致病菌,其对抗生素的耐药性同样十分明显,对于治疗工作的难度也有不小的增加,如有报道金黄色葡萄球菌对万古霉素等产生了耐药性,面对目前的问题,兽药研发企业还需要进行新药物的研发,以面对耐药性等严峻的问题。同时在饲养管理中希望养殖企业或养殖户可以更好地推行无抗饲养,提高饲养管理水平,注意奶牛日粮营养均衡,保证消毒杀菌全面,适当使用一些中药制剂,做好动物饲养的保健工作,有效提高奶牛的免疫力,杜绝出现滥用药现象。

参考文献:

[1] 王丹,杨峰,李新圃,等. 某奶牛场乳房炎病原菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 动物医学进展,2017,38(11):117-121.

[2] 阮智杨,陈新,孙雯,等. 奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定及药物敏感试验[J]. 畜牧与兽医,2018(6):105-109.

[3] MEKONNEN S A, KOOP G, LAM T J G M, et al. The intention of north-western ethiopian dairy farmers to control mastitis[J]. PLoS One, 2017, 12(8): 42-47.

[4] ROWBOTHAM R F, RUEGG P L. Associations of selected bedding types with incidence rates of subclinical and clinical mastitis in primiparous Holstein dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 2016, 99(6): 4707-4717.

[5] 许丹丹,许追,齐向涛,等. 石河子地区隐性乳房炎奶牛源大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医,2015,42(3):701-707.

[6] Ferreira D, Seca A M L, Diana C G A, et al. Targeting human pathogenic bacteria by siderophores: A proteomics review[J]. Journal of Proteomics, 2016, 145: 153-166.

[7] 马晶涛. 奶牛乳房炎的发病原因、临床症状及防治措施[J]. 现代畜牧科技,2018(11):86.

[8] 张楠楠,张佩华,高明,等. 奶牛乳房炎诊断技术的研究进展[J]. 中国奶牛,2019(3):24-28.

Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* from Cow Mastitis

SUN Jun-feng

(Animal Husbandry and Veterinary Center, Taixing City, Jiangsu Province, Taixing, Jiangsu 225400)

Abstract: [Objective] In order to detect whether mastitis is caused by *Staphylococcus aureus* in a dairy farm in Heilongjiang province, four milk samples were taken for experimental isolation and identification, and *Staphylococcus aureus* was identified after isolation. [Methods] Bacterial isolation and identification, smear staining, microscopic examination, biochemical experiments. [Result] Results shows that the 4 isolated strains were *Escherichia coli*, *Enterococcus*, etc., and 2 strains of *Staphylococcus aureus*. [Conclusion] The conclusion shows that cow mastitis is caused by many kinds of bacteria, and the main pathogen was *Staphylococcus aureus*.

Key words: isolation and identification; cow mastitis; *Staphylococcus aureus*