

# 富平关中奶山羊临床型乳房炎病原菌的分离鉴定

李守杰<sup>1</sup>, 王桂英<sup>2</sup>

(1. 渭南职业技术学院, 陕西 渭南 714000; 2. 聊城大学农学院, 山东 聊城 252000)

**摘要:** 为进一步探讨关中奶山羊乳房炎感染病原菌的情况, 对富平县三个不同乡镇的 79 头患病奶山羊, 共 118 份奶样进行分离鉴定, 共分离出 7 种共 126 个菌株。其中大肠杆菌 36 株, 占 28.5%; 金黄色葡萄球菌 28 株, 占 22.2%; 绿脓杆菌 23 株, 占 18.3%; 链球菌 21 株, 占 16.7%; 变形杆菌 8 株, 占 6.3%; 蜡样芽孢杆菌 6 株, 占 4.8%; 酵母菌 4 株, 占 3.2%。认为该研究区域的关中奶山羊乳房炎主要是由大肠杆菌, 金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、链球菌所致。

**关键词:** 奶山羊; 乳房炎; 病原菌; 分离鉴定

中图分类号: S852.3

文献标志码: A

文章编号: 2095—3704 (2012) 02—0188—03

## Isolation and Identification of Mastitis Pathogen from Guan Zhong Dairy Goats in Fuping City

LI Shou-jie<sup>1</sup>, WANG Gui-ying<sup>2</sup>

(1. Weinan Vocational Technical College, Weinan 714000, China;

2. Institute of Agriculture of Liaocheng University, Liaocheng 252000, China)

**Abstract:** The purpose was to identify the type of acute mastitis pathogen of Guanzhong dairy goats. 118 samples from 79 sick dairy goats were collected, from which the 126 strains of bacterium were isolated and identified separately. The result including 36 of *Escherichia coli* (28.5%), 28 of *Staphylococcus aureus* (22.2%), 23 of *Pseudomonas aeruginosa* (18.3%), 21 of *Streptococcus* (16.7%), 8 of *Proteus* (6.3%), 6 of *Cereus* Spore Bacilli (4.8%), 4 of Yeast (3.2%). Positive rate of pathogen of milk samples is 79.13% and mixed infection rate is 20%. The major pathogens of clinical mastitis in Fuping city are *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus*.

**Key words:** dairy goats; mastitis; pathogenic bacteria; isolation and identification

陕西富平县是全国著名的“奶山羊之乡”, 全县现有奶山羊存栏 26 万只, 占全国总量的 10% 左右<sup>[1]</sup>。随着饲养数量的不断增加, 奶山羊乳房炎疾病越来越受到人们的重视。临床型乳房炎临床可致羊只精神沉郁, 有的体温升高达 41.2~41.5℃, 感染乳区红、肿、热、痛明显; 有的羊只呈渐进性炎症, 表现乳汁变质, 黄白色、黄褐色或红色, 出现凝块或絮状奶块, 产奶量下降, 乳头形成坚硬的索状物; 有的患病乳区完全萎缩, 有的乳房形成脓肿, 导致脓毒血症而发生死亡, 给奶山羊的养殖业带来严重的损失。目前有关奶山羊的临床型乳房炎病原菌的分离

报道较为少见, 其病原是否也和奶牛乳房炎病原菌一样, 包括多种细菌、真菌、病毒、支原体等, 仍是兽医临床上迫切要开展的研究工作。郭抗抗 (2005) 曾对 5 只奶山羊急性乳房炎的奶样作过检测, 发现了大肠杆菌、绿脓杆菌等 12 中菌株为奶山羊的致病菌<sup>[2]</sup>, 但是由于研究中样本量较少, 研究结果具有一定局限性。为进一步探明关中奶山羊的临床型乳房炎病原菌致病情况, 本实验对富平县刘集镇、王寮镇、华朱乡三个乡镇共 79 只患病奶山羊, 共 118 份奶样进行病原菌分离鉴定, 为下一步奶山羊临床乳房炎的治疗提供一定的科学依据。

收稿日期: 2012-04-08

基金项目: 渭南职业技术学院科研项目(WZYY201115); 渭南市科技计划项目(2011JH-8)

作者简介: 李守杰, 男, 山东聊城人, 硕士研究生, 主要从事兽医临床方面研究; 邮箱: lsj741205@126.com

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试山羊

分别选自富平县刘集镇、王寮镇、华朱乡三个乡镇,共79头患病奶山羊,且都患有临床型乳房炎,尚未经过治疗。其中刘集镇共26只,王寮镇共23只,华朱乡共30只。

### 1.2 供试奶样

供采集的羊只,乳房应有较明显的硬块,乳汁变质,黄白色、黄褐色或红色,出现凝块或絮状奶块。经BMT法检测呈阳性。采样前先擦净乳头,用0.1%新洁尔灭消毒乳头,弃去前3把奶,然后每乳区采5~8mL 乳样置于灭菌的塑料管中,盖好胶塞,做好样品标记,立即用装有冰块的冷藏箱送回实验室检测。

### 1.3 仪器设备

冰箱、电子天平、生物显微镜、离心机、无菌操作台、高压蒸汽灭菌器、电热恒温培养箱、微量移液器等。

### 1.4 培养基

普通琼脂平板、普通琼脂斜面、营养肉汤、5%的绵羊血琼脂平板、麦康凯、沙保罗氏培养基、SS琼脂培养基等。生化培养基有:葡萄球菌属细菌生化鉴定管,弧菌科细菌生化常规鉴定管,链球菌属细菌生化鉴定管,酵母真菌属生化常规鉴定管,肠杆菌科细菌生化鉴定管等。

### 1.5 细菌的分离培养

将采集的乳样以2 000 r/min的速度离心10~15 min,取底部的沉淀物,用微量移液器吸取200  $\mu$ L加到含5%犊牛血清的10 mL营养肉汤中进行培养。同时用接种环无菌操作,取试管底部的沉淀物划线分别接种于普通琼脂平板、绵羊鲜血琼脂平板、麦康凯琼脂平板、沙保罗氏琼脂平板上,并做好标记。血清肉汤培养基在摇床增菌培养16~24 h,其余放入恒温培养箱内37  $^{\circ}$ C培养24~48 h,观察菌落形态、生长特征,初步判定细菌类属。如不好判定则继续作病原菌的纯化。葡萄球菌采用血液琼脂平板和营养肉汤中进行纯化培养;链球菌采用血液琼脂平板上和血清肉汤中进行纯培养;革兰氏阴性杆菌采用营养肉汤及营养平板进行纯化培养;革兰氏阳性杆菌采用血液琼脂平板上和血清肉汤中进行纯培养;真菌等采用沙保罗氏平板上和血清肉汤进行纯化培

养。

### 1.6 生化鉴定

根据初步鉴定结果,对分离到的菌株进行生化鉴定试验。葡萄球菌生化鉴定可采用触酶试验、甘露醇发酵试验、兔血浆蛋白凝固酶试验、七叶苷水解试验等;链球菌生化鉴定可用美蓝牛乳试验、触酶试验、马尿酸钠水解试验、七叶苷水解试验等;肠杆菌科细菌生化鉴定可用蔗糖、乳糖、葡萄糖、甘露醇、口引啉、甲基红、V-P、硫化氢、枸橼酸盐发酵试验等肠杆菌科的生化鉴定管进行鉴定,其它的革兰氏阳性杆菌和真菌可选择相关的生化鉴定管进行鉴定<sup>[3-4]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 分离鉴定结果

对79头患病奶山羊,共118份奶样,共检测出四类病原菌,其中第一类为革兰氏阴性杆菌,第二类为革兰氏阳性杆菌,第三类为革兰氏阳性球菌,第四类为真菌。然后对其进行分组,依次分为1~7组,同时根据培养特性及镜检结果,结合生化试验可以确定为第一组为大肠杆菌有36株;第二组为变形杆菌8株;第三组为绿脓杆菌23株;第四组为蜡样芽孢杆菌6株,第五组为金黄色葡萄球菌28株,第六组为链球菌21株,第七组为酵母菌4株。生长特性详见表1;生化试验结果见表2。(生化鉴定结果主要依据《兽医微生物学》第三版<sup>[5]</sup>,《伯杰细菌鉴定手册》(第八版)<sup>[6]</sup>,《病原微生物学检验》<sup>[7]</sup>,《微生物诊断与图解》<sup>[8]</sup>。)

### 2.2 乳样病原菌混合感染情况

由表2看出,118份奶样的检测,共分离出7种,126个菌株。其中大肠杆菌36株,占28.5%;金黄色葡萄球菌28株,占22.2%;绿脓杆菌23株,占18.3%;链球菌21株,占16.7%;变形杆菌8株,占6.3%;蜡样芽孢杆菌6株,占4.8%;酵母菌4株,占3.2%。故可以确定大肠杆菌,金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、链球菌是导致本实验奶山羊乳房炎的主要致病菌。这与郭抗抗等(2007)所研究的奶山羊急性乳房炎中所分离的病原菌有一定的差异,主要是分离到了病原菌酵母菌;但也有相似之处,即都以大肠杆菌、葡萄球菌和绿脓杆菌为主要导致关中奶山羊乳房炎的主要病原菌。其原因可能与选择的研究区域以及选取的样本数量有一定相关性,或者是间隔几年之

后乳房炎的致病病原菌有某种程度的变化所致。

表1 细菌的培养特性

组别	染色镜检	营养肉汤	血液琼脂	普通琼脂	麦康凯	沙保罗
大肠杆菌	G-, 呈短杆形态, 单个或成对存在	均匀浑浊, 液面有菌膜、菌环, 管底有沉淀	部分β型溶血, 边缘整齐, 圆形大菌落	灰色、半透明大菌落	粉红色菌落, 生长良好	不生长
变形杆菌	G-, 球状、丝状等多形性, 大小不一	生长均匀混浊, 表面有菌膜	形态同普通琼脂, 无溶血现象	圆形、扁平, 半透明的无色菌落	圆形、扁平, 半透明、无色	不生长
绿脓杆菌	G-, 卵圆或细长杆菌, 多形性	浑浊, 有菌膜或壁环, 震荡乳化。均匀浑浊生长	不透明, 毛玻璃状, 有溶血环	扁平灰白色、边缘不整的较大菌落	棕绿色或荧光	不生长
蜡样芽胞杆菌	G+, 多呈链状排列, 菌体中间有芽孢	浑浊, 有沉淀, 有菌膜	形态同普通琼脂, 有溶血环	灰白色, 毛玻璃边缘菌落	绿菌落扁平、蜡样, 边缘	不生长
金黄色葡萄球菌	G+, 葡萄串状排列	生长快, 浑浊, 有沉淀	有β型溶血环的较大菌落	灰白色, 不透明, 边缘不整	扩展状, 不生长	不生长
链球菌	G+, 长链或短链状排列	生长快, 有沉淀, 有菌膜	生长快, 光滑圆形小菌落	不透明, 圆形光滑菌落	不生长	不生长
酵母菌	G+, 呈圆形或卵圆形, 半透明, 菌体较大	菌体沉于管底, 无菌膜	乳白色, 圆形小菌落	灰白色, 圆形光滑菌落	苍白或粉红色, 不透明	乳白色、圆形大菌落

表2 奶山羊乳房炎病原菌分离鉴定结果

病原名称	分离株数	百分比
大肠杆菌	36	28.5
金黄色葡萄球菌	28	22.2
绿脓杆菌	23	18.3
链球菌	21	16.7
变形杆菌	8	6.3
蜡样芽胞杆菌	6	4.8
酵母菌	4	3.2

表3 乳样病原菌混合感染情况

感染类型	乳样 /个	比例 /%
单独感染	42	35.6
混合感染	76	64.4
总计	118	100

### 3 小结

从乳样病原菌的感染情况来看, 乳样的混合感染率较高, 达到了64.4%。这表明在奶山羊临床型乳房炎治疗中, 选择药物一定要联合用药或轮换用药, 确保有效杀灭病原菌。本研究还在采样中发现, 农户饲养中环境卫生较差, 消毒意识欠缺, 这些都是导致临床乳房炎发病的主要原因。很多农户圈舍内较为脏乱, 粪尿打扫不够及时, 特别是奶山羊趴卧后乳房极易弄脏而得不到清洗消毒, 病原菌就会趁虚而入。挤奶人员挤奶时, 对乳房擦拭用水更换不及时, 往往一桶水要擦拭几只甚至十几只奶

山羊乳房; 挤奶完毕也没有药浴乳头的消毒意识; 另外, 有的圈舍羊只拥挤, 羊只间冲撞时有发生, 易导致奶山羊乳房发生淤血或者肿胀出现。因此, 加强饲养管理, 培养饲养户主消毒意识, 切实采取有效预防措施, 才能从根本上减少奶山羊乳房炎的发生。

### 参考文献:

- [1] 贺向阳, 绳贺军, 王海滨, 等. 陕西富平县关中奶山羊生产现状与发展对策分析[J]. 家畜生态学报, 2006, 27(1): 110-112.
- [2] 郭抗抗, 张彦明, 徐浩, 等. 奶山羊急性乳房炎病原菌的分离鉴定[J]. 中国兽医杂志, 2007, 43(2): 35-37.
- [3] 王桂英, 牛钟相. 聊城市奶牛临床型乳房炎病原菌的分离鉴定[J]. 山东农业大学学报, 2009, 40(4): 498-502.
- [4] 刘大成, 程艳, 张志友. 呼和浩特地区奶牛隐性乳房炎主要病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 中国畜牧兽医, 2006, 33(7): 71-74.
- [5] 陆承平. 兽医微生物学(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [6] R. E 布坎南 N. E 吉本斯, 等. 中国科学院微生物研究所, 伯杰细菌鉴定手册(第八版)[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 382-462.
- [7] 许化溪. 病原微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [8] 周庭银, 倪语星, 王明贵. 微生物诊断与图解[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.