

奶牛乳房炎致病菌分离鉴定与药敏试验

曹晓真 段洪威 马建春 蔡建伟 刘溪源

宁夏回族自治区银川市畜牧技术推广服务中心,宁夏银川 750004

摘要 以银川市 3 家奶牛场为试验对象,分别通过抽检和筛查方法采集 171 份奶样,进行了乳房炎致病菌的分离培养、鉴定和药敏试验,并对试验结果进行了分析,以期为乳房炎的合理用药和增强防治效果提供科学依据。

关键词 奶牛乳房炎;分离鉴定;药敏试验

奶牛乳房炎是由细菌感染和机械性损伤引起乳房发炎的一种传染病。从症状上可分为临床型乳房炎和亚临床型乳房炎。亚临床型乳房炎又称隐性乳房炎,无临床症状,牛奶肉眼观察无明显变化,也有奶牛表现为酸乳、泌乳量下降等,如需确诊,需要进行进一步实验室检测。奶牛乳房炎已成为影响奶牛养殖发展最重要的疾病之一,它不仅降低牛奶的品质,使奶牛减产,而且造成严重的经济损失,药物残留危害人类健康。

近年来,银川市规模奶牛养殖业发展很快,但由于饲养管理水平与发展水平不适应,疾病的防治技术落后,致使奶牛乳房炎频发;同时乱用抗生素的现象十分普遍,造成许多病原微生物产生耐药性,给乳房炎的治疗带来困难。为了进一步保证牛奶质量,提高产量,减少药物残留,有效降低奶牛急性乳房炎的发病率,本研究对银川市 3 家不同规模的奶牛场的泌乳牛进行了筛查和实验室检测,为指导临床合理用药和提高奶牛乳房炎防治效果提供科学依据。

1 试验方法

本研究分别对银川市辖区内 3 家不同规模的奶牛场的泌乳牛进行检测。1 号场奶牛存栏 500 头,2 号场奶牛存栏 1 200 头,3 号场奶牛存栏 200 头。试验采样分为 2 种方式,1 号场随机抽样检测,2 号场和 3 号场采用兰州乳房炎检测法对泌乳牛做全

群筛查,根据筛查结果采集乳样进行实验室检测。

1.1 兰州乳房炎检测法(Lanzhou Mastitis Test,LMT)

采用兰州乳房炎检测法(Lanzhou Mastitis Test,LMT)诊断液进行检测,LMT 诊断液由中国农业科学院中兽医研究所研制生产,主要应用于泌乳奶牛隐性乳房炎的快速诊断,这种方法也是目前银川市奶牛规模养殖场检测隐性乳房炎使用最普遍的检测手段。

1.2 采样

无菌操作,头 3 把奶弃去,或者收集挤后奶,每头牛每个乳头 2.5 mL;样品采集后若不能直接检测需 4 ℃冷藏。

1.3 实验室检测

1)涂布。每头奶牛用 1 个 5%绵羊红细胞琼脂板涂布。用灭菌的玻璃棒将 10 μL 奶样均匀涂布整个平板表面。

2)接种。琼脂板编号后,倒置放入恒温生化培养箱 37 ℃ 24 h,取出平板检查是否有链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌菌落,然后继续培养 24 h 检查牛棒状杆菌。

3)检验。通过染色镜检,革兰氏阳性菌株可通过接触酶试验、氢氧化钾试验、凝固酶试验、CAMP 试验,逐步区分葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌等细菌;革兰氏阴性菌继续培养 20~24 h,通过镜检和生化试验检查牛棒状杆菌。

4)抗生素敏感试验。用灭菌棉拭子选取致病菌

1~2 个菌落,用 1 mL 灭菌生理盐水稀释混匀后,均匀涂布在一般琼脂培养基表面,均匀放入药敏片,培养 20~24 h,检查培养基,用直尺在培养基背面测量抑菌圈的直径。抑菌圈直径越大说明该抗生素对致病菌越有效。

2 检测结果

1 号场:抽检 72 份牛奶乳样进行实验室检测,其中未检测出病原微生物的乳样有 44 份,占比 61.11%;CNS(凝固酶阴性葡萄球菌)22 份,占比 30.56%,SA(金黄色葡萄球菌)2 份,占比 2.78%;SAG(无乳链球菌)1 份,占比 1.39%;OS(环境性链球菌)2 份,占比 2.78%;CB(棒状杆菌)1 份,占比 1.39%。

2 号场:用 LMT 法检测奶牛 361 头,乳区 1 399 个。经判定得出,阳性乳区 287 个,乳区阳性率为 20.51%;奶牛隐性乳房炎 LMT 反应强度情况是,乳区反应强度 + 的阳性率 15.15%,乳区反应强度 ++ 的阳性率 3.36%,乳区反应强度 +++ 的阳性率 2.0%。

2 号场采样 85 份乳样(4 个乳区混合),有 18 个乳样在绵羊血平板上未生长;CNS 有 12 份,占比 14.11%,SA 有 10 份,占比 11.76%;SAG 有 11 份,占比 12.94%;OS 有 22 份,占比 25.89%;CO 有 6 份,占比 7.0%。

3 号场:用 LMT 法检测奶牛 63 头,乳区 248 个。经判定得出,阳性乳区 39 个,乳区阳性率为 15.73%;奶牛隐性乳房炎 LMT 反应强度情况是,乳区反应强度 + 的阳性率 12.1%,乳区反应强度 ++ 的阳性率 2.82%,乳区反应强度 +++ 的阳性率 0.81%。

3 号场采样 14 份乳样(阳性乳区),CNS(凝固酶阴性葡萄球菌)2 份,占比 14.28%,SA(金黄色葡萄球菌)7 份,占比 50%;SAG(无乳链球菌)2 份,占比 14.28%;OS(环境性链球菌)4 份,占比 28.57%;CO(大肠杆菌)7 份,占比 50%。巴氏杆菌 2 份,占比 14.28%。

3 药敏试验结果

3.1 1 号场药敏试验结果

1)金黄色葡萄球菌。高敏的药物分别有头孢唑林和头孢噻肟,中度敏感的有卡那霉素、氧氟沙星、

诺氟沙星、链霉素,耐药的有四环素、克林霉素。

2)无乳链球菌。高敏的药物分别有头孢唑林和

表 1 2 号场药敏试验结果对照表 mm

| 试剂名称 | A | B | C |
|--------|--------|--------|--------|
| 头孢曲松 | 17 | 18 | - |
| 新生霉素 | - | - | 27 |
| 卡那霉素 | 18 | 20 | 29(杂菌) |
| 多西环素 | 28 | 13 | 20 |
| 庆大霉素 | 20 | - | 20 |
| 头孢他啶 | 20 | 13 | 11 |
| 头孢噻吩 | 28 | - | - |
| 呋喃唑酮 | - | - | 18 |
| 丁胺卡那 | 23 | - | 32 |
| 头孢唑林 | 20 | - | - |
| 氨苄西林 | - | - | - |
| 万古霉素 | 14 | 17 | 15 |
| 新霉素 | 18 | 18(杂菌) | 18 |
| 呋喃妥因 | 15 | 19 | 20 |
| 甲氧苄氨嘧啶 | - | - | - |
| 复方新诺明 | - | - | - |
| 克林霉素 | - | - | - |
| 鱼腥草注射液 | 29 | 30 | 45 |
| 头孢噻唑钠 | 31 | 28 | 40 |
| 双丁注射液 | 25(杂菌) | - | - |

注:表中数字为该药对应不同类型菌种的抑菌圈直径,下同。

表 2 3 号场药敏试验对照表 mm

| 试剂名称 | A | B | C |
|-----------|--------|--------|--------|
| 头孢曲松 | 17(杂菌) | 16 | 17 |
| 卡那霉素 | 20 | - | - |
| 多西环素 | 22 | 10 | 19 |
| 庆大霉素 | 25 | 13 | - |
| 头孢噻肟 | 18(杂菌) | 16 | 17 |
| 林可霉素 | - | - | - |
| 丁胺卡那 | 23 | 23 | 25 |
| 红霉素 | 17 | - | 15 |
| 头孢唑林 | 20 | - | - |
| 氨苄西林 | - | - | - |
| 万古霉素 | 20 | 15 | - |
| 四环素 | 28 | 11 | 20 |
| 新霉素 | 15 | - | 16 |
| 阿莫西林 | 13 | 16 | 15(杂菌) |
| 呋喃妥因 | - | - | - |
| 复方新诺明 | - | - | - |
| 克林霉素 | - | 18(杂菌) | - |
| 鱼腥草注射液 | 27 | 30 | 27 |
| 头孢噻唑钠(重庆) | 25 | 22 | 26 |
| 双丁注射液 | - | - | - |
| 头孢噻唑钠(北京) | 30 | 36 | 32 |

头孢噻吩,中度敏感的有青霉素和头孢噻肟,耐药的有氟沙星、诺氟沙星、多西环素、庆大霉素、阿奇霉素、卡那霉素、链霉素和环丙沙星。

3.2 2号场和3号场药敏试验结果

从1号场药敏试验中发现,很多奶牛的隐性乳房炎致病菌类型并不是单一一种,为了更接近病牛的致病菌状态,因此2号场和3号场药敏试验采用了3种不同类型优势混合菌种,分别用ABC 3个符号代表(表1~2)。

4 分析及建议

1)有资料表明,隐性乳房炎的乳汁随着白细胞数量的增多而奶量明显下降。一个阳性反应的乳区,“+”号可降低0.98 kg/d,“++”号可降低1.72 kg/d,“+++”号可降低2.58 kg/d^[1-2]。以此计算2号场的日减产奶量360.84 kg,每头隐性乳房炎奶牛平均日产奶量要减少1.0 kg。如果健康奶牛日产奶量平均为20 kg,隐性乳区感染“+”、“++”、“+++”号牛的日产量就要减少5%甚至更高。3号场日减产奶量46.6 kg。每头隐性乳房炎奶牛平均日产奶量要减0.74 kg。

2号场和3号场泌乳牛全群筛查,2号场奶牛隐性乳房炎的阳性率31.02%,3号场奶牛隐性乳房炎阳性率为20.63%,对奶牛场主来说,其经济损失是很大的。经过计算推导出的奶牛减产数据一定程度上可以说明2号场和3号场隐性乳房炎发生已经影响到产奶量,如果不予治疗,大部分都可转化为临床型乳房炎,产奶量肯定继续减少,同时治疗费用增加,导致的经济损失将会更加巨大。

2)从检测结果中发现,1号场奶牛隐性乳房炎的阳性率为38.89%,2号场奶牛隐性乳房炎的阳性率为31.02%,3号场奶牛隐性乳房炎阳性率为20.63%。导致奶牛隐性乳房炎阳性率高的原因有很多,从理论上讲,饲养管理水平越低的奶牛场相对的患病风险也越高,但这也不是绝对的。3号场无论是硬件设施,还是人员素质,条件都不如其他2个场,但是它的隐性乳房炎阳性率却是最低的。这在一定程度上说明,设备老化和消毒卫生条件差可以造成隐性乳房炎,但不是乳房炎阳性比例高的绝对因素。

3)经调查,2号场属于养殖合作社形式,其中200头泌乳牛属于1家,而剩下161头泌乳牛分属于其

他多个养殖户。采样LMT法筛查后发现,200头泌乳牛隐性乳房炎的阳性率为39%,161头泌乳牛隐性乳房炎的阳性率为21.11%。由于养殖环境、饲养管理水平、奶厅的消毒卫生条件相似,但是前者阳性率高出后者1.85倍,可能是因为个体养殖户在养殖奶牛环节上更为细致,养殖数量小,交叉感染的机会相对减少。

4)从1号场药敏试验结果可以看出,在所选的14种抗菌药中,头孢唑林、头孢噻吩、头孢噻肟对金色葡萄球菌和无乳链球菌最敏感;而青霉素、磺胺类等目前主要用于治疗奶牛乳房炎的药物,对常见的致病菌抑菌效果较差,甚至几乎无效。

由于养殖场要求,喹诺酮类药物禁用,2号场和3号场药敏试验剔除氧氟沙星、诺氟沙星和环丙沙星。2号场药敏试验结果发现,高敏的药物为卡那霉素、呋喃妥因;中敏的药物为万古霉素、新霉素、头孢他啶;完全耐药的有甲氧苄氨嘧啶、复方新诺明、克林霉素、氨苄西林。鱼腥草注射液、头孢噻肟钠和双丁注射液为奶牛场提供的药物,鱼腥草注射液、头孢噻肟钠的抑菌效果很好,属于高敏药物,建议可以和卡那霉素、新霉素、呋喃妥因交叉使用,避免产生耐药性。

3号场药敏试验结果发现,高敏的药物为丁胺卡那、四环素、鱼腥草注射液、头孢噻肟钠;中敏的药物为头孢曲松、多西环素、头孢噻肟;完全耐药的有复方新诺明、氨苄西林、呋喃妥因、林可霉素、双丁注射液。

药敏试验结果表明:头孢噻肟钠对3家奶牛隐性乳房炎都高敏。复方新诺明和氨苄西林完全耐药,还有很多药物只能抑制某一种病原菌,不能抑制混合的病原微生物。可能是因为在治疗奶牛乳房炎时,奶牛养殖场随意乱用抗生素,导致出现很多耐药菌株,而为了根治疾病,又使用更多更强效的抗生素,从而形成恶性循环,药物越用越多,病情反而越来越复杂。奶牛隐性乳房炎的治疗,需要针对性、规范化地进行,这也是试验开展的重要目的。随着新的抗菌药物的出现,乳房炎的治疗将会面临新的耐药性问题,因此更要科学合理使用抗菌药物,以避免出现恶性循环,避免出现超标药残。

5)从2号场采集85份乳样,只有18份乳样培养出致病菌,分析原因:由于4个乳区的感染情况并不一致,有的严重有的轻微,但是采集奶样过程

白头翁颗粒对鸡大肠杆菌病的疗效评价

张颖^{1,2} 杨丽梅^{1,2} 王艳萍^{1,2} 沈志强¹

1.山东省滨州畜牧兽医研究院,山东滨州 256600;2.山东绿都安特动物药业有限公司,山东滨州 256600

摘要 为评价白头翁颗粒对鸡大肠杆菌病的疗效,将试验鸡随机分为 7 个处理组,以健康雏鸡为空白对照,硫酸新霉素和白头翁汤为对照药物,对鸡大肠杆菌病进行预防和治疗试验。统计各处理组对人工感染鸡大肠杆菌病的保护率、发病率和治愈率、有效率及测定相对增重率、脏器指数。结果显示,白头翁颗粒中剂量组(150 mg/只)对鸡大肠杆菌病的预防效果优于硫酸新霉素,但差异不显著($P > 0.05$)。白头翁颗粒高剂量组(600 mg/只)治愈率和有效率分别为 71.43%和 85.71%,治疗效果与硫酸新霉素相近($P > 0.05$)。白头翁颗粒高剂量组和硫酸新霉素组的相对增重率、脏器指数均优于感染对照组。说明白头翁颗粒对鸡大肠杆菌病具有良好的预防和治疗效果,可缓解大肠杆菌引起的典型病理症状,降低雏鸡心脏和肝脏的受损。

关键词 白头翁颗粒;鸡大肠杆菌病;疗效

鸡大肠杆菌病(Chicken colibacillosis)是家禽养殖中常见的临床疾病,具有高发病率、高死亡率的特点,若得不到及时有效的防治,会带来严重的经济损失。目前防治鸡大肠杆菌病的主要方法为抗菌治疗,但大量抗生素、抗菌药的使用导致大肠杆菌产生了显著的耐药性^[1-2]。近年来研究表明中兽药对防治鸡大肠杆菌病具有独特的优势^[3-5]。本试验通过

鸡大肠杆菌病模型,考察和评价白头翁颗粒防治鸡大肠杆菌病的有效性,为兽医临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1)试验药物。白头翁颗粒由山东绿都安特动物药业有限公司提供(批号 2015072901,每 1 g 相当

收稿日期:2016-08-10

张颖,女,1975年生,助理研究员,研究方向:中兽医药学。

中是每个乳区 2.5 mL,没有特别针对性采集阳性强的乳区,在分离培养过程中,相当于将致病菌浓度稀释,因此很多乳样培养不出致病菌。

6)检测结果中出现 CNS 阳性泌乳牛,由于 CNS 是机会性致病菌,病原主要来自皮肤并感染乳头乳管和乳腺,这种感染只是短暂的,较少通过牛传牛的方式传播,对这些阳性牛采取的主要预防和防治措施就是挤奶后用有效的杀菌剂浸润乳头,同时还加强环境消毒。

7)奶牛隐性乳房炎的检测可以分为抽样检测和全群筛查检测。现在很多奶企要求养殖场自检乳房炎,因此有条件的奶牛养殖场会定期进行隐形乳房炎监测。如果养殖场对自己奶牛乳房炎情况非常了解,需要针对性用药预防及治疗时,可以进行抽样检测;如果情况不是非常清楚,没有明显临床症状,同时产奶量下降,可以进行泌乳牛全群筛查检测,

以便更好地掌握情况,同时指导用药。

8)细菌培养检查初产奶牛、即将干乳的奶牛和临床感染乳区的乳样,能够很好地测评临床型和隐性乳房炎的影响。奶牛场可以协同地方动物疾控中心定期对乳房炎进行监测,对牛群的整体情况有深入了解,保护健康群,淘汰慢性感染奶牛。针对不同程度的乳房炎,提出相应管理方案,以达到理想的体细胞数。奶牛乳房致病原因比较复杂,实际生产过程中应切实贯彻“预防为主,治疗为辅”的方针,才能最大限度地减少乳房炎对奶牛养殖业造成的损害。

参 考 文 献

[1] 王运亨.影响奶牛产奶量及原料奶质量的主要因素[J].中国奶牛,2003(6):10-13.