

# 1 株羊乳房炎源大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析

乔双梅

青海省大通县景阳镇岗冲畜牧兽医站,青海大通 810105

**摘要** 本试验从青海省大通县景阳镇某羊场的临床型乳房炎患羊乳样中分离纯化并鉴定出 1 株大肠杆菌,同时对分离鉴定的大肠杆菌进行小鼠致病性试验和抗菌药物敏感性分析,结果显示该株大肠杆菌的致病性极强,并且对多种常用抗生素已产生不同程度的耐药性。

**关键词** 羊乳房炎;大肠杆菌;致病性;耐药性

羊乳房炎是一种多发性疾病,主要表现为患病母羊乳房潮红、发热、肿硬和疼痛,严重影响母羊的泌乳性能。临床上,最常见致病原因是多种病原菌侵入母羊乳房内部引起乳房炎,而在羊乳房炎病原菌总数中,链球菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌这 3 种病原菌所占比例最高。本试验对 1 株羊乳房炎源大肠杆菌进行分离鉴定,同时采用纸片法对该菌株进行药物敏感试验,以期为该地区羊临床型乳房炎的预防和治疗提供有益参考和依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

1)病料来源。采自青海省大通县景阳镇某羊场

的临床型乳房炎患羊乳样。采集时先消毒乳头,将前 5~10 mL 羊乳弃掉后无菌操作取乳样。

2)主要试剂、仪器设备和试验动物。鲜血琼脂培养基、麦康凯培养基、营养肉汤培养基、伊红美兰、细菌微量生化反应管、革兰氏染液;12 种抗菌药物纸片;恒温培养箱、光学显微镜、游标卡尺;SPF 小白鼠 6 只,雌雄各 3 只,18~20 g/只。

### 1.2 试验方法

1)菌株的分离培养。将采集的乳样接种在鲜血琼脂培养基(50 mL/L)上,37 ℃恒温培养箱中培养 24 h 后察看细菌生长情况,将菌落接种于麦康凯培养基上继续纯化培养,选择典型单菌落涂片、革兰氏染色和镜检,观察菌体形态、染色特性,再将单菌

收稿日期:2021-01-25

乔双梅,女,1984 生,助理兽医师。

场内避免犬科类动物活动,可降低羊群感染脑包虫病的几率。

病预防工作,控制好养殖场的养殖环境,避免多种动物混群养殖,控制犬科类动物的活动。

## 5 结 语

对羊脑包虫病应该始终坚持“预防为主、治疗为辅”原则。养殖户需要经常对羊群进行排查,争取在羊群患病的初期就及时采取相应措施,这样可以提高患病羊的治愈率,降低养殖户的损失。基层畜牧兽医人员应加强与养殖人员的沟通交流,在做好重大动物疫病免疫接种的同时,引导养殖户做好疫

## 参 考 文 献

- [1] 羊金国.中西医结合治疗羊脑包虫病[J].农业开发与装备,2019(8):223,239.
- [2] 唐超,唐粤,张全能.羊脑包虫病的预防和治疗[J].现代畜牧科技,2017(8):80.
- [3] 羊菊琴.山羊脑包虫病的预防和治疗 [J]. 畜牧兽医科技信息,2016(11):54.

【责任编辑:胡 敏】

落接种在伊红美兰培养基培养和鉴定,同时接种到鲜血琼脂平板,察看其溶血现象。

2)生化鉴定。采用细菌微量生化反应管并参照《伯杰氏细菌鉴定手册》,实施生化鉴定和生化培养,将疑似大肠杆菌的菌株接种到各细菌微量生化反应管中,在 37 ℃条件下培养 48 h 后观察试验结果。

3)小鼠致病性试验。6 只小白鼠分为试验组和对照组,每组 3 只,将分离纯化并鉴定的大肠杆菌纯培养物接种到营养肉汤培养 24 h 后,试验组、对照组小白鼠分别注射菌悬液(0.5 mL/只)和生理盐水,注射后的两组小白鼠隔离饲养,并观察其存活情况,及时解剖死亡小白鼠,观察剖检病理变化,无菌采集死亡小白鼠脾和肝等组织进行细菌分离鉴定。

4)耐药性试验。通过 K-B 纸片扩散法对已鉴定过的菌株进行药物敏感试验,试验方法参照《兽医微生物学》<sup>[1]</sup>,参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐的纸片扩散标准,用游标卡尺测量药敏纸片的抑菌圈直径,并根据抑菌圈的大小判定其对抗菌药的耐受程度。

## 2 结果与分析

### 2.1 分离菌株形态特征及染色特性

分离菌株在麦康凯培养基和伊红美兰培养基上分别形成粉红色和墨绿色(带有金属光泽)菌落,菌落均隆起、光滑呈圆形;分离菌株不溶血;对分离菌株染色镜检可见两端钝圆的革兰氏阴性、红色短杆菌,无芽孢,疑似大肠杆菌的菌株。

### 2.2 分离菌株的生化特性

分离菌株的生化鉴定结果见表 1。分离菌株发酵麦芽糖、葡萄糖、甘露醇和乳糖,能产酸又产气(“⊕”表示产酸产气);吲哚试验、MR 试验为阳性(“+”表示阳性反应),枸橼酸盐试验、V-P 试验为阴

性(“-”表示阴性反应),该试验结果与大肠杆菌的生化鉴定相符合,判定分离菌株为大肠杆菌。

### 2.3 小鼠致死试验结果

注射菌悬液的 3 只试验组小鼠于 24 h 内全部死亡,注射生理盐水的 3 只对照组小鼠无死亡,剖检死亡小鼠可见肠内充盈水样内容物呈黄色,肠壁变薄,十二指肠膨胀呈半透明状,内脏器官无显著病变;从死亡小鼠脏器中分离得到与接种菌株一致的大肠杆菌,可知本试验分离出的大肠杆菌致病性极强。

### 2.4 耐药性试验结果

大肠杆菌对抗菌药物耐药性试验结果见表 2。药敏试验结果显示,本次临床型乳房炎患羊的乳样中分离鉴定得到的该株大肠杆菌对头孢唑林、新霉素、庆大霉素和卡那霉素高度敏感(“S”表示高度敏感),对诺氟沙星、头孢氨苄、四环素中度敏感(“I”表示中度敏感),对阿莫西林、罗红霉素、万古霉素、青霉素 G、链霉素表现出耐药性(“R”表示耐药)。

## 3 小结

1)本试验通过对青海省大通县景阳镇某羊场的临床型乳房炎患羊的乳样进行分离培养、生化鉴定得到 1 株大肠杆菌,通过对分离鉴定的大肠杆菌进行小鼠致病性试验,可知该株大肠杆菌致病性极强,并且大肠杆菌是导致当地羊临床型乳房炎的优势病原菌。

2)对分离鉴定得到的大肠杆菌进行药物敏感试验,结果显示大肠杆菌对多种常用抗生素产生耐药性,这与当地牧民长期频繁滥用、乱用以及大剂量使用抗菌药密切相关,加大了羊乳房炎临床治疗难度,为此相关部门应采取有效措施,加强抗菌药物的规范使用和管理。

3)在养羊生产中,应坚持防重于治的原则,加强对牧民群众科学养殖知识的普及和用药指导,

表 1 分离菌株的生化鉴定结果

项目	结果	项目	结果
麦芽糖	⊕	葡萄糖	⊕
V-P 试验	-	枸橼酸盐试验	-
甘露醇	⊕	乳糖	⊕
吲哚试验	+	MR 试验	+

表 2 分离菌株药敏试验结果

抗生素	判定标准/mm			抑菌圈直径/mm	抗生素	判定标准/mm			抑菌圈直径/mm
	R	I	S			R	I	S	
青霉素 G	≤20	21-28	≥29	8.7±2.58	卡那霉素	≤13	14-17	≥18	22.1±1.12
头孢唑林	≤14	15-17	≥18	22.2±2.02	阿莫西林	≤13	14-17	≥18	9.5±1.73
万古霉素	≤14	15-20	≥21	11.5±1.16	庆大霉素	≤12	13-14	≥15	26.5±2.02
诺氟沙星	≤12	13-16	≥17	14.2±0.75	四环素	≤18	19-22	≥23	20.3±1.15
罗红霉素	≤15	16-18	≥19	11.5±1.02	链霉素	≤11	12-14	≥15	8.2±1.21
头孢氨苄	≤14	15-17	≥18	15.3±0.23	新霉素	≤10	11-14	≥15	22.3±1.35

改善饲养条件,提高羊群免疫力,同时要定期检测隐性乳房炎,做到早发现早治疗,目前针对羊乳房炎可运用中医药治疗<sup>[2]</sup>,不仅成本低,方法多样,而且能够避免乳内抗生素残留,达到良好的治疗效果。

## 参 考 文 献

- [1] 陆承平.兽医微生物学(第五版)[M].北京:中国农业出版社,2013.  
[2] 李娟红.羊乳房炎的中医治疗[J].中兽医学杂志,2020(3):125.

【责任编辑:胡 敏】