

新疆部分地区 9 个奶牛场致奶牛乳房炎 主要病原菌的检测与药敏试验

陈 杰¹, 魏 勇², 王晨豫¹, 陈明杰¹, 解津刚², 齐亚银^{1*}

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆天澳牧业有限公司, 新疆 奎屯 833200)

摘 要: [目的] 为了了解新疆部分地区 9 个规模化奶牛场奶牛乳房炎的发病情况和致乳房炎主要病原菌的流行现状。[方法] 本研究通过对新疆部分地区 9 个规模化奶牛场进行现场流行病学调查并结合实验室检查。对新疆部分地区 9 个规模化奶牛场中临床型乳房炎与隐性乳房炎牛只进行了病原菌的分离鉴定和耐药性分析, 应用敏感药物进行了药敏试验。共采集奶样 1 236 份, 通过在甘露醇高盐琼脂平板、麦康凯琼脂平板、脱纤维无菌绵羊血琼脂平板上对样品连续划线培养后并结合涂片、染色、镜检中共分离出疑似葡萄球菌 742 株、革兰氏阴性杆菌 531 株、链球菌 371 株。初步判定金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无乳链球菌等是引起新疆部分地区奶牛乳房炎的主要病原菌。[结果] 最后通过特异性引物的 PCR 鉴定结果, 最终获得 371 株金黄色葡萄球菌、297 株大肠杆菌、112 株无乳链球菌。[结论] 药敏结果显示这三种病原菌对头孢噻肟、环丙沙星药物高度敏感。可为新疆部分地区奶牛场防治乳房炎的临床用药提供一定的理论依据。

关键词: 乳房炎; 金黄色葡萄球菌; 大肠杆菌; 无乳链球菌

中图分类号: S852.61

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2021)06-0000-00

在奶牛养殖业发展中, 奶牛乳房炎是当前奶牛生产中比较常见的疾病之一。该疾病是由多种病因引起的一种常见性疾病, 直接影响奶牛的产奶质量和品质^[1]。

据报道, 在奶牛场中, 临床型乳房炎的发病率为 2% ~ 8%, 隐性乳房炎的发病率更高, 并且难以自愈^[2]。根据炎症的严重程度, 奶牛乳房炎大体上可以分为临床型和隐性型, 其中临床型奶牛乳房炎, 视觉上可见明显的受感染表征^[3], 而隐性型乳房炎, 虽然在临床体征上没有明显的变化, 但其对牛奶质量和产量方面均带来严重的影响, 也正因其无明显的特征, 所有很难及时诊断并采用有效措施^[4]。

相关研究文献显示, 与临床型奶牛乳房炎相比, 隐性型乳房炎的发病率要高 15 ~ 40 倍^[5]。目前, 文献显示引起奶牛隐性型乳房炎的常见传染性致病菌大约 20 多种。在超过 90 % 的奶牛隐性乳房炎乳样中, 都可以检测出大肠杆菌、葡萄球菌和链球菌, 因此, 以下内容将针对这 3 种病原菌微生物进行详细介绍^[3]。

目前发现金黄色葡萄球菌是诱发奶牛乳房炎的主要病原菌, 很难治愈, 且由于抗生素的使用产生的耐药菌株已经普遍存在, 因此常常使用疫苗进行防治, 对于患牛采用淘汰的方式处理^[6]。研究表明, 金黄色葡萄球菌主要与生奶中体细胞数异常升高相关^[7], 严重影响牛奶品质。

大肠杆菌诱发的奶牛乳房炎往往多见于泌乳高峰期, 常常呈现出急性经过^[8], 研究表明, 控制大肠杆菌性乳房炎, 可有效提高奶牛产奶量^[9], 可见大肠杆菌在乳房炎诱发因素中的地位不容忽略。

只有当奶牛自身发生变化, 如缺乏影响、外伤、挤奶方式不正确或免疫力降低时, 链球菌才会以乳房炎诱发因素发挥作用^[10]。单纯由链球菌诱发的奶牛隐性型乳房炎, 奶牛乳腺表现出的红肿等炎症表征不是十分明显, 但产奶量会急剧下降^[11]。

当奶牛场出现乳房炎时, 继而会引起一系列糟糕的连锁反应如牛奶品质的下降、不合格奶牛的淘汰率升高、治疗所用药物成本的增加、牛奶中药物残留的增多。这些影响都会极大的降低奶牛场的效

收稿日期: 2021-08-11 修回日期: 2021-08-25

基金项目: 《优质生鲜乳安全生产关键技术集成与应用》项目编号: SR2020001

作者简介: 陈杰(1996—), 男, 新疆库尔勒人, 硕士研究生, 主要研究方向: 动物疫病诊断与防控技术。

* 通讯作者: 齐亚银(1980—), 教授, 新疆石河子人, 教授, 主要从事动物传染病的诊断和防治工作。

益。因此对奶牛场致乳房炎的主要病原菌的分离鉴定,以及提供合理的预防、治疗方案是相当重要的^[7]。

因此本实验为查明新疆部分地区 9 个规模化奶牛场奶牛乳房炎的致病菌,首要任务是准确采集还未开展临床用药的临床型乳房炎奶样和体细胞数≥50 万个/mL 的隐性型乳房炎奶样,然后结合常规微生物学实验室诊断的方法,对新疆部分地区 9 个规模化奶牛场中致乳房炎主要病原菌进行分离鉴定,以及药敏试验并给出合理的临床用药方案。旨在为奶牛场乳房炎的临床治疗以及预防,提供合理有效

的理论指导依据。

1 材料

1.1 试验样品

试验样品采自新疆部分地区 9 个规模化奶牛场 214 头临床型乳房炎牛只和 1 022 头隐性型乳房炎牛只的奶样,经 -4 ℃ 保存运输。

1.2 主要试剂及药品

试验所需相关试剂见表 1。

1.3 主要仪器与设备

试验一所需相关仪器与设备见表 2。

表 1 实验试剂

试剂	来源
LB 肉汤培养基	上海生工生物工程股份有限公司
麦康凯琼脂培养基、甘露醇高盐琼脂培养基、哥伦比亚血琼脂基础、脑心浸出液肉汤(BHI)、	青岛高科园海博生物技术有限公司
无菌脱纤维绵羊血	北京索莱宝科技有限公司
革兰氏染色液	珠海贝索生物技术有限公司
2 × Taq Plus Master mix II	南京诺唯赞生物科技股份有限公司
DNA Maker I、2K DNA Maker	北京全式金生物技术有限公司
SuperRde 核酸染液	合肥兰杰柯科技有限公司
细菌基因组 DNA 提取试剂盒	北京天根生化科技有限公司
引物	北京睿博兴科生物技术有限公司
药敏试纸	杭州滨和微生物试剂有限公司
加州乳房炎(CMT)检测试剂	上海聚益畜牧科技有限公司

表 2 仪器与设备

试剂与仪器名称	购买厂家
光学显微镜	Olympus 公司
纯水机	ThermoFisher 公司
高压灭菌器	Hirayama 公司
电子天平	北京赛多利斯仪器系统有限公司
冰箱	海信集团有限公司
旋涡混合器	Scientific? Industries 公司
电子分析天平	赛多利斯科学仪器有限公司
恒温培养箱	北京市永光明医疗仪器厂
超净工作台	上海鸿都电子科技有限公司
离心机	Sigma 公司
隔水式恒温培养箱、电热恒温水浴锅	北京市永光明医疗仪器厂
全自动振荡培养箱	上海智城分析仪器制造有限公司
PCR 扩增仪	Techne 公司
微波炉	广东美的厨房电器制造有限公司
电泳仪	北京市六一仪器厂
凝胶成像仪	Biorad 公司
微量移液器及大容量移液枪	英国 Bibby 科技有限公司
牛博士Ⅲ型体细胞检测仪器	华诚睿光(中国)生物科技有限公司

2 试验方法

2.1 样品采集

2021年5月—6月在新疆部分地区饲养规模均为1 000~1 300头之间的9个规模化奶牛场,对均处于泌乳期的成年奶牛进行样品采集,用5 mL无菌EP管采集,挤奶时选择已完成前药浴、弃头三把奶工作后的奶样,共采集1 236份奶样,其中临床型乳房炎牛只的奶样共214份,共采取1 022份隐性型

乳房炎牛只的奶样,经-4℃保存运输。其中隐乳牛只奶样采集工作,根据奶牛场的DHI数据体细胞数≥50万个/ml的泌乳牛只信息,首先通过隐性乳房炎检测(CMT)法和牛博士体细胞检测仪的结合应用,判定标准见表3。来准确筛选出奶牛场中隐性型乳房炎牛只的耳号信息,其次再通过奶牛场“阿菲金”软件系统,在开始每日的挤奶工作时能够快速、准确的锁定目标牛只,从而完成隐性型乳房炎奶样的采集工作。

表3 CMT判定标准

乳汁变化情况	判定结果	标记符号
阴性	无明显变化,不出现凝块	-
疑似	有微量沉淀,但不久即消失	±
弱阳性	部分形成凝胶块	+
阳性	全部形成凝胶块,回转搅动时向中央集中,停止搅动则凝块呈凹凸附着于皿底	++
强阳性	全部形成凝胶块,回转搅动时向中央集中,停止搅动则回复原状,并附着于皿底	+++

2.2 致乳房炎主要病原菌菌株的分离纯化与保藏

2.2.1 葡萄球菌的分离纯化 将奶样样品管充分涡旋振荡均质,移取50 μL转种于800 μL的LB肉汤培养基内,在37℃、180 r/min条件的振荡培养箱中培养18~24 h。在甘露醇高盐琼脂培养基上划线接种,在37℃的恒温培养箱中培养18~24 h。挑取金黄色单个菌落(且此菌落周围的甘露醇高盐琼脂培养基的颜色也由最初透明的淡红色变成了透明的淡黄色)重复转种于LB肉汤培养基中振荡培养18~24 h。再次在甘露醇琼脂培养基上划线接种,在37℃恒温培养箱中培养18~24 h。挑取菌落进行涂片、革兰氏染色,显微镜下镜检观察,将镜检呈葡萄串状,无芽孢、鞭毛,无荚膜的单个菌落再次转种于脑心浸出液肉汤(BHI)培养基振荡培养18~24 h。

2.2.2 大肠杆菌的分离纯化 将奶样样品管充分涡旋振荡均质,移取50 μL,转种于800 μL的LB肉汤培养基内,在37℃、180 r/min条件的振荡培养箱中培养18~24 h。在麦康凯琼脂培养基上划线接种,在37℃的恒温培养箱中培养18~24 h。挑取粉红色单个菌落重复转种于LB肉汤培养基中振荡培养18~24 h。再次在麦康凯琼脂培养基上划线接种,在37℃的恒温培养箱中培养18~24 h。挑取菌落进行涂片、革兰氏染色,于显微镜下镜检观察,将镜检呈中等大小的革兰氏阴性杆菌的单个菌落再次转种于脑心浸出液肉汤(BHI)培养基振荡培养18~24 h。

2.2.3 链球菌的分离纯化 将奶样样品管充分涡

旋振荡均质,移取50 μL,转种于800 μL的叠氮钠葡萄糖肉汤培养基内,在37℃、180 r/min条件的振荡培养箱中培养18~24 h。在脱纤维绵羊血琼脂培养基上划线接种,在37℃的恒温培养箱中培养18~24 h。挑取具有溶血环的菌落重复转种于叠氮钠葡萄糖肉汤培养基中振荡培养18~24 h。再次在脱纤维绵羊血琼脂培养基上划线接种,在37℃的恒温培养箱中培养18~24 h。挑取菌落进行涂片、革兰氏染色,于显微镜下镜检观察,将镜检呈阳性球菌,链状排布的单个菌落再次转种于脑心浸出液肉汤(BHI)培养基振荡培养18~24 h。

2.2.4 菌种的保藏 首先将丙三醇(甘油)与蒸馏水1:1混匀在锥形瓶中,使得甘油浓度保持在50%,再通过高压灭菌锅121℃条件下高压20 min。再将经多次分离纯化后的葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌的菌液与50%甘油,按照1:1比例各取500 μL加入无菌冻存管中混匀,最后置于-20℃冰箱储存。

2.3 分离菌形态学观察

使用接种环分别将纯化后的三种菌液均匀涂抹在载玻片中央,将载玻片置于酒精灯外焰上3~5 cm处固定,经革兰染色法染色后,在光学显微镜的100倍油镜下观察菌株形态。

2.4 分离菌株的PCR鉴定

依照DNA提取试剂盒操作步骤提取三种目标细菌DNA,于-20℃保存。

2.4.1 PCR鉴定 对提取的分离菌DNA进行PCR

扩增,引物合成参考相关文献^[12-14],引物序列及条件见表 4,反应体系为 25 μL ;2 $\times$ Taq Plus Master mix II 12.5 μL ,双蒸水 8.5 μL ,上下游引物各 1 μL ,细菌 DNA 模板 2 μL 。反应程序为:

①金黄色葡萄球菌:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,47 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,进行 30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

②大肠杆菌:预变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 5min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s,59 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,进行 35 个循环;

72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

③无乳链球菌:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min,进行 30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

扩增 PCR 产物片段小于 700 bp 的使用 2% 的琼脂糖凝胶进行电泳,大于 700 bp 的使用 1.5% 的琼脂糖凝胶进行电泳,电泳条件为:1 $\times$ TAE 电泳液,120 V,90 mA,40 min。用凝胶成像仪对电泳后的琼脂糖凝胶进行分析。

表 4 PCR 扩增条件及引物序列

检测菌	序列(5'-3')	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	延伸时间/s	产物大小/bp
金黄色葡萄球菌	F:TTACAGAGTTAACTGTTACC R:ATACAAATCCAGCAGCTCT	47	40	651
大肠杆菌	F:ATGAAAGCTGGCTACAGGAAGGCC R:GGTTTATGCAGCAACGAGACGTC	59	20	264
无乳链球菌	F:GGGATTTGGGATAACTAAG R:TGAAGTGCTGCTTGTAATG	56	120	345

2.5 分离菌株的药物敏感性试验

2.5.1 分离菌株的药敏表型检测 主要药敏试纸选择为:头孢噻肟、青霉素、万古霉素、链霉素、庆大霉素、诺氟沙星、丁胺卡那霉素、氨苄西林、四环素、阿莫西林、环丙沙星等购自于杭州滨和微生物试剂有限公司。将多次分离纯化后得到的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无乳链球菌,分别接种与 LB 肉汤培养基中,置于恒温摇床内增菌培养 24 h 后,用生理盐水将菌液浓度调节至 $(1 \sim 2) \times 10^8 \text{ CFU/mL}$ 。按照纸片法的操作,吸取适量菌液涂布在琼脂平板上,取出不同药敏纸片,贴于琼脂表面,不同药敏纸片的间距至少 24 mm。将平板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h 后,测量琼脂上的抑菌环直径。评判结果均参照美国临床实验室国家标准化委员会标准(CLSI2008)。

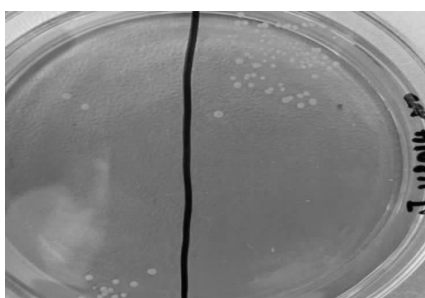
3 结果与分析

3.1 分离菌株的初步鉴定及形态学特征

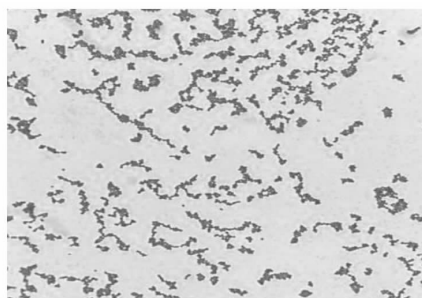
纯化后的葡萄球菌菌液划线于甘露醇高盐琼脂培养基上长出的菌落颜色为金黄色菌落(且此菌落周围的甘露醇高盐琼脂培养基的颜色也由最初透明的淡红色变成了透明的淡黄色);符合金黄色葡萄球菌的生长特性;该菌经革兰氏染色后在显微镜下呈球型,排列呈葡萄串状,无芽孢、鞭毛,无荚膜(详见图 1)。

纯化后的大肠杆菌菌液划线于麦康凯琼脂培养基上的菌落形态为玫红色、边缘光、湿润的菌落;大肠杆菌经革兰氏染色后,在显微镜下呈现中等大小的革兰氏阴性杆菌(图 2)。

纯化后的链球菌菌液划线于脱纤维无菌绵羊血琼脂平板上的菌落出现灰白色菌落,菌落周围出现透明溶血环;经革兰氏染色后该菌在显微镜下呈现革兰氏阳性球菌,链状排布(图 3)。



(a) 甘露醇高盐培养基



(b) 金黄色葡萄球菌镜检照片(1000 $\times$)

图 1 金黄色葡萄球菌的生长状态和形态结构

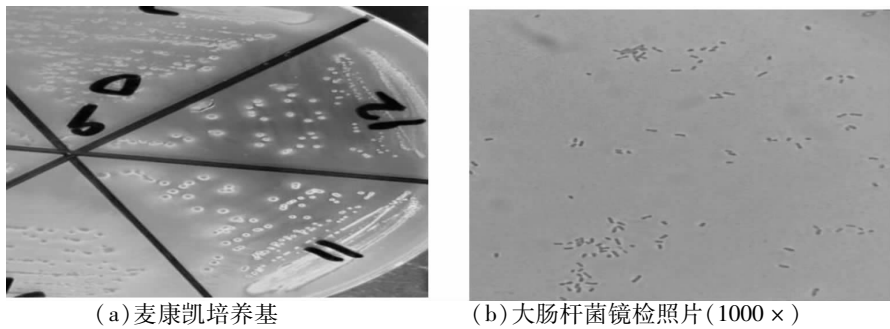


图 2 大肠杆菌的生长状态和形态结构

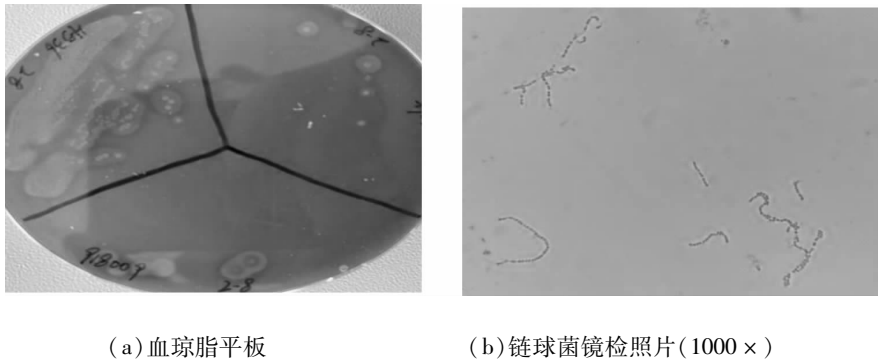
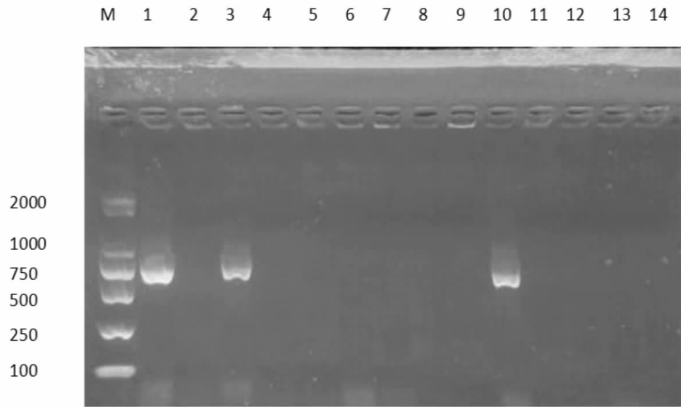


图 3 链球菌的生长状态和形态结构

3.2 PCR 鉴定结果

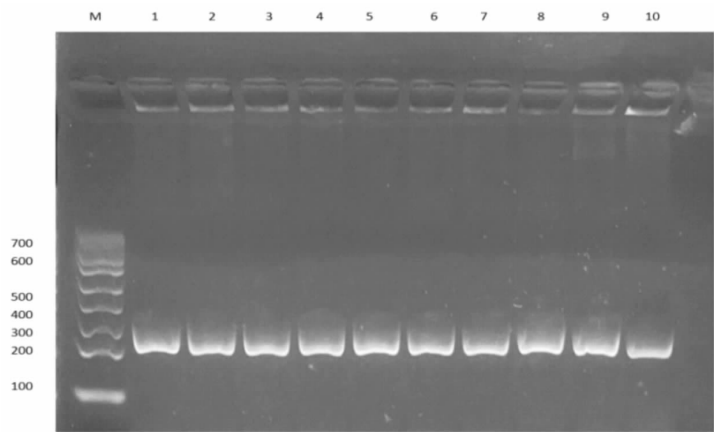
扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,产物大小与预期大小一致,分别为 264 bp、651 bp 和 345 bp(详见图

4、5、6);9 个规模化奶牛场样品纯化后的菌液经 PCR 鉴定后确定为金黄色葡萄球菌 371 株、大肠杆菌 297 株、无乳链球菌 112 株(详见表 5、表 6)。



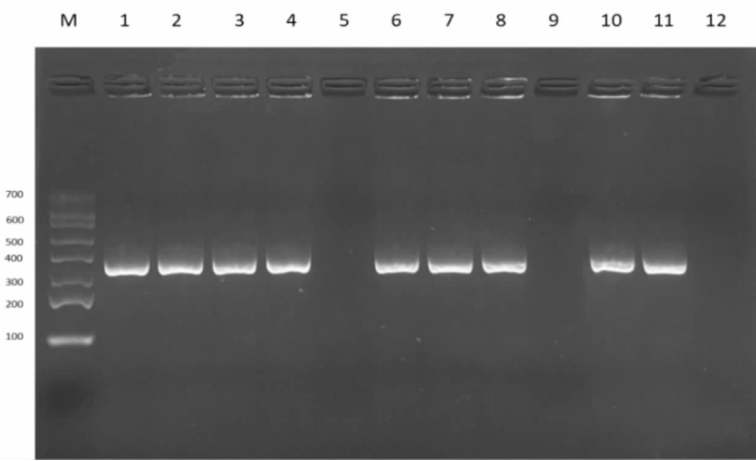
注:marker 为 DL2000 marker;M:Marker;1-14:部分金黄色葡萄球菌 PCR 鉴定;

图 4 部分金黄色葡萄球菌 per 结果



注:marker 为 DL700marker;M:Marker;1-10:部分大肠杆菌 PCR 鉴定;

图 5 部分大肠杆菌 per 结果



注:marker 为 DL700marker;M:Marker;1-12:部分无乳链球菌 PCR 鉴定;
图 6 部分无乳链球菌 pcr 结果

表 5 9 个规模化奶牛场致乳房炎主要病原菌检测奶牛头数

奶牛场	金黄色葡萄球菌/头	大肠杆菌/头	无乳链球菌/头
A	43	24	13
B	32	49	8
C	41	31	7
D	39	33	13
E	35	38	15
F	42	26	14
G	47	30	16
H	38	29	11
I	54	37	15

表 6 1236 份乳样细菌分离鉴定表

病原菌	头数	所占比率(%)
金黄色葡萄球菌	371	30
大肠杆菌	297	24
无乳链球菌	112	9

3.3 药敏表型检测结果

由表 8 可知,金黄色葡萄球菌对头孢噻肟、万古霉素、链霉素、庆大霉素、丁胺卡那霉素、阿莫西林、环丙沙星高度敏感;大肠杆菌对头孢噻肟、链霉素、庆大霉素、丁胺卡那霉素、环丙沙星高度敏感;无乳链球菌对头孢噻肟、万古霉素、诺氟沙星、环丙沙星高度敏感。

表 7 不同药物对三种致病菌的平均抑菌直径 (mm)

药物	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	无乳链球菌
头孢噻肟	28.97 ± 1.58	20.36 ± 1.64	18.02 ± 0.92
青霉素	8.47 ± 1.36	8.24 ± 1.08	2.39 ± 0.44
万古霉素	20.59 ± 1.27	19.16 ± 1.67	17.89 ± 1.25
链霉素	9.47 ± 0.43	15.67 ± 1.34	7.65 ± 1.37
庆大霉素	10.37 ± 1.47	12.94 ± 1.37	10.58 ± 1.39
诺氟沙星	6.34 ± 1.59	6.24 ± 1.06	31.37 ± 1.24
丁胺卡那霉素	21.04 ± 0.96	23.59 ± 2.06	20.49 ± 0.94
氨苄西林	10.53 ± 1.51	16.89 ± 1.42	12.57 ± 1.67
四环素	16.47 ± 1.72	6.94 ± 1.21	5.3 ± 0.92
阿莫西林	14.31 ± 1.09	18.28 ± 1.94	12.54 ± 1.24
环丙沙星	24.42 ± 1.06	17.94 ± 1.39	27.08 ± 0.97

注:数据均采用 5 次试验的平均值 ± 标准误表示。

表 8 药敏试验结果

药物	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	无乳链球菌
头孢噻肟	S	S	S
青霉素	I	I	I
万古霉素	S	R	S
链霉素	S	S	I
庆大霉素	S	S	R
诺氟沙星	R	R	S
丁胺卡那霉素	S	S	R
氨苄西林	R	I	R
四环素	R	R	I
阿莫西林	S	I	R
环丙沙星	S	S	S

注:表中“S”、“I”、“R”分别表示:高度敏感、中度敏感、耐药。

4 讨论

此次共采集乳样 1236 份,1150 份分离出病原菌,分离率达到 93%,其中经革兰氏染色、显微镜观

察后葡萄球菌 742 株,肠杆菌共 531 株,链球菌 371 株。最后通过特异性引物经 PCR 鉴定后共得到 371 株金黄色葡萄球菌、297 株大肠杆菌、112 株无乳链球菌。引起奶牛乳房炎的病原菌种类繁多,其主要致病菌是金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、无乳链球菌及停乳链球菌。本次分离结果以金黄色葡萄球菌居多,其次是大肠杆菌和无乳链球菌。细菌的分离和鉴定是防治奶牛乳房炎技术研究的基础。根据本次实验的药敏结果显示头孢噻肟、环丙沙星效果最好,可为新疆部分地区奶牛场防治乳房炎的临床用药提供一定的理论依据。为了减少耐药性建议在乳房炎的治疗时,用药方式应采取轮换用药。

参考文献:

- [1] 林向鑫. 奶牛乳房炎的诊断及防治[J]. 兽医导刊, 2021(3): 115-116.
- [2] 韩淑芳, 刘一飞, 王国艳, 等. 某奶牛场牛乳源金黄色葡萄球菌的分离鉴定与耐药性调查[J]. 山西农业科学, 2016, 44(11): 1 696-1 698, 1 728.
- [3] 王剑锋. 辽宁地区个体奶牛场乳房炎流行情况的调查与综合防治[D]. 沈阳农业大学, 2020.
- [4] Ashraf A, Imran M. Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm[J]. Trop Anim Health Prod, 2018, 50(6): 1 193-1 202.
- [5] Ramirez N F, Keefe G, Dohoo I, et al. Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia[J]. J Dairy Sci, 2014, 97(7): 4 141-4 150.
- [6] 史冬艳, 郝永清. 奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌疫苗研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2007, 41(2): 46-49.
- [7] Barkema H W, Schukken Y H, Lam T J, et al. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis[J]. J Dairy Sci, 1999, 82(8): 1 643-1 654.
- [8] 黄妍梅, 王志海, 邵芹, 等. 奶牛大肠杆菌性乳房炎的诊治及预防[J]. 养殖技术顾问, 2008, (4): 68.
- [9] Heikkila A M, Liski E, Pyorala S, et al. Pathogen-specific production losses in bovine mastitis[J]. J Dairy Sci, 2018, 101(10): 9 493-9 504.
- [10] Miranda P S D, Lannes-Costa P S, Pimentel B A S, et al. Bio-film formation on different pH conditions by *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitic milk[J]. Lett Appl Microbiol, 2018, 67(3): 235-243.
- [11] 马春花. 奶牛乳房炎的几种常见病原菌[J]. 现代畜牧科技, 2010(3): 148.
- [12] 王丹. 奶牛乳房炎主要病原菌多重 PCR 诊断方法的建立与应用[D]. 北京:中国农业科学院, 2018.
- [13] 熊咏民, 莫晓燕, 陈群, 等. 聚合酶链反应检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 *mecA* 和 *femB* 基因[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 4(6): 49.
- [14] 蒋增海, 王成龙, 宋浩, 等. 一株致多发性浆膜炎猪源肠外 *E. coli* 的分离与鉴定[J]. 现代牧业, 2020, 4(1): 1-5.

Detection and drug sensitivity test of main pathogenic bacteria causing cow mastitis in 9 large-scale dairy farms in xinjiang

CHEN Jie¹, WANG Chen-yu¹, CHEN Ming-jie¹, XIE Jin-gang²,

WEI Yong², QI Ya-yin^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000;

2. Xinjiang Tianao Animal Husbandry Co., LTD., Kuitun, Xinjiang 833200)

Abstract: Cow mastitis is one of the most common diseases of dairy cows, which has brought huge economic losses to dairy industry. Pathogenic bacteria infection is the most important cause of cow mastitis. **Objective:** To investigate the prevalence of mastitis and the main pathogenic bacteria in 9 large-scale dairy farms in xinjiang. **Methods:** The field epidemiological survey and laboratory examination were conducted in 9 large-scale dairy farms in xinjiang. The isolation, identification and drug resistance analysis of pathogenic bacteria were carried out in cattle with clinical mastitis and recessive mastitis in 9 large-scale dairy farms in xinjiang, and drug sensitivity test was carried out with sensitive drugs. A total of 1236 milk samples were collected, and 742 strains of suspected staphylococcus, 531 strains of Gram-negative bacilli and 371 strains of streptococcus were isolated by continuous lineation culture on mannitol high-salt AGAR plate, Macconkey AGAR plate and defiber sterile sheep blood AGAR plate combined with smear, staining and microscopy. Staphylococcus aureus, Escherichia coli and streptococcus agalactiae are the main pathogenic bacteria causing mastitis in some areas of Xinjiang. **Results:** 371 strains of Staphylococcus aureus, 297 strains of Escherichia coli and 112 strains of Streptococcus agalactiae were identified by PCR with specific primers. **Conclusion:** The results of drug sensitivity showed that the three pathogens were highly sensitive to cefotaxime and ciprofloxacin. It can provide a theoretical basis for the clinical medication of preventing mastitis in dairy farms in some areas of Xinjiang.

Key words: Mastitis; Staphylococcus aureus; E. coli; Streptococcus agalactiae