

Бактериологическое исследование молока и секрета вымени коров

МУК №115-69 от 30.12.83г., с допол.
№432-3 от 06. 12. 88г.

Возбудителями острых гнойных и хронических маститов являются:

Staphylococcus aureus, α - и β -стрептококки, *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Ps.aeruginosa*, грибы рода *Candida*, *Aspergillus*.

м/о группы *Neisseria*, гемофилы, *Moraxella*, *Nocardia*.

Взятие материала

Материал (молоко) отбирают из пораженных долек с соблюдением правил асептики.

- перед взятием соски вымени коров и руки дояров протирают ватным тампоном, смоченным 70% спиртом.
- в конце дойки отбирать 5-10 мл альвеолярного молока.
- при повторном взятии пробы с целью подтверждения диагноза на мастит могут быть использованы как цистериальное, так и альвеолярное.

Лабораторная диагностика секрета вымени

Исследуемый материал

Посев на питательные среды

**Простые
питательные
Среды:**
Кесслера,
Кода и др
▪ МПА
▪ МПБ

**Обогащенные
питательные
среды**
▪ Кровяной агар
(с 5% дефибри-
нированной
крови),
глюкозо-дрожжевой
агар

**Элективные
Среды:**
Сабуро
или Чапека

Оценка результатов исследования

- При появлении роста на плотных питательных средах изучают выросшие колонии, проводят качественную и количественную оценку (единичные колонии, умеренный, обильный рост), выделяют чистую культуру предполагаемого возбудителя.
- Проводят дальнейшее изучение с целью идентификации и определения чувствительности к антибиотикам.

Рост стафилококков на кровяном агаре и желточно-солевом агаре Чистовича



Лабораторная диагностика стафилококков

1 этап) Учет результатов первичного посева



2 этап) Пересев типичных колоний на скошенный МПА и МПБ для получения чистой культуры

Лабораторная диагностика стафилококков

3 этап

Идентификация чистой культуры по биохимическим признакам



Определение патогенности

Косвенный способ

Определение продукции

ПЛАЗМОКОАГУЛАЗЫ

ЛЕЦИТОВИТЕЛАЗЫ

ДНК-азы

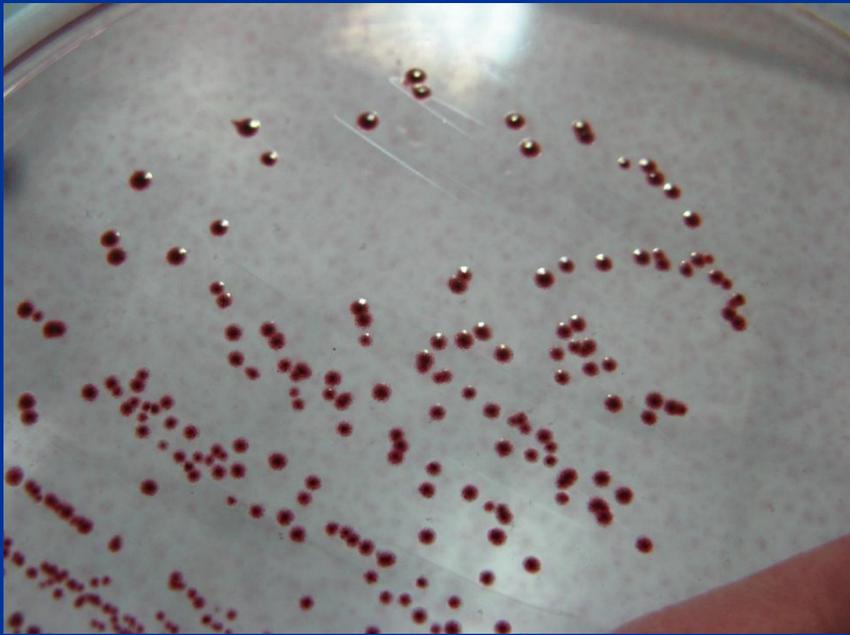
Прямой способ

Дермо-некротическая проба

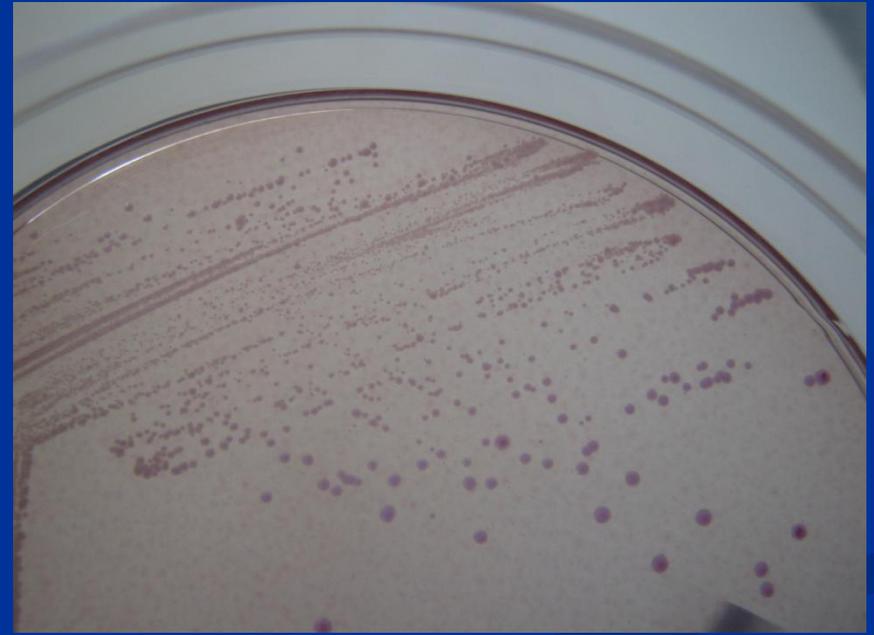
Время наблюдения за животным:
4 СУТОК

Морфология энтерококков. Характер роста на энтерококкагаре

Enterococcus faecalis



Enterococcus faecium



Лабораторная диагностика энтерококков

Подтверждение принадлежности выделенных микроорганизмов к роду *Enterococcus*

Определение возможности роста

Тест на каталазу
(отрицательный)

при
45°C

в среде с
содержание
м
NaCl 6,5%

в
среде
с pH
9,6

в
среде
с 40%
желчи

Тест на термо-
резистентность

Видовая идентификация энтерококков

**Изучение способности
энтерококков
редуцировать
некоторые вещества**

**Устойчивост
ь
к
теллуриду
калия**

**Изучение
биохимически
х
свойств**

**Редукция
метиленового
синего
(рост в
молоке
с 0,1%
метиленового
синего)**

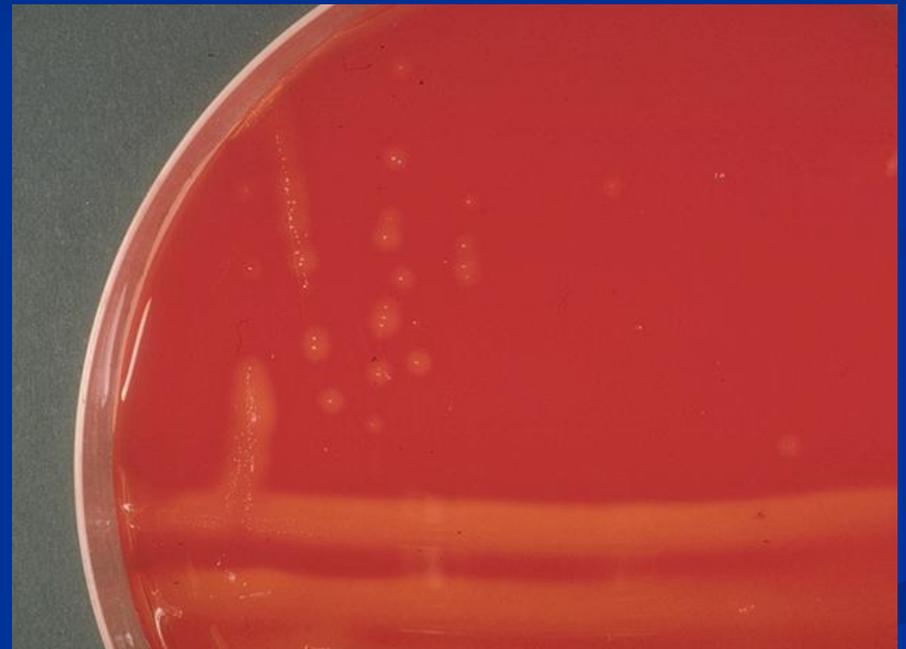
**Редукция
тетразоли
я
хлорида**

Характер роста стрептококков на кровяном агаре

α -гемолитический стрептококк



β -гемолитический стрептококк



Микробиологические методы идентификации микробов семейства стрептококковых

Просмотр чашек с посевами

Вид стрептококка	Характер роста на кровяном агаре	
	Характер колоний	гемолиз
<i>S. pneumoniae</i>	колонии мелкие, круглые, полупрозрачные, плоские с приподнятыми краями и центром	α - ГЕМОЛИЗ
<i>S. equi</i>	мелкие слизистые росинчатые колонии	β - ГЕМОЛИЗ
<i>S. agalactiae</i>	Гладкие, мелкие, полупрозрачные сероватые колонии сферической формы, ровным краем, блестящей поверхностью	α — ГЕМОЛИЗ, β - ГЕМОЛИЗ Некоторые штаммы не выделяют гемолизин

Лабораторная диагностика стрептококков

При наличии подозрительных в отношении стрептококка колоний

Приготовление мазков из характерных колоний и окраска по Граму

дифференциация от Грам-отрицательных гемофильных микроорганизмов

Тест на каталазу (отрицательный)

Пересев на обогащенные питательные среды для накопления чистой культуры микроорганизма

МПБ с 1% глюкозы 10% сыворотки

Определение характера роста в жидкой питательной среде

МПА с 5% крови

Изучение биохимических свойств

Лабораторная диагностика эшерихий

1-й день исследования

Исследуемый материал

Первичный посев

Ср. Кесслера, Кода и др

МПБ, Эндо, Левина и др.

Лабораторная диагностика

2-й день исследования

Учет результатов первичного посева

Морфология микроорганизмов в мазках из характерных колоний

Характер колоний

Пересев типичных колоний на скошенный МПА для получения чистой культуры

Лабораторная диагностика

3-й день исследования

```
graph TD; A[3-й день исследования] --> B[Идентификация чистой культуры по биохимическим признакам]; B --> C[ ];
```

Идентификация чистой культуры по биохимическим признакам

**Пробу молока засевают в пробирки со средой Кесслера/ Кода .
Посевы инкубируют при $t - 43/37^{\circ}\text{C}$. Предварительно посевы
просматривают через 24 ч, отмечают положительную реакцию
(помутнение среды, наличие пузырьков газа в поплавке).
Окончательный учет проводят через 48 ч.**



Рост на среде Кесслера



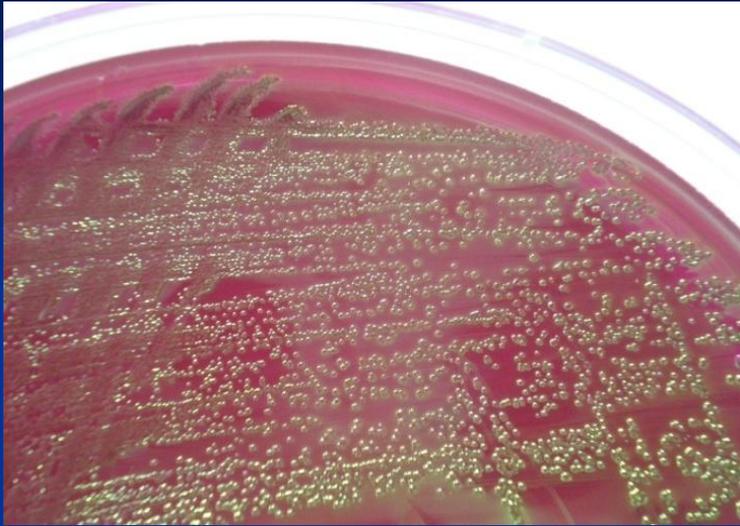
Рост на среде Кода

Рост на средах

4 типа колоний *Escherichia coli* на плотных питательных средах:

1. сочные, вариабельно выпуклые, серовато-голубые, мутные S-колонии диаметром 0,3-0,5 см с ровными или слегка волнистым краем, имеющие тенденцию сливаться друг с другом;
2. Сухие плоские R- колонии с неровными краями;
3. Слизистые (M) колонии;
4. Мелкие колонии, напоминающие колонии сальмонелл

Рост на средах

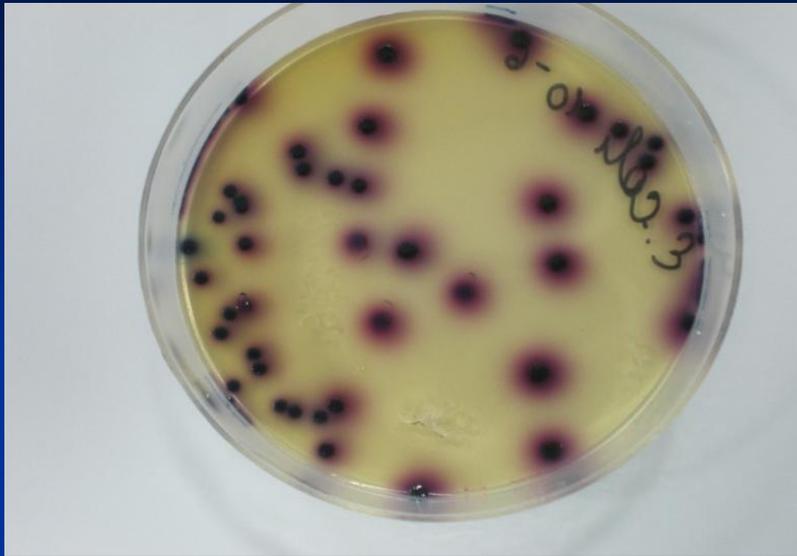


- На среде Эндо эшерихии, ферментирующие лактозу, образуют фуксиново-красные колонии с металлическим блеском (либо без него), неферментирующие – бледно-розовые или бесцветные с темным центром;

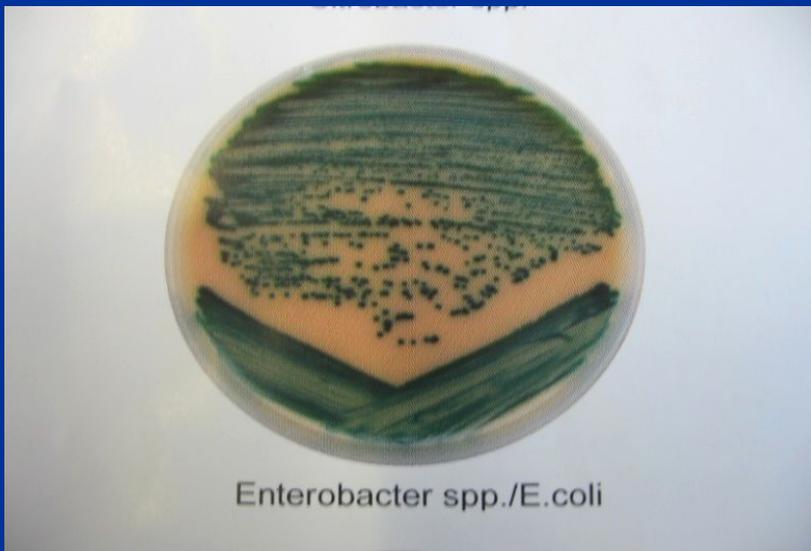


- На среде Плоскирева – соответственно красные с желтым оттенком и бесцветные

Рост на хромогенно- дифференциальных средах



На хромогенном агаре
Chromocult Coliform Agar
эшерихии растут в виде
темно- синих,
фиолетовых колоний;



На хромогенной
дифференциально-
диагностической среде
Rabach растут в виде
зеленых колоний

Морфология *Escherichia coli*

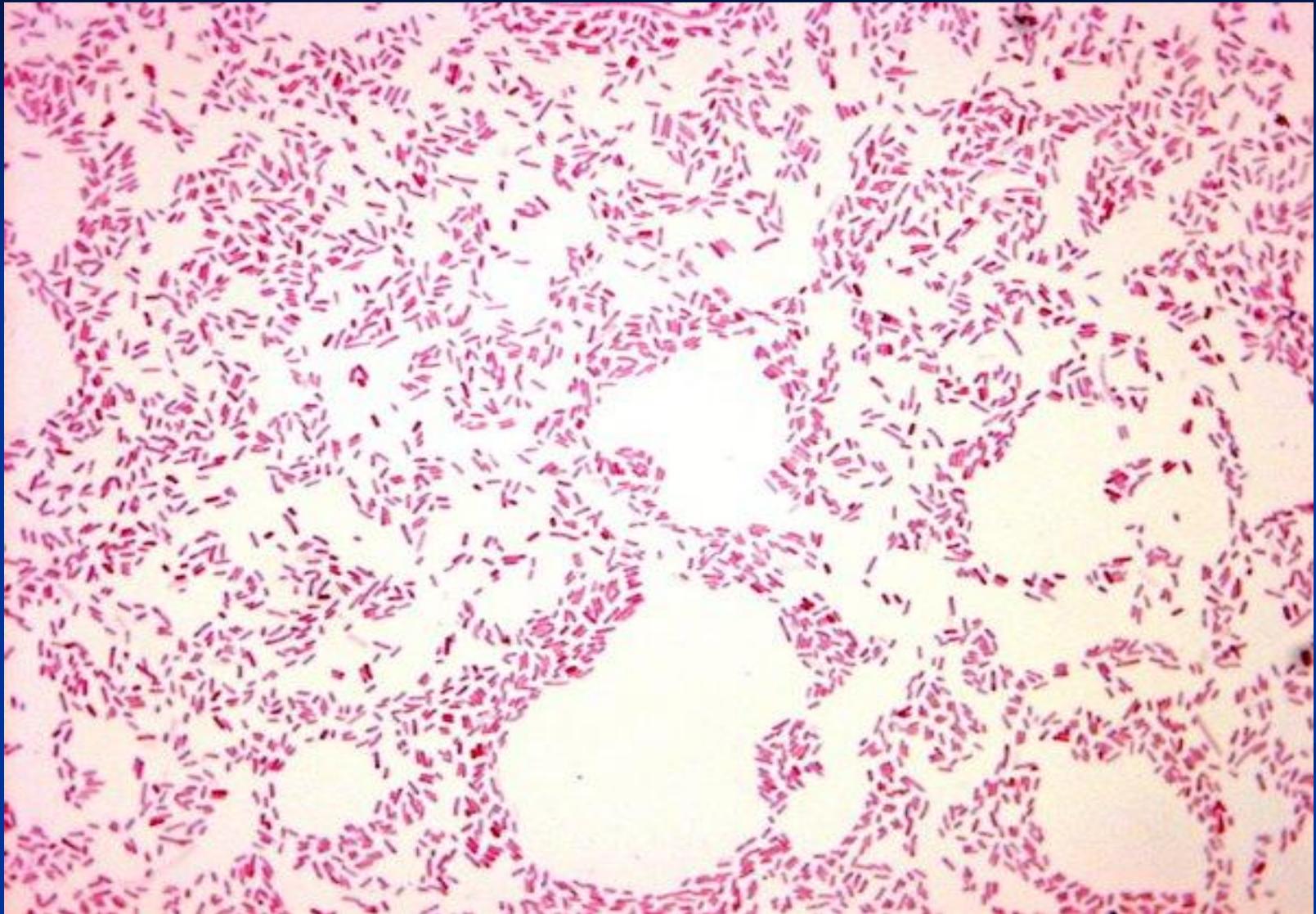


Схема бактериологического исследования на синегнойную палочку

Высевы из молока на МПБ или
МПА



Инкубация при 37С° 48-72 часа



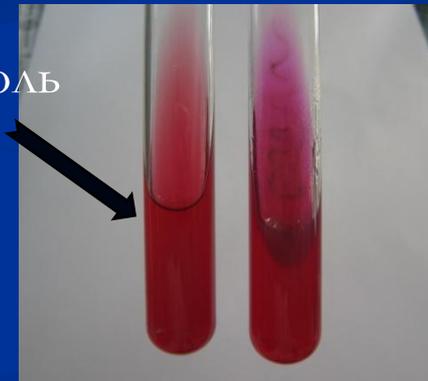
Бесцветные или серовато-белые
полупрозрачные, круглые выпуклые
колонии с ровными краями.



Среда Клиглера
инкубация 18 часов

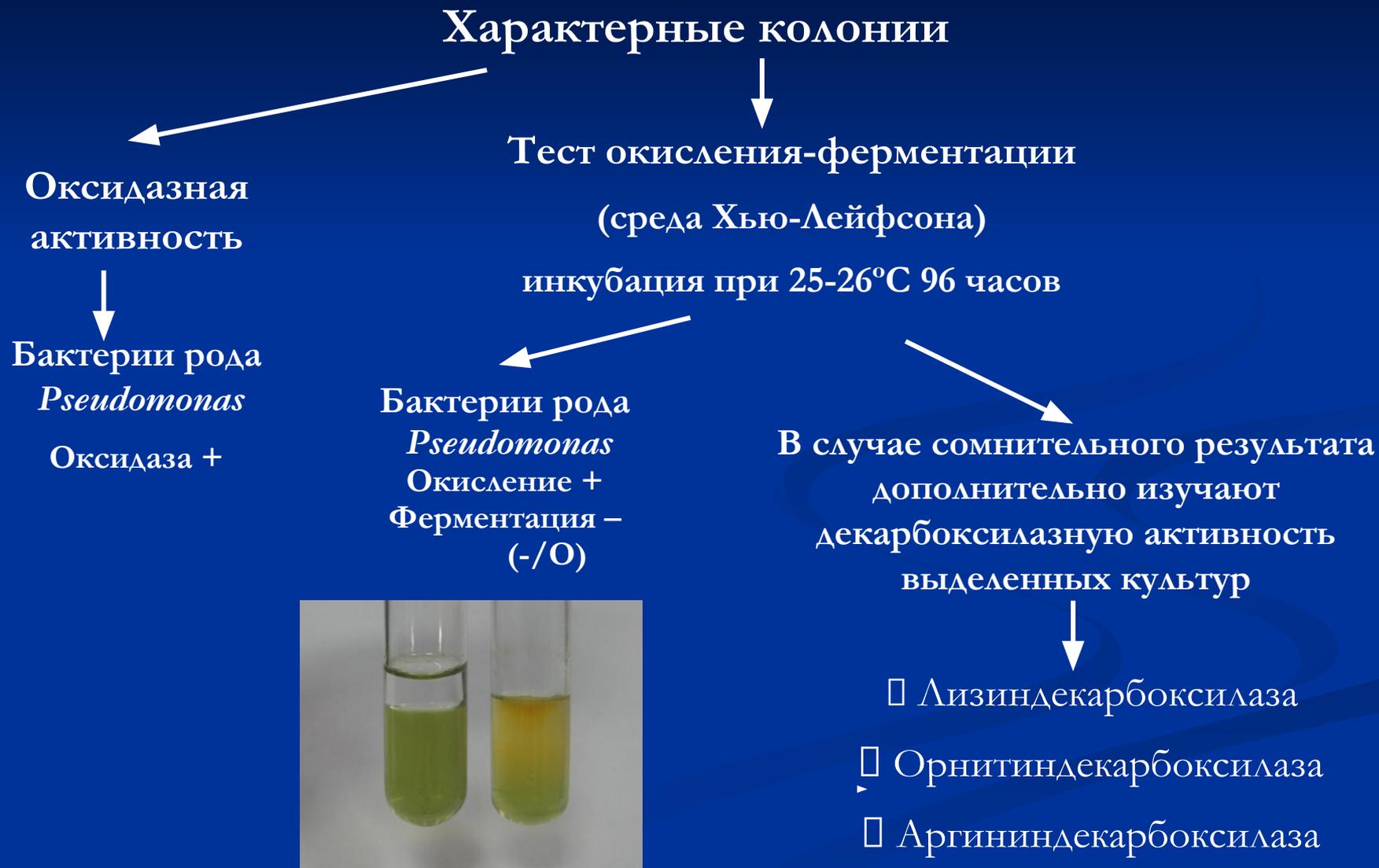
На 2-4 сутки отмечают образование
сине-зеленого пигмента

КОНТРОЛЬ



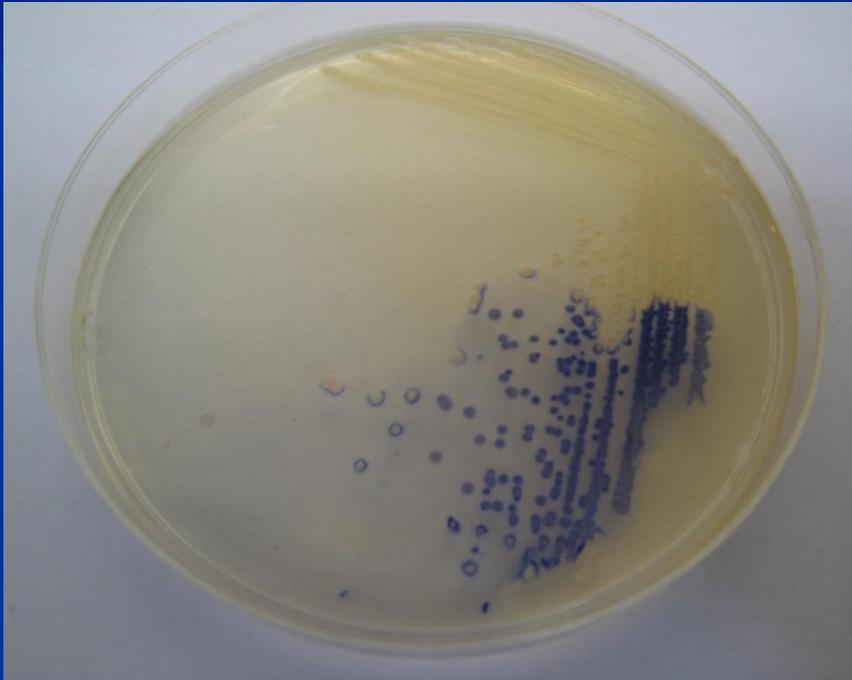
Щелочная реакция: столбик и скошенная
часть окрашиваются в малиновый цвет

Схема бактериологического исследования

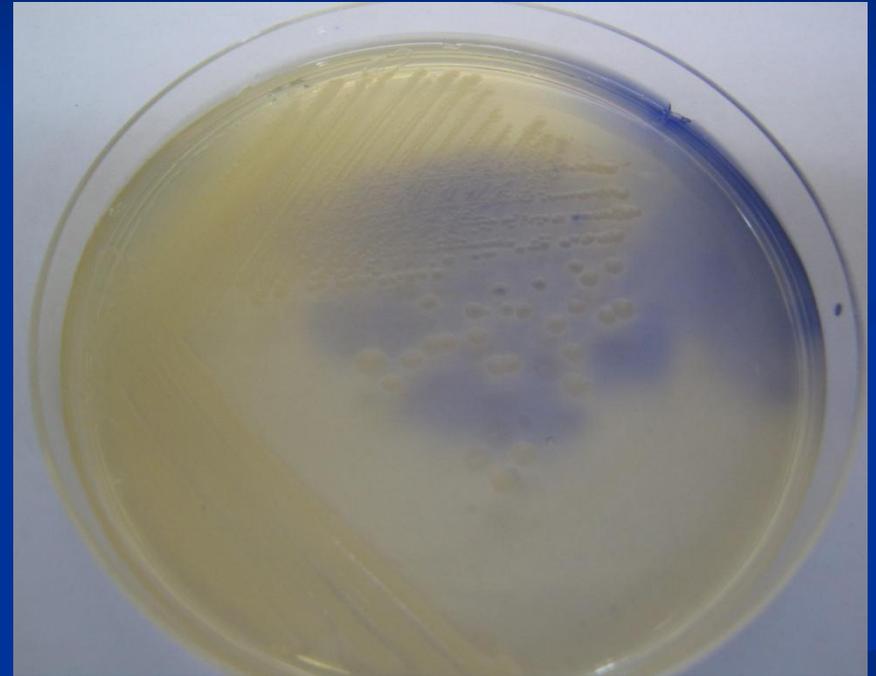


Оксидазная активность

Оксидазоположительная
культура



Оксидазоотрицательная
культура

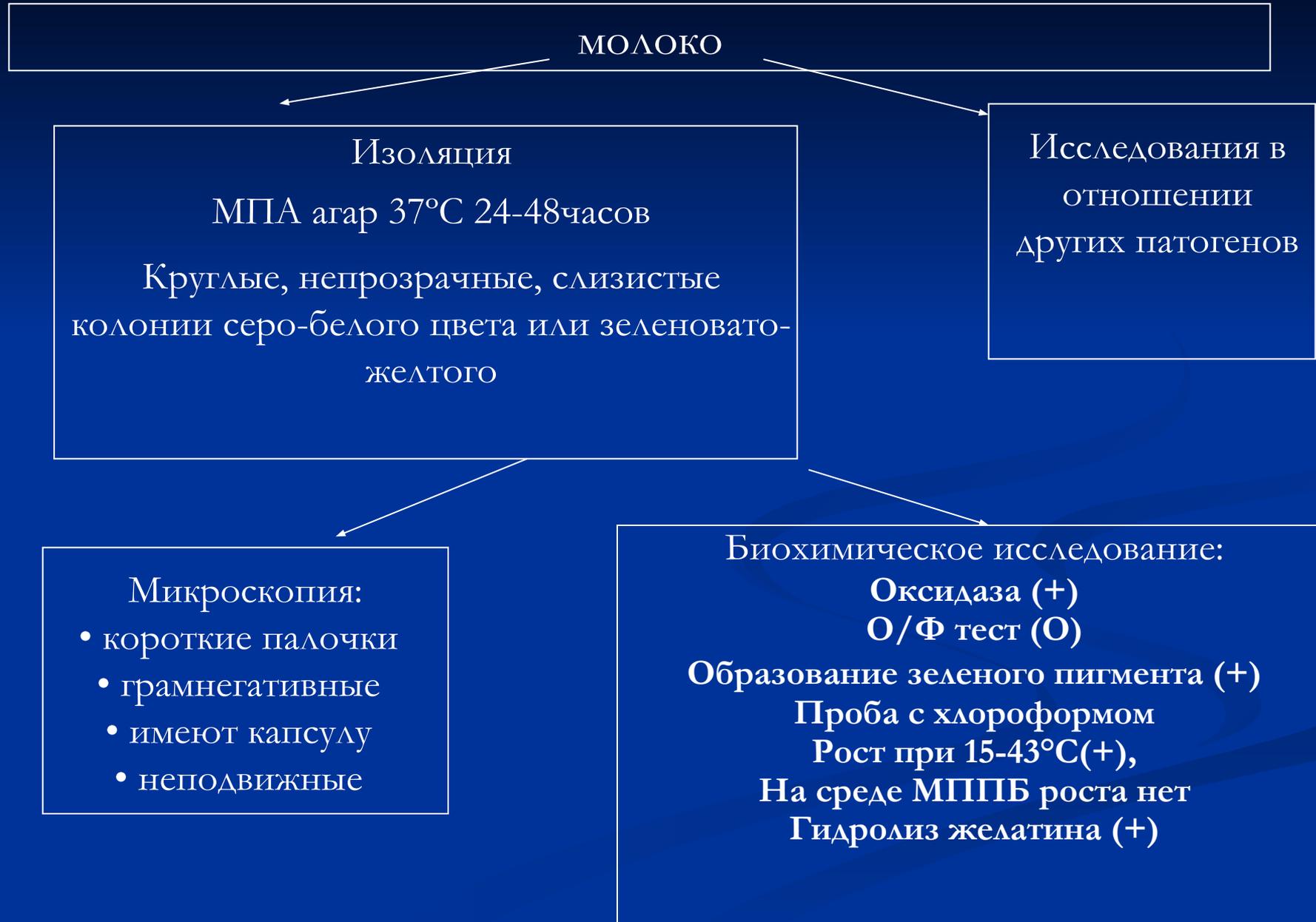


Ps. Aeruginosa

Биохимические свойства

Тесты или субстраты	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. fluorescens</i>	<i>Ps. putida</i>
1	2	3	4
цитохромоксидаза	+	+	+
пигмент пиоцианин	+	-	-
флюоресцеин	+	+	+
глюкоза	+	+	+
рост на ацетамидном агаре	+	-	+
рост при 42 °С	+	-	-
гидролиз желатины	+	+	-

Схема быстрой идентификации *Pseudomonas spp.*



Микробиологические методы идентификации микробов семейства *Enterobacteriaceae*

Морфолого-физиологические признаки:

- Грамотрицательные палочки с закругленными концами (0,5-2,0x2,0-4,0 мкм) без спор, как правило беспорядочно расположенные;
- Факультативные анаэробы, не требовательные к составу питательных сред, образующие на 1-2-е сутки при 30-37°C характерные колонии;
- Оксидазоотрицательные;
- Обладающие каталазной активностью;
- Обладающие нитратредуктазной активностью;
- Ферментирующие и окисляющие глюкозу.

Рост на средах

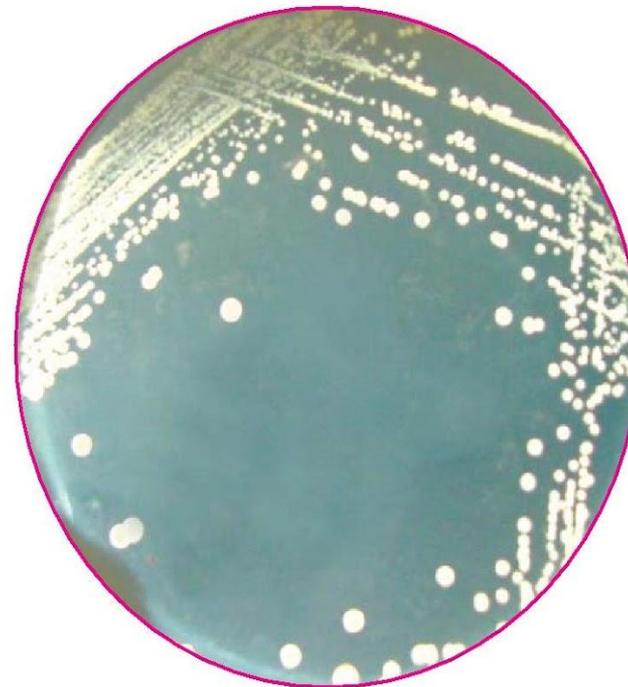
На среде Эндо колонии представителей семейства *Enterobacteriaceae* обычно выпуклые с правильными очертаниями (круга), более или менее опалесцирующие, иногда слизистые, могут быть окрашены в красный цвет с наличием металлического блеска или без него (лактозополо-жительные), бесцветные (лактозоотрицательные), могут приобретать розоватый или сероватый оттенок с более или менее выраженным темным центром.

Выделение и идентификация грибов рода *Candida*

Посевы молока (секреты вымени) делают на среды Чапека или Сабуро в количестве 0.1-0.3 см³ и равномерно распределяют стерильным шпателем по всей поверхности среды и инкубируют при 37°C 24-96 ч. После инкубирования просматривают выросшие культуры и проводят их микологическое исследование на морфологические и тинкториальные свойства.



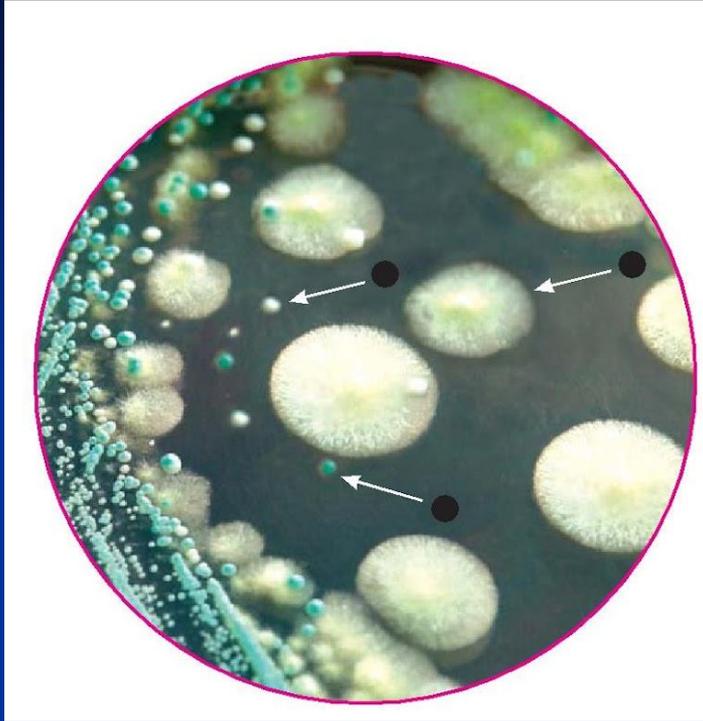
**Агар Сабуро с глюкозой и
хлорамфениколом – М1067**
Candida albicans (ATCC 10231)



**Агар с рисовым Экстрактом
(М1026)**
Candida albicans (ATCC 10231)

выращенных на

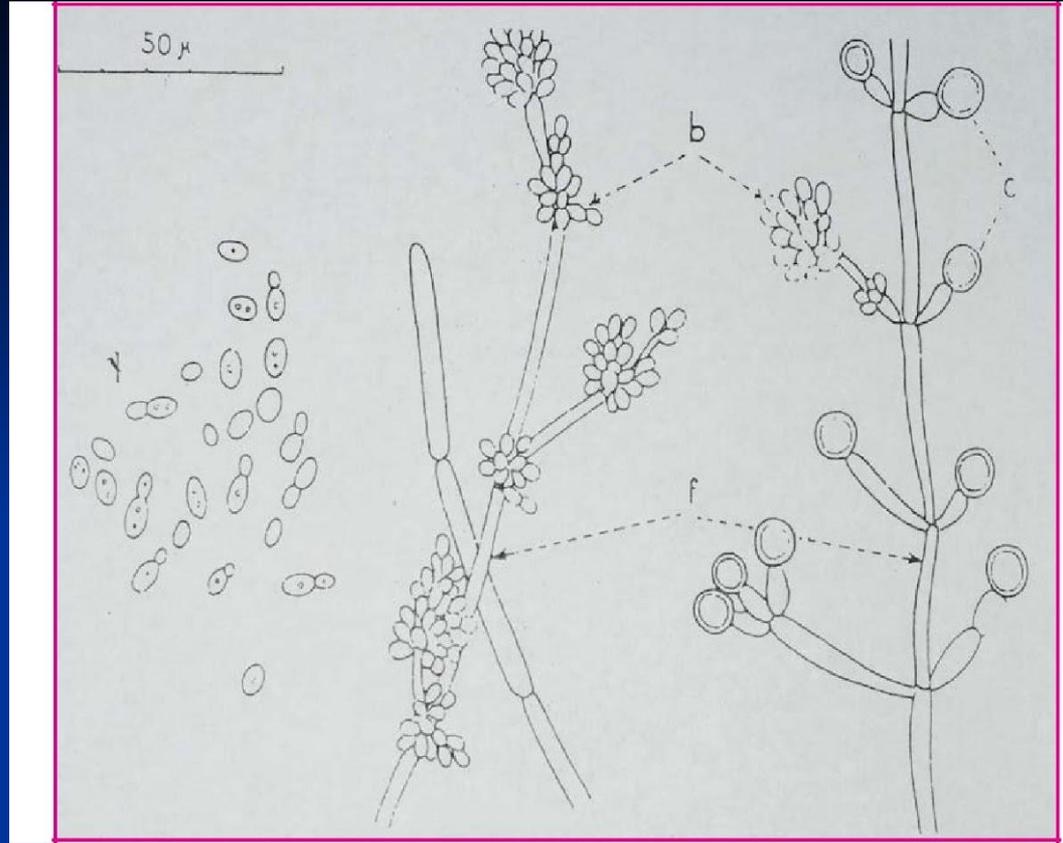
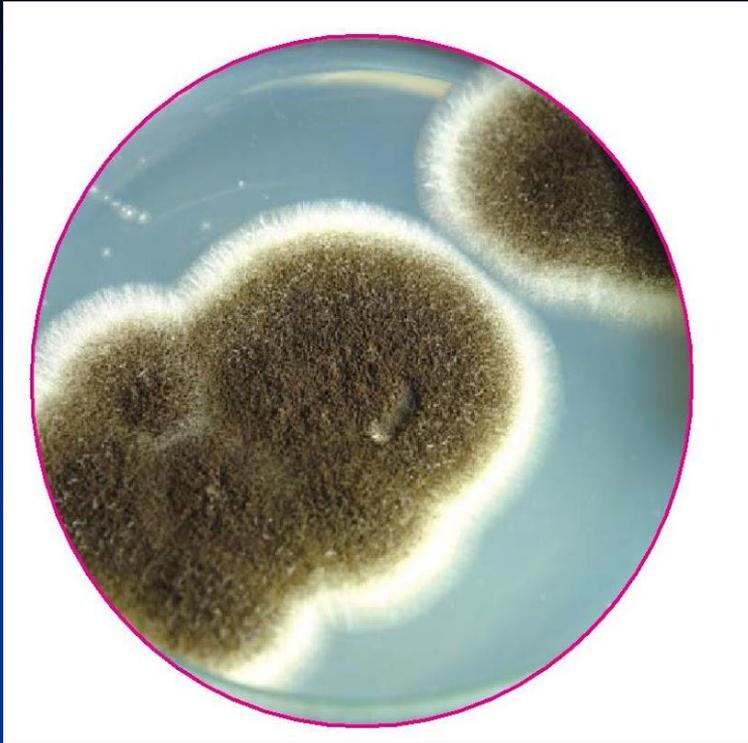
хромогенном агаре OGYE (HiMedia, M1467)



Культуры	Рост культур на средах	Окраска колонии
<i>Aspergillus niger</i>	обильный	светло-голубые с чёрными спорами
<i>C. albicans</i>	обильный	зелёные
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	обильный	бесцветные
<i>E. coli</i> ATCC 25922	отсутствует	–

Основа ХайХром агара для дрожжевых и плесневых грибов (M1467)

- . *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763)
- . *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404)
- . *Candida albicans* (ATCC 10231)



Кукурузный агар (M146)
Aspergillus brasiliensis (ATCC 16404)

- A** : Почкование дрожжей (y)
 На сабуро-кукурузном агаре (выделение)
- : Филаменты с группами бластоконидий (b), характерные для гифов *S.albicans* (на картофельно-морковной среде РСВ)
- : Филаменты (f) с бластоконидиями и хламидоконидиями (c), специфическими для *S.albicans* (на картофельно-морковной среде РСВ)

