

华北地区乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药性研究

石润佳^{1,2}, 韩荣伟², 王军², 田晓英², 邓芳³, 于忠娜¹

(1. 青岛农业大学海都学院, 山东莱阳 265200) (2. 青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266109)

(3. 山东省淄博市周村区畜牧业服务中心, 山东淄博 255300)

摘要: 为了解华北地区乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药情况, 本试验采集华北地区乳房炎奶样 240 批次, 采用 EMB 培养基和菌悬液法对大肠杆菌进行分离鉴定, 通过纸片扩散法对常用的八类 29 种抗生素进行药敏试验。试验结果表明共分离大肠杆菌 17 株 (7.08%)。药敏试验结果显示大肠杆菌分离株表现出高度耐药和多重耐药。分离株对至少 4 种抗生素产生耐药性, 最多耐药 19 种, 耐药 5 种以上的菌株较多 (58.82%); 针对单一抗生素, 分离菌株对青霉素、苯唑西林、林可霉素 3 种药物耐药率高达 100%。针对不同种类抗生素, 大肠杆菌分离株对 β -内酰胺类药物和林可酰胺类药物的耐药率分别为 55.15%, 61.76%, 均超过半数。本研究旨在发现乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药性规律, 并根据数据对奶牛乳房炎精准防控, 减少牛乳中兽药残留, 提升牛乳质量。

关键词: 奶牛乳房炎; 大肠杆菌; 分离鉴定; 耐药性

文章编号: 1673-9078(2019)05-274-280

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.038

Study on Antibiotics Resistance of *Escherichia coli* in Milk Samples from Cows with Mastitis in North China

SHI Run-jia^{1,2}, HAN Rong-wei², WANG Jun², TIAN Xiao-ying², DENG Fang³, YU Zhong-na¹

(1.Haidu College, Qingdao Agricultural University, Laiyang 265200, China)

(2.College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

(3.Animal Husbandry Service Center, Zhoucun District, Zibo City, Shandong Province, Zibo 255300, China)

Abstract: In order to investigate the drug resistance of *E. coli* in the breast milk samples in North China, 240 batches of mastitis milk samples from North China were collected. *E. coli* was isolated and identified by EMB medium and bacterial suspension method. Susceptibility tests were performed on eight commonly used antibiotics. The results showed that 17 strains (7.08%) of *Escherichia coli* were isolated. The results of drug susceptibility tests showed that isolated strains of *E. coli* showed high resistance and multi-drug resistance. The isolated strains were resistant to 4 antibiotics at least, with the most resistant 19 species, and more than 5 resistant strains (58.82%). For single antibiotics, the resistance rate to penicillin, oxacillin, and lincomycin of isolated strains was 100%. For different types of antibiotics, the resistance rates of isolated strains of *E. coli* to β -lactams and lincosamides were 55.15% and 61.76%, respectively. The objective of this work was to find out the drug resistance of *E. coli* in milk samples from mastitis. It was helpful to prevent and control cow mastitis according to the data and reduce the residue of veterinary drugs in milk, which would improve the quality of milk.

Key words: bovine mastitis; *E.coli*; isolation and identification; antibiotics resistance

牛乳富含多种营养成分, 易消化吸收, 已成为人们餐桌上不可缺少的食物^[1]。

收稿日期: 2019-01-09

基金项目: 山东省高等学校科学技术计划项目 (J17KA131); 农业部公益性农业行业科研专项 (201403071-5); 国家奶产品质量安全风险重大专项 (GJFP201800804); 山东省自然科学基金青年基金项目 (2015ZR01095); 山东省重点研发计划项目 (2016GSF120010); 青岛农业大学高层次人才科研基金项目 (6631115043)

作者简介: 石润佳 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 奶产品质量安全

通讯作者: 于忠娜 (1981-), 女, 副教授, 研究方向: 动物性食品安全

近年来, 牧场工作人员不合理的使用抗生素, 导致牛乳中致病菌的耐药情况逐年恶化。奶牛乳房炎的高发病率严重影响了人们对牛乳的质量要求, 其是影响世界奶牛业发展的主要疾病之一, 由世界奶牛协会调查数据统计可知, 全世界约有 1/3 的奶牛患有各种类型乳房炎, 各个国家都不同程度上受到奶牛乳房炎的困扰, 其每年造成经济损失高达 350 亿美元^[2-5]。

据统计, 在印度^[6], 大肠杆菌是引起奶牛乳房炎的第二大常见病原菌, 仅次于金黄色葡萄球菌; 在中国奶牛养殖场, 大肠杆菌也是引起奶牛乳房炎常见的病原菌之一^[7]。

目前国内外治疗奶牛乳房炎的主要方法为抗生素治疗,该方法快速有效,但不合理使用会使致病菌产生耐药性,使治疗效果减弱^[8]。目前关于细菌的耐药机制主要分为遗传学机制和生化机制,其中遗传学机制又分为固有耐药和获得性遗传^[9]。获得性耐药则是在长期使用抗生素后,细菌通过自发突变和水平基因转移获得专门的耐药基因以保证自身生存,从而导致细菌的固有耐药。因此研究乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药情况是十分必要的。王晓^[10]等收集中国北方地区某奶牛场患乳房炎奶样研究分析表明,奶样分离出所得的 28 株大肠杆菌对苯唑西林和万古霉素的耐药率均为 100%,对青霉素和克林霉素的耐药率均为 96.43%,而对大观霉素、庆大霉素、呋喃妥因、头孢西丁、妥布霉素、左氟沙星等抗生素的耐药率均为 0%;许丹丹^[11]等收集新疆石河子地区奶牛场患乳房炎的奶牛牛乳,分离所得 16 株大肠杆菌对头孢唑啉、氧氟沙星、克林霉素的敏感率分别为 100%、87.50%和 75.00%;对庆大霉素、氨苄西林、链霉素的敏感率分别为 68.75%、43.75%和 18.75%;张亚茹^[12]等人通过查阅近 15 年有关资料总结得出,奶牛乳房炎主要致病菌对青霉素类、大环内酯类和四环素类 3 类传统抗生素耐药性升高最明显,磺胺类和氨基糖苷类的耐药性上升较快,头孢菌素类和喹诺酮类等广谱抗生素在 20 年间耐药性报道较少。由此可见,我国患乳房炎奶牛牛乳中大肠杆菌耐药情况并不乐观。

目前来讲,奶牛乳房炎病原菌呈现出高度耐药性和多重耐药性是畜牧业面临的棘手问题^[13],必须引起足够的重视。本文收集华北地区乳房炎奶样,进行耐药性试验,旨在对抗生素的作用机制进行深入研究,指导牛场工作人员科学合理使用抗生素,针对性用药,提高牛乳质量^[14]。

1 材料与方法

1.1 样品来源

本试验样品来源为我国华北地区中小型牧场(奶牛存栏数为 200~500 头):河北省 100 批次,天津市 100 批次,山东省 25 批次,北京市 15 批次,共计 240 批次乳房炎奶样,采样时间范围为 2018 年 3 月~10 月份。

1.2 采样方法

采样时,首先用温水拭净乳房和乳头,后用 75% 的酒精对奶牛的乳房及采样者双手进行消毒,按照国家无菌标准操作流程挤奶,弃前 3 把奶,收集 50 mL 样品于灭菌试管中,及时密封,并标明样品编号,于冰盒内保存,及时送到实验室检验。

1.3 大肠杆菌的分离和纯化培养

将样品充分混匀后,吸取 2 mL 奶样接种至 15 mL 胰蛋白胨蛋白肉汤(TSB)培养基中,37℃恒温培养 24 h,进行增菌,然后将培养好的细菌接种于伊红美蓝(EMB)培养基,37℃恒温倒置培养 24 h。

用接种环挑取上述培养后的 EMB 培养基上出现的紫黑色,对光观察具有金属光泽的单个典型菌落涂片,革兰氏染色,镜检。视野中菌体形态应是两端钝圆、短小的杆状菌。将镜检后的菌体再接种于 TSB 肉汤中。振荡摇匀,37℃培养 18~24 h,并编号,以备生化鉴定^[15],EMB 培养基和 TSB 培养基均购自青岛海博生物技术有限公司。

1.4 大肠杆菌的生化鉴定

表 1 生化鉴定结果比照表

Table 1 Biochemical identification results comparison table

产品名称	结果判定		培养时间/h	阴阳性	备注
	阳性	阴性			
蛋白胨水 (色氨酸肉汤)	红色环	黄色环	24	阴/阳性(+/-)	滴加 Kovacs 靛基质试剂 0.2~0.3 mL
MR	红色	黄色或不变色	96±2	阳性(+)	加 MR 试剂 2~3 滴,混匀观察结果
VP	伊红色	黄色或不变色	48±2	阴性(-)	加 VP 试剂(甲液 6 滴,乙液 2 滴),混匀,静置 2 h 观察结果
西蒙氏枸橼酸盐	蓝色	绿色或不变色	24±2	阴性(-)	

本试验生化鉴定方法采用菌悬液法。取疑似大肠杆菌的菌悬液胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)培养基上进行培养。取装有 2 mL 无菌水的试管,用无菌接种环从上述培养完毕的 TSA 平板上挑取单个菌落试管内,

于试管壁仔细研磨菌落,配制成 0.5 麦氏浊度的菌悬液,将配制好的菌悬液分别接种于西蒙氏枸橼酸盐培养基、蛋白胨水(色氨酸肉汤)和 MR-VP(2 支)微量生化鉴定管中(按照说明书或每根鉴定管滴 2~3 滴),接种

完毕后,用封口膜封口。置于 37 ℃ 的生化培养箱培养。大肠杆菌的生化鉴定判别标准详见表 1,符合蛋白脲(+/-),MR(+),VP(-),西蒙氏枸橼酸盐(-)的菌株

即可确定为大肠杆菌^[16],TSA 培养基和微量生化鉴定管均购自青岛海博生物技术有限公司。

表 2 抗菌药物试纸片

Table 2 Antibacterial drug test piece

药物种类	药物名称	兽用/非兽用	试纸片药物含量/(μg/片)
β-内酰胺类药物	(必)头孢哌酮	非兽用	75
	(青)青霉素 G	兽用	10
	(肱)头孢噻肟	非兽用	30
	(氨)氨苄西林	兽用	10
	(叮)头孢西丁	非兽用	30
	(莫)阿莫西林/羟氨苄青	兽用	10
	(吩)头孢噻吩	兽用	30
	(笨)苯唑西林	兽用	1
	大环内酯类药物	(红)红霉素	兽用
(乙)乙酰螺旋霉素		兽用	30
(阿)阿奇霉素		兽用	15
喹诺酮类药物	(环)环丙沙星	兽用	5
	(恩)恩诺沙星	兽用	5
	(氟)诺氟沙星/氟哌酸	兽用	10
	(嗪)氧氟沙星	非兽用	5
四环素类药物	(强)多西环素/强力霉素	兽用	30
	(四)四环素	兽用	30
磺胺类药物	(TMP)甲氧苄氨嘧啶/甲氧苄啶	非兽用	5
	(ZIS)磺胺异噁唑	兽用	300
氨基糖苷类药物	(庆)庆大霉素	兽用	10
	(链)链霉素	兽用	10
	(壮)大观霉素	兽用	100
	(妥)妥布霉素	非兽用	10
	(新)新霉素	兽用	30
	(卡)卡那霉素	兽用	30
	(丁)阿米卡星/丁胺卡那	兽用	30
	(林)林可霉素/洁霉素	兽用	2
林可酰胺类药物	(克)克林霉素	兽用	2
氯霉素类药物	(氯)氯霉素	兽用	30

1.5 大肠杆菌药敏试验

药敏试验是根据 CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute)标准采用纸片扩散法^[17,18]。先将大肠杆菌纯菌株增菌液稀释至 0.5 麦氏浊度,后用无菌镊子夹取适量无菌棉蘸取稀释液,均匀涂布在 MHA 琼脂培养基上,用无菌镊子取药敏片(本试验共采用八类 29 种抗生素药物,药敏片种类详见表 2)间隔相同距离贴在平板上,呈正三角形,每个平板上贴 3 个不同药敏片,贴好后将培养基放在 37 ℃ 恒温培养箱内,

倒置培养 18~24 h。培养结束后,以游标卡尺测量并记录培养基上各个抑菌圈的直径,按照 CLSI 推荐的《抗微生物药物敏感性试验执行标准》将药敏性结果分为敏感(S)、中介(I)和耐药(R)。

2 结果与分析

2.1 大肠杆菌鉴定结果

经过分离、纯化、生化鉴定后,从华北地区 240 批次样品中共分离 17 株大肠杆菌,其中河北省 5 株,

天津市 4 株, 山东省 5 株, 北京市 3 株。具体分离情况见表 3。

表 3 样品组成和大肠杆菌检出结果统计表

Table 3 Statistical table of sample composition and *E. coli* detection results

采样地区	样品数 / 批次	大肠杆菌分离数 / 株	分离率 / %
河北	100	5	5.00
天津	100	4	4.00
山东	25	5	20.00
北京	15	3	20.00
合计	240	17	7.08

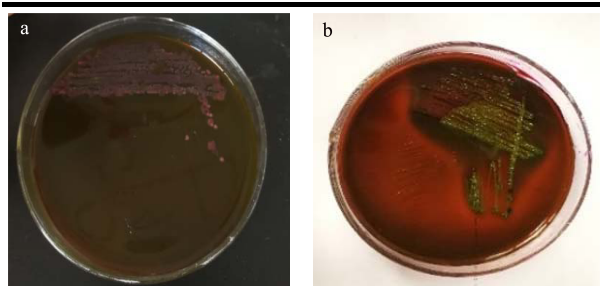


图 1 大肠杆菌生长状况阴阳对照

Fig.1 The positive and negative comparison of the growth of *E. coli*

由表 3 可知, 河北、天津、山东、北京乳房炎奶样中大肠杆菌分离率为分别为 5.00%、4.00%、20.00%、20.00%。河北、天津奶样中大肠杆菌分离率均在 5% 以下, 检出率较低; 山东和北京地区奶样中大肠杆菌检出率较高。图 1 为本试验中大肠杆菌在伊红美蓝 (EMB) 培养基生长菌落形态的阴阳性对照。

2.2 药敏试验结果

通过纸片扩散法对 17 株大肠杆菌分离株进行药敏试验, 药敏试验选用牧场常用的八大类 29 种抗生素。药敏试验中药敏片周围抑菌圈情况见图 2。



图 2 药敏试验现象

Fig.2 Antibiotics susceptibility experiment

表 4 华北地区奶样中大肠杆菌耐药性分析

Table 4 Analysis of Antibiotics Resistance of *E. coli* in milk samples in North China

药物	河北		天津		山东		北京		敏感率/%	耐药率/%
	S	R	S	R	S	R	S	R		
必	5	0	2	2	0	4	3	0	58.82	35.29
青	0	5	0	4	0	5	0	3	0	100.00
肟	4	1	1	3	0	5	3	0	47.06	52.94
氨	3	1	1	3	0	4	3	0	41.18	47.06
叮	5	0	2	2	5	0	3	0	88.24	11.76
莫	3	1	1	2	0	5	3	0	41.18	47.06%
吩	4	0	1	3	0	5	3	0	47.06	47.06
苯	0	5	0	4	0	5	0	3	0	100.00
红	2	2	4	0	4	1	2	0	70.59	17.65
乙	0	5	0	4	0	5	0	3	0	100.00
阿	5	0	4	0	5	0	3	0	100.00	0
环	4	1	3	1	5	0	3	0	88.24	11.76%
恩	4	1	3	1	5	0	3	0	88.24	11.76
氟	4	1	3	1	5	0	3	0	88.24	11.76
嗉	4	1	3	1	5	0	3	0	88.24	11.76
强	4	1	4	0	3	1	2	0	76.47	11.76
四	4	1	4	0	5	0	4	0	94.12	5.88
TMP	4	1	3	1	5	0	3	0	88.24	11.76

转下页

接上页

ZIS	0	2	0	1	0	0	0	2	0	29.41
庆	4	1	4	0	5	0	3	0	94.12	5.88
链	4	1	4	0	5	0	3	0	94.12	5.88
壮	5	0	4	0	5	0	3	0	100.00	0
妥	4	1	4	0	5	0	3	0	94.12	5.88
新	4	1	4	0	5	0	3	0	94.12	5.88
卡	4	1	4	0	3	0	2	0	76.47	5.88
丁	5	0	2	0	5	0	3	0	88.24	0
林	0	5	0	4	0	5	0	3	0	100.00
克	0	1	0	2	0	0	0	0	0	17.65
氟	4	1	2	0	3	2	3	0	70.59	17.65

注: S表示敏感; I表示中度耐药; R表示高度耐药。

表5 华北地区17株大肠杆菌对8类抗生素耐药情况

Table 5 17 strains of *E.coli* in North China resistant to 8 antibiotics

抗生素类型	耐药株数/株	平均耐药率/%
β-内酰胺类	头孢唑酮	6
	青霉素G	17
	头孢噻肟	9
	氨苄西林	8
	头孢西丁	2
	阿莫西林	8
	头孢噻吩	8
	苯唑西林	17
大环内酯类	红霉素	3
	乙酰螺旋霉素	17
	阿奇霉素	0
喹诺酮类	环丙沙星	2
	恩诺沙星	2
	诺氟沙星/氟哌酸	2
	氧氟沙星	2
四环素类	多西环素/强力霉素	2
	四环素	1
磺胺类	甲氧苄氨嘧啶/甲氧苄啶	2
	磺胺异噁唑	5
氨基糖苷类	庆大霉素	1
	链霉素	1
	大观霉素	0
	妥布霉素	1
	新霉素	1
	卡那霉素	2
	阿米卡星	0
林可酰胺类	林可霉素/洁霉素	17
	克林霉素	3
氟喹诺酮类	氟喹诺酮	3

根据 CLSI 标准对华北地区奶样中分离的大肠杆菌的耐药性进行分析, 其分析结果见表 4。

由表 4 可知, 29 种抗菌药物中有 4 种抗菌药物的耐药率超过了 50%, 包括青霉素、头孢噻肟、苯唑西林和林可霉素。其中青霉素、苯唑西林、林可霉素这 3 种抗生素的耐药率均达到 100.00%, 说明河北、天津、山东、北京地区患病牛乳大肠杆菌对这 3 种抗菌药物完全耐药, 治疗奶牛乳房炎完全失去作用, 在临床应用时应避免使用这 3 种药物。值得注意的是, 大肠杆菌分离株对阿奇霉素、大观霉素、阿米卡星的耐药率均是 0%, 该数据可以在治疗该地区奶牛乳房炎时提供依据, 对症下药。为了做进一步耐药性分析, 将 17 株大肠杆菌对 8 类抗生素的耐药情况分别进行统计, 详见表 5。

由表 5 可知, 这 8 类抗菌药物中, 大肠杆菌分离株对 β -内酰胺类药物和林可酰胺类药物的耐药率分别为 55.15%、61.76%, 均超过了 50%, 耐药率偏高。大肠杆菌分离株对其他 6 类抗菌药物的耐药率均在 20% 以下, 但对 β -内酰胺类药物和林可酰胺类药物的耐药率值得引起关注, 防止治疗乳房炎时药物的滥用及耐药性菌株的泛滥情况的发生。

综合表 4 及表 5 可知, 不同菌株对不同种、不同类的抗菌药物具有不同的耐药性, 此外, 该试验中的大肠杆菌分离株存在较为严重的多重耐药情况, 详见图 3。17 株大肠杆菌中, 无一株菌对 29 种药物均有耐药性或仅对一种药物有耐药性, 最多耐药 19 种, 最少耐药 4 种, 耐药 5 种以上的菌株所占比例为 58.82%。大肠杆菌分离株对多种抗菌药物高度耐药性以及如此之高的多重耐药率应引起兽医工作者的高度重视。

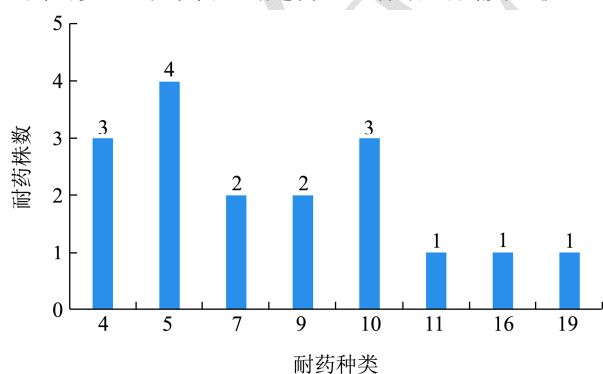


图 3 大肠杆菌分离株多重耐药情况

Fig.3 Multidrug resistance of *E. coli* isolates

3 结论

3.1 随着我国经济实力不断的提高, 奶牛产业也在不断的进步, 奶牛业及其乳制品行业的不断发展和人类对公共卫生安全的重视, 乳源性致病菌的危害已经引

起了相关学者和兽医工作者的极大重视^[19,20]。

3.2 本试验从中国华北地区收集的共 240 批次乳房炎样品中共分离出 17 株大肠杆菌, 并对其进行了 29 种抗菌药物的药敏试验, 较为系统的调查了该地区奶牛场奶样中大肠杆菌的耐药情况, 在一定程度上可以为该地区奶牛场治疗奶牛乳房炎提供数据支持, 根据药敏试验结果用药, 减少抗菌药物的滥用, 防止超级细菌的出现及传播。

3.3 研究表明河北、天津、山东、北京乳房炎奶样中大肠杆菌分离率为分别为 5.00%、4.00%、20.00%、20.00%, 天津地区奶样中大肠杆菌的检出率最低, 山东和北京奶样中大肠杆菌分离率较高, 说明这两个省份奶场在牛奶的生产及运输的过程中存在污染的问题。本试验中大肠总分离率为 7.08%, 药敏试验中 29 种抗菌药物中有 4 种抗菌药物的耐药率超过了 50%, 包括青霉素(100.00%)、头孢噻肟(52.94%)、苯唑西林(100.00%)、林可霉素(100.00%), 说明华北地区治疗乳房炎用药情况不容乐观, 值得注意的是, 其中四个省份奶样中大肠杆菌分离株对青霉素、苯唑西林、林可霉素这 3 类抗生素的耐药率更是达到了 100.00%, 四个省份的兽医工作者在治疗奶牛乳房炎时应避免使用这 3 类抗生素。然而大肠杆菌分离株对阿奇霉素、大观霉素、阿米卡星的耐药率均是 0%, 所以兽医工作者在治疗奶牛乳房炎时, 可以使用其它种类的抗生素搭配上述 3 类抗生素药物, 提高疗效。

3.4 本研究所使用的 8 类抗菌药物, 大肠杆菌分离株对 β -内酰胺类药物和林可酰胺类药物的耐药率分别为 55.15%、61.76%, 均超过了半数。在临床治疗时, 应尽量避免使用这两种药物。大肠杆菌分离株表现出的多重耐药性, 可能与大肠杆菌产生耐药性的特点与奶牛场治疗奶牛乳房炎时抗生素的使用习惯和频率相关, 这与徐继英^[21]报道的结果相符。

3.5 通过以上研究, 希望可以引起华北地区奶场工作人员的重视, 在治疗奶牛乳房炎时可以先进行大肠杆菌药敏性试验^[22], 根据试验结果, 对症下药, 避免抗生素的滥用, 使细菌耐药性增强, 同时减少牛乳中药物残留, 防止对消费者造成损害。

3.6 随着近年来国内的规模化、集中化奶牛养殖愈来愈多, 乳源致病菌的耐药性问题日益显著, 亟待相关学者解决。因此, 对国内各地区奶牛养殖场进行致病菌耐药性的流行病学调查及监控就显得极为必要^[23], 本研究对华北地区奶样中大肠杆菌的耐药性分析, 可以为大肠杆菌的耐药性控制及奶牛乳房炎的临床治疗用药提供一定的科学依据。

参考文献

- [1] Yanliang B, Jing W Y, Yun Q, et al. Prevalence of bovine mastitis pathogens in bulk tank milk in China [J]. Plos One, 2016, 11(5): e0155621
- [2] Kempf F, Slugocki C, Blum S E, et al. Genomic comparative study of bovine mastitis *Escherichia coli* [J]. Plos One, 2016, 11(1): e0147954
- [3] 曹志,何生虎.奶牛乳房炎防治技术研究进展[J].农业科学研究,2011,32(1):76-82
CAO Zhi, HE Sheng-hu. Research progress in prevention and treatment technology of dairy cow mastitis [J]. Agricultural Science Research, 2011, 32(1): 76-82
- [4] 宋亚攀,杨利国.中国奶牛乳房炎防治研究进展[J].中国奶牛,2010,12:48-54
SONG Ya-pan, YANG Li-guo. Research progress in prevention and treatment of Chinese dairy cow mastitis [J]. Chinese Dairy Cattle, 2010, 12: 48-54
- [5] 储明星,石万海,邝霞,等.奶牛乳房炎与经济性状之间关系的研究进展[J].中国畜牧杂志,2002,38(5):44-46
CHU Ming-xing, SHI Wan-hai, KUANG Xia, et al. Research progress on the relationship between dairy cow mastitis and economic traits [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2002, 38(5): 44-46
- [6] Kr Mker V, Leimbach S. Mastitis treatment-reduction in antibiotic usage in dairy cows [J]. Reproduction in Domestic Animals, 2017, 52(1): 21-29
- [7] 郝景锋,姜秋杰,李静姬,等.奶牛乳房炎防治研究新进展[J].江苏农业科学,2017,21:24-26
HAO Jing-feng, JIANG Qiu-jie, LI Jing-ji, et al. New progress in prevention and treatment of dairy cow mastitis [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 21: 24-26
- [8] 刘耀川,张泽辉,王庄,等.辽宁阜新地区奶牛隐性乳房炎调查及大肠埃希菌药敏试验[J].动物医学进展,2015,36(11):133-136
LIU Yao-chuan, ZHANG Ze-hui, WANG Zhuang, et al. Investigation of recessive mastitis in dairy cows in Liaoning Fuxin area and drug sensitivity test of *Escherichia coli* [J]. Progress in Animal Medicine, 2015, 36(11): 133-136
- [9] Kot B, Szweda P, Frankowska maciejewska A, et al. Virulence gene profiles in *Staphylococcus aureus* isolated from cows with subclinical mastitis in eastern Poland [J]. Journal of Dairy Research, 2016, 1(2): 1-8
- [10] 王晓,王新,郝丹,等.奶牛乳源大肠杆菌耐药性、毒素基因鉴定及 PFGE 分型研究[J].畜牧兽医学报,2014,45(3):463-470
WANG Xiao, WANG Xin, HAO Dan, et al. Study on drug resistance, toxin gene identification and PFGE typing of milk cows in dairy cows [J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2014, 45(3): 463-470
- [11] 许丹丹,许追,齐向涛,等.石河子地区隐性乳房炎奶牛源大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J].中国畜牧兽医,2015,42(3):701-707
XU Dan-dan, XU Zhui, QI Xiang-tao, et al. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Escherichia coli* from cows with recessive mastitis in Shihezi area [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2015, 42(3): 701-707
- [12] 张亚茹,李新圃,杨峰,等.奶牛乳房炎病原菌抗生素耐药性研究进展[J].中国草食动物科学,2016,36(6):40-44
ZHANG Ya-ru, LI Xin-pu, YANG Feng, et al. Advances in antibiotic resistance of cow mastitis pathogens [J]. Chinese Journal of Herbivore, 2016, 36(6): 40-44
- [13] Abebe R, Hatiya H, Abera M, et al. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia [J]. BMC Veterinary Research, 2016, 12(1): 270
- [14] Bolton D J, Monaghan A, Byrne B, et al. Incidence and survival of non-O157 verocytotoxigenic *Escherichia coli* in soil [J]. Journal of Applied Microbiology, 2011, 111(2): 484-490
- [15] 许有盼.奶牛乳房炎源大肠杆菌的分离鉴定[J].中兽医学杂志,2017,6:45-45
XU You-pan. Isolation and identification of *Escherichia Coli* from dairy cow mastitis [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2017, 6: 45-45
- [16] GB 4789.3-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数[S]
- [17] Duncan S E, Hackney C R. Relevance of *Escherichia coli* O157: H7 to the dairy industry [J]. Dairy Food & Environmental Sanitation A Publication of the International Association of Milk Food & Environmental Sanitarians, 1994
- [18] Fothergill A W. Antifungal susceptibility testing: Clinical laboratory and standards institute (CLSI) methods [M]// Interactions of Yeasts, Moulds, and Antifungal Agents. 2012
- [19] Król J, Wanecka A, Twardoń J, et al. Isolation of *Staphylococcus microti* from milk of dairy cows with mastitis [J]. Veterinary Microbiology, 2016, 182: 163-169

(下转第 213 页)