doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.2.02

我国部分地区乳房炎奶样中大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析

于 雷[1],邹本革[1],韩荣伟[2],石润佳[2],张文青[2],解书斌[2],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)

[收稿日期] 2020-06-23　[文献标识码]A　[文章编号]1002-1280(2021)02-0006-07　[中图分类号]S852.61

[摘　要]　为了解我国部分地区奶牛乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药情况,以指导牛场合理使用抗生素,提高治疗效果和畜产品质量,从全国六个省市自治区采取 158 例奶牛乳房炎的奶样,对奶样中的大肠杆菌进行分离纯化与鉴定,并进行药敏试验。结果显示,158 份奶样中,共分离出 38 株大肠杆菌,其中黑龙江 18 株(分离率为 36.0%)、上海 3 株(分离率 6.0%)、北京 3 株(分离率27.2%)、新疆 10 株(分离率 33.3%)、山东 4 株(分离率 26.7%)、陕西 0 株(分离率 0)。药敏试验显示,磺胺异噁唑耐药率最高,为 73.7%;环丙沙星、诺氟沙星、四环素、链霉素药物的敏感率最高,为 100%。分离菌株最多耐 13 种药物,最少耐 4 种药物,呈现多重耐药性。不同种类的抗生素中,上海和山东对 β-内酰胺类药物和氯霉素类药物以及黑龙江、上海和新疆对磺胺类药物的耐药情况比较严重,耐药率高达 50% 以上。结果表明,各地区分离株对多种抗菌药物产生了不同程度耐药性和多重耐药,临床兽医在治疗时应注意合理用药,提高疗效和畜产品质量,减少耐药性的产生。

[关键词]　奶牛乳房炎;大肠杆菌;药敏试验;耐药性

Isolation, Identification and Drug Resistance Analysis of *Escherichia coli* in Mastitis Milk Samples from Some Regions in China

YU Lei[1], ZOU Ben-ge[1], HAN Rong-wei[2], SHI Run-jia[2], ZHANG Wen-qing[2], XIE Shu-bin[2], YU Zhong-na[1*]

(1. *Haidu College. Qingdao Agricultural University, Laiyang, Shandong* 265200, *China*; 2. *College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong* 266109, *China*)

Corresponding author: YU Zhong-na, E-mail: ahnuo123@163.com

Abstract: The article is aimed to understand the drug resistance of *Escherichia coli* in the dairy milk samples in

基金项目:山东省重点研发计划(公益类科技攻关)(2019GNC106024);国家农产品质量安全风险评估重大专项(14205065);山东省自然基金(ZR2020MC209);青岛农业大学高层次人才专项(663/1120080)

作者简介:于 雷,讲师,从事动物生长调控研究。

通讯作者:于忠娜。E-mail:ahnuo123@163.com

part of China, guide the farm to use antibiotics reasonably and improve the therapeutic effect and the quality of animal products. 158 mastitis milk samples were taken from six provinces. The *Escherichia coli* in milk was purified and identified by the drug sensitivity test. The results showed that 38 strains of *Escherichia coli* were isolated from 158 milk samples, including 18 strains in Heilongjiang (36.0%), 3 strains in Shanghai (6.0%), 3 strains in Beijing (27.2%), 10 strains in Xinjiang (33.3%), 4 strains in Shandong (26.7%), none in Shanxi (0). The drug sensitivity test showed that the resistance rate of sulfisoxazole was the highest at 73.7%, Ciprofloxacin, norfloxacin, tetracycline and streptomycin drugs had the highest sensitivity rate at 100%. The isolated strains were resistant to a maximun of 13 drugs and a minimun of 4 drugs, which showed multiple drug resistance. For different types of antibiotics, the resistance of β－lactams and chloramphenicols drugs in Shanghai and Shandong province was serious, and sulfonamides in Heilongjiang, Shanghai and Xinjiang were more serious, with a drug resistance rate of more than 50%, the results showed that isolates in various regions have different degrees of resistance and multiple drug resistance. Clinical veterinarians should pay attention to the rational use of drugs during treatment to improve the efficacy and quality of animal products and reduce the emergence of drug resistance.

Key words: dairy cow mastitis; *Escherichia coli*; drug sensitive test; drug resistance

乳房炎是危害全世界奶牛的主要疾病之一。乳房炎不仅会对奶牛的健康造成极大的危害,也是养殖场经济损失的主要来源。此外,乳制品中细菌及毒素的脱落也使得乳腺炎具有严重的人畜共患病风险[1]。引起牛乳房炎感染的病原体可分为传染性和环境性病原体[2]。其中,大肠杆菌是引起奶牛乳房炎的主要环境性病原体之一[3],也是引起毒性和致命性乳腺炎的最常见原因[4]。研究表明,大肠杆菌乳腺炎的严重性主要受患病奶牛的健康状况、泌乳阶段、胎次和遗传背景等影响[5]。由大肠杆菌引起的乳腺炎往往是急性发作,即使患病奶牛的临床症状和病菌消失,腺体在长时间内仍会受到影响,在此期间,乳品成分也会持续受到影响,从而对乳制品生产造成经济影响[6]。研究显示,奶牛乳房炎是牛场抗菌药物使用的主要原因[7]。但大部分养殖户对奶牛乳房炎病情和抗菌药物的用量不能很好掌握,奶牛场中未经控制的使用抗菌药物会增加细菌的耐药性,从而导致治疗的失败。吴利军等[8]的研究发现湖北一牛场奶牛乳房炎乳样大肠杆菌对林可霉素、青霉素、四环素和复方新诺明存在耐药性;尤从彪等[9]的研究发现甘肃省武威市凉州区乳房炎奶样中大肠埃希氏菌对氨苄西林、链霉素、四环素等的耐药性较强,对庆大霉素、诺氟沙星、氧氟沙星、氯霉素、卡那霉素敏感;廖智慧等[10]的研究发现河北衡水地区奶牛乳房炎大肠杆菌对头孢克肟、恩诺沙星、丁胺卡那、强力霉素 4 种药物敏感,对磺胺异噁唑、链霉素、阿莫西林耐药率在 80% ~ 100% 之间。可见,不同地区奶牛乳房炎大肠杆菌分离株对常用抗菌药物的抗药性明显不同。因此,定期对主要病原菌进行相应药物的敏感性试验,针对不同地区不同农场选择性地使用药物,可以有效提高药物的治疗效果,从而减少牛乳中抗菌药物的残留。鉴于此,本试验无菌采集 2019 年 7 ~ 8 月份陕西、山东、新疆、北京、上海、黑龙江等六个省、市、自治区患有乳房炎的 158 例奶牛的奶样,对其进行大肠杆菌的分离鉴定和药敏性试验,从而指导牛场合理使用抗菌药物,提高治疗效果和畜产品质量。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　*奶样来源*　陕西、上海、山东、新疆、北京、黑龙江等六个省、市、自治区的患有乳房炎的奶牛

的奶样,共计 158 份。

1.1.2　主要培养基与试剂　胰蛋白胨大豆肉汤(TSB),Mueller – Hintonq 琼脂(MHA),伊红美蓝琼脂(EMB),大肠杆菌生化鉴定管(DCSN),Kovacs 氏靛基质,甲基红指示剂,V – P 试剂,购自青岛高科园海博生物技术有限公司;抗生素试纸片购自杭州滨河微生物试剂有限公司。

1.1.3　主要仪器与设备　单人双面垂直净化工作台,SW – CJ – 1F,苏州智净净化设备有限公司;立式压力蒸汽灭菌锅,LS – 30,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;生化培养箱,SPX 型,宁波东南仪器有限公司;旋涡混合器,QL – 866,海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

1.2　方法

1.2.1　奶样来源　对患乳房炎的奶牛乳房,按常规方法消毒后收集奶样。去掉乳房出奶的前三把,无菌条件下采集 15 mL,贴好标签,4 ℃保存,24 h 内检测[11]。

1.2.2　大肠杆菌的分离纯化　参照文献[12]的方法进行。在超净工作台上将采集的 158 例奶样,取 2 mL于 20 mL TSB 培养基,充分混匀后 37 ℃恒温培养 24 h,待用。用无菌接种环蘸取增菌液,在 EMB 培养基中四区划线后 37 ℃恒温培养 24 h。之后挑出在 EMB 培养基中呈现紫黑色或者纯紫色,并且对光观察有金属光泽的菌落,无菌挑入准备好的 TSB 肉汤中,放入 37 ℃恒温箱培养 24 h 备用。

1.2.3　乳房炎奶样大肠杆菌的鉴定　无菌挑取上述菌落分别接种于蛋白胨水(色氨酸肉汤),MR – VP(2 支)和西蒙氏柠檬酸盐生化反应管。结果参照 GB/T4789. 38 – 2012 标准判定,生化鉴定结果比照表见表 1。

表 1　生化鉴定结果比照表

Tab 1　The table of Biochemical identification comparison

产品名称	结果判断		培养时间/h	备注
	阳性	阴性		
蛋白胨水(色氨酸肉汤)	红色环	黄色环	24	滴加 Kovacs 靛基质试剂 0.2 ~ 0.3 mL
MR	红色	黄色或不变色	96 ± 2	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	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	

1.2.4　药敏试验　大肠杆菌的药敏试验采用纸片扩散法检测常用六类 19 种抗菌药物的耐药率,具体步骤参照文献[12]。用移液枪移取 1.6 mL 大肠杆菌菌种于 20 mL 无菌水的试管中,用无菌面蘸取无菌水中菌液,均匀的涂抹在 MHA 培养基上,再用镊子夹取药敏片呈三角状均匀的放置在 MHA 培养基上,每个培养基上放 4 个药敏片。将放好药敏片的培养基做好标记,然后在 37 ℃恒温箱培养 24 h,测量药敏片周围透明光环的直径并进行记录。

2　结果与分析

2.1　大肠杆菌鉴定结果　经分离纯化,从 158 例奶样中鉴定出疑似大肠杆菌 57 例,经生化鉴定确认大肠杆菌株 38 例,检出率为 24.1%,具体结果见表 2。

表 2　大肠杆菌鉴定结果表

Tab 2　The results of *E. coli* identification

地区	采奶样(份)	疑似大肠杆菌奶样(份)	含有大肠杆菌奶样(份)	检出率/%
陕西	2	0	0	0.0
山东	15	7	4	26.7
新疆	30	14	10	33.3
北京	11	5	3	27.3
上海	50	7	3	6.0
黑龙江	50	24	18	36.0
共计	158	57	38	24.1

2.2　药敏试验

2.2.1　大肠杆菌分离菌株药敏试验　38 株大肠杆菌分离株对 19 种药物的药敏试验见表 3。同一株大肠杆菌在不同的药物作用下所表现的耐药性差异很大,从 0 到 73.7%,其中磺胺异噁唑耐药率最高,为 73.7%。大肠杆菌分离株对环丙沙星、诺氟沙星、四环素、链霉素药物的敏感率达到 100%。

表 3　大肠杆菌分离株药敏试验结果

Tab 3　The results of susceptibility test of *E. coli*

药物名称	菌株数(株)			敏感率/%	耐药率/%
	敏感(S)	中介(I)	耐药(R)		
头孢哌酮	30	2	6	78.9	15.8
头孢噻肟	25	6	7	65.8	18.4
阿莫西林	31	1	6	81.6	15.8
氨苄西林	19	11	8	50.0	21.1
头孢西丁	35	0	3	92.1	7.9
头孢噻吩	10	15	13	26.3	34.2
环丙沙星	38	0	0	100.0	0.0
诺氟沙星	38	0	0	100.0	0.0
左氧氟沙星	34	3	1	89.5	2.6
四环素	38	0	0	100.0	0.0
多西环素	31	5	2	81.6	5.3
甲氧嘧啶	32	0	6	84.2	15.8
磺胺异噁唑	0	10	28	0.0	73.7
链霉素	38	0	0	100.0	0.0
庆大霉素	35	0	3	92.1	7.9
妥布霉素	36	0	2	94.7	5.3
阿米卡星	36	1	1	94.7	2.6
卡那霉素	32	5	1	84.2	2.6
氯霉素	33	1	4	86.8	10.5

2.2.2　单菌株多重耐药性分析　对 38 株大肠杆菌的单株耐药性分析见图 1。试验结果表明,大肠杆菌分离菌株最多耐 13 种药物,最少耐 4 种药物。其中 12 株耐 5 种药物、10 株耐 6 种药物,这些菌株均对磺胺异噁唑、头孢噻吩两种药物具有耐药性;7 株耐 7 种药物,这些菌株均对头孢噻肟、氨苄西林、头孢噻吩和磺胺异噁唑四种药物具有耐药性。

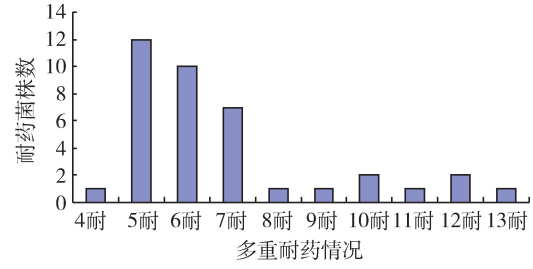

图 1　大肠杆菌分离株多重耐药情况

Fig 1　Multiple resistance of *Escherichia coli* isolates

2.3　不同地区大肠杆菌分离株药敏试验结果　对上海、山东、北京、新疆、黑龙江五地患病奶牛奶样中大肠杆菌分离株药敏试验结果见表 4。从表 4 可见,不同地区分离的大肠杆菌对同一种抗菌药物耐药性差异很大,头孢哌酮在上海地区耐药率为 100%,在山东地区耐药率为 75%,而在北京地区的敏感率为 100%;头孢西丁和庆大霉素在上海地区耐药率为 100%,而在其他四个地区的敏感率均为 100%。

2.4　不同地区大肠杆菌分离株对六类抗生素耐药情况　上海、山东、北京、新疆、黑龙江五地患病奶牛奶样中大肠杆菌分离株对六类抗生素耐药情况见表 5。从表 5 可见,上海和山东地区对 β-内酰胺类药物的耐药情况很严重,耐药率高达 75% 以上;黑龙江和新疆地区对此类药物的耐药率分别为 44.4% 和 4.0%。对于喹诺酮类药物,只有黑龙江地区对此类药物出现耐药,耐药率为 1.9%,其他地区都为 0。山东和黑龙江地区对四环素类药物耐药率分别为 12.5% 和 2.8%,其他地区耐药率均为 0。黑龙江地区对于磺胺类药物耐药率为 52.5%,上海和新疆地区对磺胺类药物的耐药效果相同,均为 50%,北京地区耐药率为 33.3%。氨基糖苷类药物在上海和黑龙江耐药率分别为 20.0% 和 1.1%,其他地区均为 0。氯霉素类药物在上海和山东的耐药率为 66.7% 和 50%,其他三省的耐药率均为 0。

表 4　不同地区大肠杆菌分离株药敏试验结果(%)

Tab 4　The susceptibility test results of *E. coli* isolates in different regions(%)

药物名称	上海		山东		新疆		北京		黑龙江	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
头孢哌酮	100	0	75	0	0	90	0	100	0	94.4
头孢噻肟	66.7	0	100	0	10	70	0	100	0	83.3
氨苄西林	66.7	0	75	0	10	50	0	100	11.1	55.6
头孢西丁	100	0	0	100	0	100	0	100	0	100
阿莫西林	55.7	33.3	100	0	0	100	0	100	0	88.9
头孢噻吩	100	0	100	0	0	0	0	100	33.3	33.3
环丙沙星	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
诺氟沙星	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
左氧氟沙星	0	100	0	100	0	100	0	100	5.6	72.2
多西环素	0	100	25	50	0	90	0	66.7	5.6	77.8
四环素	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
甲氧嘧啶	100	0	0	100	0	100	0	100	16.7	77.8
磺胺异噁唑	0	0	0	0	100	0	66.7	0	88.3	0
庆大霉素	100	0	0	100	0	100	0	100	0	100
链霉素	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
妥布霉素	0	33.3	0	100	0	100	0	100	0	100
卡那霉素	0	33.3	0	50	0	90	0	66.7	0	100
阿米卡星	0	100	0	100	0	100	0	100	5.6	94.4
氯霉素	66.7	33.3	50	50	0	100	0	100	0	88.9

R 表示高度耐药;I 表示中度耐药;S 表示敏感。

R indicates high resistance;I indicates moderate resistance;S indicates sensitive.

表 5　不同地区大肠杆菌分离株对六类抗生素耐药情况(%)

Tab 5　Resistance of *E. coli* isolates to six antibiotics in different regions(%)

	上海	山东	新疆	北京	黑龙江
β-内酰胺类药物	77.8	75.0	4.0	0.0	44.4
喹诺酮类药物	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9
四环素类药物	0.0	12.5	0.0	0.0	2.8
磺胺类药物	50.0	0.0	50.0	33.4	52.5
氨基糖苷类药物	20.0	0.0	0.0	0.0	1.1
氯霉素类药物	66.7	50.0	0.0	0.0	0.0

3　讨　论

目前,国内外对乳房炎治疗的药物以抗菌药物为主,再加上很多农场对抗生素不科学的使用,导致大肠杆菌耐药菌株不断增多[13],大肠杆菌的耐药性也越来越强。本试验对 38 株临床分离的奶牛乳房炎大肠杆菌进行了药敏试验,结果发现,分离株对 19 种抗菌药物产生了不同程度耐药性,不同地区分离的大肠杆菌对同一种抗菌药物敏感性差异很大。其中上海和山东地区对 β-内酰胺类药物和氯霉素类药物的耐药情况比较严重,耐药率高达 50%以上,因此,上海和山东地区在治疗患乳房炎奶牛应尽量避免使用 β-内酰胺类药物和氯霉素类药物。黑龙江、上海和新疆地区对磺胺类药物的耐药效果均超过 50%,因此,这些地区在治疗患乳房炎奶牛时不建议使用磺胺类药物,若需要使用此类药物,必须注意药物的使用剂量和要求,防止耐药率的进一步提高。本研究发现各地区大肠杆菌分离株对喹诺酮类药物、四环素类药物和氨基糖

苷类药物耐药率极低,因此,在治疗奶牛大肠杆菌源乳房炎时可搭配此类药物提高疗效。大肠杆菌分离菌株最多耐 13 种药物,最少耐 4 种药物,菌株数最多的是耐 5 种药物。这种多重耐药性的出现可能跟不科学使用抗菌药物有关。石润佳等[11]的研究发现华北地区乳房炎奶样中大肠杆菌分离株对至少 4 种抗菌药物产生耐药性,最多耐药 19 种,耐药 5 种的菌株较多(58.82%)。

据研究报道,许多编码抗菌药物耐药性的基因位于细菌质粒上,而细菌耐药性可以通过质粒水平传播到另一株细菌,使得有些耐药菌株有可能在动物和人体内相互传播,引起危险的人类疾病,对人体的健康安全产生极大的影响,因此,也可以通过研究细菌基因内所携带的耐药基因来分析细菌的耐药性,具体可通过脉冲场凝胶电泳(PFGE)、PCR、MLST 等方法来实现[14]。

畜牧养殖过程中频繁使用抗菌药物会造成耐药性增强、环境污染以及畜产品中的药物残留,最终也会对人类的健康产生极大的危害[15-17]。中草药因其无抗药性、无污染、无残留等优点,可成为抗菌药物的理想替代品,在奶牛乳房炎的防治中具有广阔的发展前景,应成为未来研究的重点。开发中草药防治奶牛乳房炎,减少耐药性、药物残留等一系列问题对实现绿色健康养殖及达到国家“十二五”规划对乳品行业的要求也具有重要意义[18]。

参考文献:

[1] Rubén N González, David J Wilson. Mycoplasmal mastitis in dairy herds[J]. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 2003, 19(1): 199 - 221.

[2] Bradley A J, Green M J. Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2001, 39(5): 1845 - 1849.

[3] Blum S E, Leitner G. Genotyping and virulence factors assessment of bovine mastitis Escherichia coli[J]. Veterinary Microbiology, 2013, 163(3/4): 305 - 312.

[4] Hagiwara S, Mori K, Okada H, *et al*. Acute *Escherichia coli* Mastitis in Dairy Cattle: Diagnostic Parameters Associated with Poor Prognosis[J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2014, 76(11): 1431 - 1436.

[5] Burvenich C, Valérie Van Merris, Mehrzad J, *et al*. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors[J]. Veterinary Research, 2003, 34(5): 521 - 564.

[6] Blum S E, Heller E D, Leitner G. Long term effects of *Escherichia coli* mastitis[J]. The Veterinary Journal, 2014, 201(1): 72 - 77.

[7] Saini V, Mcclure J T, D. Léger, *et al*. Antimicrobial use on Canadian dairy farms[J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(3): 0 - 1221.

[8] 吴利军,李佳琳,陈夏冰,等. 奶牛乳房炎主要病原菌的分离鉴定及耐药性研究[J]. 湖北农业科学,2019,58(21):145 - 149.
Wu L J, Li J L, Chen X B, *et al*. Study on the isolation, identification and drug resistance of main pathogenic bacteria in dairy cow mastitis[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(21): 145 - 149.

[9] 尤从彪,刘添泰,王 斐. 凉州区奶牛乳房炎主要病原分离鉴定及药敏试验[J]. 中国草食动物科学,2019,39(3):40 - 44.
You C B, Liu T T, Wang F. Identification and Antibiotic Resistance of Pathogens Isolated from Mastitis Cases in Dairy Cow in Liangzhou District[J]. China Herbivore Science, 2019, 39(3): 40 - 44.

[10] 廖智慧,陈志军,李 晓,等. 衡水地区奶牛乳房炎源大肠杆菌分离鉴定、血清型及耐药性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2018,(2):107 - 108.
Liao Zh H, Chen Zh J, Li X, *et al*. Isolation and identification, serotype and drug resistance analysis of *Escherichia coli* from cow mastitis in Hengshui area[J]. Heilongjiang Annimal Science and Veterinary Medicine, 2018, (2): 107 - 108.

[11] 王桂琴. 奶牛乳房炎大肠杆菌耐药性分子流行病学研究[D]. 中国农业大学, 2007.
Wang G Q. Molecular epidemiology of antibiotic resistance in *E. coli* of cow mastitis[D]. Beijing: China Agricultural University, 2007.

[12] 石润佳,韩荣伟,王 军,等. 华北地区乳房炎奶样中大肠杆菌的耐药性研究[J]. 现代食品科技,2019,35(5):274 - 213.
Shi R J, Han R W, Wang J, *et al*. Study on Antibiotics Resistance of *Escherichia coli* in Milk Samples from Cows with Mastitis in North China[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(5): 274 - 213.

(下转 12 页)

doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2021.2.03

土壤中头孢噻呋的高效液相色谱检测方法的建立

安博宇[1],徐向月[2],霍美霞[2],马文瑾[2],王涵宇[2],刘振利[2],程古月[1,*],黄玲利[2,*]

(1.华中农业大学农业部畜禽产品质量安全风险评估实验室,武汉 430070;

2.华中农业大学国家兽药残留基准实验室(HZAU),农业部食品兽药残留检测重点实验室,华中农业大学动物医学院,武汉 430070)

[收稿日期] 2020 - 06 - 23 [文献标识码]A [文章编号]1002 - 1280 (2021) 02 - 0012 - 07 [中图分类号]S859.3

[摘 要] 兽用抗菌药物的大量使用后进入环境后的行为、对环境的污染以及环境耐药基因的诱导现象逐渐受到人们的重视。建立了一种以高效液相色谱(HPLC)检测四种不同类型土壤中兽用抗生素头孢噻呋的方法,为今后此类药物环境行为研究提供方法学借鉴。使用硼酸缓冲液(pH = 9)简单提取两次,Waters Oasis HLB 固相萃取小柱富集浓缩药物之后,氮吹干,初始流动相复溶,HPLC 检测。流动相为 0.1% 三氟乙酸和乙腈,梯度洗脱之后经过 Waters 2998 二极管阵列检测器(PDA)进行定量分析。该方法在四种土壤中的加标回收率为 70.8% ~85.6%,检测限为 30 μg/kg,定量限为 50 μg/kg,日内变异系数范围为 3.8% ~9.8%,日间变异系数范围为 4.1% ~10.6%。结果表明,本方法高效、稳定、特异性好,可以用于不同类型土壤中头孢噻呋的检测。

[关键词] 头孢噻呋;环境;高效液相色谱;土壤

基金项目:国家重点研发计划课题“抗菌药物代谢转归及环境微生态风险评估”(2018YFD0500301)

作者简介:安博宇,硕士,从事兽医药理学与毒理学研究。

通讯作者:程古月,E - mail:chengguyue@ mail. hzau. edu. cn;黄玲利,E - mail:huanglingli@ mail. hzau. edu. cn

(上接 11 页)

[13] 王建华,兽医内科学[M]. 第 4 版,北京:中国农业大学出版社,2010:226 - 229.
Wang J H. Veterinary internal medicine[J]. Version 4. Beijing: China Agricultural University Press,2010:226 - 229.

[14] 李建平. 奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌脉冲凝胶电泳分型及其主要毒力因子和耐药性的研究[D]. 杭州: 浙江大学,2009.
Li J P. Pulsed Field Gel Electrophoresis Typing of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis, and the Main Virulence Factors and Antibiotic Resistance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.

[15] Z. N. Yu, J. Wang, H. Ho, *et al*. Prevalence, Antimicrobial - Resistance Phenotypes and Genotypes of *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk Samples from Mastitis Cases in Four Regions of China[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2020, 9 (22): 94 - 101.

[16] M. Stevens, S. Piepers, S. De. Vliegher The effect of mastitis management input and implementation of mastitis management on udder health, milk quality, and antimicrobial consumption in dairy herds[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102 (3): 2401 - 2415.

[17] 何利强. 浅谈畜牧业中抗生素的危害与控制[J]. 中国动物检疫, 2010, 27 (4):11 - 12.
He L Q. Discussion on the harm and control of antibiotics in animal husbandry[J]. China Animal Health Inspection, 2010, 27 (4) :11 - 12.

[18] 徐继英,刘俊林,李先波,等. 我国部分地区奶牛乳房炎源大肠杆菌生物学特性及耐药性分析[J]. 农业生物技术学报,2012, 20(9):1035 - 1041.
Xu J Y, Liu J L, Li X B, *et al*. Characterization and Antibiotic Resistance of Ninety - five Strains of *Escherichia coli* Isolated from Bovine with Mastitis in Some Regions of China[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2012, 20(9): 1035 - 1041.

(编 辑:侯向辉)