

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.04.12

蒲公英提取物联合多种抗生素对奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌的体外协同抑菌实验

魏秀丽¹, 李 晴², 徐恩民¹, 张秀英³, 杨志昆¹, 张志宾⁴, 李有志^{1*}

(1. 山东省兽药质量检验所, 山东省畜产品质量安全监测与风险评估重点实验室,

动物源细菌耐药性监测与精准化用药山东省工程实验室, 山东省动物用中药制剂工程实验室, 济南 250022;

2. 日照市莒县畜牧兽医局, 莒县 276500; 3. 中国兽医药品监察所, 北京 100081; 4. 河北冀中药业有限公司, 石家庄 071500)

[收稿日期] 2019-11-24 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 04-0070-07 [中图分类号] S853.74

[摘 要] 为研究蒲公英提取物联合多种药物对奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌的体外协同抑菌效果,以期应用于临床,减少抗菌药的使用量,降低细菌耐药性和兽药残留。试验选取 3 种来源(河北,东北,北京)的蒲公英提取物,通过高效液相色谱仪对 3 种不同来源的蒲公英提取物的主成分及含量进行测定并分析,选取后期试验所需的蒲公英提取物来源。并应用微量肉汤稀释法测定多种抗生素对金黄色葡萄球菌的 MIC 值(最小抑菌浓度),随后测试蒲公英提取物与抗菌药物联合用药,是否对金黄色葡萄球菌具有协同效果。试验结果表明,不同来源的蒲公英提取物主成分含量差异较大,含有单咖啡酰酒石酸、咖啡酸、菊苣酸、绿原酸,但含量比例不同。随之测得不同来源蒲公英提取物对金黄色葡萄球菌的敏感程度也有差异,临床用药前有必要进行药敏试验科学精准的选择更合适的药物。蒲公英提取物与金霉素、恩诺沙星、阿莫西林、氨苄西林、头孢噻吩、头孢唑肟等联合用药,对金葡萄菌的体外抑菌实验有良好的协同作用,体外能显著降低抗菌药物的用量。

[关键词] 蒲公英提取物;高效液相色谱法;含量测定;最小抑菌浓度;联合用药

In vitro Synergistic Antibacterial Effect of Dandelion Extract Combined with Antibiotics on Staphylococcus Aureus

WEI Xiu-li¹, LI Qing², XU En-min¹, ZHANG Xiu-ying³, YANG Zhi-kun¹, ZHANG Zhi-bin⁴, LI You-zhi^{1*}

(1. Institute of Veterinary Drug Quality Inspection of Shandong Province, Shandong Provincial Key Laboratory of Quality Safety Monitoring and Risk Assessment for Animal Products, China Shandong Engineering Laboratory for Drug Resistance Monitoring and Precise Drug Use of Animal Origin Bacteria, Shandong Engineering Laboratory for Chinese Traditional Medicine For Animal Jinan, Jinan 250022, China;

2. Animal husbandry and Veterinary Bureau of Rizhao Ju Xian, Ju Xian 276500, China; 3. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 4. Baoding Jizhong Pharmaceutical Co., Ltd, Baoding 071500, China)

Corresponding author: LI You-zhi, E-mail: 1914343652@qq.com

基金项目: 2015 年国家科技支撑计划“兽药安全与质量评价技术研究与应用”(BAD11B03-01)

作者简介: 魏秀丽,高级兽医师,从事兽药和细菌耐药性监测、中兽药标准制修订及新兽药研发等工作。

通讯作者: 李有志。E-mail: 1914343652@qq.com。

Abstract: In order to study the *in vitro* synergistic antibacterial effect of dandelion extract combined with several drugs on *Staphylococcus aureus* of mastitis in dairy cows, in order to reduce the use of antibiotics, bacterial resistance and veterinary drug residues. The main components and contents of dandelion extracts from three different sources (Hebei, northeast, Beijing) were determined and analyzed by HPLC. The MIC value (minimum inhibitory concentration) of several antibiotics to *Staphylococcus aureus* was measured by broth dilution method, and then the synergistic effect of dandelion extract and antibiotics on *Staphylococcus aureus* was tested. The results showed that the main components of dandelion extracts from different sources were different, including caffeic acid, tartaric acid, chicory acid and chlorogenic acid, but the content proportion was different. The sensitivity of dandelion extracts from different sources to *Staphylococcus aureus* is also different. It is necessary to carry out drug sensitivity test before clinical use to select more appropriate drugs scientifically and accurately. The combination of dandelion extract with aureomycin, enrofloxacin, amoxicillin, ampicillin, ceftiofur and cefquinome has a good synergistic effect on the *in vitro* antibacterial experiment of *Staphylococcus aureus*, and can significantly reduce the dosage of antibacterial drugs *in vitro*.

Key words: dandelion extract; HPLC; content determination; minimal inhibitory concentration; drug combination

抗生素是目前我国畜牧业中使用最广泛和最重要的抗感染药物,在控制畜禽的传染性疾病和提高畜禽的生产性能方面发挥了巨大的作用. 抗生素一方面具备重要的医用价值,另一方面如兽用抗生素使用不当,出现滥用现象,会给禽畜个体及畜牧产业带来众多问题^[1]. 蒲公英为菊科植物蒲公英、碱地蒲公英或同属数种植物的干燥全草. 味甘、微苦,性寒,无毒,用于疔疮肿毒、乳痈、咽痛、湿热黄疸、热淋涩痛,药材及相关制剂被收录于中华人民共和国药典和兽药典^[2-4]. 由于其良好的治疗效果和经济性,蒲公英提取物在兽药中的研究也成为焦点,但据文献报道不同来源产地的蒲公英其有效成分差异很大,其中以咖啡酸、菊苣酸、单咖啡酰酒石酸等为代表成分,进行液相色谱含量测定,进行定量控制成为必然^[5-8].

奶牛乳房炎是奶牛常见多发病,也是对奶牛生产危害性最大的一种疾病. 据报道,临床乳房炎占奶牛总发病率的 19%~21%,在闽南农村以个体散户分散饲养为主的奶牛发病率达 23%~26%,兽医临床中奶牛隐性乳房炎难以发现,更难治疗,特别是治疗过程中由于使用抗生素和化学药品,在牛奶中形成药物残留,直接威胁人类健康安全,所以,寻求一种安全、高效、方便、廉价而又无药残的药物,

已成为当务之急. 随着临床奶牛乳房炎治疗应用乳房注入剂的增多,会呈现不同程度的耐药性,采用蒲公英配合治疗奶牛乳房炎,取得良好的效果,关于蒲公英治疗奶牛乳房炎的报道也日渐增多^[9-10].

1 材料与方法

1.1 菌株来源 耐药性金黄色葡萄球菌(金 Z、金 4、金 5、金 C、金 L、金 6、金 F、金 I、金 2、金 D)及其质控菌 ATCC18036 由中国兽医药品监察所提供.

1.2 主要仪器 分析天平(感量 0.0001g); Waters 2695 超高效液相色谱仪;布兰德移液器(10 μ L、200 μ L、1000 μ L);8 道布兰德电动移液器(30~300 μ L);动物源细菌耐药性药敏检测板(上海佰星生物技术有限公司);培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);高压灭菌锅(日本 CL-32L);超净工作台(苏州净化);麦氏比浊仪(法国梅里埃).

1.3 药品及试剂 菊苣酸对照品(批号 111752-200902);咖啡酸对照品(批号 110885-201703);单咖啡酰酒石酸对照品(批号 18101022);蒲公英提取物(北京生泰尔科技股份有限公司小试产品、河北冀中药业有限公司小试产品、东北大兴安岭格林格贝寒带生物科技股份有限公司小试产品).

抗菌药物原料(阿莫西林、氨苄西林、头孢噻吩

钠、头孢唑肟、利福昔明、硫酸庆大霉素、金霉素、盐
酸多西环素、恩诺沙星、氟苯尼考)为国内兽药企业
提供。

金黄色葡萄球菌显色培养基、LB 琼脂、MH 肉
汤,均购自北京路桥公司。

1.4 高效液相色谱仪测定蒲公英提取物主要成分
及含量

1.4.1 液相色谱测定用中药提取物的配制 称取
三种来源的蒲公英提取物溶解并定容于 10 mL
50%的甲醇中过滤,终浓度为 1 mg/mL。

1.4.2 液相色谱条件 色谱柱: C18 色谱柱
(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相 A:水(0.4%磷
酸);流动相 B: 乙腈,进行梯度洗脱;流速:
1.0 mL·min⁻¹;进样量:10 μL;柱温:35 ℃,进样
室温度 10 ℃。二极管阵列检测器,检测波长为
330 nm。液相色谱梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱条件表			
Tab 1 Gradient elution condition table			
时间	流动相 A% (0.4%磷酸)	流动相 B% (乙腈)	曲线
0	92	8	
0-3	92→90	8→10	6
3-14	90	10	6
14-16	90→72	10→28	6
16-30	72	28	6
30-31	72→50	28→50	6
31-33	50→40	50→60	6
33-34	40→92	60→8	6
34-35	92	8	6

1.5 多种抗生素对金黄色葡萄球菌的 MIC 值测定

1.5.1 药敏试验药物的配制 将所需抗菌药物按
照试验需要配制成适当浓度的储备液,所有药物储
备液过滤除菌,-20 ℃保存。

1.5.2 菌液的制备 将培养好的菌落,用灭菌肉
汤稀释至 0.5 麦氏单位。取适量菌液用灭菌肉汤
培养基进行 100 倍稀释,菌悬液浓度约为 1.5×10⁶
CFU/mL,备用。

1.5.3 金黄色葡萄球菌 MIC 测定 采用微量肉汤
稀释法进行测定^[11]。

1.6 棋盘法联合药敏试验 选取金黄色葡萄球菌
金 4 作为后续联合用药试验菌株。

(1)将各种药物原液按 512、256、128、64、32、
16、8、4、2、1 μg/mL 标准,用 MHB 营养肉汤依次倍
比稀释梯度。

(2)取出灭菌的 96 孔板,采用棋盘法,在 96 孔
板的横列和纵列中将不同浓度的 2 种药物加入
50μL,不同浓度组合的 2 种药物混合液置于各
孔中。

(3)在加药的 96 孔板的每个孔里加入 100 μL
稀释好的 10⁶ CFU/mL 金黄色葡萄球菌悬液,然后
放入 37 ℃温箱中,12~14 h 后观察结果,用肉眼观
察每个孔的浑浊度,计算统计联合用药的效果。

(4)重复三次棋盘试验^[12]。

1.7 计算部分抑菌浓度指数 FIC 联合药敏试验
结果浓度(Fractional inhibitory concentration index,
FIC)指数作为联合药敏试验的判断依据,计算公式
如下:

$$FIC = \frac{\text{甲药联合时的 MIC}}{\text{甲药单独使用时的 MIC}} + \frac{\text{乙药联合时的 MIC}}{\text{乙药单独使用时的 MIC}}$$

其中 FIC ≤ 0.5 为“协同作用”;0.5 < FIC ≤ 1
为“相加作用”;1 < FIC ≤ 2 为“无关作用”;2 < FIC
为“拮抗作用”。

2 结果与分析

2.1 不同来源蒲公英提取物的含量测定 结果,
见表 2,图 1-图 5。

表 2 不同来源蒲公英提取物含量				
Tab 2 Contents of dandelion extracts from different sources				
不同生产厂家产品各 成分含量/(mg·g ⁻¹)	单咖啡酰 酒石酸	绿原酸	咖啡酸	菊苣酸
蒲公英提取物(河北冀中 药业有限公司)	1.32	0	15.3	1.32
蒲公英提取物(东北大兴 安岭格林格贝寒带生物 科技股份有限公司)	7.59	1.51	1.71	19.14
蒲公英提取物(北京生泰 尔科技股份有限公司)	7.26	0.39	2.22	4.91

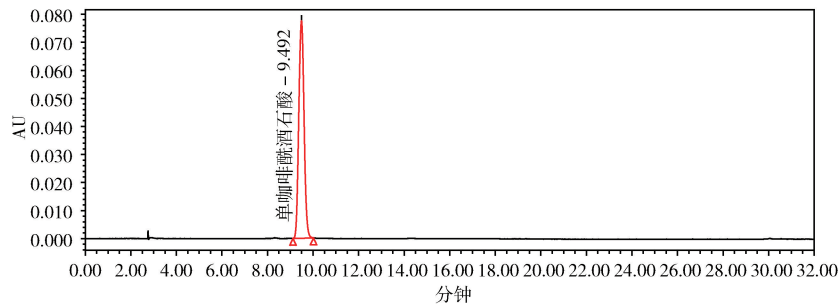


图 1 约 40 $\mu\text{g/mL}$ 单咖啡酰酒石酸对照品色谱图

Fig 1 Chromatogram of about 40 $\mu\text{g/mL}$ mono caffeinated tartaric acid reference substance

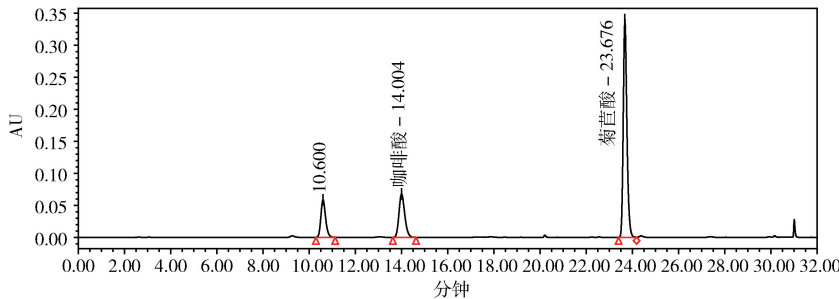


图 2 约 20 $\mu\text{g/mL}$ 绿原酸、咖啡酸、60 $\mu\text{g/mL}$ 菊苣酸对照品色谱图

Fig 2 Chromatogram of 20 $\mu\text{g/mL}$ chlorogenic acid, caffeic acid and 60 $\mu\text{g/mL}$ cichoric acid reference substance

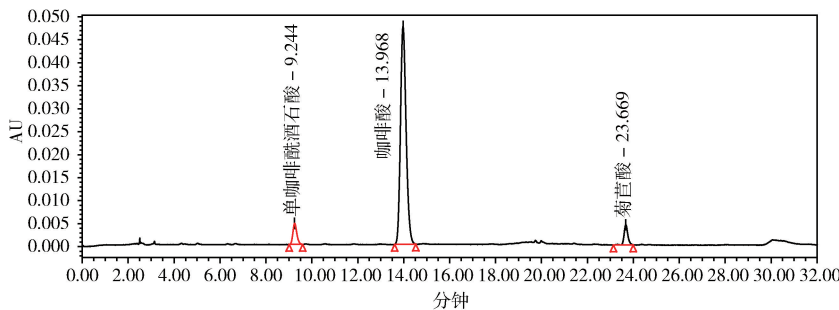


图 3 蒲公英提取物 (河北冀中) 液相色谱图

Fig 3 HPLC of dandelion extract (Jizhong, Hebei)

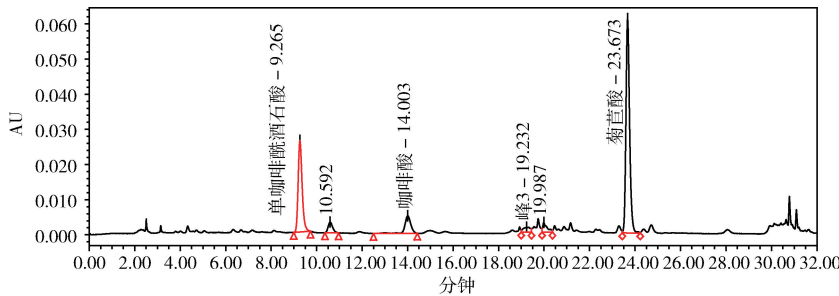


图 4 蒲公英提取物 (东北) 液相色谱图

Fig 4 HPLC of dandelion extract (Dongbei)

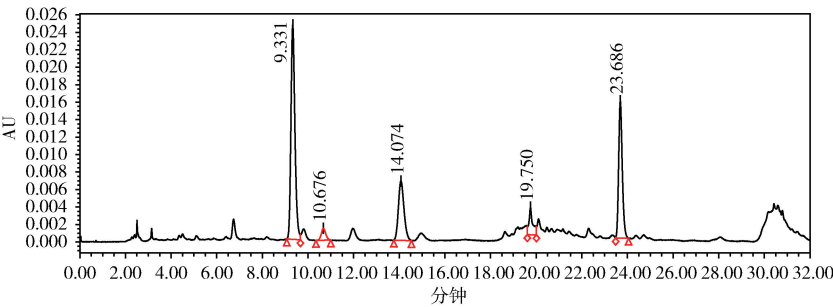


图 5 蒲公英提取物(北京生泰尔)液相色谱图

Fig 5 HPLC of dandelion extract (shengtaiér of Beijing)

2.2 体外抑菌实验 MIC 测定 根据蒲公英提取物的成分及含量测定结果,选取河北冀中的蒲公英提取物进行体外药敏试验。对 10 株金黄色葡萄球菌的体外抑菌实验 MIC 测定结果见表 3。

表 3 多种药物对 10 株金黄色葡萄球菌体外抑菌实验结果

Tab 3 *In vitro* antibacterial test results of various drugs on 10 strains of *Staphylococcus aureus*

MIC (μg/mL)	金 4	金 Z	金 5	金 C	金 L	金 6	金 F	金 I	金 2	金 D
阿莫西林	32	128	0.25	32	>256	4	2	<0.25	64	4
氨苄西林	8	64	0.25	16	>256	1	1	<0.25	32	2
头孢噻吩	32	1	2	1	16	1	2	1	4	1
头孢唑肟	1	1	2	1	16	1	1	0.5	1	0.5
利福昔明	<0.062	8	8	<0.062	8	<0.062	<0.062	<0.062	<0.062	<0.062
硫酸庆大霉素	64	<0.25	4	8	>256	32	8	0.125	32	8
金霉素	64	2	32	64	64	64	32	0.25	32	8
盐酸多西环素	8	8	4	8	4	16	4	<0.25	4	2
恩诺沙星	4	0.5	4	4	8	8	8	4	4	4
氟苯尼考	32	2	32	32	>256	32	4	2	128	4
蒲公英提取物 (河北冀中)	625	156.2	156.2	78.12	156.2	312.5	156.2	312.5	312.5	312.5

2.3 联合用药对金黄色葡萄球菌药敏试验联合用药指数(FIC)结果表

表 4 联合用药对金黄色葡萄球菌联合用药指数

Tab 4 FIC value of *Staphylococcus aureus* in combination

序号	联合用药方式	菌株号	联合用药指数	联合作用
1	蒲公英提取物 + 金霉素	金 4	0.187	协同
2	蒲公英提取物 + 恩诺沙星	金 4	0.258	协同
3	蒲公英提取物 + 头孢噻吩	金 4	0.25	协同
4	蒲公英提取物 + 头孢唑肟	金 4	0.5	协同
5	蒲公英提取物 + 庆大霉素	金 4	0.0195	协同
6	蒲公英提取物 + 氨苄西林	金 4	0.265	协同
7	蒲公英提取物 + 阿莫西林	金 4	0.25	协同

从表中看出,蒲公英提取物与 7 种药物联合应用,都具有很好地协同作用,能大幅度地降低抗菌药的抑菌浓度,减少用药量,给中西药联合应用推荐抗菌药减量化应用提供了理论依据。

3 讨论与结论

兽用抗生素是目前我国畜牧业中使用最广泛和最重要的药物,在防控畜禽疫病和提高畜禽生产性能方面功不可没,但它的不当使用,也对公共卫生造成了极大的危害^[13]。本试验结果可以看出,不同的菌株对不同的药物敏感性差异较大,与奶牛场的用药习惯有关,治疗奶牛隐性乳房炎,有必要提前进行药敏试验来科学精准的应用药物。临床

上应用较久的阿莫西林、氨苄西林已经出现了部分耐药菌株,最为敏感的是齐鲁动物保健品有限公司和齐鲁晟华制药有限公司的利福昔明和头孢噻呋、头孢喹肟;单硫酸卡那霉素对金黄色葡萄球菌有的极为敏感,有的非常耐药。还有几种药物并未应用于临床,其耐药性差异较大,例如盐酸多西环素、恩诺沙星、硫酸庆大霉素、金霉素、氟苯尼考等。

兽药行业发展创新日新月异,不少企业或科研院所研究盐酸头孢噻呋乳膏剂、含蒲公英药材提取物的中药,来治疗奶牛乳房炎^[14-17]。现在临床治疗奶牛乳房炎的药物用很多,有硫酸头孢喹肟乳房注入剂、硫酸头孢噻呋乳房注入剂、利福昔明乳房注入剂^[18-22]。本试验,可以看出,蒲公英提取物在一定程度上具有抗菌作用,与多种药物联合应用在体外对奶牛乳房炎的主要病原菌具有良好的协同作用,理论上能在一定程度减少抗菌药物的使用,从而减少药物残留,缩短弃奶期。但如何进行中西方的复配,如何优化生产工艺使产品稳定有效,临床效果的实现还需要很多的探索性试验来验证。

另外蒲公英提取物,对金黄色葡萄球菌有一定的抑菌和杀菌的作用,但体外最小抑菌浓度在 78.1 ~ 625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内,与抗菌药相比,是有些差距的,与文献报道的比较一致^[23],但由于中药有对机体整体的调节作用,这种作用也不容忽视,相对于耐药菌而言,有些菌株对蒲公英提取物反而更敏感。

参考文献:

- [1] 龙文庄. 兽用抗生素滥用问题分析及解决对策[J]. 兽医导刊, 2015(14):187-187.
Long W zh. Analysis of abuse of veterinary antibiotics and countermeasures [J]. Journal of Veterinary Medicine, 2015 (14): 187.
- [2] 中国兽药典委员会,中华人民共和国兽药典二部,2015[S].
China Veterinary Pharmacopoeia Commission, Part2 of the Veterinary Pharmacopoeia of the people's Republic of China, 2015[S].
- [3] 国家药典委员会,中华人民共和国药典一部,2015[S].
National Pharmacopoeia Committee, Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2015[S].
- [4] 褚娜. 蒲公英提取物质量分析方法研究[D]. 黑龙江中医药大学, 2015.
Chu N. Study on the quality analysis method of dandelion extract [D]. Heilongjiang University of traditional Chinese Medicine, 2015.
- [5] 魏秀丽,徐恩民,刘霄飞,等. UPLC-PDA 法测定蒲公英提取物中咖啡酸的含量[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(03):26-30.
Wei X L, Xu N M, Liu X F, et al. Determination of caffeic acid in dandelion extract by UPLC-PDA [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2019, 53(03):26-30.
- [6] 李健,张爱均,刘雯,等. 紫锥菊地上部分 4 种酚酸类成分的 HPLC 法测定研究[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(09):1935-1937.
Li J, Zhang A J, Liu W, et al. Determination of four phenolic acids in the aerial part of Eupatorium adenophorum by HPLC [J]. Liaoning Journal of traditional Chinese Medicine, 2017, 44(09):1935-1937.
- [7] 刘燕,兰瑞容,兑靖冬,等. HPLC 法同时测定蒲公英中单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸的含量[J]. 中国药师, 2017, 20(09):1677-1679.
Li J, Zhang A J, Liu W, et al. Determination of four phenolic acids in the aerial part of Eupatorium adenophorum by HPLC [J]. Liaoning Journal of traditional Chinese Medicine, 2017, 44(09):1935-1937.
- [8] 张靖飞. 24 种中药及复方制剂对奶牛隐性乳房炎主要致病菌的抑菌试验[J]. 畜牧兽医杂志, 2018, 37(06):11-13.
Zhang J F. The effect of 24 traditional Chinese medicine and compound preparation on the main pathogenic bacteria of recessive mastitis in dairy cows[J]. Animal and Veterinary Journal, 2018, 37(06):11-13.
- [9] 洪志良. 蒲公英方剂治疗奶牛乳房炎应用体会[J]. 中兽医医药杂志, 2013, 32(5).
Hong Zh L. Experience in the treatment of dairy cow mastitis with dandelion prescription [j]. Journal of Chinese Veterinary Medicine, 2013, 32(5).
- [10] 严敏,刘龙. 蒲公英配合治疗奶牛乳房炎[J]. 贵州畜牧兽医, 2010, 34(2):22-22.
Yan M, Liu L. Dandelion combined with treatment of dairy cow mastitis [j]. Guizhou Animal Husbandry and Veterinary Surgeons, 2010, 34(2):22.
- [11] 潘楚芝,李裕军,赵子文,等. 纸片扩散法与微量肉汤稀释法检测鲍曼不动杆菌对替加环素体外敏感性的比较[J]. 广东医学, 2013, 34(14):2132-2135.

- Pan Ch Zh, Li Y J, Zhao Z W, *et al.* comparison of disc diffusion method and micro – meat soup dilution method for detection of teg. acinetobacter baumannii *in vitro* sensitivity to teg. [j]. guangdong medical, 2013, 34 (14) : 2132 – 2135.
- [12] 郑宝英, 张 杰, ZhengBao – ying, 等. 抗生素的联合用药[J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32 (6) : 324 – 328.
- Zheng B Y, Zhang J, Zhengbao – ying, *et al.* A combination of antibiotics [j]. Chinese Journal of antibiotics, 2007, 32 (6) : 324.
- [13] 梁 楠, 庞 歌. 兽用抗生素滥用的危害与合理使用[J]. 河南农业, 2016 (27).
- Liang N, Pang G. The harm and rational use of veterinary antibiotics [j]. Henan Agriculture, 2016 (27).
- [14] 杨 健, 倪和民, 郭 勇, 等. 3 种中药对牛乳房炎金葡萄菌抗菌效果的 Meta 分析[J]. 北京农学院学报, 2018, 33 (04) : 72 – 75.
- Yang J, Ni H M, Guo Y, *et al.* A meta – analysis [J] on the effect of three traditional Chinese medicines on the antibacterial effect of the Staphylococcus aureus. Journal of Beijing Agricultural College, 2018, 33 (04) : 72 – 75.
- [15] 岳子强, 陈琼科, 吴 清. 金银花及蒲公英体外抑菌作用观察[J]. 实用中医药杂志, 2018, 34 (02) : 264 – 265.
- Yue Z Q, Chen Q K, Wu Q. In vitro antibacterial activity of Flos Lonicerae and Herba Taraxaci [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Medicine, 2018, 34 (02) : 264 – 265.
- [16] 张代玉, 周庆民, 徐 馨, 等. 中药对奶牛乳房炎主要病原菌体外抑菌试验效果的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016 (05) : 206 – 208.
- Zhang D Y, Zhou Q M, Xu X, *et al.* Study on *in vitro* bacteriostatic effect of traditional Chinese medicine on mastitis in dairy cows [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Surgeons, 2016 (05) : 206 – 208.
- [17] 周庆民, 徐 馨, 冯万宇, 等. 奶牛乳房炎抗菌中药及组方筛选的试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015 (12) : 125 – 127.
- Zhou Q M, Xu X, Feng W Y, *et al.* Screening of traditional Chinese medicine and its prescription for breast inflammation in dairy cows [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Surgeons, 2015 (12) : 125 – 127.
- [18] 李淑红, 王京仁, 成 钢, 等. 12 种中草药对金黄色葡萄球菌体外抑菌作用的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014 (13) : 148 – 149.
- Li Sh H, Wang J R, Cheng G, *et al.* Study on the bacteriostatic effect of 12 kinds of Chinese herbal medicine on Staphylococcus aureus *in vitro* [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Surgeons, 2014 (13) : 148 / 149.
- [19] 冯言言, 陈 瑞, 郑 莉, 等. 盐酸头孢噻呋乳房注入剂治疗奶牛干乳期乳房炎的临床疗效观察[J]. 中国奶牛, 2014 (16) : 20 – 23.
- Feng Y Y, Chen R, Zheng L, *et al.* Clinical efficacy of Cephalosporium Hydrochloride Breast injection in the treatment of Dairy cows with dry Milk stage [J]. Chinese Dairy cows, 2014 (16) : 20 (23).
- [20] 冯言言, 王海挺, 郑 莉, 等. 硫酸头孢噻呋乳房注入剂治疗奶牛乳房炎的临床疗效观察[J]. 中国奶牛, 2014 (05) : 28 – 30.
- Feng Y Y, Wang H T, Zheng L, *et al.* Clinical efficacy of cefquinoxime sulfate breast injection in the treatment of cow mastitis [J]. Chinese cows, 2014 (05) : 28 – 30.
- [21] 李 振, 魏义清. 盐酸头孢噻呋乳膏剂的安全性及对奶牛乳房炎的临床治疗试验[J]. 中国奶牛, 2016 (10) : 30 – 33.
- Li Z, Wei Y Q. The safety of cefradine hydrochloride cream and the clinical treatment of dairy cow mastitis [J]. Chinese dairy cows, 2016 (10) : 30 – 33.
- [22] 林 红, 张智德, 郑 莉, 等. 利福昔明在防治奶牛乳房炎中的研究进展[J]. 中国奶牛, 2014 (18) : 21 – 23.
- Lin H, Zhang Z D, Zheng L, *et al.* The progress of rifaximin in the prevention and treatment of cow mastitis [J]. Chinese dairy cows, 2014 (18) : 21 – 23.
- [23] 王建军, 董 佳, 艾萍萍. 硫酸头孢噻呋乳房注入剂对奶牛乳房炎临床评价[J]. 中国畜禽种业, 2016, 12 (10) : 75.
- Wang J J, Dong J, Ai P P. Clinical evaluation of cefquexime sulfate breast injection on mastitis in dairy cows [J]. China Animal and Peasant breeding Industry, 2016, 12 (10) : 75.

(编辑:陈 希)