

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.11.02

苦豆子提取物对多重耐药大肠杆菌的体外抑菌作用

李志君¹, 崔生玲², 张雯², 张宝锁³, 邵倩², 杨奇^{2*}, 张为民^{1*}

(1. 西北农林科技大学动物医学院, 陕西杨凌 712100, 2. 宁夏回族自治区兽药饲料监察所, 宁夏银川 750004,

3. 宁夏顺宝现代农业股份有限公司, 宁夏吴忠 751600)

[收稿日期] 2022-07-02 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 11-0010-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 为探究苦豆子提取物对多重耐药大肠杆菌的体外抑菌作用, 本研究以从蛋鸡粪便样本中分离的 1 株多重耐药大肠杆菌为研究对象, 测定了苦豆子提取物的最小抑菌浓度 (MIC) 以及与抗菌药物联用的抑菌效果, 并测定了对多重耐药大肠杆菌生长曲线、生物被膜以及运动能力的影响。结果表明, 苦豆子提取物 MIC 为 125 mg/mL, 与头孢噻呋联用呈现协同作用; 与对照组相比, 1/2MIC 和 MIC 的苦豆子提取物可明显抑制菌株的生长; 不同浓度苦豆子提取物对菌株生物被膜具有一定程度的抑制和清除作用, 1/2MIC 和 MIC 组可极显著降低菌株的运动能力 ($P < 0.01$)。表明苦豆子提取物对多重耐药大肠杆菌具有良好的体外抑菌作用。

[关键词] 苦豆子提取物; 多重耐药大肠杆菌; 体外抑菌

Antibacterial Effect of *Sophora alopecuroides* Extract on Multi-drug Resistant *E. coli* *in vitro*

LI Zhi-jun¹, CUI Sheng-ling², ZHANG Wen², ZHANG Bao-suo³, SHAO Qian²,
YANG Qi^{2*}, ZHANG Wei-min^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. Ningxia Supervision Institute for Veterinary Drugs and Animal Feedstuffs, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 3. Ningxia Shunbao Modern Agricultural Limited Company, Wuzhong 751600, China)

Corresponding author: YANG Qi, E-mail: yangqmz@163.com; ZHANG Wei-min, E-mail: ylzhangwm@163.com

Abstract: The antibacterial effect of *Sophora alopecuroides* extract on multi-drug resistant *E. coli* isolated from the feces of laying hens was studied in this research. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *S. alopecuroides* extract and the antibacterial effects when combined with antibacterial agents were determined. At the same time, the effects on the growth curve, biofilm and motility of the strain were also investigated. The

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划重点项目: 畜禽养殖场兽用抗菌药使用减量化关键技术应用研究 (2021BEF02041); 农业重大实用技术推广项目: 规模养殖场减抗养殖关键技术开发与示范

作者简介: 李志君, 硕士研究生, 从事基础兽医学方向研究; 崔生玲, 兽医师, 从事兽用抗菌药减量化使用技术推广、动物源细菌耐药性监测、兽药质量监督检验等工作, 与李志君为共同第一作者。

通讯作者: 杨奇, E-mail: yangqmz@163.com; 张为民, E-mail: ylzhangwm@163.com

results showed that the MIC of *S. alopecuroides* extract on *E. coli* was 125 mg/mL, which showed a synergistic action when used in combination with ceftiofur. Compared with the control group, 1/2MIC and MIC of *S. alopecuroides* extract could significantly inhibit the growth of multi-drug resistant *E. coli*. The biofilm of *E. coli* was inhibited and eradicated by different concentration groups to a certain extent, and the movement ability of *E. coli* in 1/2MIC and MIC groups was extremely significantly reduced ($P < 0.01$). The results showed that the extract of *S. alopecuroides* had good antibacterial effects *in vitro* against multi-drug resistant *E. coli*.

Key words: *Sophora alopecuroides* extract; multi-drug resistant *E. coli*; *in vitro* antimicrobial

近年来,随着抗生素在畜牧业和疾病治疗中长期应用和滥用,临床分离出的大肠杆菌多呈现多重耐药(Multiple drug resistance, MDR)现状。根据欧洲抗生素耐药性监测网络的数据显示,大肠杆菌对头孢菌素类药物的耐药性在欧洲显著增加,且喹诺酮类和氨基糖苷类联用对大肠杆菌的治疗效果也显著下降^[1]。耐药细菌的出现和传播,对多数国家都造成了严重的经济负担。据报道,美国每年的财政负担约增加 3.8% 用于控制 MDR 细菌感染,增加了约 1.2 万亿美元^[2]。我国各地分离的大肠杆菌不仅耐药的种类、范围有所扩大,并且多重耐药、交叉耐药现象也在加剧。梁少姍等研究发现从湛江地区分离的 90 株大肠杆菌均为多重耐药,21% 的菌株耐 9 种抗菌药物^[3],廖智慧等对分离自河北衡水地区的大肠杆菌药敏检测,结果表明分离菌株对磺胺异恶唑、链霉素和阿米西林的耐药率高达 80% 以上^[4]。耐药细菌的出现,不仅对畜禽健康产生严重危害,可通过动物粪便进入土壤环境,从而在人类、动物、食物以及环境之间逐渐相互传播,进而对人类健康产生潜在的威胁。因此,为了解决耐药菌株引起的威胁,科学家们正在迫切探索新型抗生素和解决耐药性问题的新方法^[5]。

研究发现,中草药或中草药中提取出的某些成分对耐药菌具有良好的抑菌作用,有望成为目前有效解决细菌耐药性问题的策略之一。如蜂蜜和芦荟提取物可抑制粪肠球菌和大肠杆菌生长^[6]。苦豆子(*Sophora alopecuroides* L.)是豆科,槐属的一种多年生草本或亚灌木植物,来源丰富,其根、茎、叶和种子均可入药,具有重要的药用价值^[7]。研究发现,苦豆子提取成分中含有多种生物碱和黄酮类化

合物^[8],不仅对多种细菌具有抑菌作用,并能增强耐药菌对抗菌药物的敏感性^[9]。因此,本研究选用了天然中草药苦豆子作为研究对象,探讨了其对临床分离的多重耐药大肠杆菌的抑菌活性,为探索控制耐药细菌的抗菌药物资源开发提供了前期研究数据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂与仪器 试验所用试剂胰蛋白胨、大豆琼脂、MH 肉汤培养基、LB 肉汤(青岛海博生物技术有限公司)、注射用氨苄西林钠(河北远征药业有限公司)、氟苯尼考标准品(北京索莱宝有限公司)、大观霉素和头孢噻唑(中国兽医药品监察所)、结晶紫(北京化工厂)、生物安全柜 A2 型(赛默飞世尔仪器有限公司)、电热恒温培养箱 SHX350II(上海树立仪器仪表有限公司)、电子天平 BCE622-1CCN(赛多利斯科学仪器有限公司)、比浊仪 CBZ-1(北京潮声公司)、酶标仪 Multiskan FC(赛默飞世尔科技 Thermo)、立式压力蒸汽灭菌锅 STIK IMJ-78A(上海朗银压力容器有限公司)。

1.1.2 药材和菌株 苦豆子(*Sophora alopecuroides* L.)提取物(10:1,水提取于苦豆草的种子及地上部分),购自陕西沐菲生物科技有限公司。1 株多重耐药大肠杆菌(MDR *E. coli*)由宁夏回族自治区兽药饲料监察从蛋鸡粪便样本中分离得到,对氨苄西林、庆大霉素、大观霉素、四环素、氟苯尼考、磺胺异恶唑、复方新诺明、头孢噻唑、恩诺沙星等抗菌药物耐药,同时携带 bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M} 、 $aacC2$ 、 $aac(3')-II$ 、 $sul2$ 和 $sul3$ 6 种耐药基因。标准大肠杆菌 ATCC25922 由中国兽医药品监察所提供。

1.2 方法

1.2.1 供试菌液制备 在超净工作台内,将试验菌株接种于 LB 琼脂培养基,37 °C 培养 24 h,用一次性接种环挑取单菌落接种于 3 mL 无菌的 LB 肉汤中,37 °C 恒温过夜培养,用无菌生理盐水调节菌液浓度至 1×10^8 CFU/mL,用 LB 肉汤稀释成 1×10^6 CFU/mL,备用。

1.2.2 药液制备 将苦豆子提取物溶于蒸馏水中,煮沸,配制成浓度为 1 g/mL 的药液,置于 4 °C 保存,备用。

1.2.3 最小抑菌浓度测定 采用微量肉汤二倍稀释法测定苦豆子提取物、氨苄西林钠、大观霉素、氟苯尼考、恩诺沙星和头孢噻唑对 MDR *E. coli* 的最小抑菌浓度。在 96 孔板中每孔加入 100 μ L 的 MH 肉汤,然后加入等量配制好的药液与 MH 肉汤进行二倍稀释混合,每孔接种 100 μ L 菌液,使得每孔菌液终浓度为 5×10^5 CFU/mL,设置阴性和阳性对照。读取结果前 2 h,在每反应孔内加入 5 μ L 0.05% 的 TTC 作为生长指示剂,继续培养,观察每个孔中的颜色变化,以未变红的最后一孔的浓度视为 MIC^[10]。

1.2.4 联合应用的抑菌效果测定 采用棋盘稀释法测定苦豆子提取物和氨苄西林钠、大观霉素、氟苯尼考、恩诺沙星和头孢噻唑 5 种抗菌药物联合应用的抑菌效果^[11]。

1.2.5 生长曲线的测定 将 LB 肉汤和苦豆子提取物混合,使培养基中的药物浓度分别为 MIC、1/2MIC、0,然后将调整好的菌液 1000 倍稀释后加入含药培养基内,所有分组按照 37 °C、180 r/min 条件下恒温培养。各组从 0 h 开始,每隔 2 h 取等量菌液使用酶标仪在 630 nm 处测定吸光值。以各时间点为横坐标,OD_{630 nm} 为纵坐标做生长曲线图。

1.2.6 生物被膜形成能力的测定 在 96 孔板中分

别加入 20 μ L 0.5 麦氏浊度的 *E. coli* 悬浮液和 180 μ L 不同浓度的苦豆子提取物 (MIC、1/2MIC 和 1/4MIC),不加药物组作为对照,置于 37 °C 条件下恒温培养 24 h 后,弃上清,无菌 PBS (pH 7.2) 轻轻洗涤 3 次,甲醇固定 15 min,倒出液体并风干,然后向每孔中加入 1% 的结晶紫,并在 37 °C 下孵育 15 min,以使结晶紫渗透到生物被膜结构中,将 96 孔板用水洗涤并风干,加入 200 μ L 33% 的冰醋酸中,孵育 30 min,用以溶解染色的生物被膜,使用酶标仪在 570 nm 波长处测量 OD 值^[12]。生物被膜形成的相对百分比 = (OD 药物处理组/OD 阴性对照组) $\times 100$ ^[13]。

1.2.7 生物被膜清除作用测定 将 *E. coli* 菌悬液和 LB 肉汤在 96 孔板中进行 24 h 培养,然后去除上清液,向每孔加入 200 μ L 的不同浓度苦豆子提取物,阴性对照组加入 200 μ L LB 肉汤,37 °C 培养 24 h 后,按照 1.2.6 方法,弃去上清,无菌 PBS 洗涤 3 次后,甲醇固定 15 min,用水洗涤风干,然后加入 200 μ L 33% 的冰醋酸孵育 30 min,使用酶标仪在 570 nm 波长处测量 OD 值。生物被膜清除百分比 = (OD 阴性对照组 - OD 药物处理组) / OD 阴性对照组 $\times 100$ 。

1.2.8 运动能力的测定 在半固体培养基上研究 *E. coli* 群集运动性。LB 培养基添加 0.5% 葡萄糖和 0.5% 琼脂用于群集运动试验。苦豆子提取物以 1/4 MIC 至 MIC 的终浓度添加到 LB 培养基中。吸取 5 μ L 菌液置于培养平板的中心,并在 37 °C 下正置培养 24 h,测量菌落直径,未经苦豆子提取物处理的 *E. coli* 作为阳性对照,试验平行 3 次。

2 结果与分析

2.1 苦豆子提取物和抗菌药物的 MIC 测定结果 苦豆子提取物和 5 种抗菌药物对 MDR *E. coli* 的 MIC 测定结果见表 1。由表可知,苦豆子提取物对试验菌株的 MIC 值为 125 mg/mL。

表 1 苦豆子提取物和抗菌药物的 MIC 测定结果

Tab 1 MIC determination results of *S. alopecuroides* extract and antibacterial drugs

菌株	药物					
	苦豆子提取物	氨苄西林钠	大观霉素	恩诺沙星	头孢噻唑	氟苯尼考
MDR <i>E. coli</i>	125 mg/mL	>2 mg/mL	500 μ g/mL	2 μ g/mL	500 μ g/mL	250 μ g/mL
ATCC25922	125 mg/mL	0.004 mg/mL	32 μ g/mL	0.015 μ g/mL	0.25 μ g/mL	4 μ g/mL

2.2 苦豆子提取物与抗菌药物联用抑菌效果 由表 2 可知,苦豆子提取物与氨苄西林钠、大观霉素和恩诺沙星联合应用对试验菌株表现为无关作用;与氟苯尼考表现为相加作用,与头孢噻呋表现为协同作用。

表 2 苦豆子提取物与抗菌药物联用的抑菌效果

Tab 2 Antibacterial effect of *S. alopecuroides* extract combined with antibacterial drugs

药物组合	分级抑菌指数	联用效果
苦豆子提取物 + 氨苄西林钠	1.06	无关作用
苦豆子提取物 + 大观霉素	1.50	无关作用
苦豆子提取物 + 氟苯尼考	0.71	相加作用
苦豆子提取物 + 头孢噻呋	0.25	协同作用
苦豆子提取物 + 恩诺沙星	2.06	无关作用

2.3 苦豆子提取物对试验菌株生长曲线的影响 0~4 h 期间,试验组 *E. coli* 无明显生长,4 h 之后 1/2MIC 组 *E. coli* 生长进入快速繁殖阶段,12 h 之后生长趋于平缓,菌株进入平稳生长期,但 *E. coli* 总量明显低于对照组。MIC 试验组的 *E. coli* 生长明显受到抑制,表明苦豆子提取物可抑制 *E. coli* 的生长(图 1)。

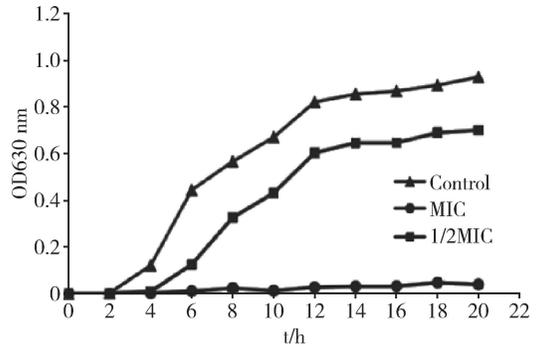


图 1 苦豆子提取物对 MDR *E. coli* 生长曲线的影响

Fig 1 Effects of *S. alopecuroides* extract on growth curve of MDR *E. coli*

2.4 苦豆子提取物对试验菌株生物被膜抑制和清除的作用 苦豆子提取物对试验菌株生物被膜的形成和清除作用见图 2。不同浓度苦豆子提取物(MIC、1/2MIC 和 1/4MIC)对试验菌株生物被膜均具有良好的抑制活性,抑制率分别为 54%、48% 和 29%,并呈现一定的剂量依赖性。不同浓度的苦豆子提取物对试验菌株生物被膜清除率为 11%~27%。

2.5 苦豆子提取物对试验菌株群集运动测定 由图 3 可知,MIC 和 1/2MIC 可极显著减少试验菌株的群集运动扩散直径($P < 0.01$),并随着苦豆子提取物浓度增加,试验菌株的群集运动能力逐渐下降。

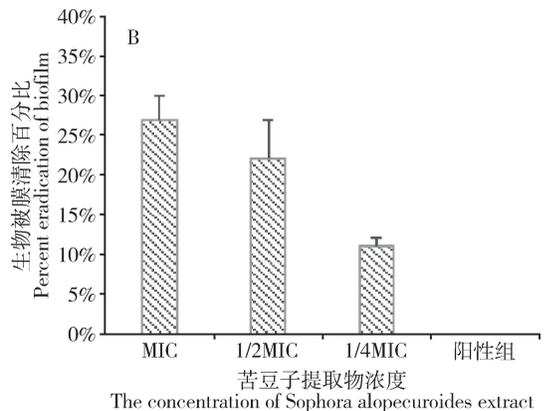
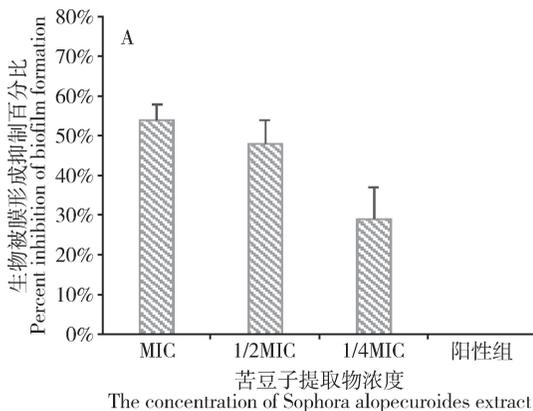


图 2 不同浓度的苦豆子提取物对 MDR *E. coli* 生物被膜抑制和清除的作用

注:A 为生物被膜抑制作用;B 为生物被膜清除作用

Fig 2 Inhibition and eradication of MDR *E. coli* biofilm by different concentrations of *S. alopecuroides* extracts

Note:A is biofilm inhibition; B is biofilm eradication

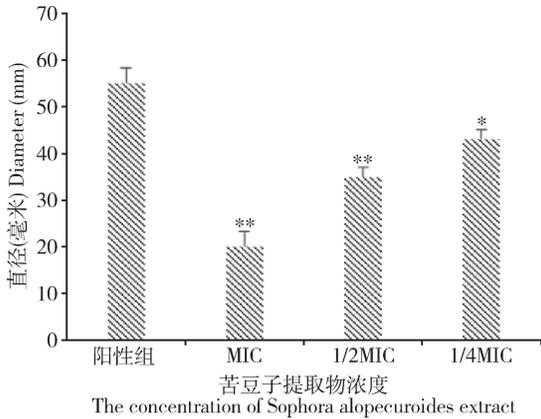


图3 不同浓度的苦豆子提取物对MDR *E. coli* 群集运动的影响

注: *表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$

Fig 3 Effects of different concentrations of *S. alopecuroides* extracts on swarming motility of MDR *E. coli*

Note: * means $P < 0.05$, ** means $P < 0.01$

3 讨论

细菌获得抗生素耐药性已成为世界范围的主要问题,被世界卫生组织列为全球医疗保健威胁^[14],严重影响临床疗效和动物健康,中草药因来源广泛、安全性高、成本低等特点,其抗菌效果的研究已成为近几年学者研究的热点之一。研究发现,中草药及其化学成分不仅对耐药菌具有良好的抑菌作用,且在一定程度可以消减细菌的耐药性,对如今应对细菌耐药性日益严重的现状具有重大意义^[15]。

本研究测得苦豆子提取物对分离 *E. coli* 的 MIC 值为 125 mg/mL,与其它中药相比,其抑菌能力处于中等水平,为进一步验证苦豆子提取物的抑菌作用,测定了其对 *E. coli* 生长曲线的影响。结果表明,不同浓度的苦豆子提取物均可以抑制 *E. coli* 的正常生长,短时间内可以延缓菌株从迟缓期进入对数生长期,且 MIC 组比 1/2MIC 组抑制效果更强,表明苦豆子提取物对 *E. coli* 具有抑菌作用,且抑制效果呈浓度依赖性。张子越为探究马齿苋水煎液对 *E. coli* 的抑菌活性绘制了生长曲线,结果显示在不同浓度马齿苋水煎液作用下,*E. coli* 生长受到抑制,并随着药物浓度增加,对 *E. coli* 的抑制作用增强,这与本试验研究的结果相符合^[16]。

研究显示,某些抗微生物的天然药物能够增强抗菌药物的抑菌效果,或恢复药物对细菌的敏感性,如 Hossain 等通过棋盘法测定了新型酚类化合物与传统抗菌药物联合应用对 *E. coli* 的抑制作用,结果表明没食子酸与甲磺霉素联用、金缕梅单宁与红霉素或甲磺霉素联用对 *E. coli* 表现为协同作用, FICI 分别为 0.281、0.375 和 0.50^[17]。黄柏水提取物与氟苯尼考和阿莫西林联用对临床分离产 ES-BLs 大肠杆菌分别表现为协同、相加作用^[18]。因此,中药与抗菌药物联合使用可以有效促进抗菌药物对病原菌的靶向作用,可能成为减少细菌耐药性的一种有效途径。本研究选择了苦豆子提取物与 5 种抗菌药物进行联合作用效果测定,结果表明,苦豆子提取物与氟苯尼考联合应用为相加作用,与头孢噻唑联用呈现协同作用。可见,中药具有抗菌增效的作用,但一种中药提取物与不同抗菌药物联用对菌株的作用效果可能有所差异,其原因可能是与菌株特异性或存在其他耐药机制有关。

细菌在抗菌药物的持续作用下,为了生存会通过各种方式来对抗抗菌药物,因此,细菌针对不同抗菌药物产生了相对应的耐药机制,目前大肠杆菌耐药机制主要涉及产生钝化酶或水解酶、药物渗透屏障、药物作用靶位点改变和生物被膜形成等几个方面。据报道,80% 的临床感染性疾病与细菌的生物被膜有关^[19],说明生物被膜是细菌产生耐药性的重要原因之一,而群集运动可促进生物被膜的形成,增强细菌耐药性。因此,本研究通过半固体琼脂法探讨了苦豆子提取物对 *E. coli* 群集运动的影响,结果表明,1/2MIC 和 MIC 苦豆子提取物可极显著降低 *E. coli* 的群集运动能力,并呈剂量依赖性。Ruan 等评估了白藜芦醇对禽致病性大肠杆菌 (APEC) 游泳和群集运动的影响,发现随着白藜芦醇浓度的增加,APEC 的运动能力逐渐下降,抑制作用呈现剂量依赖式^[20],与本研究结果相似。同时采用了结晶紫染色法检测苦豆子提取物对试验菌株生物被膜形成和清除的抑制作用,结果发现,苦豆子提取物可抑制 29% ~ 54% 的生物被膜形成, MIC 浓度的苦豆子提取物可清除 27% 的生物被膜,

破坏生物被膜的完整性。说明苦豆子提取物对细菌生物被膜具有抑制作用,但针对其它抑菌机制有待进一步研究。

4 结 论

本研究对苦豆子的抑菌作用进行了初步探讨,苦豆子提取物具有一定的体外抑菌和消除耐药性的作用,对防控耐药大肠杆菌感染具有重要意义。但研究显示,苦豆子提取物的作用浓度较高,因此使其临床的应用价值较低。现代研究表明,中药主要是通过其某些活性成分来起到抑菌杀菌的作用^[21],因此对于苦豆子提取物中的具体有效活性成分还有待进一步的研究,以期兽医临床应用苦豆子防治细菌性感染疾病提供理论数据。

参考文献:

[1] Wan M L Y, Forsythe S J, El - Nezami. Probiotics interaction with foodborne pathogens: a potential alternative to antibiotics and future challenges, Hani ENJCRIFS, Nutrition[J]. Crit Rev Food Sci Nutr,2018,59(20):3320 - 3333.

[2] Alkufeidy R M, Farraj Al D A, Aljowaie R M, et al. Chemical composition of Thymus vulgaris extracts and antibacterial activity against pathogenic multidrug resistance bacteria[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,2022,117:101745.

[3] 梁少姗,张腾月,朱美微,等. 湛江地区水产养殖场大肠杆菌耐药性和耐药基因分析[J]. 中兽医医药杂志,2022,41(02):73 - 78. Liang S S, Zhang T Y, Zhu M W, et al. Analysis of antimicrobial resistance and resistance genes of Escherichia coli from aquaculture farm in Zhanjiang[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine,2022,41(02):73 - 78.

[4] 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(02):107 - 108. Liao Z H, Chen Z J, Li X, et al. Isolation, identification, serotype and drug resistance analysis of Escherichia coli from bovine mastitis in Hengshui[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary,2018(02):107 - 108.

[5] Ge H W, Wang Y Z, Zhao X H. Research on the drug resistance mechanism of foodborne pathogens[J]. Microbial Pathogenesis, 2022, 162:105306 - 105306.

[6] Motahari P, Kafil H S, Bonab Z T. In vitro evaluation of antibacterial effect of combination of honey and Aloe vera extract against

Enterococcus faecalis and Escherichia coli[J]. Advances in Bioscience and Clinical Medicine,2021,9(1):4 - 7.

- [7] 张 雨,苏丹丹,王亚男,等. 旱生植物苦豆子研究综述[J]. 中国野生植物资源,2021,40(09):55 - 58. Zhang Y, Su D D, Wang Y N, et al. The review of xerophyte plant Sophora alopecuroides[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2021,40(09):4 - 7.
- [8] Lei L, Zhao Y, Shi K, et al. Phytotoxic Activity of Alkaloids in the Desert Plant Sophora alopecuroides[J]. Toxins (Basel), 2021,13(10):706.
- [9] Luo D, Lin Q, Tan J L, et al. Water - soluble matrine - type alkaloids with potential anti - neuroinflammatory activities from the seeds of Sophora alopecuroides [J]. Bioorg Chem, 2021, 116:105337.
- [10] Petrovic P, Ivanovic K, Oecture C, et al. Immobilization of Chaga extract in alginate beads for modified release: Simplicity meets efficiency[J]. Chemical Industry,2019,73(5):325 - 335.
- [11] Zhou T, Li Z, Kang O H, et al. Antimicrobial activity and synergism of ursolic acid 3 - O - α - L - arabinopyranoside with oxacillin against methicillin - resistant Staphylococcus aureus[J]. Int J Mol Med,2017,40(4):1285 - 1293.
- [12] Tichaczek - Goska D, Gleńsk M, Wojnicz D. The Enhancement of the Photodynamic Therapy and Ciprofloxacin Activity against Uropathogenic Escherichia coli Strains by Polypodium vulgare Rhizome Aqueous Extract[J]. Pathogens,2021,10(12):1544.
- [13] Saeloh D, Visutthi M. Efficacy of Thai Plant Extracts for Antibacterial and Anti - Biofilm Activities against Pathogenic Bacteria[J]. Antibiotics (Basel),2021,10(12):1470.
- [14] Shelenvov A. Whole - Genome Sequencing of Pathogenic Bacteria - New Insights into Antibiotic Resistance Spreading[J]. Microorganisms, 2021,9(12):2624.
- [15] 张腾月,黄思涵,戴 悦,等. 白头翁散与其他中药联合对大肠杆菌的体外抑菌效果[J]. 中兽医医药杂志,2022,41(02):78 - 81. Zhang T Y, Huang S H, Dai Y, et al. Antibacterial effect of Baitouweng San combined with other traditional Chinese medicines on Escherichia coli *in vitro*[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine,2022,41(02):78 - 81.
- [16] 张子越. 马齿苋水煎液体外抑制大肠杆菌和痢疾杆菌的作用机制的研究[D]. 泰安:山东农业大学. Zhang Z Y. Study on the mechanism of Purslane Decoction in inhibiting E. coli and Dysentery *in vitro*[D]. Taian:Shandong Agricultural University.
- [17] Hossain M A, Park H C, Park S W, et al. Synergism of the

- Combination of Traditional Antibiotics and Novel Phenolic Compounds against *Escherichia coli* [J]. *Pathogens*, 2020, 9 (10):811.
- [18] 徐素萍, 刘增援, 吴永继, 等. 黄柏水提物联合抗菌药对产 ESBLs 大肠杆菌的抑菌效果[J]. *南方农业学报*, 2016, 47 (03):500-505. Xu S P, Liu Z Y, Wu Y J, *et al.* Antibacterial effects of phellodendron amurense rupr water extracts combined with antimicrobials on ESBLs - producing *Escherichia coli* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(03):500-505.
- [19] Nourbakhsh F, Nasrollahzadeh M S, Tajani A S, *et al.* Bacterial biofilms and their resistance mechanisms: a brief look at treatment with natural agents[J]. *Folia Microbiol (Praha)*, 2022.
- [20] Ruan X, Deng X, Tan M, *et al.* In vitro antibiofilm activity of resveratrol against avian pathogenic *Escherichia coli* [J]. *BMC Vet Res*, 2021, 17(1):249.
- [21] 张森, 龙征荣, 欧婧, 等. 苗药白接骨醇提物对耐药性猪源大肠杆菌体外抑菌效果观察[J]. *中国兽药杂志*, 2018, 52(06):26-33.
- Zhang S, Long Z R, Ou J, *et al.* The bacteriostatic effect of *Asystasia neesiana* (Wall.) Lindua Alcohol extraction on antibiotic-resistant *Escherichia coli* from swine *in vitro* [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2018, 52(06):26-33.

(编辑:陈希)