

## 研究报告

## 牛呼吸道多杀性巴氏杆菌的分离鉴定及胡黄汤对其耐药性的消除作用

张惠玲<sup>1#</sup>, 尹凯雯<sup>1#</sup>, 樊宏亮<sup>2</sup>, 施伟<sup>1</sup>, 夏东旭<sup>1</sup>, 丁瑞<sup>1</sup>, 赵红霞<sup>1\*</sup>

1 内蒙古农业大学 兽医学院, 内蒙古 呼和浩特 010010

2 内蒙古优然牧业有限责任公司, 内蒙古 呼和浩特 010010

张惠玲, 尹凯雯, 樊宏亮, 施伟, 夏东旭, 丁瑞, 赵红霞. 牛呼吸道多杀性巴氏杆菌的分离鉴定及胡黄汤对其耐药性的消除作用[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 420-436.

ZHANG Huiling, YIN Kaiwen, FAN Hongliang, SHI Wei, XIA Dongxu, DING Rui, ZHAO Hongxia. Isolation and identification of *Pasteurella multocida* from bovine respiratory tract and evaluation of the attenuating effects of Huhuang decoction on its drug resistance[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 420-436.

**摘要:**【背景】多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)是导致我国牛只患呼吸道疾病的主要病原, 越来越多的多杀性巴氏杆菌表现出多重耐药性。【目的】了解不同地区牛呼吸道多杀性巴氏杆菌的流行情况和耐药性, 探究中药对耐药多杀性巴氏杆菌耐药性的消除效果。【方法】对不同地区采集的病牛肺组织和鼻拭子进行病原菌分离培养、生化鉴定、分子生物学鉴定; K-B 法检测分离菌株的药物敏感性, 利用 PCR 法检测分离菌株耐药基因携带情况; 之后进行耐药性消除试验, 采用微量稀释法测定胡黄汤及其组分对分离株的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC), 将菌株与 1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC 浓度药物分别作用 24、48、72 h 后, 观测菌株药物敏感性变化。【结果】分离获得 10 株疑似多杀性巴氏杆菌, 在血琼脂培养基上生长良好, 无溶血现象, 表面可见光滑凸起、圆形、灰白色的均一菌落, 瑞氏染色呈两极着色的短杆菌, 生化鉴定结果与多杀性巴氏杆菌一致, 特异性基因 *kmt1* 扩增片段大小与预期一致; 荚膜血清分型结果显示, 8 株分离株为 A 型, 2 株为 D 型。药敏试验结果显示, 7 株分离菌对链霉素耐药, 耐药率为 70%, 对庆大霉素、氧氟沙星、阿莫西林等耐药率分别为 60%、60%、50%。对阿米卡星、卡那霉素、环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星和复方新诺明的耐药率为 10%–40%, 其中有 5 株为多重耐药菌株, 占分离菌株总数的 50%。耐药基因检测结果显示, 所有菌株均携带 *strA*、*strB*、*bla<sub>ROB-1</sub>* 耐药基因, 6 株

资助项目: 内蒙古自治区科技重大专项(2021ZD0013); 内蒙古自治区一流学科科研专项(YLXKZX-NND-012)

This work was supported by the Science and Technology Major Special Project of Inner Mongolia Autonomous Region (2021ZD0013) and the First Class Discipline Research Special Project of Inner Mongolia Autonomous Region (YLXKZX-NND-012).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: Zhaohongxia@imau.edu.cn

Received: 2025-05-14; Accepted: 2025-06-19; Published online: 2025-07-10

携带 *aac(6')-Ib-cr* 耐药基因, 检出率为 60%, *Sul1*、*tetB* 和 *tetH* 耐药基因的检出率分别为 50%、30%、10%。消除试验显示, 胡黄汤和黄芩水煎液对菌株阿米卡星、卡那霉素、环丙沙星、恩诺沙星的耐药性有不同程度的消除作用, 并呈现浓度和时间依赖性, 1/2 MIC 药物浓度干预 72 h 后的耐药性消除效果最好。【结论】共分离出 10 株多杀性巴氏杆菌, 其中有 50% 的菌株呈现多重耐药性, 表明耐药菌株已是临床感染株的大多数, 胡黄汤对多重耐药多杀性巴氏杆菌有消除作用, 其中黄芩是起消除作用的主要成分。

关键词: 中药; 多杀性巴氏杆菌; 耐药性; 消除作用

## Isolation and identification of *Pasteurella multocida* from bovine respiratory tract and evaluation of the attenuating effects of Huhuang decoction on its drug resistance

ZHANG Huiling<sup>1#</sup>, YIN Kaiwen<sup>1#</sup>, FAN Hongliang<sup>2</sup>, SHI Wei<sup>1</sup>, XIA Dongxu<sup>1</sup>, DING Rui<sup>1</sup>, ZHAO Hongxia<sup>1\*</sup>

1 College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010010, Inner Mongolia, China

2 Inner Mongolia Youran Dairy Co., Ltd., Hohhot 010010, Inner Mongolia, China

**Abstract:** [Background] *Pasteurella multocida* is the major pathogen causing bovine respiratory diseases in China, and strains with multidrug resistance keep emerging. [Objective] To investigate the prevalence and drug resistance of bovine respiratory tract-derived *P. multocida* strains from different regions and evaluate the attenuating effects of traditional Chinese medicine (TCM) on the resistance of drug-resistant strains. [Methods] The pathogenic bacteria were isolated from the lung tissue samples and nasal swabs of diseased cattle and identified via biochemical and molecular methods. The K-B method was adopted to test the antimicrobial susceptibility, and resistance genes were identified by PCR. Subsequently, the test for attenuating effects on drug resistance was conducted. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of Huhuang decoction and its components against the isolates were determined by the microdilution method. Strains were exposed to antimicrobials at 1/2, 1/4, and 1/8 MIC for 24, 48, and 72 h, and changes in their antimicrobial susceptibility were assessed. [Results] Ten suspected *P. multocida* strains were isolated, showing smooth, convex, and gray-white colonies on blood agar, with no hemolysis. Wright's staining showed that the cells were rod, with both ends stained. The biochemical test results of the strains were consistent with those of *P. multocida*, and the amplification product of *kmt1* showed the expected length. Capsular serotyping identified 8 strains as type A and 2 as type D. Antimicrobial susceptibility test results revealed high resistance rates to streptomycin (70%), gentamicin (60%), ofloxacin (60%), and amoxicillin (50%). The resistance rates to amikacin, kanamycin, ciprofloxacin, norfloxacin, enrofloxacin, and trimethoprim-sulfamethoxazole ranged from 10% to 40%. Five strains showcased multi-drug resistance, accounting for 50% of the total strains. The resistance genes *strA*, *strB*, and *bla<sub>ROB-1</sub>* were identified in all the isolates, while *aac(6')-Ib-cr*, *Sul1*, *tetB*, and *tetH* were found in 60%,

50%, 30%, and 10% of strains, respectively. Huhuang decoction and *Scutellariae Radix* decoction attenuated the resistance to amikacin, kanamycin, ciprofloxacin, and enrofloxacin in a concentration- and time-dependent manner. The most pronounced attenuation of resistance was observed after 72 h-exposure to the decoctions at 1/2 MIC. **[Conclusion]** A total of 10 *P. multocida* strains were isolated, among which 50% of the strains showed multi-drug resistance, indicating that multi-drug resistant strains constituted the majority of clinical isolates. Huhuang decoction demonstrated significant attenuating effects against the multidrug resistance of *P. multocida*, with *Scutellariae Radix* identified as the primary active component responsible for this effect.

**Keywords:** traditional Chinese medicine; *Pasteurella multocida*; drug resistance; attenuating effect

牛呼吸道疾病(bovine respiratory disease, BRD)又被称为“运输热”“烂肺病”,是由细菌、病毒或二者混合感染及许多其他易感因素引起的牛肺炎等疾病的总称,广泛分布于世界各地<sup>[1]</sup>。多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*, Pm)是导致我国牛只患 BRD 的重要病原之一,自 2008 年首次从患 BRD 的病死牛肺脏中分离到多杀性巴氏杆菌后<sup>[2]</sup>,各个省份都相继从暴发 BRD 的牧场中分离出多杀性巴氏杆菌。Pm 根据荚膜抗原的不同可分为 A、B、D、E、F 这 5 种血清型, BRD 主要由 A 型多杀性巴氏杆菌引起<sup>[3]</sup>。由于抗菌药物的不合理使用,越来越多的 Pm 呈现出多重耐药性,携带多种耐药基因实现对抗菌药物的耐药,使抗菌药物对 Pm 的防治效果越来越差<sup>[4]</sup>,严重威胁公共卫生安全。针对这个问题,各国学者都在寻找解决办法。研究表明,中药不仅对多重耐药菌具有抗菌活性,而且对细菌耐药性也具有不同程度的抑制作用<sup>[5-6]</sup>,但中药对多杀性巴氏杆菌耐药性的影响研究还较少。本研究对收集的各地区牛呼吸道病料中的 Pm 进行分离鉴定,通过分析其流行性和耐药性,并测定实验室前期应用临床治疗牛呼吸道疾病有良好效果的中药方剂胡黄汤及其组分对耐药多杀性巴氏杆菌的抗菌效果及耐药性消除效果,为临床防治多重耐药多杀性巴氏杆菌引起的牛呼吸道疾病提供理论依据和科学用药选择。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

病料来自内蒙古、安徽、甘肃等地区规模化牧场患呼吸道疾病的病死牛,无菌采集病死牛的肺脏、肝脏等组织器官,采集有呼吸道症状牛的鼻拭子,共 54 份。

### 1.2 培养基、主要试剂和仪器

营养肉汤培养基,广东环凯微生物科技有限公司;胰蛋白胨大豆肉汤(tryptic soy broth, TSB)培养基、胰蛋白胨大豆琼脂(tryptic soy agar, TSA)培养基、脑心浸液(brain heart infusion, BHI)琼脂培养基,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;血琼脂培养基的配制参照文献[7]。

革兰氏染色液、瑞氏染色液、无菌脱纤维绵羊血和新生牛血清,北京索莱宝科技有限公司;细菌微量生化反应管和细菌药敏纸片,杭州微生物试剂有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;2×Taq Plus Master Mix,南京诺唯赞生物科技股份有限公司;中药黄芩、黄芪、柴胡,内蒙古康倍医药有限公司。智能生化培养箱,宁波江南仪器厂;恒温振荡培养箱,太仓市实验设备厂;PCR 仪, ThermoFisher Scientific 公司;分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

### 1.3 牛呼吸道多杀性巴氏杆菌的分离与纯化

将无菌采集的病料接种于 5 mL 营养肉汤培养基, 37 °C、200 r/min 培养 16 h 后划线接种于 BHI 琼脂培养基和血琼脂培养基, 37 °C 培养 12–16 h, 观察细菌生长及溶血情况。挑取灰白色、露珠样、边缘整齐的疑似 Pm 的透明单个优势菌落, 接种于含 5% 新生牛血清的 TSB 培养基中, 37 °C、200 r/min 培养 12–16 h 后划线接种于含 5% 新生牛血清的 TSA 培养基上, 37 °C 培养 12–16 h, 挑取疑似单菌落接种于含 5% 新生牛血清的 TSB 培养基中, 37 °C、200 r/min 培养 12–16 h, 进行纯化培养。对纯化产物进行革兰氏染色、瑞氏染色, 镜检观察菌落形态特征。

### 1.4 生化鉴定

按照生化鉴定管的使用说明, 将纯化产物分别接种于果糖、乳糖、鼠李糖、甘露醇、山梨醇、淀粉(吡啶)、苯丙氨酸脱氨酶、硫化氢、硝酸盐还原等微量生化鉴定管中, 37 °C 培养 24 h 后观察其生化特性。结果参照《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[8]</sup>进行判定。

### 1.5 特异性基因鉴定及荚膜血清型分型

按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取经生化鉴定后的分离菌株的总 DNA, 参照 Townsend 等<sup>[9]</sup>方法合成 Pm 特异性引物 *kmt1* (表 1) 对分离菌株进行鉴定, 5 对荚膜血清型引物(表 1) 判定分离菌血清型。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 20 s, 55 °C 25 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 7 min。PCR 反应体系(50 μL): 2×Taq Master Mix 25 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 19 μL, 基因组 DNA 2 μL。PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 符合目的条带大小的 PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 同源性比对, 确定分离菌株是否为 Pm。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

### 1.6 多杀性巴氏杆菌体外药敏试验

使用 K-B 法测定 Pm 对 20 种抗菌药物的药物敏感性, 试验结果按照文献<sup>[10]</sup>的标准进行判定。首先将分离得到的 Pm 分别划线接种于含 5% 新生牛血清的 TSA 培养基上, 37 °C 培养 12–16 h; 挑取单菌落接种于含 5% 新生牛血

表 1 引物序列信息<sup>[9]</sup>

Table 1 Primer sequence information<sup>[9]</sup>

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'→3')	产物大小 Product length (bp)	GenBank 登录号 GenBank accession number
<i>Kmt1</i>	F: ATCCGCTATTTACCCAGTGG R: GCTGTAAACGAACTCGCCAC	460	AF016259.1
A	F: TGCCAAAATCGCAGTCAG R: TTGCCATCATTGTCAGTG	1 044	CP019081.1
B	F: CATTATCCAAGCTCCACC R: GCCCGAGAGTTTCAATCC	760	AF169324.1
D	F: TTACAAAAGAAAGACTAGGAGCCC R: CATCTACCCACTCAACCATATCAG	657	AF302465.1
E	F: TCCGCAGAAAATTATTGACTC R: GCTTGCTGCTTGATTTTGTC	511	AF302466.1
F	F: AATCGGAGAACGCAGAAATCAG R: TTCCGCCGTC AATTACTCTG	851	AY604234.1

清的 TSB 培养基中, 37 °C 培养 12 h; 分别调整菌液浓度至  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL, 得到可进行药敏试验的菌液。将准备好的菌液分别吸取 100  $\mu$ L 于含有 5% 新生牛血清的 TSA 培养基上, 待其表面菌液干燥后将药敏纸片放置于培养基上, 并轻轻按压使其紧贴于培养基表面, 培养皿倒置放置于恒温培养箱 37 °C 培养 18–24 h; 试验重复 3 次, 最后测量抑菌圈直径, 记录结果。

### 1.7 多杀性巴氏杆菌耐药基因检测

采用 PCR 方法对分离株进行耐药基因检测, 根据 GenBank 中相应的基因序列, 利用 Primer 5.0 软件分别设计 Pm 各耐药基因的引物(表 2), 交由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 反应体系同 1.5, PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 退火(退火温度见表 2) 30 s, 72 °C 45 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。

## 1.8 中药方剂胡黄汤及其组分对多杀性巴氏杆菌耐药性的影响

### 1.8.1 中药水煎液的制备

分别称取 20 g 黄芩、20 g 柴胡、10 g 黄芪放于 500 mL 水中浸泡 2 h, 先用大火煮沸再改用文火煮 30 min, 后将产物用 8 层纱布过滤, 过滤后的中药再加入蒸馏水煎煮 30 min 后过滤, 弃药渣。将 2 次煎煮所得的药液合并后用

砂锅小火烹煮浓缩至 50 mL, 使药液终浓度为 1 g/mL, 110 °C 灭菌 20 min, 于 4 °C 留存备用。其余单味药也按以上方法制备, 置于 4 °C 保存备用。

### 1.8.2 胡黄汤及其组分的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 测定

选取 6 株呈现多重耐药特性且携带多种耐药基因的分离菌株, 采用微量稀释法测定胡黄汤及其单味药水煎液对分离株的最低抑菌浓度。将分离菌株接种于含 5% 新生牛血清的 TSB 培养基中, 37 °C 培养 12–16 h 后, 使用分光光度计将菌液的含菌量调整至 0.5 麦氏单位(约  $1 \times 10^8$  CFU/mL), 即紫外可见分光光度计测定菌液在 625 nm 处的吸光度值为 0.08–0.13, 再稀释 1 000 倍, 使菌液浓度为  $1 \times 10^5$  CFU/mL。取 U 型底的 96 微孔板, 第 1 孔加入 100  $\mu$ L 药液, 前 2–12 孔各加入 50  $\mu$ L 的 TSB 培养基, 依次进行倍比稀释, 直至第 12 孔, 各孔分别加入 50  $\mu$ L 稀释好的菌液, 每孔设 3 个重复, 37 °C 培养 24 h 后将每孔分别接种于含 5% 新生牛血清的 TSA 培养基中, 37 °C 培养 16 h, 观察每孔中的细菌生长情况, 无细菌生长的最后一个孔所对应的中药浓度为该中药的 MIC。每次试验均设药液对照、空白对照、菌液对照, 试验重复 3 次。

表 2 耐药基因引物信息

Table 2 Primer information of drug resistance genes

类别 Type	基因 Gene	引物序列 Primer sequence (5'→3')	退火温度 Annealing temperature (°C)	产物大小 Product size (bp)	GenBank 登录号 GenBank accession number
氨基糖苷类 Aminoglycosides	<i>aadA25</i>	F: TATGGAGGCTTCGGCTTT R: GCTATGTTCTCTTGCTTTTGTC	55	217	NG_047352.1
	<i>aadB</i>	F: CAGTCGCCCTAAAACAAA R: CAGTCAAGTAACTCATCCCC	55	247	NG_052317.1
	<i>strA</i>	F: AAACGAGGCTGGAAAAGG R: ATCAACTGGCAGGAGGAA	53	681	EU360945.1
	<i>strB</i>	F: GTTGCTCCTCTTCCATC R: CACCTTTTCCAGCCTCGT	55	722	CP038875.1

(待续)

(续表 2)

类别 Type	基因 Gene	引物序列 Primer sequence (5'→3')	退火温度 Annealing temperature (°C)	产物大小 Product size (bp)	GenBank 登录号 GenBank accession number
喹诺酮类 Quinolones	<i>oqxA</i>	F: TACTTCTTACTACAATTACAAC R: GCGCGATAGGTTCTGTCATC	54	162	CP112895.1
	<i>oqxB</i>	F: CTATCATTATCTCTTTCTCAATT R: GGCAGCGACCTTATTGGGAT	55	162	EU283341.1
	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	F: TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA R: CTCGAATGCCTGGCGTGTTT	57	482	OP650111.1
四环素类 Tetracyclines	<i>tetA</i>	F: GTGAAACCCAACATACCCC R: GAAGGCAAGCAGGATGTAG	49	888	CP062195.1
	<i>tetB</i>	F: TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG R: GTAATGGGCCAATAACACCG	49	659	CP005933.1
	<i>tetG</i>	F: GCTCGGTGGTATCTCTGC R: AGCAACAGAATCGGGAAC	49	468	CP048792.1
	<i>tetH</i>	F: AACCAAAGTGCCTCAAATAC R: GCCATAACAGACCATCCC	55	526	NG_048193.1
β-内酰胺类 β-lactams	<i>bla<sub>TEM</sub></i>	F: GAGTATTCAACATTTTCGT R: ACCAATGCTTAATCAGTGA	55	857	CP123618.1
	<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>	F: GCAGCGCCAGTGCATCAAC R: CCGCATCAAATGCCATAAGTG	55	198	LR134488.1
	<i>bla<sub>ROB-1</sub></i>	F: CATTAAACGGCTTGTTTCGC R: CTTGCTTTGCTGCATCTTC	50	852	MW735847.1
大环内酯类 Macrolides	<i>erm42</i>	F: TGCACCATCTTACAAGGAGT R: CATGCCTGTCTTCAAGGTTT	50	173	CP045724.1
	<i>ermA</i>	F: GTTCAAGAACAATCAATACAGAG R: GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC	57	421	CP033598.1
	<i>ermB</i>	F: CGTTTACGAAATTGGAACAGGTAAA E: GAATCGAGACTTGAGTGTGC	57	359	CP038875.1
	<i>ermC</i>	F: GCTAATATTGTTTAAATCGTCAATTCC R: GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC	57	572	CP044077.1
	<i>msrE</i>	F: TTGCGTTCTATTCGTTTTTCG R: ACCATTGTTGCCCTTTG	50	830	JF769133.1
	<i>mphE</i>	F: ACAAAGATAGCCCGAAATAC R: TGACCAATCAATAACGCC	50	314	NG_047996.1
酰胺醇类 Amphenicols	<i>floR</i>	F: AGCAGACAAGTAAGCCGC R: CGAGAAGAAGACGAAGAAGG	56	878	CP014157.1
多肽类 Polypeptides	<i>mcr-1</i>	F: ATGGATCCAGTGCGCCAAAAGATACC R: GATCTCGAGTCAGCGGATGAATGCGG	58	987	CP097607.1
磺胺类 Sulfonamides	<i>Sul1</i>	F: TTCGGCATTGTGAATCTCAC R: ATGATCTAACCCTCGGTCTC	56	822	CP026859.1
	<i>Sul2</i>	F: ATGATCTAACCCTCGGTCTC R: CGGCATCGTCAACATAACC	49	722	EU360945.1
	<i>Sul3</i>	F: CAAGGCATCTGATAAAGACTTA R: TTAGATACAGATAAGGCAATTG	48	705	MT338506.1

### 1.8.3 胡黄汤及其组分对多杀性巴氏杆菌耐药性的消除作用检测

根据 1.8.2 中测得的胡黄汤及组分 MIC, 参照并改进王琪等<sup>[1]</sup>的方法, 将培养不同时间后的菌液划线接种, 新长出的消除子菌液用于后续的药物敏感性试验, 以减少中药液对试验的干扰。分别配制含有 1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC 浓度药液的 TSB 培养基, 对 Pm 进行耐药性消除试验。使用含有 5% 新生牛血清的 TSB 培养基将中药液分别稀释至 MIC、1/2 MIC、1/4 MIC 后分别加入等体积  $1 \times 10^5$  CFU/mL 的菌液, 37 °C 恒温培养, 每 24 h 取 100  $\mu$ L 培养液加入新的含有相对应浓度药液的 TSB 培养基, 同时划线接种于 TSA 培养基中, 重复上述操作至 72 h。分别得到在药物 1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC 浓度干预 24、48、72 h 后的消除子。消除子接种于含 5% 新生牛血清的 TSB 培养基中, 37 °C 恒温培养 12–16 h, 使用 1.6 的方法测定消除子的耐药性。

## 2 结果与分析

### 2.1 牛呼吸道多杀性巴氏杆菌的分离与纯化结果

本研究从 54 份牛呼吸道病料中分离得到 10 株 Pm, 分离率为 18.5%, 其中来自不同地区不同牛呼吸道病料的分离情况见表 3。分离菌株在血琼脂培养基上生长良好, 无溶血现象, 可见表面光滑凸起、圆形、灰白色的均一菌落

表 3 不同地区不同病料的菌株分离情况

Table 3 Isolation of strains from different disease materials in different regions

地区 Region	病料部位 Diseased tissue location	分离率(分离株/ 总株数) Isolation rate (%) (number of isolated strains/total number of strains)
内蒙古 Inner Mongolia	肺脏 Lung 鼻拭子 Nasal swab	3.70 (2/54) 1.85 (1/54)
甘肃 Gansu	鼻拭子 Nasal swab	11.10 (6/54)
安徽 Anhui	鼻拭子 Nasal swab	1.85 (1/54)

(图 1A); 在含 5% 新生牛血清的 TSA 培养基上形成灰白色样、边缘整齐的透明或半透明露珠状菌落(图 1B)。分离菌株为革兰氏阴性球杆菌, 单个或成对存在(图 2A); 瑞氏染色呈两极着色的短杆菌(图 2B)。符合 Pm 的菌落及形态特征。

### 2.2 生化鉴定结果

甘露醇、鼠李糖、硝酸盐还原、尿素酶、靛基质(吲哚)试验结果为阳性, 果糖、麦芽糖、山梨醇、海藻糖、乳糖、苯丙氨酸脱氨酶、H<sub>2</sub>S 试验结果为阴性。将鉴定结果与《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[8]</sup>对比分析, 符合 Pm 的生化特性。初步判定 10 株分离菌株为 Pm。

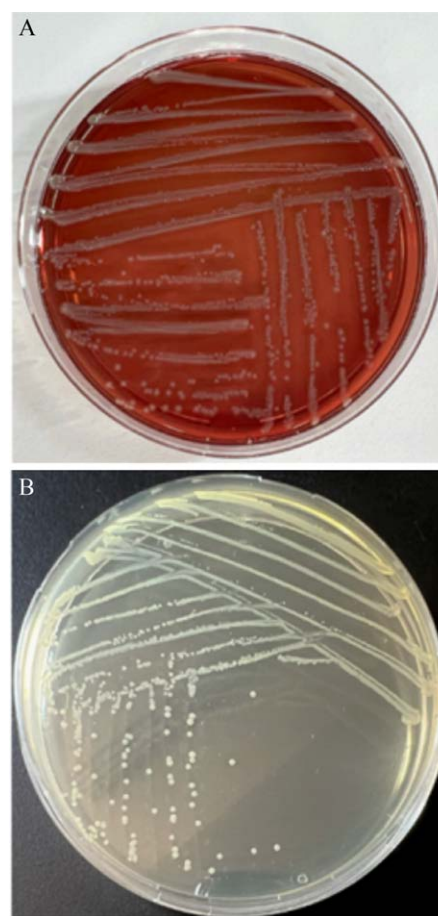


图 1 分离的多杀性巴氏杆菌在血琼脂培养基(A)和胰蛋白胨大豆琼脂培养基(B)上的菌落形态

Figure 1 Colony morphology of isolated *Pasteurella multocida* on blood agar medium (A) and tryptone soy agar medium (B).

### 2.3 特异性基因鉴定及荚膜血清型分型结果

对扩增的 10 株 Pm 特异性基因 *kmt1* 的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳, 目的条带均在 460 bp 左右, 与阳性对照一致, 符合预期条带大小(图 3)。PCR 产物测序结果进行 BLAST 比对后均确定为多杀性巴氏杆菌。其中 8 株为 A 型 Pm, 目的条带均在 1 044 bp 左右, 符合预期条带大小(图 4); 2 株为 D 型 Pm, 目的条带均在 657 bp 左右, 符合预期条带大小(图 5); 未扩增出荚膜血清 B、E、F 型。

### 2.4 多杀性巴氏杆菌体外药敏试验结果

#### 2.4.1 多杀性巴氏杆菌耐药表型确定

10 株 Pm 对 20 种抗菌药物的药敏试验结果

见表 4。由表 4 可知, 分离菌株对头孢曲松、头孢噻肟、头孢吡肟、多西环素、氨苄西林/舒巴坦、替米考星、氟苯尼考和多黏菌素 B 完全敏感, 敏感率为 100%; 对四环素较为敏感, 敏感率为 90%; 对阿米卡星、卡那霉素、诺氟沙星和红霉素多处于中介, 中介率分别为 40%、70%、40%、40%; 对链霉素耐药率为 70%; 对庆大霉素、氧氟沙星、阿莫西林耐药率分别为 60%、60%、50%。

#### 2.4.2 多杀性巴氏杆菌多重耐药情况

分离得到的 10 株牛呼吸道 Pm 耐药谱见表 5。由表 5 可知, 有 7 株对 3 种以上抗生素耐药, 占分离菌株总数的 70%, 5 株为多重耐药菌株。其中 Pm8 的耐药性最强, 对 8 种抗生素耐药。

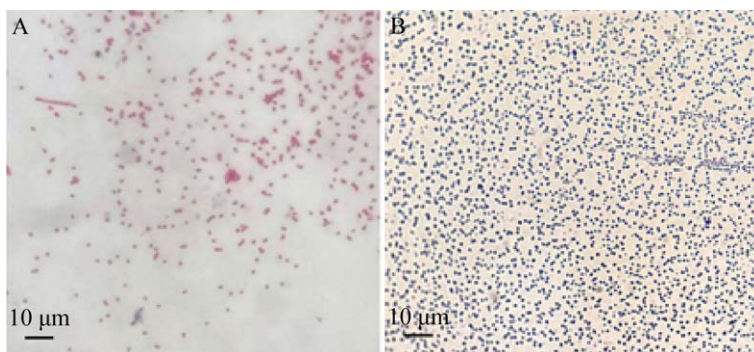


图 2 分离的多杀性巴氏杆菌的革兰氏染色镜检结果(A)和瑞氏染色镜检结果(B) (1 000×)

Figure 2 Gram staining (A) and Wright staining microscopy results (B) of isolated *Pasteurella multocida* (B) (1 000×).

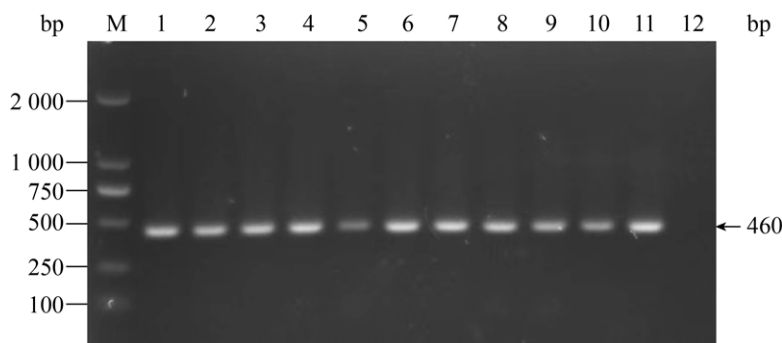


图 3 *kmt1* 基因的 PCR 扩增电泳图 M: DL2000 DNA marker; 1-10: 菌株 Pm1-Pm10 PCR 扩增产物; 11: 阳性对照; 12: 阴性对照。

Figure 3 PCR amplification electropherogram of *kmt1* gene. M: DL2000 DNA marker; 1-10: PCR amplification product of Pm1-Pm10; 11: Positive control; 12: Negative control.

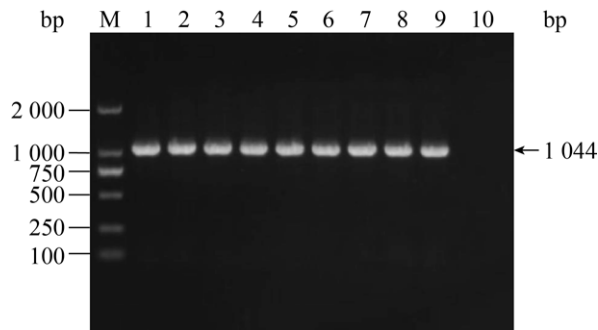


图4 A型基因PCR扩增电泳图 M: DL2000 DNA marker; 1-8: Pm1-Pm8 PCR扩增产物; 9: 阳性对照; 10: 阴性对照。

Figure 4 PCR amplification electropherogram of type A gene. M: DL2000 DNA marker; 1-8: PCR amplification product of Pm1-Pm8; 9: Positive control; 10: Negative control.

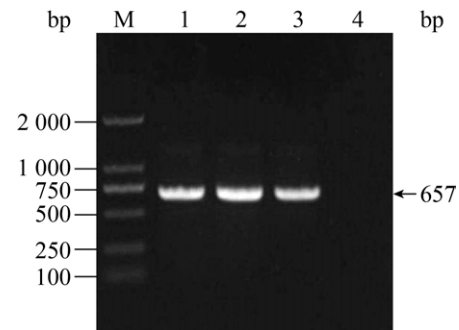


图5 D型基因PCR扩增电泳图 M: DL2000 DNA marker; 1: Pm9 PCR扩增产物; 2: Pm10 PCR扩增产物; 3: 阳性对照; 4: 阴性对照。

Figure 5 PCR amplification electropherogram of type D gene. M: DL2000 DNA marker; 1: PCR amplification product of Pm9; 2: PCR amplification product of Pm10; 3: Positive control; 4: Negative control.

表4 分离菌株的药物敏感性试验结果

Table 4 Results of drug susceptibility testing of isolated strains

药物种类 Drug category	抗菌药物 Antibacterial agent	S (%)	I (%)	R (%)
氨基糖苷类 Aminoglycosides	链霉素 Streptomycin (S)	10 (1/10)	20 (2/10)	70 (7/10)
	阿米卡星 Amikacin (AMK)	40 (4/10)	40 (4/10)	20 (2/10)
	卡那霉素 Kanamycin (KAN)	20 (2/10)	70 (7/10)	10 (1/10)
	庆大霉素 Gentamicin (GM)	40 (4/10)	0 (0/10)	60 (6/10)
氟喹诺酮类 Fluoroquinolones	环丙沙星 Ciprofloxacin (CIP)	40 (4/10)	30 (3/10)	30 (3/10)
	氧氟沙星 Ofloxacin (OFX)	40 (4/10)	0 (0/10)	60 (6/10)
	诺氟沙星 Norfloxacin (NOR)	40 (4/10)	40 (4/10)	20 (2/10)
	恩诺沙星 Enrofloxacin (ENR)	40 (4/10)	30 (3/10)	30 (3/10)
四环素类 Tetracyclines	四环素 Tetracycline (TET)	90 (9/10)	10 (1/10)	0 (0/10)
	多西环素 Doxycycline (DOX)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
β-内酰胺类 β-lactams	阿莫西林 Amoxicillin (AMX)	30 (3/10)	20 (2/10)	50 (5/10)
	头孢噻肟 Cefotaxime (CTX)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
	头孢曲松 Ceftriaxone (CRO)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
	头孢吡肟 Cefepime (FEP)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
	氨苄西林/舒巴坦 Ampicillin/Sulbactam (SAM)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
大环内酯类 Macrolides	红霉素 Erythromycin (E)	60 (6/10)	40 (4/10)	0 (0/10)
	替米考星 Tilmicosin (TIL)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
酰胺醇类 Amphenicols	氟苯尼考 Florfenicol (FFC)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
多肽类 Polypeptides	多黏菌素 B Polymyxin B (PB)	100 (10/10)	0 (0/10)	0 (0/10)
磺胺类 Sulfonamides	复方新诺明 Sulfamethoxazole-trimethoprim (SXT)	40 (4/10)	20 (2/10)	40 (4/10)

S: 敏感; I: 中介; R: 耐药。下同。

S: Sensitive; I: Intermediate; R: Resistant. The same below.

表 5 分离菌株的耐药谱型

Table 5 Resistant phenotype of isolated strains

菌株	耐药数量	耐药谱
Strain	Number of drug resistance	Resistant spectrum
Pm1	3	S, GM, AMX
Pm2	5	S, CIP, OFX, NOR, AMX
Pm3	7	S, KAN, GM, CIP, ENR, OFX, SXT
Pm4	6	S, AMK, GM, OFX, SXT, AMX
Pm5	4	S, GM, OFX, NOR
Pm6	1	SXT
Pm7	5	S, GM, ENR, OFX, AMX
Pm8	8	S, AMK, GM, CIP, ENR, OFX, SXT, AMX
Pm9	0	-
Pm10	0	-

S: 链霉素; AMK: 阿米卡星; KAN: 卡那霉素; GM: 庆大霉素; CIP: 环丙沙星; ENR: 恩诺沙星; OFX: 氧氟沙星; NOR: 诺氟沙星; SXT: 复方新诺明; AMX: 阿莫西林。

S: Streptomycin; AMK: Amikacin; KAN: Kanamycin; GM: Gentamicin; CIP: Ciprofloxacin; ENR: Enrofloxacin; OFX: Ofloxacin; NOR: Norfloxacin; SXT: Sulfamethoxazole-trimethoprim; AMX: Amoxicillin.

## 2.5 多杀性巴氏杆菌耐药基因检测结果

10 株 Pm 相关耐药基因的检出结果见表 6, 其中 *strA*、*strB*、*bla<sub>ROB-1</sub>* 基因的检出率均为 100%; *Sul1* 基因检出 5 株, 占分离菌株总数的 50%; *aac(6')-Ib-cr* 基因检出 6 株, 占分离菌株总数的 60%; *tetH* 基因检出 1 株, 占分离菌株总数的 10%; *tetB* 基因检出 3 株, 占分离菌株总数的 30%。*aadA25*、*aadB*、*oqxA*、*oqxB*、*Sul2*、*Sul3*、*tetA*、*tetG*、*erm42*、*ermA*、*ermB*、*ermC*、*msrE*、*mphE*、*bla<sub>OXA-1</sub>*、*bla<sub>TEM</sub>*、*floR*、*mcr-1* 耐药基因均未被检出。

## 2.6 中药方剂胡黄汤及其组分对多杀性巴氏杆菌耐药性影响试验的结果

根据 2.4 与 2.5 的结果, 选择呈现多重耐药的 6 株牛呼吸道 Pm 进行验证, 分别为 Pm2、Pm3、Pm4、Pm5、Pm7、Pm8。

表 6 耐药基因检出结果

Table 6 Results of drug resistance gene detection

耐药基因	菌株检出率(检出株数/总株数)
Drug resistance gene	Detection rate of strain (%) (number of positive strains/total number of strains)
<i>aadA25</i>	0 (0/10)
<i>aadB</i>	0 (0/10)
<i>strA</i>	100 (10/10)
<i>strB</i>	100 (10/10)
<i>oqxA</i>	0 (0/10)
<i>oqxB</i>	0 (0/10)
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	60 (6/10)
<i>Sul1</i>	50 (5/10)
<i>Sul2</i>	0 (0/10)
<i>Sul3</i>	0 (0/10)
<i>tetA</i>	0 (0/10)
<i>tetB</i>	30 (3/10)
<i>tetG</i>	0 (0/10)
<i>tetH</i>	10 (1/10)
<i>erm42</i>	0 (0/10)
<i>ermA</i>	0 (0/10)
<i>ermB</i>	0 (0/10)
<i>ermC</i>	0 (0/10)
<i>msrE</i>	0 (0/10)
<i>mphE</i>	0 (0/10)
<i>bla<sub>TEM</sub></i>	0 (0/10)
<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>	0 (0/10)
<i>bla<sub>ROB-1</sub></i>	100 (10/10)
<i>floR</i>	0 (0/10)
<i>mcr-1</i>	0 (0/10)

### 2.6.1 胡黄汤及其组分 MIC 测定结果

胡黄汤及其单味药对 6 株多重耐药 Pm 的 MIC 测定结果见表 7。所有试验组阳性对照均浑浊, 空白对照组均澄清透明。由表 7 可知, 黄芩对 Pm 的抑菌效果最好, 为胡黄汤主要抑菌成分。

### 2.6.2 胡黄汤对多杀性巴氏杆菌耐药性的消除作用

使用不同浓度胡黄汤干预不同时间后, 观测药敏结果发现, 胡黄汤对氨基糖苷类抗菌药物阿米卡星、卡那霉素和喹诺酮类抗菌药物环

表 7 中药最小抑菌浓度测定结果

Table 7 The result of MIC of traditional Chinese medicine

试验菌株	MIC (g/mL)			
Tested strain	胡黄汤 Huhuang decoction	黄芩汤 <i>Scutellariae Radix</i> decoction	柴胡汤 <i>Bupleurum</i> decoction	黄芪汤 <i>Astragalus</i> root decoction
Pm2	0.250	0.062 5	0.25	0.25
Pm3	0.250	0.062 5	0.50	0.25
Pm4	0.250	0.125 0	0.25	0.25
Pm5	0.250	0.062 5	0.50	0.50
Pm7	0.250	0.062 5	0.50	0.50
Pm8	0.125	0.062 5	0.50	0.50

丙沙星、恩诺沙星的耐药性有消除作用。胡黄汤干预 24 h 后, 1/2 MIC 浓度可使 Pm7 对阿米卡星表现敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm3、Pm7 对阿米卡星表现敏感; 1/2 MIC 及 1/4 MIC 浓度可使 Pm4、Pm5、Pm7、Pm8 对卡那霉素的敏感性从中介到敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm3 对卡那霉素由耐药转为中介。干预 48 h 后, 1/2 MIC 浓度可使 Pm5、Pm7 对阿米卡星敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm3、Pm5 和 Pm7 对阿米卡星敏感; 1/2 MIC 浓度可使 Pm2、Pm4、Pm5、Pm7 和 Pm8 对卡那霉素表现敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm5、Pm7 和 Pm8 对卡那霉素表现敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm7 对卡那霉素表现敏感; 1/2 MIC 浓度使 Pm2 对环丙沙星从耐药到中介; 1/2 MIC 浓度使 Pm5 表现对恩诺沙星敏感, 使 Pm3、Pm7 和 Pm8 表现对恩诺沙星中介, 1/4 MIC 浓度使 Pm3 表现对恩诺沙星中介。干预 72 h 后, 1/2 MIC 浓度可使 Pm2、Pm3、Pm5 和 Pm7 表现对阿米卡星敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm3、Pm7 表现对阿米卡星的敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm4 对阿米卡星由耐药转为中介; 1/2 MIC 浓度可使 Pm2、Pm4、Pm5、Pm7 和 Pm8 表现对卡那霉素敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm2、Pm5、Pm7 和 Pm8 表现对卡那霉素敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm5 和 Pm7 表现对卡那霉素敏感; 1/2 MIC 浓度可使 Pm3 和 Pm5 表现对环丙沙星敏感, Pm2 和 Pm8 表现对环丙沙星中介, 1/4 MIC 浓度可使 Pm2 表现对环丙沙星中介; 1/2 MIC 浓

度可使 Pm3 和 Pm5 表现对恩诺沙星敏感, 使 Pm7 和 Pm8 表现对恩诺沙星中介; 1/4 MIC 浓度可使 Pm3 和 Pm7 表现对恩诺沙星中介。其余时间和浓度没有改变菌株的药物敏感性(表 8)。

### 2.6.3 黄芩水煎液对多杀性巴氏杆菌耐药性的消除作用

使用不同浓度黄芩水煎液干预不同时间后, 观测药敏结果发现, 黄芩水煎液对氨基糖苷类抗菌药物阿米卡星、卡那霉素和喹诺酮类抗菌药物环丙沙星、恩诺沙星的耐药性有消除作用。在黄芩水煎液干预 24 h 后, 1/2 MIC 和 1/4 MIC 浓度均可使 Pm7 表现对阿米卡星敏感; 1/2 MIC 浓度可使 Pm4 和 Pm7 表现对卡那霉素敏感。干预 48 h 后, 1/2 MIC 浓度可使 Pm2、Pm3、Pm5 和 Pm7 表现对阿米卡星敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm3、Pm5 和 Pm7 表现对阿米卡星敏感; 1/2 MIC 可使 6 株 Pm 全部表现对卡那霉素敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm7 表现对卡那霉素敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm3 表现对卡那霉素中介; 1/2 MIC 浓度可使 Pm2 和 Pm3 对环丙沙星表现中介; 1/2 MIC 浓度可使 Pm5 对恩诺沙星表现敏感, 可使 Pm3 和 Pm7 对恩诺沙星表现中介, 1/4 MIC 可使 Pm2、Pm3 和 Pm7 对恩诺沙星表现中介。干预 72 h 后, 1/2 MIC 浓度可使 6 株 Pm 全部表现对阿米卡星、卡那霉素敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm2、Pm3、Pm4、Pm5 和 Pm7 表现对阿米卡星、卡那霉素敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm5 表现对阿米卡星、卡那霉素敏感;

表 8 不同浓度胡黄汤干预不同时间后多杀性巴氏杆菌的药物敏感性测定结果

Table 8 Results of drug susceptibility test of *Pasteurella multocida* after intervention with Huhuang decoction at different concentrations and time

抗菌药物 Antibacterial agent	试验 菌株 Tested strain	干预前药敏	干预 24 h 后药敏结果			干预 48 h 后药敏结果			干预 72 h 后药敏结果		
		结果(敏感性)	(敏感性)			(敏感性)			(敏感性)		
		Drug susceptibility results before intervention (sensitivity)	Drug susceptibility results after intervention 24 h (sensitivity)			Drug susceptibility results after intervention 48 h (sensitivity)			Drug susceptibility results after intervention 72 h (sensitivity)		
		1/2 MIC	1/4 MIC	1/8 MIC	1/2 MIC	1/4 MIC	1/8 MIC	1/2 MIC	1/4 MIC	1/8 MIC	
阿米卡星 Amikacin (AMK)	Pm2	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	15.0 (R)	15.0 (R)	18.5 (S)	15.5 (I)	15.0 (R)
	Pm3	15.5 (I)	15.0 (R)	16.0 (S)	15.0 (R)	15.5 (I)	16.5 (S)	15.5 (I)	18.0 (S)	17.0 (S)	15.5 (I)
	Pm4	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	15.5 (I)	15.5 (I)	15.0 (R)	15.5 (I)	15.0 (R)	15.5 (I)
	Pm5	15.5 (I)	15.0 (R)	15.5 (I)	15.0 (R)	16.0 (S)	16.0 (S)	15.5 (I)	18.0 (S)	15.0 (R)	15.5 (I)
	Pm7	15.5 (I)	16.0 (S)	16.0 (S)	15.5 (I)	17.0 (S)	16.0 (S)	15.5 (I)	17.5 (S)	17.0 (S)	15.5 (I)
卡那霉素 Kanamycin (KAN)	Pm2	16.0 (I)	16.0 (I)	16.0 (I)	16.0 (I)	17.0 (S)	16.5 (I)	16.0 (I)	17.0 (S)	17.5 (S)	16.5 (I)
	Pm3	14.0 (R)	14.0 (R)	14.0 (R)	15.0 (I)	15.0 (I)	15.0 (I)	15.0 (I)	16.0 (I)	14.5 (I)	16.0 (I)
	Pm4	16.5 (I)	17.0 (S)	17.0 (S)	16.5 (I)	17.0 (S)	16.5 (I)	16.5 (I)	18.5 (S)	16.5 (I)	16.0 (I)
	Pm5	16.0 (I)	17.0 (S)	17.0 (S)	16.0 (I)	18.0 (S)	17.5 (S)	16.0 (I)	20.0 (S)	18.0 (S)	17.0 (S)
	Pm7	16.5 (I)	19.0 (S)	17.0 (S)	16.5 (I)	20.0 (S)	18.0 (S)	17.0 (S)	21.0 (S)	19.0 (S)	17.5 (S)
环丙沙星 Ciprofloxacin (CIP)	Pm2	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	17.0 (I)	15.0 (R)	15.5 (R)	18.0 (I)	17.0 (I)	15.5 (R)
	Pm3	15.0 (R)	15.0 (R)	15.5 (R)	15.0 (R)	16.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	20.0 (S)	16.0 (R)	15.0 (R)
	Pm4	16.5 (I)	16.5 (I)	17.0 (I)	16.5 (I)	16.0 (R)	16.5 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)
	Pm5	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	15.0 (R)	18.0 (I)	17.0 (I)	20.0 (S)	19.0 (I)	17.5 (I)
	Pm7	16.5 (I)	16.5 (I)	16.5 (I)	16.5 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	18.5 (I)	19.0 (I)	18.0 (I)
恩诺沙星 Enrofloxacin (ENR)	Pm2	17.5 (I)	17.5 (I)	18.0 (I)	17.0 (R)	17.5 (I)	19.0 (I)	17.0 (R)	18.0 (I)	19.5 (I)	17.5 (I)
	Pm3	16.0 (R)	16.5 (R)	17.0 (I)	16.0 (R)	17.0 (I)	18.5 (I)	16.5 (R)	21.0 (S)	19.0 (I)	16.0 (R)
	Pm4	17.5 (I)	16.0 (R)	18.0 (I)	17.5 (I)	17.0 (I)	18.5 (I)	18.0 (I)	17.0 (I)	18.5 (I)	17.5 (I)
	Pm5	17.5 (I)	18.0 (I)	18.5 (I)	17.0 (R)	20.0 (S)	18.0 (I)	17.5 (I)	20.5 (S)	18.5 (I)	17.5 (I)
	Pm7	16.0 (R)	16.0 (R)	17.5 (I)	16.0 (R)	17.5 (I)	17.0 (R)	17.0 (R)	19.0 (I)	19.5 (I)	17.0 (R)
Pm8	13.0 (R)	15.0 (R)	14.0 (R)	13.0 (R)	16.5 (I)	15.5 (R)	13.0 (R)	18.0 (I)	16.0 (R)	13.0 (R)	

1/2 MIC 浓度可使 Pm2、Pm3、Pm5 和 Pm7 对环丙沙星表现敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm7 对环丙沙星表现敏感, 使 Pm2、Pm3、Pm8 对环丙沙星表现中介, 1/8 MIC 浓度可使 Pm2 和 Pm3 对环丙沙星表现中介; 1/2 MIC 浓度可使 Pm2、Pm3、Pm4 和 Pm5 对恩诺沙星表现敏感, 1/4 MIC 浓度可使 Pm2、Pm4、Pm5 和 Pm7 对恩诺沙星表现敏感, 1/8 MIC 浓度可使 Pm3 和

Pm7 对恩诺沙星表现中介。其余时间和浓度没有改变菌株的药物敏感性(表 9)。

#### 2.6.4 柴胡及黄芪水煎液对多杀性巴氏杆菌的耐药性消除试验

不同浓度柴胡及黄芪水煎液干预不同时间对消除 Pm 耐药性的药物敏感性试验结果显示, 在干预 24、48、72 h 后, 1/2 MIC、1/4 MIC 和 1/8 MIC 浓度均无法改变 6 株 Pm 对阿米卡

表 9 不同浓度黄芩水煎液干预不同时间后多杀性巴氏杆菌的药物敏感性测定结果

Table 9 Results of drug susceptibility test of *Pasteurella multocida* after intervention with *Scutellariae Radix* decoction at different concentrations and time

抗菌药物 Antibacterial agent	试验 菌株 Tested strain	干预前药敏	干预 24 h 后药敏结果			干预 48 h 后药敏结果			干预 72 h 后药敏结果		
		结果(敏感性)	(敏感性)			(敏感性)			(敏感性)		
		Drug susceptibility results before intervention (sensitivity)	Drug susceptibility results after intervention 24 h (sensitivity)			Drug susceptibility results after intervention 48 h (sensitivity)			Drug susceptibility results after intervention 72 h (sensitivity)		
		1/2 MIC	1/4 MIC	1/8 MIC	1/2 MIC	1/4 MIC	1/8 MIC	1/2 MIC	1/4 MIC	1/8 MIC	
阿米卡星 Amikacin (AMK)	Pm2	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	18.0 (S)	15.5 (I)	15.5 (I)	20.0 (S)	19.0 (S)	15.5 (I)
	Pm3	15.5 (I)	15.5 (I)	15.0 (R)	15.0 (R)	17.0 (S)	16.0 (S)	15.5 (I)	18.0 (S)	17.0 (S)	15.5 (I)
	Pm4	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	15.5 (I)	15.0 (R)	15.0 (R)	17.0 (S)	18.0 (S)	15.0 (R)
	Pm5	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	15.5 (I)	17.0 (S)	18.0 (S)	15.5 (I)	20.0 (S)	20.0 (S)	17.0 (S)
	Pm7	15.5 (I)	17.0 (S)	16.0 (S)	15.5 (I)	18.0 (S)	18.0 (S)	15.0 (R)	18.0 (S)	19.5 (S)	15.5 (I)
卡那霉素 Kanamycin (KAN)	Pm2	16.0 (I)	16.0 (I)	16.0 (I)	16.0 (I)	17.0 (S)	16.5 (I)	16.0 (I)	19.0 (S)	19.0 (S)	16.0 (I)
	Pm3	14.0 (R)	16.5 (I)	14.0 (R)	14.0 (R)	17.0 (S)	16.0 (I)	15.0 (I)	17.5 (S)	19.0 (S)	15.0 (I)
	Pm4	16.5 (I)	18.0 (S)	16.5 (I)	16.5 (I)	18.0 (S)	16.5 (I)	16.5 (I)	19.0 (S)	18.0 (S)	16.0 (I)
	Pm5	16.0 (I)	16.0 (I)	16.0 (I)	16.0 (I)	19.0 (S)	16.5 (I)	16.5 (I)	20.0 (S)	19.5 (S)	17.0 (S)
	Pm7	16.5 (I)	19.0 (S)	16.5 (I)	16.5 (I)	21.0 (S)	17.0 (S)	16.5 (I)	21.0 (S)	18.0 (S)	16.5 (I)
环丙沙星 Ciprofloxacin (CIP)	Pm2	15.0 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	16.0 (R)	18.0 (I)	16.0 (R)	16.0 (R)	20.0 (S)	17.0 (I)	17.0 (I)
	Pm3	15.0 (R)	15.5 (R)	15.0 (R)	15.0 (R)	17.0 (I)	15.5 (R)	15.5 (R)	20.0 (S)	17.0 (I)	17.0 (I)
	Pm4	16.5 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	18.0 (I)	18.0 (I)	18.0 (I)	17.5 (I)
	Pm5	17.0 (I)	18.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	18.0 (I)	18.0 (I)	17.0 (I)	20.5 (S)	18.5 (I)	17.5 (I)
	Pm7	16.5 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	17.0 (I)	18.5 (I)	17.0 (I)	18.0 (I)	21.0 (S)	20.5 (S)	18.5 (I)
恩诺沙星 Enrofloxacin (ENR)	Pm2	17.5 (I)	17.5 (I)	18.5 (I)	17.5 (I)	17.5 (I)	19.0 (I)	18.0 (I)	20.0 (S)	20.0 (S)	18.0 (I)
	Pm3	16.0 (R)	17.0 (R)	17.0 (R)	17.0 (R)	18.0 (I)	18.0 (I)	17.0 (R)	20.5 (S)	19.5 (I)	18.0 (I)
	Pm4	17.5 (I)	18.0 (I)	18.0 (I)	17.0 (R)	18.5 (I)	19.0 (I)	18.0 (I)	20.0 (S)	20.0 (S)	18.0 (I)
	Pm5	17.5 (I)	18.5 (I)	18.5 (I)	17.5 (I)	20.0 (S)	19.5 (I)	18.0 (I)	21.5 (S)	20.5 (S)	18.0 (I)
	Pm7	16.0 (R)	17.0 (R)	17.5 (I)	16.5 (R)	18.0 (I)	19.0 (I)	17.0 (R)	19.0 (I)	21.0 (S)	18.0 (I)
Pm8	13.0 (R)	15.0 (R)	14.0 (R)	14.0 (R)	16.0 (R)	16.5 (R)	14.0 (R)	18.0 (I)	17.0 (R)	15.0 (R)	

星、卡那霉素、环丙沙星和恩诺沙星的药物敏感性，柴胡及黄芪不是胡黄汤消除 Pm 耐药性的有效成分。

### 3 讨论

Pm 作为引起牛呼吸道疾病的主要病原菌之一，近年来国内外由 Pm 引起的牛呼吸道疾

病不断增加，给牛养殖业带来了巨大的经济损失<sup>[3]</sup>。本研究从 54 份牛呼吸道病料中分离得到 10 株 Pm，分离率为 18.5%。其中 A 型 Pm 8 株，占分离菌总数的 80%；D 型 Pm 2 株，占分离菌总数的 20%。朱杰等<sup>[12]</sup>采集内蒙古、河北和广东地区患有牛呼吸道疾病的牛鼻拭子 48 份，分离得到 12 株 Pm，分离率为 25%，均为 A 型 Pm。

Gagea 等<sup>[13]</sup>对加拿大地区牛场患呼吸道疾病的 54 份病料进行病原学检测,结果显示 Pm 的分离率为 20.4%,并且荚膜血清型均为 A 型。虽引起 BRD 的多杀性巴氏杆菌多以 A 型为主,但国外文献报道偶尔也能从牛呼吸道疾病中分离出 D 型和 F 型<sup>[14]</sup>,王梓等<sup>[15]</sup>也从肉牛肺脏中分离出一株 D 型多杀性巴氏杆菌。本研究从甘肃等地病料中分离得到的 Pm 主要以 D 型为主,从内蒙古和安徽等地病料中分离得到的 Pm 主要以 A 型为主。不同国家不同地区流行情况的不同,可由饲养环境、疫苗接种情况、运输、气候等多种因素造成,也可因动物个体免疫力的不同造成感染差异。

临床治疗牛呼吸道疾病时常选用喹诺酮类、大环内酯类抗菌药物,但由于对用药剂量不科学,疗程把控不严格,常常会导致病原菌对抗菌药物敏感度下降,给疾病治疗带来新的问题。本研究通过体外药物敏感试验发现,3 个地区分离得到的 10 株 Pm 对临床常用的抗菌药物均有一定程度的耐药,对链霉素耐药率最高,达到 70%,其次是对庆大霉素和氧氟沙星的耐药率达 60%,对环丙沙星和恩诺沙星耐药率可达 30%。对多肽类抗菌药物多西环素、酰胺醇类抗菌药物氟苯尼卡及头孢类抗菌药物头孢吡肟等完全敏感,敏感率为 100%。袁广富等<sup>[16]</sup>对河北某牛场病死奶牛的肺脏组织进行鉴定,发现该死亡奶牛死于多杀性巴氏杆菌感染,实验发现分离得到的 Pm 对庆大霉素、卡那霉素、环丙沙星等 13 种药物耐药,仅对头孢噻肟、头孢唑林、米诺环素、恩诺沙星、氨苄西林和氟苯尼考敏感。Ali 等<sup>[17]</sup>检测了分离自巴基斯坦病牛的 77 株 Pm 的药物敏感性,发现其中 54 株对甲氧苄啶耐药,52 株对红霉素耐药,66 株对恩诺沙星表现敏感。不同地区、国家的用药习惯可能造成耐药性差异。

耐药基因检测结果显示,所有菌株均检出 *strA*、*strB* 耐药基因,其中 6 株携带 *strA*、*strB*

基因的 Pm 对 3 种氨基糖苷类药物交叉耐药。这可能与 *strA*、*strB* 基因产生氨基糖苷类钝化酶有关,包括氨基糖苷类乙酰转移酶、磷酸转乙酰酶和核苷转移酶,又因其底物特异性导致细菌对氨基糖苷类药物的交叉耐药<sup>[18]</sup>。本研究中 60% 分离株检测出 *aac(6')-Ib-cr* 基因。*aac(6')-Ib-cr*<sup>[19]</sup> 是 *aac(6')-Ib* 的变体,通过 2 个氨基酸替换获得双功能活性,可乙酰化具有哌嗪基取代基的喹诺酮类药物,从而降低药物与靶点的结合能力,导致菌体对药物耐药。四环素类耐药基因 *tetB*、*tetH* 的检出率分别为 30% 和 10%,Pm1 中检出 *tetH* 耐药基因,其对四环素表现为中介,Pm2、Pm3、Pm6 中检出 *tetB* 耐药基因,但 3 株 Pm 对四环素类药物均表现为敏感。四环素类耐药基因主要通过对四环素抗菌药物的特异性外排、核糖体保护、酶的失活及多药外排泵等 4 种方式介导菌体对四环素类抗菌药物产生耐药性<sup>[20]</sup>。本研究检出的 *tetB*、*tetH* 均属于对四环素类的特异性外排的外排泵基因,检出该耐药基因但未表现出耐药现象可能与存在耐药基因但未表达或表达量低有关。本研究中全部分离菌均检出  $\beta$ -内酰胺类耐药基因 *bla<sub>ROB-1</sub>*,检出率为 100%。其中仅 Pm6、Pm9、Pm10 对阿莫西林敏感,其余菌株均对阿莫西林不敏感。*bla<sub>ROB-1</sub>* 耐药基因主要通过产生  $\beta$ -内酰胺酶、水解抗菌药物中的  $\beta$ -内酰胺环酰胺键,使抗菌药物失活,导致菌体对抗菌药物耐药<sup>[21]</sup>,并且 *bla<sub>ROB-1</sub>* 能够介导细菌对阿莫西林耐药,与本研究结果相符。本研究中磺胺类耐药基因 *Sul1* 的检出率为 50%,分别在 Pm3、Pm4、Pm6、Pm8、Pm9 中被检测出,其中 Pm3、Pm4、Pm6、Pm8 对磺胺类抗菌药物耐药,Pm9 表现为中介,耐药表型与耐药基因携带情况相统一。

本研究分离得到的牛呼吸道 Pm 中,存在 5 株多重耐药 Pm,占分离菌总数的 50%。病原菌耐药率的上升给临床治疗带来了极大的影响。而与抗菌药物相比,中药作为我国本土有效治疗

手段,具有来源广、易获得、毒副作用小、不易产生耐药性<sup>[22]</sup>等许多优势。本研究选取对牧场治疗牛呼吸道疾病有良好效果的胡黄汤来对6株高度耐药Pm进行耐药性消除试验,试验结果表明1/2 MIC浓度的胡黄汤可消除Pm对氨基糖苷类药物阿米卡星、卡那霉素和喹诺酮类药物环丙沙星和恩诺沙星的耐药性。苗春光<sup>[23]</sup>研究表明中药连黄可有效消除Pm对磺胺类和氨基糖苷类药物的耐药性,与本研究结果相似。为探究复方中对Pm耐药性消除产生主要作用的组分,本研究分别用胡黄汤单味药黄芩、柴胡、黄芪进行耐药性消除实验,研究结果表明黄芩为该复方对Pm耐药性消除起主要作用的组分。黄酮类药物被证明有较好的抗菌作用<sup>[24-25]</sup>,对消除细菌的耐药性也有良好效果<sup>[26]</sup>。赵秋云<sup>[27]</sup>进行不同中药对细菌的耐药性消除效果的研究,结果表明黄芩可有效消除菌体对喹诺酮类药物的耐药性,这与本研究结果相一致。研究发现,黄芩苷可消除菌株对环丙沙星的中低水平耐药<sup>[28]</sup>;黄芩苷对大肠杆菌有抑制作用,并且能降低分离株的耐药性<sup>[29]</sup>。也有研究表明,巴马汀可以通过抑制耐药基因的表达,恢复菌株对环丙沙星的敏感性<sup>[30]</sup>,这为进一步揭示中药黄芩对多重耐药多杀性巴氏杆菌的消除机理提供思路和方法。黄芩或许可以成为一种治疗和防控耐药多杀性巴氏杆菌病的有效药物。

## 4 结论

从不同地区规模化养殖场牛呼吸道病料中分离鉴定得到10株多杀性巴氏杆菌,其中8株荚膜血清型为A型,2株荚膜血清型为D型。多杀性巴氏杆菌分离菌株均对头孢吡肟、头孢噻肟、头孢曲松、氨苄西林/舒巴坦、氟苯尼考等敏感,部分分离株存在多重耐药现象,对阿米卡星、卡那霉素、环丙沙星、恩诺沙星等耐药。分离株的氨基糖苷类和喹诺酮类耐药基因

携带率较高,药物敏感试验与耐药基因携带情况呈现一定的相关性。胡黄汤对多重耐药多杀性巴氏杆菌有消除作用,可有效恢复Pm对阿米卡星、卡那霉素、环丙沙星、恩诺沙星的耐药性,并呈现时间和浓度依赖性,1/2 MIC浓度消除72 h效果最好,其中黄芩是起消除作用的主要成分。研究结果为临床防治由多杀性巴氏杆菌引起的牛呼吸道疾病提供科学指导,为多杀性巴氏杆菌耐药菌感染的辅助治疗带来了新方法,也有利于减少多重耐药菌株的产生。

## 作者贡献声明

张惠玲:执行调研,数据收集与监管,数据分析及撰写文章;尹凯雯:协助试验设计,执行调研,数据收集与监管;樊宏亮:样本采集;施伟:协助药物敏感性试验;夏东旭:协助样本分离;丁瑞:协助数据处理;赵红霞:获取基金,提供资源,实验指导。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## REFERENCES

- [1] WHITE BJ, LARSON BL. Impact of bovine respiratory disease in U.S. beef cattle[J]. *Animal Health Research Reviews*, 2020, 21(2): 132-134.
- [2] 马文戈, 于力. 牛源荚膜血清A型多杀性巴氏杆菌的分离鉴定[J]. *中国预防兽医学报*, 2008, 30(10): 747-750, 754.  
MA WG, YU L. Isolation and identification of bovine capsular serotype A *Pasteurella multocida*[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2008, 30(10): 747-750, 754 (in Chinese).
- [3] DABO SM, TAYLOR JD, CONFER AW. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease[J]. *Animal Health Research Reviews*, 2007, 8(2): 129-150.
- [4] SNYDER E, CREDILLE B. *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in bovine respiratory disease: how are they changing in response to efforts to control them?[J]. *The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 2020, 36(2): 253-268.
- [5] 房华, 汪瑞忠, 张晓雪, 杨柳. 6种中草药对多重耐药菌的抗菌活性及逆转耐药性作用的体外研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(4): 396-399.  
FANG H, WANG RZ, ZHANG XX, YANG L.

- Antimicrobial activity and drug-resistant reverse of 6 traditional Chinese medicines against multidrug resistant bacteria *in vitro*[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2018, 39(4): 396-399 (in Chinese).
- [6] 黄永志, 李凯强, 董发明, 邱妍, 赵战勤, 赵旭东, 李小婷, 王帅帅. 5种中药对大肠埃希菌 *aac(3)-II* 耐药性的消除作用[J]. *动物医学进展*, 2019, 40(10): 60-63.  
HUANG YZ, LI KQ, DONG FM, QIU Y, ZHAO ZQ, ZHAO XD, LI XT, WANG SS. Eliminating effect of *aac(3)-II* drug resistance of *Escherichia coli* by five kinds of traditional Chinese medicines[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2019, 40(10): 60-63 (in Chinese).
- [7] 于凡淞, 赵梦莹, 熊丽雯, 郭爱珍, 陈颖钰, 胡长敏, 陈建国. 牛源溶血性曼氏杆菌和多杀性巴氏杆菌的分离与鉴定[J]. *微生物学通报*, 2025, 52(3): 1281-1294.  
YU FS, ZHAO MY, XIONG LW, GUO AZ, CHEN YY, HU CM, CHEN JG. Isolation and identification of bovine-derived *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida*[J]. *Microbiology China*, 2025, 52(3): 1281-1294 (in Chinese).
- [8] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8版. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984.  
BUCHANAN RE, GIBBONS NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. 8th Edition. Translation team of the *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [9] TOWNSEND KM, BOYCE JD, CHUNG JY, FROST AJ, ADLER B. Genetic organization of *Pasteurella multocida caploci* and development of a multiplex capsular PCR typing system[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39(3): 924-929.
- [10] Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. 31st ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021.
- [11] 王琪, 张惠玲, 刘日蓉, 孙月, 李培锋, 樊舒婷, 宋晨, 郝普国, 徐文琦, 郭宇, 赵红霞. 蒲公英水煎液对犊牛源多重耐药大肠杆菌耐药性的消除作用[J]. *中国兽医杂志*, 2024, 60(3): 126-131.  
WANG Q, ZHANG HL, LIU RR, SUN Y, LI PF, FAN ST, SONG C, HAO PG, XU WQ, GUO Y, ZHAO HX. Elimination effect of dandelion decoction on drug resistance of calf-derived multidrug-resistant *Escherichia coli*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2024, 60(3): 126-131 (in Chinese).
- [12] 朱杰, 赵旭, 东笑, 骆建铎, 席俊程, 王贵平, 贾爱卿. 牛多杀性巴氏杆菌和溶血性曼氏杆菌的分离鉴定及致病力评估[J]. *中国兽医学报*, 2024, 44(1): 80-87.  
ZHU J, ZHAO X, DONG X, LUO JH, XI JC, WANG GP, JIA AQ. Isolation, identification, and pathogenicity evaluation of *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2024, 44(1): 80-87 (in Chinese).
- [13] GAGEA MI, BATEMAN KG, van DREUMEL T, McEWEN BJ, CARMAN S, ARCHAMBAULT M, SHANAHAN RA, CASWELL JL. Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2006, 18(1): 18-28.
- [14] WILKIE IW, HARPER M, BOYCE JD, ADLER B. *Pasteurella multocida*: diseases and pathogenesis[J]. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 2012, 361: 1-22.
- [15] 王梓, 石金川, 王永强, 孙森, 孟令浩, 耿超, 刘锴. 牛源荚膜 A 型、D 型多杀性巴氏杆菌的全基因组测序及基因组进化分析[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(12): 282-290.  
WANG Z, SHI JC, WANG YQ, SUN M, MENG LH, GENG C, LIU K. Whole genome sequencing and genome evolution analysis of capsular serotype A and D *Pasteurella multocida* of bovine[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(12): 282-290 (in Chinese).
- [16] 袁广富, 肖娜, 张增贤, 刘莹, 左玉柱, 范京惠. 某牛场巴氏杆菌的分离鉴定[J]. *中国兽医杂志*, 2019, 55(11): 41-43.  
YUAN GF, XIAO N, ZHANG ZX, LIU Y, ZUO YZ, FAN JH. Isolation and identification of *Pasteurella multocida* from a cattle farm[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2019, 55(11): 41-43 (in Chinese).
- [17] ALI S, TARIQ MHA, YAQOUB M, HAQ MU, ZAHRA R. Molecular epidemiology and characterization of antibiotic resistance of *Pasteurella multocida* isolated from livestock population of Punjab, Pakistan[J]. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2025, 13(1): 1-12.
- [18] KRAUSE KM, SERIO AW, KANE TR, CONNOLLY LE. Aminoglycosides: an overview[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2016, 6(6): a027029.
- [19] MACHUCA J, ORTIZ M, RECACHA E, DÍAZ-DE-ALBA P, DOCOBO-PEREZ F, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ JM, PASCUAL Á. Impact of AAC(6)-Ib-cr in combination with chromosomal-mediated mechanisms on clinical quinolone resistance in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2016, 71(11): 3066-3071.
- [20] SHEYKHSARAN E, BAGHI HB, SOROUSH MH, GHOTASLOU R. An overview of tetracyclines and related resistance mechanisms[J]. *Reviews in Medical Microbiology*, 2019, 30(1): 69-75.
- [21] BUSH K, FISHER JF. Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new  $\beta$ -lactamases from Gram-negative bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2011, 65: 455-478.
- [22] 赵永师, 杜娜, 杜艳. 中草药对多重耐药菌的抑制作用及机制研究进展[J]. *中国感染控制杂志*, 2024, 23(4): 530-537.  
ZHAO YS, DU N, DU Y. Research progress in the inhibitory effect and mechanism of Chinese herbal medicine on multidrug-resistant organism[J]. *Chinese*

- Journal of Infection Control, 2024, 23(4): 530-537 (in Chinese).
- [23] 苗春光. 中药“连黄”对巴氏杆菌耐药基因 *strA*、*SuIII* 影响的研究[D]. 延吉: 延边大学, 2010.
- MIAO CG. Study on the influence of the Chinese traditional compound medicine 'LH' on drug gene *strA*, *SuIII* of *Pasteurella*[D]. Yanji: Yanbian University, 2010 (in Chinese).
- [24] LI JM, FENG SS, LIU X, JIA X, QIAO FL, GUO JL, DENG SS. Effects of traditional Chinese medicine and its active ingredients on drug-resistant bacteria[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 837907.
- [25] ZHANG ZJ, CAO MZ, SHANG ZX, XU J, CHEN X, ZHU Z, WANG WW, WEI XJ, ZHOU XZ, BAI YB, ZHANG JY. Research progress on the antibacterial activity of natural flavonoids[J]. *Antibiotics*, 2025, 14(4): 334.
- [26] FARHADI F, KHAMENEH B, IRANSHAHI M, IRANSHAHI M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure-activity relationship: an update review[J]. *Phytotherapy Research*, 2019, 33(1): 13-40.
- [27] 赵秋云. 中药对临床型奶牛乳房炎源大肠杆菌的体外抑制及耐药消除研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- ZHAO QY. Study on inhibition *in vitro* and drug resistance elimination of clinical mastitis *Escherichia coli* by Chinese medicine[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017 (in Chinese).
- [28] 汪东海, 陈敏, 姜志强, 王萍, 陈学锋, 徐菊玲. 黄芩苷消除鲍曼不动杆菌耐药质粒的实验研究[J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(5): 400-404.
- WANG DH, CHEN M, JIANG ZQ, WANG P, CHEN XF, XU JL. Experimental study of baicalin curing antibiotic-resistant plasmid in *Acinetobacter baumannii*[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2012, 29(5): 400-404 (in Chinese).
- [29] ZHAO QY, YUAN FW, LIANG T, LIANG XC, LUO YR, JIANG M, QING SZ, ZHANG WM. Baicalin inhibits *Escherichia coli* isolates in bovine mastitic milk and reduces antimicrobial resistance[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(3): 2415-2422.
- [30] WANG P, HU LF, HAO ZH. Palmatine is a plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) inhibitor that restores the activity of ciprofloxacin against QnrS and AAC(6')-Ib-cr-producing *Escherichia coli*[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 13: 749-759.