

## 研究报告

## 槲皮素抗多重耐药牛乳房炎金黄色葡萄球菌作用

马全朝, 刘思宇, 薛奥, 刘熙璨, 易先国, 金银利\*

信阳农林学院, 河南 信阳 464000

马全朝, 刘思宇, 薛奥, 刘熙璨, 易先国, 金银利. 槲皮素抗多重耐药牛乳房炎金黄色葡萄球菌作用[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 447-460.

MA Quanchao, LIU Siyu, XUE Ao, LIU Xican, YI Xianguo, JIN Yinli. Inhibitory effects of quercetin against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 447-460.

**摘要:**【背景】牛乳房炎金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)具有多重耐药和广泛耐药性。目前已有的抗菌药大多数疗效降低, 并且容易残留。天然药物对耐药菌有良好的抑制作用。【目的】探究槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌抗菌作用及机制。【方法】采用 K-B 法测定牛乳房炎金黄色葡萄球菌对 15 种抗菌药的敏感性。采用微量肉汤稀释法测定槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)和最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)。通过生长曲线和杀菌曲线分析槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌抑菌和杀菌特征。采用棋盘法测定槲皮素联合氨苄西林、恩诺沙星和多西环素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的抗菌作用。通过生物膜抑制测定、核酸和蛋白质外泄测定、细菌生存活力观察、菌体内槲皮素蓄积测定、膜蛋白构象变化测定及分子对接等揭示槲皮素抗金黄色葡萄球菌的作用机制。【结果】槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的 MIC 和 MBC 分别为 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 512  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 槲皮素能够抑制牛乳房炎金黄色葡萄球菌生长, 12 h 内完全杀灭细菌。槲皮素分别与氨苄西林、恩诺沙星和多西环素联合应用, 抗牛乳房炎金黄色葡萄球菌的分级抑制浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)分别为 0.50、0.75、0.50, 呈现协同或相加作用。槲皮素能够显著抑制生物膜的形成( $P<0.05$ )。核酸和蛋白质外泄以及细菌生存活力分析结果表明槲皮素增加了细胞膜通透性。槲皮素在菌液中的荧光强度显著降低( $P<0.05$ ), 说明其在菌体内的浓度随作用时间逐渐增加。槲皮素能够导致菌体膜蛋白二级和三级构象变化。槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶通过范德华力和氢键结合, 结合稳定, 从而抑制酶活性。【结论】槲皮素能够抑制生物膜活性、增强细胞膜通透性、影响膜蛋白构象和抑制酪氨酰-tRNA 合成酶活性, 从而对牛乳房炎金黄色葡萄球菌产生抗菌作用。**关键词:** 槲皮素; 金黄色葡萄球菌; 抗菌; 机制; 分子对接

资助项目: 河南省卓越农林人才教育基地建设项目(教高[2022]214 号); 河南省自然科学基金(212300410385)

This work was supported by the Henan Province Excellent Agricultural and Forestry Talent Education Base Construction Project (Jiaogao[2022]214) and the Natural Science Foundation of Henan Province (212300410385).

\*Corresponding author. E-mail: 2017180001@xyafu.edu.cn

Received: 2025-06-06; Accepted: 2025-08-04; Published online: 2025-08-28

## Inhibitory effects of quercetin against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis

MA Quanchao, LIU Siyu, XUE Ao, LIU Xican, YI Xianguo, JIN Yinli\*

Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464000, Henan, China

**Abstract:** **[Background]** *Staphylococcus aureus*, the pathogen of bovine mastitis, has multidrug resistance and extensive drug resistance. Currently, most existing antibacterial drugs demonstrate limited efficacy and are prone to residue. Natural medicines have good inhibitory effects against drug-resistant bacteria. **[Objective]** To study the inhibitory activity and mechanism of quercetin against *S. aureus* causing bovine mastitis. **[Methods]** The K-B method was used to determine the sensitivity of *S. aureus* causing bovine mastitis to 15 antibiotics. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of quercetin against *S. aureus* causing bovine mastitis were determined by the broth microdilution method. The growth curve and bactericidal curve were established to analyze the inhibitory and killing effects of quercetin against *S. aureus* causing bovine mastitis. The chessboard method was adopted to determine the effects of quercetin combined with ampicillin, enrofloxacin, and doxycycline against *S. aureus* causing bovine mastitis. The mechanism of quercetin against *S. aureus* causing bovine mastitis was revealed through biofilm inhibition assay, nucleic and protein leakage assay, bacterial viability observation, quercetin accumulation analysis in bacteria, membrane protein conformation change assay, and molecular docking. **[Results]** The MIC and MBC of quercetin against *S. aureus* were 256  $\mu\text{g/mL}$  and 512  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Quercetin inhibited the growth of *S. aureus* and completely killed the bacteria within 12 h. The fractional inhibitory concentration indexes (FICIs) of quercetin with ampicillin, enrofloxacin, and doxycycline against *S. aureus* were 0.50, 0.75, and 0.50, respectively, which indicated synergistic or additive effects. Quercetin inhibited the biofilm formation of *S. aureus* ( $P < 0.05$ ). Nucleic acid and protein leakage and bacterial viability analyses indicated that quercetin increased cell membrane permeability. The fluorescence intensity of quercetin in the bacterial suspension reduced ( $P < 0.05$ ), which suggested that the concentration in bacterial cells gradually increased over time. Quercetin caused secondary and tertiary conformational changes of bacterial membrane proteins. Quercetin bound to tyrosyl-tRNA synthetase through van der Waals force and hydrogen bonding, which resulted in stable binding, thereby inhibiting enzyme activity. **[Conclusion]** Quercetin has inhibitory effect against *S. aureus* causing bovine mastitis by inhibiting the biofilm formation, enhancing the permeability of cell membrane, affecting the conformation of membrane proteins, and suppressing the activity of tyrosyl-tRNA synthetase.

**Keywords:** quercetin; *Staphylococcus aureus*; antibacterial; mechanism; molecular docking

奶牛乳房炎发病率高、病因复杂，是一种多因素炎症性疾病<sup>[1]</sup>。奶牛乳房炎容易引起奶牛产奶量下降和奶牛发情期延长，从而影响奶

牛生产效益<sup>[2]</sup>。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是引起奶牛乳房炎的主要致病菌，容易导致亚临床乳房炎<sup>[3]</sup>。由于存在外毒素、黏附

素、凝固酶、耐热核酸等 30 种毒力因子, 严重损伤奶牛乳腺组织<sup>[4]</sup>。近年来, 牛乳房炎金黄色葡萄球菌广泛耐药性和多重耐药性现象趋于严重, 表现为耐药基因组合和耐药表型多样<sup>[5]</sup>。这种现象导致牛乳房炎难治愈, 致使奶牛被淘汰<sup>[6]</sup>。植物源活性物质具有良好的抗菌活性, 并且毒性低、副作用小<sup>[7]</sup>。开发与应用植物源活性物质成为控制病原微生物的主要策略。

槲皮素是天然黄酮类化合物, 在洋葱、莲子和绿茶等食物, 以及五味子、鱼腥草和槐花等中草药中均有较高含量<sup>[8]</sup>。槲皮素作用于生物体的各种靶点和信号通路<sup>[9]</sup>, 呈现抗菌、抗病毒、抗癌和抗氧化等生物活性, 具有低细胞毒性的优点<sup>[10-11]</sup>。已有的研究表明, 槲皮素对嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、链球菌(*Streptococcus*)、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌(*Escherichia coli*)等病原菌呈现良好的抗菌作用<sup>[12-13]</sup>, 能够抑制  $\alpha$ -毒素分泌和凝血酶活性, 从而降低金黄色葡萄球菌的毒力, 抑制该菌诱导的牛乳房上皮细胞炎症<sup>[14-16]</sup>。槲皮素已成为替代或辅助抗金黄色葡萄球菌的天然药物。

本研究探究了槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的抑菌作用, 以及与氨苄西林等抗菌素联合应用的抑菌作用, 分析了槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌抗菌作用机制, 以期为利用植物源活性物质防控金黄色葡萄球菌引起的牛乳房炎提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

牛乳房炎金黄色葡萄球菌, 信阳农林学院病原微生物实验室。

### 1.2 培养基、主要试剂和仪器

MH 肉汤(MHB)、MH 琼脂(MHA)培养基、TSB 培养基, 青岛海博生物技术有限公司。

槲皮素(纯度 99%)和结晶紫, 北京索莱宝科技有限公司; DMSO, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 碘化丙啶(propidium iodide, PI)和

吖啶橙, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 多黏菌素、青霉素、头孢曲松、氨苄西林、头孢噻唑、阿莫西林、庆大霉素、新霉素、多西环素、四环素、氟苯尼考、恩诺沙星、阿米卡星、卡那霉素、链霉素等药敏纸片, 常德比克曼生物科技有限公司。

连续波长多功能酶标仪, 帝肯科技(北京)有限公司; 稳态瞬态荧光光谱仪, 爱丁堡仪器公司; 激光共聚焦显微镜, 徕卡测量系统贸易(北京)有限公司; 冷冻干燥机, 上海力辰仪器科技有限公司; 傅里叶变换红外光谱仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 超微量紫外分光光度计, 上海叶拓科技有限公司。

### 1.3 牛乳房炎金黄色葡萄球菌的药物敏感性测定

将牛乳房炎金黄色葡萄球菌接种于 TSB 培养基, 37 °C、170 r/min 培养 12 h 至对数期( $1 \times 10^9$  CFU/mL), 菌液稀释至  $1 \times 10^6$  CFU/mL 备用。采用 K-B 法测定牛乳房炎金黄色葡萄球菌对 15 种抗菌药的敏感性。取 100  $\mu$ L 菌液均匀地涂布在 MHA 培养基, 静置 10 min。将药敏纸片均匀贴在 MHA 培养基上, 设置 3 次重复, 37 °C 培养 24 h, 测量抑菌圈直径。

### 1.4 槲皮素抗牛乳房炎金黄色葡萄球菌的作用

#### 1.4.1 槲皮素及抗菌药对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)和最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)

采用肉汤微量稀释法测定槲皮素、氨苄西林、恩诺沙星和多西环素等对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的 MIC 和 MBC。在 96 孔板中加入 100  $\mu$ L MHB, 在第 1 孔中加入 100  $\mu$ L 药液, 连续倍比稀释。随后每孔加入 100  $\mu$ L 的细菌悬浮液。第 11 孔为阴性对照, 只加入 200  $\mu$ L MHB。第 12 孔为阳性对照, 加入 200  $\mu$ L 菌液。设置 3 次重复, 37 °C 孵育 24 h, 以澄清孔的最小药物浓度为 MIC。从澄清孔取 5  $\mu$ L 菌液涂布于 MHA

平板上, 设置3次重复, 于37 °C静置培养24 h, 以无菌落生长的最低稀释浓度为MBC。

#### 1.4.2 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

在96孔板中加入100 μL菌液, 然后加入槲皮素溶液, 槲皮素最终浓度分别为2 MIC、1 MIC、1/2 MIC, 以不添加槲皮素的菌液为对照, 设置3次重复。将96孔板置于37 °C、170 r/min培养24 h, 在第0-24 h每隔2 h检测 $OD_{600}$ 值, 绘制生长曲线。

#### 1.4.3 杀菌曲线

取2 mL菌液加入试管中, 处理组添加槲皮素, 终浓度为2 MIC和1 MIC。对照组为不添加槲皮素的菌液。分别在0、4、8、12、18、24 h时取0.1 mL菌液, 在无菌生理盐水中10倍系列稀释, 取0.1 mL涂布于MHA培养基上。设置3次重复, 在37 °C培养24 h后进行菌落计数, 绘制时间杀菌曲线。

#### 1.4.4 联合药敏试验

采用棋盘法测定槲皮素与氨苄西林、恩诺沙星和多西环素的联合抑菌作用。在A-F行1-6孔沿X轴的方向加入100 μL倍比稀释的槲皮素溶液, 1-6列沿Y轴的方向每孔加入倍比稀释的氨苄西林、恩诺沙星和多西环素溶液, 然后每孔加100 μL浓度为 $1 \times 10^6$  CFU/mL的菌液。槲皮素、氨苄西林、恩诺沙星和多西环素终浓度分别为2 MIC、1 MIC、1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC、1/16 MIC。其中A-F行的第7个孔为阳性对照, 仅加菌液。A-F行的第8个孔为空白对照, 仅加MHB培养液, 设置3次重复。37 °C恒温培养24 h, 以澄清孔的最小药物浓度为MIC, 观察单独抗菌和联合抗菌的MIC。分级抑菌浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)的计算如公式(1)所示。

$$FICI = \frac{\text{联合MIC}_A}{\text{单独MIC}_A} + \frac{\text{联合MIC}_B}{\text{单独MIC}_B} \quad (1)$$

式(1)中: A表示槲皮素; B表示抗菌药。结果判

定:  $FICI \leq 0.5$ , 协同作用;  $0.5 < FICI \leq 1.0$ , 相加作用;  $1 < FICI \leq 2$ , 无关作用;  $FICI > 2$ , 拮抗作用。

#### 1.5 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜的影响

取100 μL菌液加入无菌96孔板中, 处理组添加槲皮素溶液, 最终浓度分别为1/2 MIC和1/4 MIC; 以不添加槲皮素的菌液为对照组, 设置3次重复。置于37 °C培养48 h, 弃去培养基, 用PBS缓冲液洗涤3次; 37 °C固定1 h后, 每孔加入200 μL 0.1%的结晶紫溶液; 37 °C孵育15 min后, 去除多余的结晶紫, 用PBS缓冲液洗涤3次; 37 °C干燥30 min后加入100 μL无水乙醇, 孵育5 min。用连续波长多功能酶标仪测量 $OD_{595}$ 。按照公式(2)计算生物膜抑制率。

$$\text{生物膜抑制率} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中:  $A_1$ 为对照组 $OD_{595}$ ;  $A_2$ 为处理组 $OD_{595}$ 。

#### 1.6 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌细胞膜的影响

##### 1.6.1 对核酸和蛋白质外泄的影响

在锥形瓶中加入20 mL菌液, 处理组添加槲皮素溶液, 最终浓度分别为1/2 MIC和1/4 MIC, 以不添加槲皮素的菌液为对照。37 °C、170 r/min振荡培养6 h。分别取3 mL于5 000 r/min离心5 min, 取上清液, 测定 $OD_{280}$ 和 $OD_{260}$ 。

##### 1.6.2 对生存活力的影响

在锥形瓶中加入20 mL菌液, 处理组添加槲皮素溶液, 最终浓度分为1 MIC、1/2 MIC、1/4 MIC, 以不添加槲皮素的菌液为对照。37 °C、170 r/min振荡培养6 h。取3 mL菌液于5 000 r/min离心5 min, 收集细菌, 用PBS缓冲液洗涤3次, 重悬于生理盐水。取100 μL重悬液, 加入100 μL吖啶橙和PI的混合染液, 充分混匀, 在室温条件下避光孵育15 min。取10 μL滴在载玻片上, 固定后覆盖18 mm盖玻片。通过激光共聚焦显微镜成像, 在激发波长为488 nm和561 nm波长下观察染色效果。

## 1.7 槲皮素在牛乳房炎金黄色葡萄球菌细胞内蓄积测定

参考 Vergalli 等<sup>[17]</sup>方法并作修改。分别取对数期的牛乳房炎金黄色葡萄球菌菌液 20 mL 置于不同锥形瓶中,分别添加槲皮素溶液使终浓度分别为 1/2 MIC 和 1/4 MIC,于 37 °C、170 r/min 培养。在第 2、4、6 h 分别取出 3 mL 菌液于 8 000 r/min 离心 5 min,取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,扫描荧光光谱。荧光光谱参数设置:激发波长为 370 nm,发射波长为 475 nm,荧光光谱仪扫描范围为 450–550 nm,狭缝宽为 2 nm。

## 1.8 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白的影响

### 1.8.1 对膜蛋白二级结构的影响

分别取对数生长期牛乳房炎金黄色葡萄球菌菌液 20 mL,置于不同锥形瓶中。处理组添加槲皮素溶液,终浓度为 1/4 MIC,以不添加槲皮素的菌液为对照。于 37 °C、170 r/min 培养 6 h 后于 5 000 r/min 离心 5 min,用 PBS 缓冲液洗涤 3 次,收集菌体,真空冷冻干燥,扫描红外光谱。傅里叶变换红外光谱参数设置:仪器分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>,扫描次数为 32 次,傅里叶变换红外光谱仪扫描范围为 500–4 000 cm<sup>-1</sup>。

### 1.8.2 对膜蛋白三级结构的影响

分别取对数生长期的牛乳房炎金黄色葡萄球菌菌液 20 mL 置于不同的锥形瓶中。处理组添加槲皮素溶液,终浓度分别为 1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC,以不添加槲皮素的菌液为对照。37 °C、170 r/min 培养 6 h。取 3 mL 菌液于 3 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液。用 PBS 缓冲液洗涤 3 次,重悬于生理盐水,扫描荧光光谱。荧光光谱参数设置:激发波长为 285 nm,发射波长为 340 nm,狭缝宽为 5 nm,荧光光谱仪扫描范围为 290–400 nm。

## 1.9 分子对接

在 PubChem 数据库下载槲皮素(CAS: 117-39-5)

的 3D 分子结构。在 PDB 数据库下载酪氨酰-tRNA 合成酶(ID: 7ap3)的 3D 分子结构。采用 PyMoL 2.4.0 软件去除酪氨酰-tRNA 合成酶表面多余的水分子和原有的配体。运用 AutoDock 4.26 可视化软件进行分子对接模拟。用 Discovery Studio 2019 软件绘制二维图。

## 1.10 数据处理

数据的整理与归一化处理采用 Excel 2021 软件;作图使用 Origin 2021 软件;分子对接和可视化采用 PyMoL 2.4.0 软件和 Discovery Studio 2019 软件。采用 *t* 检验进行两组之间显著性比较, $P < 0.05$  表示差异显著, $P > 0.05$  表示差异不显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 牛乳房炎金黄色葡萄球菌的药物敏感性

牛乳房炎金黄色葡萄球菌对 15 种抗菌药敏感性的检测结果见表 1。结果显示,该菌对阿莫西林、青霉素、头孢曲松、头孢噻唑、阿米卡星等抗菌药表现为敏感,对氨苄西林、四环素、氟苯尼考、卡那霉素、链霉素等抗菌药表现为耐药。

### 2.2 槲皮素抗牛乳房炎金黄色葡萄球菌抑菌作用特征

#### 2.2.1 槲皮素及抗菌药对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的 MIC 和 MBC

槲皮素、氨苄西林、恩诺沙星和多西环素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的 MIC 和 MBC 见表 2。结果显示,槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的 MIC 和 MBC 分别为 256 μg/mL 和 512 μg/mL,抗菌能力与氨苄西林相当,低于恩诺沙星和多西环素。

#### 2.2.2 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生长曲线的抑制作用

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的生长曲线影响见图 1。由图 1 可知,相较于对照,浓

表 1 牛乳房炎金黄色葡萄球菌对抗菌药的敏感性  
Table 1 Susceptibility of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis to antibiotics

Antibiotic	Sensitivity
Amoxicillin	S
Penicillin	S
Ampicillin	R
Ceftriaxone	S
Cefotaxime	S
Gentamicin	R
Neomycin	S
Streptomycin	R
Doxycycline	I
Tetracycline	R
Florfenicol	R
Enrofloxacin	I
Polymyxin	S
Amikacin	S
Kanamycin	R

R: 耐药; I: 中介; S: 敏感。

R: Drug resistance; I: Intermediary; S: Sensitivity.

表 2 槲皮素及抗菌药对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

Table 2 The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of quercetin and antibiotics against *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis

Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	MBC ( $\mu\text{g/mL}$ )
Quercetin	256	512
Ampicillin	512	512
Enrofloxacin	4	8
Doxycycline	32	32

度分别为 1 MIC 和 1/2 MIC 时, 槲皮素可明显抑制牛乳房炎金黄色葡萄球菌生长; 浓度为 2 MIC 时, 槲皮素完全抑制牛乳房炎金黄色葡萄球菌生长。槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌具有良好的抑制作用, 呈浓度依赖性。

### 2.2.3 杀菌曲线特征

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的杀菌曲线见图 2。相较于对照, 浓度为 1 MIC 时, 槲

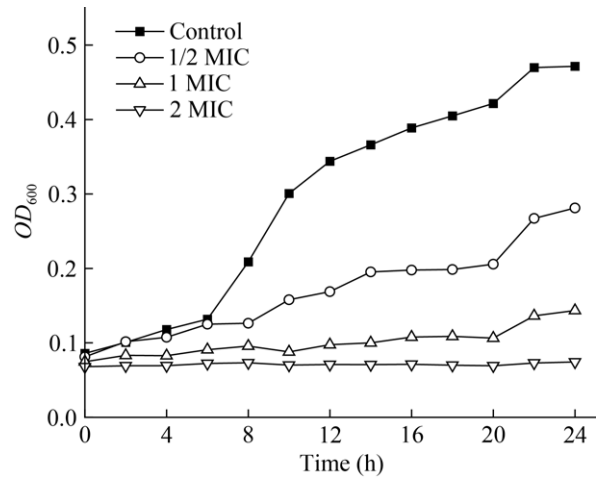


图 1 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

Figure 1 Effect of quercetin on the growth curve of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis.

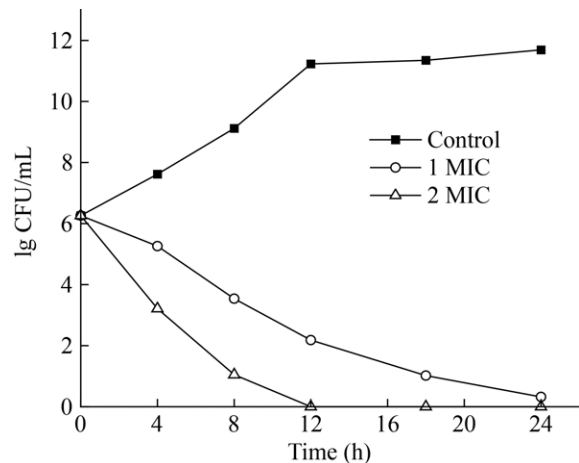


图 2 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的杀菌作用

Figure 2 Bactericidal effect of quercetin on *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis.

皮素能够杀灭部分细菌。浓度为 2 MIC 时, 槲皮素能够在 12 h 内完全杀灭细菌。槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌呈现良好的杀菌作用。随着浓度增加, 杀菌作用增强。

### 2.2.4 联合抗菌作用

槲皮素联合抗菌药对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的联合抑菌指数见表 3。结果显示, 槲皮素联合氨苄西林、恩诺沙星和多西环素抗牛乳

表3 槲皮素联合抗菌药对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的抑菌指数

Table 3 Inhibition index of quercetin and antibiotics against *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis

Drug combination	Drug	MIC <sub>alone</sub>	MIC <sub>unite</sub>	FICI	Action
Quercetin+ampicillin	Quercetin	256	64	0.50	Synergistic
	Ampicillin	512	128		
Quercetin+enrofloxacin	Quercetin	256	128	0.75	Additive
	Enrofloxacin	4	1		
Quercetin+doxycycline	Quercetin	256	64	0.50	Synergistic
	Doxycycline	32	8		

房炎金黄色葡萄球菌抑菌指数分别为 0.50、0.75、0.50，呈现协同或相加作用。

### 2.3 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜的抑制作用

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜抑制作用见图 3。相较于对照，浓度为 1/4 MIC 时，槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜的抑制率为 20.56%；浓度为 1/2 MIC 时，槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜的抑制率为 63.43%。槲皮素能够抑制牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜形成，达到抗菌作用。

### 2.4 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌细胞膜的影响特征

#### 2.4.1 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌的核酸和蛋白质外泄影响的结果

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌核酸和蛋白质外泄的影响见图 4。相较于对照，经槲皮素处理后，牛乳房炎金黄色葡萄球菌菌液中核酸的  $OD_{260}$  (图 4A) 和蛋白质的  $OD_{280}$  (图 4B) 显著升高 ( $P < 0.05$ )。结果表明，槲皮素对该菌的细胞膜有破坏作用，使细胞膜通透性增强，导致细胞内的核酸和蛋白质外泄，从而增加了上清液中核酸和蛋白质含量。

#### 2.4.2 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生存活力影响的结果

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生存活力的影响见图 5。对照的细菌均发出绿色荧光 (图 5A)，说明菌体活性好；经浓度为 1/4 MIC 槲皮素处理后，虽然大部分细菌仍发出绿色荧光，但已有少量细菌显示红色荧光 (图 5B)，说

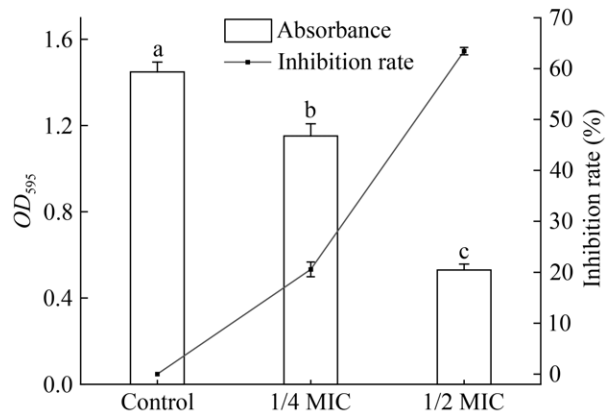


图3 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜抑制作用 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Figure 3 Inhibition of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis biofilm by quercetin. Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

明部分细菌细胞膜受损；经浓度为 1/2 MIC 槲皮素处理后，大部分的细菌呈现红色荧光 (图 5C)，说明 PI 染料进入细菌细胞，细菌细胞膜受到损伤；经浓度为 1 MIC 槲皮素处理后细菌均呈现红色荧光，细菌细胞膜受损 (图 5D)。由此可见，随着槲皮素浓度增加，细菌细胞膜受损增强，细胞膜通透性增加，细菌细胞加速死亡。

### 2.5 槲皮素在牛乳房炎金黄色葡萄球菌细胞内蓄积

槲皮素在牛乳房炎金黄色葡萄球菌菌液中的荧光强度见图 6。浓度为 1/4 MIC 和 1/2 MIC 时，随着时间变化，槲皮素的荧光强度显著下降 ( $P < 0.05$ )，表明菌液中槲皮素的浓度降低。说明槲皮素在牛乳房炎金黄色葡萄球菌体内的浓度逐渐增加，有利于槲皮素产生抗菌作用。

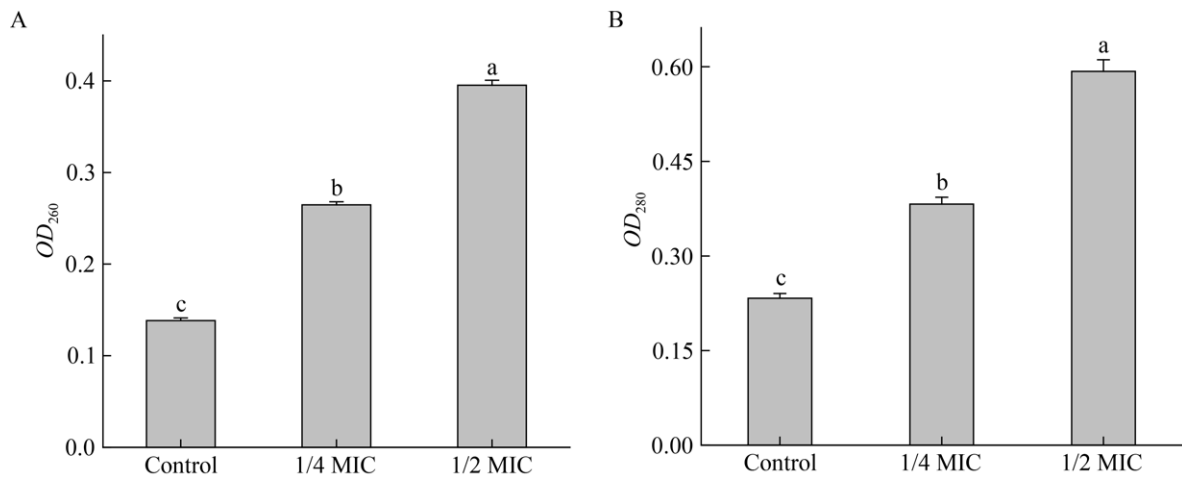


图 4 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌核酸(A)和蛋白质(B)外泄的影响 不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

Figure 4 Effects of quercetin on nucleic acid (A) and protein (B) leakage of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. Different lowercase letters represent significant differences ( $P<0.05$ ).

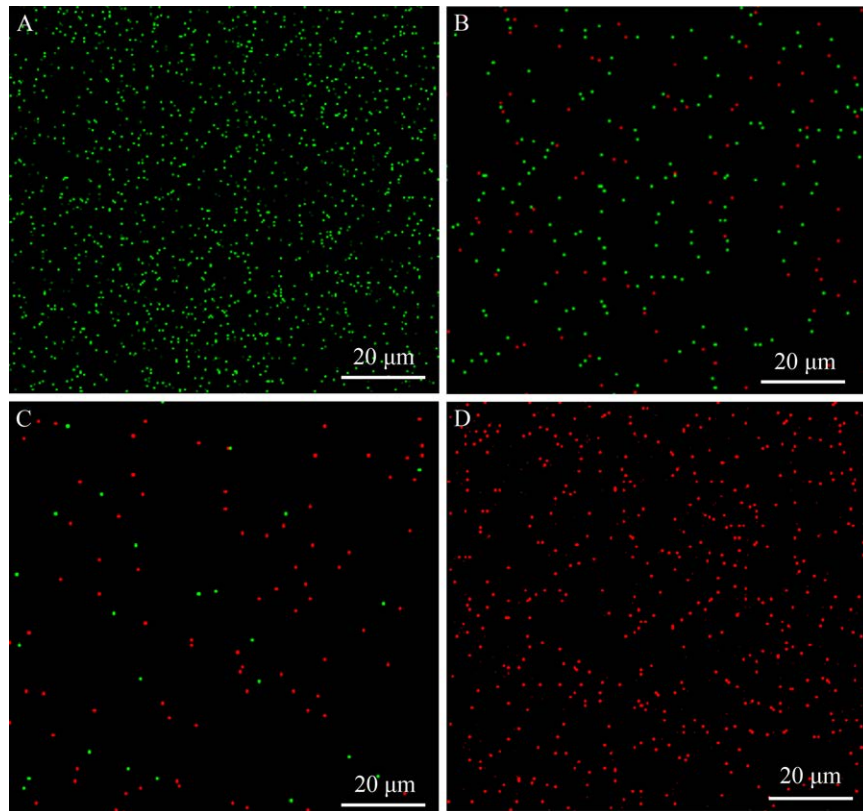


图 5 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生存活力的影响 A: 对照; B: 1/4 MIC 槲皮素; C: 1/2 MIC 槲皮素; D: 1 MIC 槲皮素。

Figure 5 Effect of quercetin on the survival viability of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. A: Control; B: 1/4 MIC quercetin; C: 1/2 MIC quercetin; D: 1 MIC quercetin.

## 2.6 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白的影响特征

### 2.6.1 对膜蛋白二级结构影响的结果

牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白傅里叶变换红外光谱见图 7。酰胺 I 带峰位的变化主要由

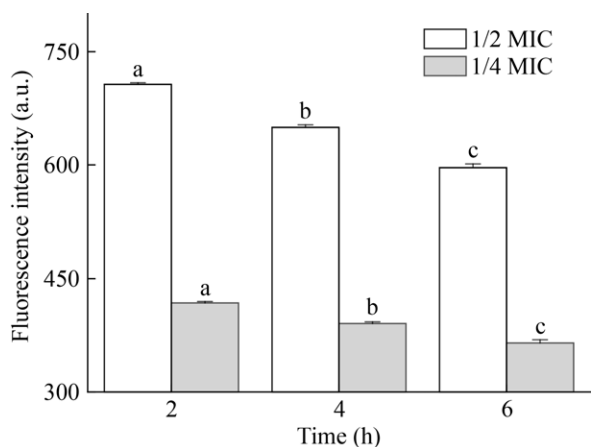


图 6 槲皮素在牛乳房炎金黄色葡萄球菌菌液的荧光强度 同一浓度不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Figure 6 Fluorescence intensity of quercetin in bacterial fluid of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. Different lowercase letters at the same concentration indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

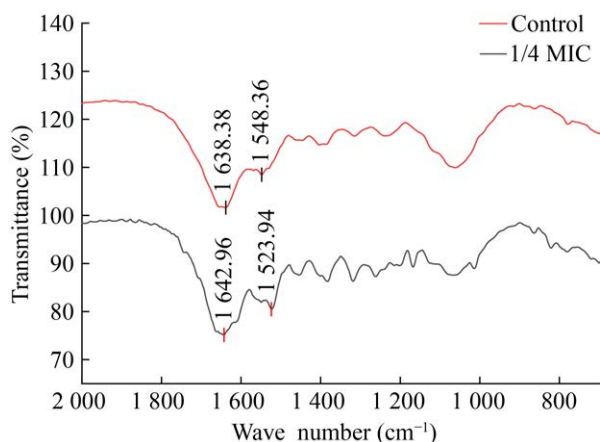


图 7 槲皮素处理前后牛乳房炎金黄色葡萄球菌的傅里叶变换红外光谱图

Figure 7 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis without and with quercetin.

氨基酸残基 C=O 基团的伸缩振动引起。相较于对照,经槲皮素处理后,牛乳房炎金黄色葡萄球菌的谱图特征无明显变化,但透射率降低。酰胺 I 带峰值从  $1638.38\text{ cm}^{-1}$  偏移到  $1642.96\text{ cm}^{-1}$ ,说明槲皮素与牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白 C=O 基团产生结合作用,并引起菌体膜蛋白构象变化。

$1610\text{--}1640\text{ cm}^{-1}$  和  $1640\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$  内峰值分别反映菌体蛋白的  $\beta$ -折叠和无规则卷曲结构特征。相较于对照,经槲皮素处理后, $1638.38\text{ cm}^{-1}$  峰位偏移  $4.58\text{ cm}^{-1}$ , 偏移到  $1642.96\text{ cm}^{-1}$ 。说明菌体蛋白已由  $\beta$ -折叠转变成无规则卷曲,致密性降低,强度减弱,空间构象发生变化。

酰胺 II 带峰主要由氨基酸残基 C-N 基团和 N-H 基团伸缩振动引起。相较于对照,经槲皮素处理后, $1548.36\text{ cm}^{-1}$  峰位偏移  $24.42\text{ cm}^{-1}$ ,表明菌体蛋白中的 C-N 和 N-H 基团与槲皮素产生结合作用。

### 2.6.2 对膜蛋白三级结构影响的结果

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白荧光强度影响见图 8。与对照相比,经不同浓度槲皮素处理后,牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋

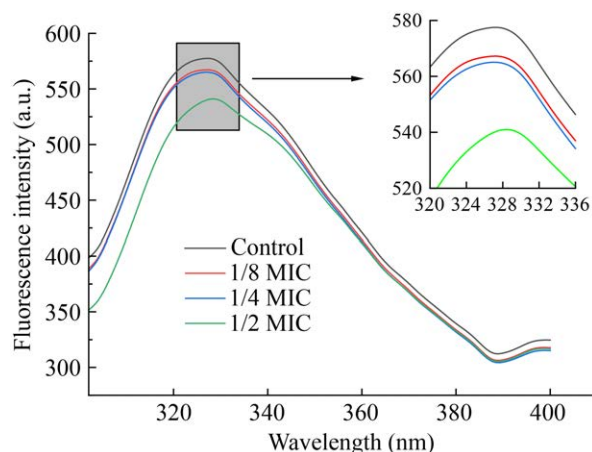


图 8 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白荧光强度影响

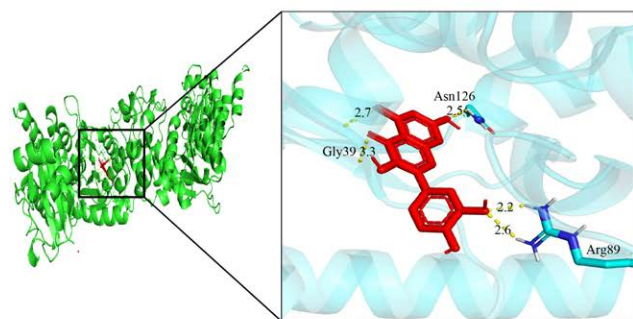
Figure 8 The effect of quercetin on fluorescence intensity of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis membrane protein.

白最大发射峰的峰位未产生明显位移。随着槲皮素浓度增加,膜蛋白荧光强度逐渐降低。槲皮素诱导膜蛋白发生结构性的卷曲或者折叠变化,导致部分已经外露的生色基团被大分子蛋白质重包埋起来,引发荧光猝灭。说明槲皮素能够改变细菌膜蛋白的空间构象,引起细胞损伤,从而抑制或杀灭细菌。

## 2.7 分子对接结果

槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶分子对接见图 9。结果显示,槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶通过范德华力与 Thr43、Asp41、Phe40、Gly73、Tyr175、Asn126、Asp182、Leu71、Tyr37、Gln179、Gln195、Gln201 氨基酸残基相互作用。槲皮素与 Gly39、Asn126、Arg89 氨基酸残基以氢键结合,氢键距离分别为 3.3、2.5、2.6 nm。槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶之间通过范德华力和氢键结合,结合能为-9.0 kcal/mol,结合稳定,从而抑制酶活性。

A



## 3 讨论

### 3.1 牛乳房炎金黄色葡萄球菌耐药性

金黄色葡萄球菌携带溶血毒素、杀白细胞素及血浆凝固酶等多种致病因子,通过黏附素介导的黏附作用和生物膜形成实现宿主定植,经奶牛乳头导管或皮肤破损处入侵乳腺组织,引发化脓性感染(如乳房炎),其代谢产物及菌体可通过乳汁分泌污染牛奶,同时多重耐药性不断增加,导致抗菌药治疗效果降低<sup>[18-19]</sup>。Shahid 等<sup>[20]</sup>研究表明,奶源金黄色葡萄球菌对氨苄西林、四环素、氟苯尼考、卡那霉素和链霉素表现为耐药,与本研究结果一致。Mphahlele 等<sup>[21]</sup>检测了 50 株奶源金黄色葡萄球菌对 12 种抗菌药的耐药情况,结果发现金黄色葡萄球菌对红霉素、阿莫西林和氨苄西林耐药率分别达到 62%、62%、46%。张小玉等<sup>[22]</sup>研究发现,74 株牛乳房炎金黄色葡萄球菌对林可霉素、青霉素和恩诺沙星的耐药率分别为 71.62%、67.57%、67.57%;说明

B

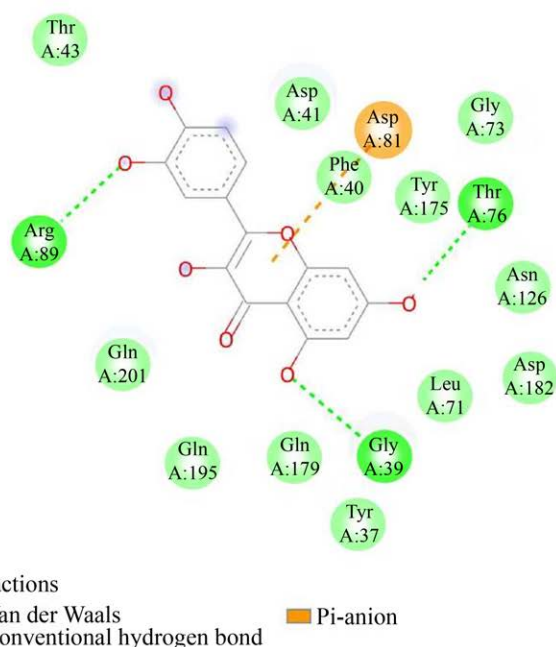


图 9 槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶对接可视化图 A: 分子对接 3D 图; B: 分子对接 2D 图。

Figure 9 Visualization of docking between quercetin and tyrosine-tRNA synthase. A: Molecular docking 3D diagram; B: Molecular docking 2D diagram.

奶源金黄色葡萄球菌对恩诺沙星、氨苄西林等药物呈较高耐药性,这与本研究结果一致。然而本研究中的牛乳房炎金黄色葡萄球菌对阿莫西林和青霉素敏感,但对氨苄西林、四环素、氟苯尼考、卡那霉素、链霉素等抗菌药表现为耐药。说明虽然来源不同的牛乳源金黄色葡萄球菌对药物的敏感性有差异,但都表现出多重耐药。鉴于牛乳房炎金黄色葡萄球菌耐药性增强,研究新的候选药物特别是从天然产物中发现新药物是克服病原菌耐药最有效的方法<sup>[23]</sup>。

### 3.2 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌抑菌作用

测定了槲皮素抗牛乳房炎金黄色葡萄球菌的作用,结果显示,槲皮素具有良好的抑菌和杀菌作用。槲皮素与氨苄西林和多西环素联合呈现协同作用,与恩诺沙星联合呈现相加作用。Goswami 等<sup>[24]</sup>研究表明,槲皮素对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,与庆大霉素和环丙沙星联合抑菌指数均为 0.75,呈现相加作用。与本研究结果一致,说明槲皮素具有良好的抗金黄色葡萄球菌作用,能够与抗菌药联合抗菌,与喹诺酮类药物联合呈现相加作用。究其原因,与槲皮素能够提高细菌细胞的膜通透性、抑制生物膜形成和抑制外排泵活性,从而增强抗菌药抗菌作用有关<sup>[25-26]</sup>。

### 3.3 槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌抑菌机制

金黄色葡萄球菌极易黏附在非生物或生物表面形成生物膜,更容易产生耐药性<sup>[27]</sup>。刘盼盼<sup>[28]</sup>的研究表明,槲皮素能够抑制 *sarA* 基因转录和下调 SarA 蛋白的表达量,抑制金黄色葡萄球菌生物膜形成。Ma 等<sup>[29]</sup>研究表明,槲皮素显著降低金黄色葡萄球菌生物膜代谢活性和生物膜基质成分产生,从而抑制生物膜形成。二者均从作用机制方面探讨了槲皮素对金黄色葡萄球菌生物膜的抑制作用。本研究采用结晶紫染色法,研究了槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌生物膜的抑制作用,证实了槲皮素对牛乳房炎金

黄色葡萄球菌生物膜的抑制率达到 63.43%。

增强细胞膜通透性是天然药物的主要抗菌作用机制。Wang 等<sup>[30]</sup>采用透射显微镜观察到,浓度为 10 MIC 时,槲皮素破坏金黄色葡萄球菌细胞膜的结构完整性,致使细胞膜变薄、染色质裂解及核空化。观察天然药物对细菌细胞膜通透性的方法多样。本研究采用紫外分光光度计测定和细菌生存活力观察等方法,分析槲皮素对金黄色葡萄球菌细胞膜通透性的影响,揭示了槲皮素能够增强细胞膜的通透性,达到抗菌作用。

蛋白中羰基基团、氨基基团振动的红外光谱与  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角、无规则卷曲结构相关<sup>[31]</sup>。蛋白红外光谱的酰胺 I 带 (1 600–1 700  $\text{cm}^{-1}$ )、酰胺 II 带 (1 500–1 600  $\text{cm}^{-1}$ ) 是蛋白二级结构最重要特征<sup>[32]</sup>。段雪娟等<sup>[33]</sup>通过傅里叶红外变化光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 试验研究肉桂精油抗金黄色葡萄球菌作用,结果表明,肉桂精油导致菌体蛋白二级结构呈现一定程度的松散性,与本研究结果一致。槲皮素引起菌体蛋白  $\beta$ -折叠转变为不规则卷曲结构,降低蛋白结构强度。说明改变细菌菌体蛋白二级结构是天然药物产生抗菌作用的一种途径。

当抗菌药与膜蛋白发生结合反应时,膜蛋白构象会发生改变,内部的氨基酸发色基团会暴露至细胞膜表面<sup>[34]</sup>。金黄色葡萄球菌膜蛋白中色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸具有内源荧光,其荧光强度的变化可反映膜蛋白空间构象的变化。靳汝霖<sup>[35]</sup>的研究表明,经浓度为 1/2 MIC 咖啡酸处理后,金黄色葡萄球菌膜蛋白荧光强度明显减弱,咖啡酸直接与膜蛋白氨基酸残基结合,使其荧光强度减弱。咖啡酸通过影响金黄色葡萄球菌细胞膜蛋白构象产生抗菌作用。本研究的槲皮素与咖啡酸具有相似的作用机制。槲皮素能够与牛乳房炎金黄色葡萄球菌膜蛋白结合,导致其构象发生改变,产生抗菌作用。

酪氨酰-tRNA 合成酶是细菌中蛋白质合成的关键酶,能够催化氨基酸与其对应的 tRNA 结合,生成氨酰-tRNA<sup>[36]</sup>。金黄色葡萄球菌的酪氨酰-tRNA 合成酶是其生存所必需的,可以作为药物筛选的靶点。药物通过抑制酪氨酰-tRNA 合成酶活性能够抑制金黄色葡萄球菌繁殖,达到抗菌作用<sup>[37-38]</sup>。Shukla 等<sup>[39]</sup>通过分子对接预测透明质酸对金黄色葡萄球菌的抑制作用,结果表明,透明质酸通过范德华力和氢键与酪氨酰-tRNA 合成酶结合,结合能为-6.13 kcal/mol,导致细胞裂解和细菌细胞死亡,产生杀菌作用。本研究采用分子对接法分析了槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶结合特征。与透明质酸作用相似,槲皮素通过范德华力和氢键与酪氨酰-tRNA 合成酶结合,产生抑制作用。槲皮素与酪氨酰-tRNA 合成酶结合的结合能为-9.0 kcal/mol,结合能力强于透明质酸。Liang<sup>[40]</sup>研究了槲皮素与酪氨酸酶结合作用,结果显示,槲皮素通过氢键和疏水作用力与酪氨酸酶结合,产生抑制作用。在作用力方面,与本研究有一定的差异,说明槲皮素与不同的酶结合作用力存在差异性。总之,酪氨酰-tRNA 合成酶是槲皮素抑制金黄色葡萄球菌的潜在靶蛋白。

## 4 结论

槲皮素对牛乳房炎金黄色葡萄球菌具有良好的抗菌作用,能够增强细菌的细胞膜通透性、抑制生物膜形成、影响菌体膜蛋白二级和三级空间构象,以及抑制酪氨酰-tRNA 合成酶活性等。研究结果为牛乳房炎病防治的新型天然药物开发提供了理论支持。

## 作者贡献声明

马全朝:实验操作,数据分析,项目管理,撰写文章,稿件润色修改;刘思宇:实验操作,数据分析;薛奥:数据收集与监管,实验操作;刘熙璨:实验操作;易先国:项目管理,监督指导,方案设计;金银利:提供资源,获取基金,方案设计,稿件润色修改。

## 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] HU HH, FANG Z, MU T, WANG Z, MA Y, MA YF. Application of metabolomics in diagnosis of cow mastitis: a review[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8: 747519.
- [2] 蔡依龙,吴自豪,池昊明,刘士哲,陈伟.新疆巴州地区某奶牛场隐性乳房炎源金黄色葡萄球菌的分子分型、耐药特征和毒力基因检测[J]. *中国兽医杂志*, 2025, 61(2): 10-17.  
CAI YL, WU ZH, CHI HM, LIU SZ, CHEN W. Molecular typing, antimicrobial resistance characteristics, and virulence gene detection of *Staphylococcus aureus* from subclinical mastitis in a dairy farm of Bayingol Mongolian autonomous prefecture, Xinjiang[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2025, 61(2): 10-17 (in Chinese).
- [3] ZAATOUT N, AYACHI A, KECHA M. *Staphylococcus aureus* persistence properties associated with bovine mastitis and alternative therapeutic modalities[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 129(5): 1102-1119.
- [4] 李翠翠,马万鹏,张毅,杨学云,詹光忠,李渊,主马别克·木哈里,李志强,王燕,佟盼盼,苏战强.新疆某奶牛场奶源金黄色葡萄球菌分离鉴定、毒力基因检测和耐药性分析[J]. *动物医学进展*, 2023, 44(11): 40-46.  
LI CC, MA WP, ZHANG Y, YANG XY, ZHAN GZ, LI Y, MUKHARI MM, LI ZQ, WANG Y, TONG PP, SU ZQ. Isolation, identification, virulence gene detection and drug resistance analysis of *Staphylococcus aureus* from milk in a dairy farm in Xinjiang[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2023, 44(11): 40-46 (in Chinese).
- [5] 李扬,徐晶晶,张小玉,李娜娜,余星雨,冷青文,李彦芳,屈勇刚.新疆某规模化奶牛场乳源金黄色葡萄球菌的分离鉴定、耐药分析及毒力基因检测[J]. *中国畜牧兽医*, 2025, 52(3): 1370-1382.  
LI Y, XU JJ, ZHANG XY, LI NN, YU XY, LENG QW, LI YF, QU YG. Isolation, identification, drug resistance analysis, and virulence gene detection of *Staphylococcus aureus* from a large-scale dairy farm in Xinjiang[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2025, 52(3): 1370-1382 (in Chinese).
- [6] CHUPROM J, KIDSIN K, SANGKANU S, NISSAPATORN V, WIART C, de LOURDES PEREIRA M, WONGTAWAN T, DAUS M, SOTTHIBANDHU DS, TIPMANEE V, PAUL AK, SCHOLFIELD CN, ZULKIPLI MB, ABDULLAH NH, MITSUWAN W. *Knema retusa* is antibacterial and antibiofilm against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and *S. haemolyticus* isolated in bovine mastitis[J]. *Veterinary Research Communications*, 2023, 47(2): 523-538.
- [7] ANGELINI P. Plant-derived antimicrobials and their crucial role in combating antimicrobial resistance[J]. *Antibiotics*, 2024, 13(8): 746.

- [8] 张舒宁, 叶淳, 兰清华, 徐艳艳. 槲皮素的生药资源、药理作用及主要剂型研究进展[J]. 温州医科大学学报, 2025, 55(1): 66-74.  
ZHANG SN, YE C, LAN QH, XU YY. Research progress on quercetin resource, its pharmacological effect and major dosage form[J]. Journal of Wenzhou Medical University, 2025, 55(1): 66-74 (in Chinese).
- [9] 陈海燕, 卢慧芳, 曹智高, 孙攀峰, 刘守铨, 宋超. 槲皮素通过 Nrf2/GPX4 信号通路缓解玉米赤霉烯酮诱导的猪小肠上皮细胞铁死亡[J]. 中国兽医学报, 2025, 45(3): 527-534, 593.  
CHEN HY, LU HF, CAO ZG, SUN PF, LIU SX, SONG C. Quercetin inhibits zearalenone-induced ferroptosis of porcine small intestinal epithelial cells via regulating Nrf2/GPX4 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2025, 45(3): 527-534, 593 (in Chinese).
- [10] SHABIR I, PANDEY VK, SHAMS R, DAR AH, DASH KK, AHMAD KHAN S, BASHIR I, JEEVARATHINAM G, RUSU AV, ESATBEYOGLU T, PANDISELVAM R. Promising bioactive properties of quercetin for potential food applications and health benefits: a review[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 999752.
- [11] AZEEM M, HANIF M, MAHMOOD K, AMEER N, CHUGHTAI FRS, ABID U. An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: a review[J]. Polymer Bulletin, 2023, 80(1): 241-262.
- [12] de ALENCAR PEREIRA EW, FONTES VC, Da FONSECA AMORIM EA, de CÁSSIA MENDONÇA de MIRANDA R, CARVALHO RC, de SOUSA EM, CUTRIM SCPF, ALVES LIMA CZGP, de SOUZA MONTEIRO A, NETO LGL. Antimicrobial effect of quercetin against *Streptococcus pneumoniae*[J]. Microbial Pathogenesis, 2023, 180: 106119.
- [13] SOMETURK YILMAZ B. Anticancer and antimicrobial activities of quercetin-CuHNFs and quercetin-CohNFs on MDA-MB-231 (breast cancer)[J]. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2025, 35(2): 1347-1360.
- [14] CARRADA LÓPEZ G, CASTAÑÓN SÁNCHEZ CA. Quercetina atenúa la virulencia de *Staphylococcus aureus* al disminuir la secreción de Alfa toxina[J]. Revista Argentina de Microbiología, 2018, 50(2): 131-135.
- [15] WANG L, LI BB, SI XS, LIU XY, DENG XM, NIU XD, JIN YL, WANG DC, WANG JF. Quercetin protects rats from catheter-related *Staphylococcus aureus* infections by inhibiting coagulase activity[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2019, 23(7): 4808-4818.
- [16] SHI ZH, WANG WJ, SHOKROLLAHI B, WANG WQ, ABDEL-SHAIFY H, DENG TX. Role of quercetin in modulating inflammation and epigenetic regulation of *Staphylococcus aureus*-induced bovine mastitis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(15): 8784-8797.
- [17] VERGALLI J, DUMONT E, PAJOVIĆ J, CINQUIN B, MAIGRE L, MASI M, RÉFRÉGIERS M, PAGÉS JM. Spectrofluorimetric quantification of antibiotic drug concentration in bacterial cells for the characterization of translocation across bacterial membranes[J]. Nature Protocols, 2018, 13(6): 1348-1361.
- [18] 薛喜博, 高毅玖, 黄筱琳, 毛慧霞, 张澳凯, 孙英健. 金黄色葡萄球菌致膜损伤毒素及拮抗的天然药物研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 3822-3835.  
XUE XB, GAO YJ, HUANG XL, MAO HX, ZHANG AK, SUN YJ. Research progress in membrane-damaging toxins of *Staphylococcus aureus* and natural anti-toxin medicines[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 3822-3835 (in Chinese).
- [19] 达举云, 宋倩, 史金莲, 卢挺, 崔晓, 丁渲攀, 张勇, 赵兴绪. 银川某牛场牛源金黄色葡萄球菌的耐药性分析及毒力基因检测[J]. 动物医学进展, 2023, 44(6): 33-40.  
DA JY, SONG Q, SHI JL, LU T, CUI X, DING XP, ZHANG Y, ZHAO XX. Drug resistance analysis and virulence gene detection of *Staphylococcus aureus* from a cattle farm in Yinchuan[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2023, 44(6): 33-40 (in Chinese).
- [20] SHAHID M, HUSSAIN R, NAWAZ Z, ASLAM B, AHMAD MZ, SIDDIQUE AB, AHSAN H, FATIMA A, KHAN I, MUSTAFA B, IQBAL R, AL SYAAD KM, SHAMI A. Occurrence of virulence genes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis[J]. ACS Omega, 2023, 8(41): 38111-38117.
- [21] MPHABLELE MP, OGUTTU JW, PETZER IM, QEKWANA DN. Prevalence and antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from cow milk samples[J]. Veterinary World, 2020, 13(12): 2736-2742.
- [22] 张小玉, 杨洁, 张晗楚, 高玉, 李彦芳, 徐晶晶, 屈勇刚, 梁晏, 侯宫明珠, 杨舒涵, 魏勇, 金庭辉. 奶牛乳房炎源金黄色葡萄球菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2024(9): 53-59.  
ZHANG XY, YANG J, ZHANG HC, GAO Y, LI YF, XU JJ, QU YG, LIANG Y, HOU G, YANG SH, WEI Y, JIN TH. Isolation, identification and drug resistance analysis of cow mastitis-derived *Staphylococcus aureus*[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2024(9): 53-59 (in Chinese).
- [23] SIVADAS N, KAUL G, AKHIR A, SHUKLA M, GOVIND MG, DAN M, RADHAKRISHNAN KV, CHOPRA S. Naturally derived malabaricone B as a promising bactericidal candidate targeting multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* also possess synergistic interactions with clinical antibiotics[J]. Antibiotics, 2023, 12(10): 1483.
- [24] GOSWAMI S, GHOSH M, ROY S, BASAK S, BHATTACHARJEE S. Quercetin combined with ciprofloxacin and gentamicin inhibits biofilm formation and virulence in *Staphylococcus aureus*[J]. Microbial Pathogenesis, 2025, 200: 107297.
- [25] LUO SY, KANG XY, LUO XF, LI CX, WANG GQ. Study on the inhibitory effect of quercetin combined with gentamicin on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* and its bioenvelope[J]. Microbial Pathogenesis, 2023, 182: 106274.
- [26] dos SANTOS JFS, TINTINO SR, Da SILVA ARP, dos S BARBOSA CR, SCHERF JR, de S SILVEIRA Z, de FREITAS TS, de LACERDA NETO LJ, BARROS LM, de A MENEZES IR, COUTINHO HDM, SIQUEIRA-JÚNIOR JP, CUNHA FAB. Enhancement of the antibiotic activity by quercetin against

- Staphylococcus aureus* efflux pumps[J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2021, 53(2): 157-167.
- [27] WAHAB AT, NADEEM F, SALAR U, BILAL HM, FAROOQUI M, JAVAID S, SADAF S, KHAN KM, CHOUDHARY MI. Coumarin derivatives as new anti-biofilm agents against *Staphylococcus aureus*[J]. PLoS One, 2024, 19(9): e0307439.
- [28] 刘盼盼. 槲皮素对金黄色葡萄球菌的抑制作用及缓解奶牛乳腺炎的机制研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2024.  
LIU PP. Study on the inhibitory effect of quercetin on *Staphylococcus aureus* and the mechanism of alleviating bovine mastitis[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2024 (in Chinese).
- [29] MA YJ, KANG XY, WANG GQ, LUO SY, LUO XF, WANG GL. Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by quercetin combined with antibiotics[J]. Biofouling, 2024, 40(10): 996-1011.
- [30] WANG SG, YAO JY, ZHOU B, YANG JX, CHAUDRY MT, WANG M, XIAO FL, LI Y, YIN WZ. Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative *in vivo* and its antibacterial mechanism *in vitro*[J]. Journal of Food Protection, 2018, 81(1): 68-78.
- [31] YANG SN, ZHANG QL, YANG HY, SHI HM, DONG AC, WANG L, YU SN. Progress in infrared spectroscopy as an efficient tool for predicting protein secondary structure[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 206: 175-187.
- [32] STENCLOVA P, FREISINGER S, BARTH H, KROMKA A, MIZAIKOFF B. Cyclic changes in the amide bands within *Escherichia coli* biofilms monitored using real-time infrared attenuated total reflection spectroscopy (IR-ATR)[J]. Applied Spectroscopy, 2019, 73(4): 424-432.
- [33] 段雪娟, 黄煜强, 张潼, 韩雅莉, 吴克刚, 黄庶识. 肉桂醛熏蒸对金黄色葡萄球菌胞内生物大分子的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(10): 90-100.  
DUAN XJ, HUANG YQ, ZHANG T, HAN YL, WU KG, HUANG SS. Effect of cinnamaldehyde fumigation on intracellular biological macromolecules of *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(10): 90-100 (in Chinese).
- [34] JIANG J, ZHANG ZP, ZHAO J, LIU YF. The effect of non-covalent interaction of chlorogenic acid with whey protein and casein on physicochemical and radical-scavenging activity of *in vitro* protein digests[J]. Food Chemistry, 2018, 268: 334-341.
- [35] 靳汝霖. 咖啡酸协同鼠尾草酸对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抑菌机制的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2024.  
JIN RL. Study on the synergistic antibacterial mechanism of caffeic acid and carnosic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2024 (in Chinese).
- [36] FARSHADFAR C, MOLLICA A, RAFII F, NOORBAKHSH A, NIKZAD M, SEYEDI SH, ABDI F, VERKI SA, MIRZAIE S. Novel potential inhibitor discovery against tyrosyl-tRNA synthetase from *Staphylococcus aureus* by virtual screening, molecular dynamics, MMPBSA and QMMM simulations[J]. Molecular Simulation, 2020, 46(7): 507-520.
- [37] MONOBE K, TANIGUCHI H, AOKI S. *In silico* identification of potential inhibitors against *Staphylococcus aureus* tyrosyl-tRNA synthetase[J]. Current Computer-Aided Drug Design, 2024, 20(5): 452-462.
- [38] DIAS LD, AGUIAR ASN, de MELO NJ, INADA NM, BORGES LL, de AQUINO GLB, CAMARGO AJ, BAGNATO VS, NAPOLITANO HB. Structural basis of antibacterial photodynamic action of curcumin against *S. aureus*[J]. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2023, 43: 103654.
- [39] SHUKLA P, SRIVASTAVA P, MISHRA A. On the potential activity of hyaluronic acid as an antimicrobial agent: experimental and computational validations[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2025, 48(1): 27-42.
- [40] LIANG FL. Inhibition mechanism investigation of quercetagenin as a potential tyrosinase inhibitor[J]. Frontiers in Chemistry, 2024, 12: 1411801.