

抗致病性大肠杆菌蒙药及其组方筛选

杨斯琴¹ 敖日格乐^{1*} 王纯洁² 满达¹ 斯木吉德¹ 刘文才¹

(1. 内蒙古农业大学 动物科学学院, 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古农业大学 兽医学院, 呼和浩特 010018)

摘要 为确立治疗致病性大肠杆菌病的蒙药组方, 采用牛津杯法, 选取 15 味蒙药对致病性大肠杆菌进行体外抑菌试验, 筛选 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的敏感蒙药。结果表明, O₁ 血清型致病性大肠杆菌对 12 味蒙药敏感。并通过棋盘法测定部分抑菌浓度, 筛选出 5 组 6 味蒙药, 结合体外抑菌试验, 通过 L₈(2⁷) 正交试验设计, 筛选出最佳体外抑菌蒙药组合, 再通过 L₉(3⁴) 正交试验设计进行剂量优化。结果显示, 结合正交设计和体外抑菌试验确立了 5 组蒙药组方, 且其抑菌效果显著优于各单味蒙药的抑菌效果, 即 5 组蒙药复方中最小抑菌圈为 30.49 mm, 而单味蒙药最大抑菌圈为 24.42 mm。

关键词 蒙药组方; 大肠杆菌; 体外抑菌试验; 正交设计

中图分类号 S 853.71

文章编号 1007-4333(2015)03-0146-07

文献标志码 A

Selection of the compound Mongolian medicine on *Escherichia coli* inhibition by bacteriostasis experiment *in vitro*

YANG Si-qin¹, AO-ri-ge-le^{1*}, WANG Chun-jie², Man-da¹, Si-mu-ji-de¹, LIU Wen-cai¹

(1. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. College of Veterinary, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract In order to establish Mongolian medicine prescription treating *Escherichia coli* disease, this study used the Oxford Cup method and selected 15 kinds of Mongolian medicines carried out by vitro test of inhibitory bacteria and then screened prescriptions which are sensitive to O₁ serological type of pathogenic *Escherichia coli*. The results showed that, the serological types of pathogenic *Escherichia coli* is sensitive to 12 kinds of medicines. Using checkerboard method combined with bacteriostasis experiment *in vitro*, this study measured fractional inhibitory concentration of five groups of six flavour medicines and selected optimum medicine combination *in vivo* utilizing L₈(2⁷) orthogonal test and followed by L₉(3⁴) orthogonal test to optimize dose. Combining the orthogonal test and vitro test, this study determined 5 groups of prescriptions, the bacteria inhibiting effect of which is obviously better than that single-flavor.

Key words prescriptions of Mongolian medicines; *Escherichia coli*; vitro test of inhibitory bacterial; orthogonal design

大肠杆菌病是感染率很高的人畜共患病, 不仅给人类带来疾病, 而且还是给养殖业造成重大损失的一种常见病、多发病, 发病率和死亡率一直居高不下^[1-2]。以牛为例, 致病性大肠杆菌主要可引起新生犊牛的急性传染病, 其传染特征为剧烈腹泻及全身

败血症, 并迅速陷入衰竭、脱水和酸中毒甚至卧地不起, 有的出现痉挛^[3-5], 如治疗不及时, 常因虚脱或继发肺炎而死; 也有个别病例可能自愈, 但导致以后发育迟缓^[6]。同时粪便中有致病性大肠杆菌时可致使牛舍环境污染进而导致奶牛乳房炎, 且大肠杆菌导

收稿日期: 2014-08-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31060318, 31260570); “十二五”国家科技支撑项目(2012BAD12B09-3)

第一作者: 杨斯琴, 博士研究生, E-mail: 736343718@qq.com

通讯作者: 敖日格乐, 教授, 博士生导师, 主要从事牛生产学与产品品质科学研究, E-mail: geleaoiri6009@126.com

致的乳房炎大多会快速转变为临床型乳房炎,从而给养殖业造成巨大的经济损失。

致病性大肠杆菌不仅对养殖业造成重大经济损失,同时严重危及人类健康。目前治疗致病性大肠杆菌的主要方法是应用抗生素,但由于长时间针对性不强地滥用抗生素导致耐药菌株不断出现,使抗生素治疗效果不断下降。同时随着人们生活水平的不断提高,抗生素残留问题也日益受到消费者的关注,因此,人们开始关注天然药物、微生态制剂等绿色环保型产品的研究开发,望以其替代导致耐药菌株不断出现且疗效不断下滑的抗生素,以寻求健康、绿色和无残留的对大肠杆菌病的治疗方法。蒙医药是我国四大民族医药之一,蒙药属于纯天然药物,资源丰富,品种繁多,具有无污染、毒副作用小、残留毒物量少和不易产生耐药性等特点,且具有多种抑菌成分和强身健体的作用而被人们所青睐^[7]。蒙医药具有独特的蒙医药理论,蒙药典包含多种具有抗菌消炎、提高机体免疫力等作用的药物,从而为开发安全、绿色和健康的治疗大肠杆菌病的药物奠定了基础^[8-10]。因此研究治疗大肠杆菌病的蒙药组方具有实际应用价值。

蒙药是纯天然的绿色药物,含有多种抑菌药物,而复方是蒙医用药的主要形式,药物间能够产生协同、拮抗作用,充分发挥药物疗效,并将毒性和副作用降到最低。新中国成立后,蒙医药在政府的关注下不断地发展和壮大,但对蒙兽药的研究很少,因此,本研究为开发有效治疗大肠杆菌病的蒙药组方,从15种具有清热解毒、抗菌消炎及提高机体免疫力等作用的蒙药中筛选对O₁血清型致病性大肠杆菌具有较强体外抑制作用的单味蒙药,经正交试验对其进行组方,并比较单味蒙药和蒙药组方对致病性大肠杆菌的体外抑菌效果,旨在为有效治疗致病性大肠杆菌的蒙药组方提供参考。

1 材料

1.1 试验菌株

从内蒙古呼和浩特周边牧场奶牛直肠粪样中分离且通过生化与血清型鉴定、小鼠致病性及毒力基因检测试验,确定为含有 eaeA、stx1、hlyA 和 irp2 等4种毒力基因的 O₁ 血清型致病性大肠杆菌强毒株。

1.2 药物与试剂

普通营养琼脂培养基、普通肉汤培养基购自广东环凯微生物科技有限公司;15种蒙药分别为巴如

拉(川楝子)、如达(木香)、阿如拉(诃子)、扫龙·吉木斯(连翘)、浑钦(黄芩)、道古勒·乌布斯(苦参)、朝您·哈日莫各(枸杞)、古日古木(红花)、哈敦·海鲁木勒(五灵脂)、给喜古讷(大黄)、当棍(当归)、朱如拉(栀子)、高勒图·宝日(丁香)、洪林(胡黄连)、沙日嘎(姜黄)等,均购自内蒙古京远大药房。

1.3 主要仪器

生化培养箱(型号为 JC-SPJ-480),济南精诚实验仪器有限公司;全自动立式电热压力蒸汽灭菌器,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;净化工作台,上海新苗医疗器械制造有限公司;电子分析天平(型号为 CP224C),上海奥豪斯仪器有限公司;微量移液器、电炉、漏斗、牛津杯和 96 孔培养板均为实验室常用设施与仪器。

2 方法

2.1 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的敏感蒙药筛选

取各单味蒙药 50 g 分别放入滤药袋,加入 500 mL 水,室温浸泡过夜,煮沸 1.5 h,过滤药液;滤渣加 250 mL 水,煮沸 1 h,合并 2 次药液,小火浓缩至 50 mL(即药液中所含生药量为 1 g/mL)。121 °C 高压灭菌,放入 4 °C 冰箱保存^[11]。采用牛津杯法,每种药物设 3 个平行。将 200 μL 药液加入于制备好的带有菌层平皿中的牛津杯内,于 4 °C 冰箱过夜(使药液在琼脂上充分扩散),37 °C 培养 24 h,游标卡尺测量抑菌圈直径并取平均值^[12]。抑菌圈直径 $R \geq 15$ mm 为极敏; $10 \leq R < 15$ mm 为高敏; $8 \leq R < 10$ mm 为低敏; $R < 8$ mm 为不敏感^[13]。

2.2 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的部分抑菌浓度(FIC)测定

将 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的敏感蒙药 2 倍稀释成 6 个质量浓度梯度,分别为 1.00、0.50、0.25、0.13、0.06 和 0.03 g/mL。将制备好的蒙药按棋盘法设计,进行两两组合(两个药物组合时一个为甲药,另一个为乙药),测定 MIC,即不显示浊度细菌生长时药物的最低抑菌浓度。观察结果并计算部分抑菌浓度指数(FIC),FIC 指数 = MIC(甲药联合)/MIC(甲单药) + MIC(乙药联合)/MIC(乙单药)。FIC 指数 ≤ 0.5 ,协同作用; $0.5 < \text{FIC 指数} \leq 1.0$,累加; $1.0 < \text{FIC 指数} \leq 2.0$,无关;FIC 指数 > 2.0 ,拮抗作用^[12]。

2.3 抑菌蒙药组方的初步筛选

通过药物部分抑菌浓度试验得到 5 组 6 味无拮抗

作用的蒙药组合,采用 $L_6(2^7)$ 正交表, 每组 6 味药物为 6 个因素, 抑菌蒙药组方其剂量取 2 个水平, 分别为水平 1 取 0(即不用药)和水平 2 取 1 g/mL。体外抑菌试验方法同 2.1, 结果采用极差分析法进行统计。

2.4 抑菌蒙药组方的剂量优化

根据 2.3 结果, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表, 5 个复方的各因素及其剂量水平设置见表 1。体外抑菌试验方法及数据处理同 2.3。

表 1 蒙药组方优选因素剂量水平设计
Table 1 Design of optimizing factors dosage level of Mongolian medicine

组方 Prescription	蒙药 Mongolian medicine	水平		
		1	2	3
复方 I Compound prescription I	给喜古讷	1.00	0.50	0.25
	阿如拉	1.00	0.50	0.25
复方 II Compound prescription II	沙日嘎	1.00	0.50	0.25
	阿如拉	1.00	0.50	0.25
复方 III Compound prescription III	朝您·哈日莫各	1.00	0.50	0.25
	给喜古讷	1.00	0.50	0.25
	阿如拉	1.00	0.50	0.25
复方 IV Compound prescription IV	古日古木	1.00	0.50	0.25
	给喜古讷	1.00	0.50	0.25
	阿如拉	1.00	0.50	0.25
复方 V Compound prescription V	当棍	1.00	0.50	0.25
	浑钦	1.00	0.50	0.25
	给喜古讷	1.00	0.50	0.25
	阿如拉	1.00	0.50	0.25

2.5 抑菌蒙药组方的体外抑菌效果验证

体外抑菌试验方法同 2.1, 测定抑菌组方的抑菌直径, 并与组方成分单味蒙药抑菌直径进行对比。

3 结果与分析

3.1 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的敏感蒙药筛选结果

通过 15 种蒙药对 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的体外抑菌直径测定得知, O₁ 血清型致病性大肠杆菌对朝您·哈日莫各为极敏, 其直径高达 24.42 mm; 对洪林、朱如拉、沙日嘎、哈敦·海鲁木勒、当棍、扫龙·吉木斯、古日古木、浑钦、高勒图·宝日、给喜古讷和阿如拉 11 味蒙药为高敏, 其抑菌直径分别为 11.12、12.11、14.07、11.73、12.80、13.78、10.06、14.06、10.40、13.06 和 10.14 mm; 其中沙日嘎与浑

钦的抑菌效果最好; 对如达、道古勒·乌布斯和巴如拉 3 味蒙药为低敏或不敏感。

3.2 O₁ 血清型致病性大肠杆菌的部分抑菌浓度 (FIC) 测定结果

O₁ 血清型致病性大肠杆菌的部分抑菌抑菌浓度测定结果见表 2。由表 2 可知, 洪林、朱如拉、当棍、给喜古讷、阿如拉和高勒图·宝日间无拮抗作用, 宜配伍。朱如拉、沙日嘎、当棍、高勒图·宝日、给喜古讷和阿如拉间无拮抗作用, 宜配伍。朝您·哈日莫各、沙日嘎、当棍、古日古木、给喜古讷和阿如拉间无拮抗作用, 宜配伍。当棍、扫龙·吉木斯、古日古木、给喜古讷、阿如拉和沙日嘎间无拮抗作用, 宜配伍。当棍、古日古木、浑钦、高勒图·宝日、给喜古讷和阿如拉间无拮抗作用, 宜配伍。

表 2 部分敏感蒙单味药间的 FIC
Table 2 FIC between partial sensitive Mongolian herbs

蒙药名称 Mongolian herbs	洪林	朱如拉	朝您· 哈日莫各	沙日嘎	哈敦· 海鲁木勒	当棍	扫龙· 吉木斯	古日古木	浑钦	高勒图· 宝日	给喜古讷
朱如拉	1.50										
朝您·哈日莫各	2.23	2.23									
沙日嘎	2.25	1.25	1.00								
哈敦·海鲁木勒	2.00	2.25	2.50	1.13							
当棍	0.75	0.75	0.62	0.63	0.75						
扫龙·吉木斯	2.25	3.00	2.50	2.00	3.00	0.75					
古日古木	1.25	2.50	1.50	2.13	1.50	0.63	1.25				
浑钦	2.23	2.24	2.00	2.50	2.23	1.49	2.23	1.50			
高勒图·宝日	1.25	0.75	2.50	1.50	0.75	1.25	3.00	0.75	1.50		
给喜古讷	1.25	1.50	1.00	0.63	1.25	0.50	1.25	0.75	1.00	0.50	
阿如拉	0.75	0.50	1.49	0.75	0.75	0.56	0.75	1.50	1.00	0.75	0.75

注：FIC 指数≤0.5,协同作用；0.5<FIC 指数≤1.0,累加；1.0<FIC 指数≤2.0,无关；FIC 指数>2.0,拮抗作用。

Note: FIC≤0.5 indicates synergism, 0.5<FIC≤1.0 indicates accumulation, 1.0<FIC≤2.0 indicates independence and FIC>2.0 indicate antagonism.

3.3 抑菌蒙药组方的初步筛选结果

抑菌蒙药组方的初步筛选采用 $L_8(2^7)$ 正交表和体外抑菌圈直径测定方法相结合,结果见表 3。由表 3 可知,组方 I 中起主要抑菌作用的蒙药为给喜古讷和阿如拉,优化组合为 $A_2B_2C_2D_1E_1F_2$,即给喜古讷和阿如拉用药,其余不用药;组方 II 中起主要抑菌作用的蒙药为沙日嘎与阿如拉,优化组合为 $A_2B_1C_2D_2E_2F_1$,即沙日嘎与阿如拉用药,其余不用药;组方 III 中起主要抑菌作用的蒙药为朝您·哈日莫各、给喜古讷和阿如拉,优化组合为 $A_1B_2C_2D_2E_1F_1$,即朝您·哈日莫各、给喜古讷和阿如拉用药,其余不用药;组方 IV 中起主要抑菌作用的蒙药为古日古木、给喜古讷与阿如拉,优化组合为 $A_2B_2C_1D_1E_1F_2$,即古日古木、给喜古讷与阿如拉用药,其余不用药;组方 V 中起主要抑菌作用的蒙药为当棍、浑钦、给喜古讷和阿如拉,优化组合为 $A_1B_2C_1D_2E_1F_1$,即当棍、浑钦、给喜古讷和阿如拉用药,其余不用药。

3.4 抑菌蒙药组方的剂量优化结果

抑菌蒙药组方的剂量优化采用 $L_9(3^4)$ 正交表和体外抑菌圈直径测定方法相结合,结果见表 4。由表 4 可知,组方 I 与组方 II 优化组合都为 A_1B_1 ,即给喜古讷与阿如拉的最佳剂量都为 1.00 g/mL;沙日嘎与阿如拉的最佳剂量都为 1.00 g/mL。组方 III 优化组合为 $A_2B_1C_1$,即朝您·哈日莫各、给喜古讷与阿如拉的最佳剂量分别为 0.50、1.00 和 1.00 g/mL;组方 IV 优化组合为 $A_1B_1C_1$,即朝您·哈日莫各、给喜古讷与阿如拉的最佳剂量都为 1.00 g/mL。组方 V 优化组合为 $A_3B_3C_2D_1$,即当棍、浑钦、给喜古讷和阿如拉的最佳剂量分别为 0.25、0.25、0.50 和 1.00 g/mL。

3.5 抑菌蒙药组方的体外抑菌效果验证结果

抑菌蒙药组方的体外抑菌效果验证结果见表 5。由表 5 可知,5 组蒙药组方对致病性大肠杆菌的体外抑菌效果分别为 35.17、33.05、30.74、30.50 和 30.49 mm,明显高于各单味蒙药的体外抑菌直径。

表3 抑菌蒙药组方的初步筛选结果

Table 3 Preliminary screening results of antimicrobial Compound Mongolian medicine

mm

组别 Group	因素 Factors					
组方 I	洪林(A)	朱如拉(B)	当棍(C)	给喜古讷(D)	阿如拉(E)	高勒图·宝日(F)
M1	71.71	80.61	78.98	87.60	96.71	80.49
M2	95.29	86.39	88.02	79.40	70.29	86.51
R	23.58	5.78	9.04	8.20	26.42	6.02
组方 II	朱如拉(A)	沙日嘎(B)	当棍(C)	高勒图·宝日(D)	给喜古讷(E)	阿如拉(F)
M1	81.01	84.09	79.38	73.33	80.72	98.38
M2	81.05	77.97	82.68	88.73	81.34	63.68
R	0.04	6.12	3.30	15.40	0.62	34.70
组方 III	朝您·哈日莫各(A)	沙日嘎(B)	当棍(C)	古日古木(D)	给喜古讷(E)	阿如拉(F)
M1	95.43	89.76	87.47	82.84	94.47	89.21
M2	84.91	90.58	92.87	97.50	85.87	76.82
R	10.52	0.82	5.40	14.66	8.60	12.39
组方 IV	当棍(A)	扫龙·吉木斯(B)	古日古木(C)	给喜古讷(D)	阿如拉(E)	沙日嘎(F)
M1	80.19	78.76	85.41	89.48	98.73	82.74
M2	89.63	91.06	84.41	80.34	71.09	87.08
R	9.44	12.30	1.00	9.14	27.64	4.34
组方 V	当棍(A)	古日古木(B)	浑钦(C)	高勒图·宝日(D)	给喜古讷(E)	阿如拉(F)
M1	91.45	83.53	90.70	86.80	90.91	99.57
M2	85.09	93.01	85.84	89.74	85.63	76.97
R	6.36	9.48	4.86	2.94	5.28	22.60

注：M1 表示各因素水平 1 之和；M2 表示各因素水平 2 之和；R 为极差；下表同。
Note: M1 is the sum of factor 1;M2 is the sum of factor 2;R is the range. The same as below.

表4 抑菌蒙药组方的剂量优化结果

Table 4 Dosage optimizing results of antimicrobial Compound Mongolian medicine

mm

组别 Group	因素 Factors	
组方 I	给喜古讷(A)	阿如拉(B)
M1	93.36	92.91
M2	80.78	85.87
M3	80.20	75.56
R	13.16	17.35
组方 II	沙日嘎(A)	阿如拉(B)
M1	80.28	83.25
M2	75.25	74.94
M3	75.93	73.27
R	5.03	9.98

表 4(续)

组别 Group		因素 Factors			
组方Ⅲ	朝您·哈日莫各(A)	给喜古讷(B)	阿如拉(C)		
	M1	78.65	79.53	79.63	
	M2	79.52	75.89	76.92	
	M3	70.61	73.36	72.23	
	R	8.04	6.17	7.40	
组方Ⅳ	古日古木(A)	给喜古讷(B)	阿如拉(C)		
	M1	82.31	84.02	84.70	
	M2	80.68	80.04	83.67	
	M3	78.65	77.58	73.27	
	R	3.66	6.44	11.43	
组方Ⅴ	当棍(A)	浑钦(B)	给喜古讷(C)	阿如拉(D)	
	M1	87.05	86.69	86.73	93.04
	M2	86.94	86.05	90.95	86.31
	M3	88.05	89.30	84.36	82.69
	R	1.11	3.25	6.59	10.35

表 5 蒙药组方与组方单味蒙药抑菌直径比较结果

Table 5 Comparison of the diameter of inhibition zone for Compound Mongolian medicine and its single Mongolian medicine mm

组方及单味药 Compound and single Mongolian medicine	抑菌圈直径($\bar{x}\pm S$) Diameter of inhibition zone
蒙药组方Ⅰ	35.17±0.01
蒙药组方Ⅱ	33.05±0.04
蒙药组方Ⅲ	30.74±0.51
蒙药组方Ⅳ	30.50±0.45
蒙药组方Ⅴ	30.49±0.45
给喜古讷	13.06±0.53
阿如拉	10.14±0.49
沙日嘎	14.07±0.07
朝您·哈日莫各	24.42±0.50
古日古木	10.06±0.91
当棍	12.80±0.39
浑钦	14.06±0.04

4 讨 论

正交试验设计(Orthogonal design)是用来科学设计多因素试验的一种方法。其利用一套规格化的正交表(Orthogonal table)安排试验,得到的试验结果再用数理统计方法进行处理,使之得出科学结论^[14]。在药学领域中,常用正交试验设计来完成,不仅可以给药学试验节省大量的时间,也可以快速高效的计算出试验结果,快速、高效、灵活地选出最满意的结果。蒙药是纯天然的绿色药物,含有多种抑菌药物^[15],而复方是蒙医用药的主要形式,药物间能够产生协同、拮抗作用,充分发挥药物疗效,并将毒性和副作用降到最低。鉴于此,本研究采用正交设计进行蒙药的组方研究和剂量优化。

本研究中 O₁ 血清型致病性大肠杆菌对 15 味蒙药中的 12 味蒙药敏感;选取 12 味敏感蒙药,进行蒙药组方筛选,得到 5 组 6 味无拮抗作用的蒙药组方。再结合体外抑菌试验,通过 L₈(2⁷)和 L₉(3⁴)正交试验设计得到 5 组蒙药最佳体外抑菌组合,组方 I 为给喜古讷与阿如拉,最佳比例为 1:1;组方 II 为沙日嘎与阿如拉,最佳比例为 1:1;组方 III 为朝您·哈日莫各、给喜古讷与阿如拉,最佳比例为 1:2:2;组方 IV 为朝您·哈日莫各、给喜古讷与阿如拉,最佳比例为 1:1:1;组方 V 为当棍、浑钦、给喜古讷和阿如拉,最佳比例为 1:1:2:4。

本研究中将具有无拮抗作用的抗菌药物组合在一起是抗菌蒙药组方筛选的难点。将药物的整体功效作为一个量化指标,从而起到更强的抗菌效果是蒙药组方的目的。正交设计进行筛选能够分析将单味药物或多味药物作为一个因素时,多个因素间相互作用和最佳配伍用量,正交试验设计可减少试验次数和设计分析的繁杂程序,所获取的因素水平组

合方能达到较佳水平^[15]。因此,本研究结合体外抑菌试验,通过正交设计筛选出体外抑菌蒙药组方,并对其剂量进行优化。

参 考 文 献

- [1] 张越男,张彦明,张怀喜. 大肠杆菌毒力因子研究概况[J]. 动物医学进展,2003,24(4):26-29
- [2] 闫慎飞,李玉斌,魏锦辉,等. 鸡大肠杆菌病的诊疗体会[J]. 禽病防治,2002,19(22):52-53
- [3] 永措巴占. 犍牛大肠杆菌病及其防控措施[J]. 中国畜牧兽医文摘,2014,30(6):108
- [4] 辛彬,孙刚. 犍牛大肠杆菌病的综合治疗[J]. 畜牧兽医科技信息,2012(10):51-52
- [5] 王同奎. 牛大肠杆菌病的诊治[J]. 中国畜牧兽医文摘,2014,30(3):119
- [6] 陈立军. 犍牛大肠杆菌病的防治[J]. 畜禽业,2014(300):77
- [7] Santos S M, Henriques M S, Duarte A C, et al. Development and application of a capillary electrophoresis based method for the simultaneous screening of six antibiotics in spiked milk samples[J]. Talanta,2007,71(2):731-737
- [8] 松林,乌云斯日古楞. 试论中国蒙药的研究概况[J]. 中国民族医药杂志,2006(1):26-29
- [9] 巴音木仁. 蒙古兽医学[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,1996
- [10] 宋立人,胡烈,王额尔敦,等. 中华本草蒙药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004
- [11] 斯木吉德,敖日格乐,王纯洁,等. 6 种血清型牛源致病性大肠杆菌的体外抑菌效果研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2009(9):69-70
- [12] 战永波,王纯洁,包金荣,等. 利用体外抑菌试验确立奶牛乳腺炎抗菌蒙药组方[J]. 动物医学进展,2009,30(9):34-37
- [13] 韩梅红. 10 味中草药对金黄色葡萄球菌的体外抑菌试验[J]. 长江大学学报,2011,8(10):240-243
- [14] 邓振伟,于萍. SPSS 软件在正交试验设计、结果分析中的应用[J]. 电脑学习,2009,10(5):15-16
- [15] 李昊宣,孟宪生,曹爱民,等. 基于正交设计法对九味丹参胶囊水提工艺的研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2008,10(4):145-146

责任编辑:苏燕