

研究报告

3种蒙药复方对致病性 *Escherichia coli* O₁ 的抑菌机理及对小鼠的保护率

杨斯琴¹ 敖日格乐^{1*} 王纯洁² 陈玉洁¹ 周婷¹

(1. 内蒙古农业大学动物科学学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

(2. 内蒙古农业大学兽医学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:【目的】研究3种蒙药复方对致病性 *Escherichia coli* O₁ 的抑菌机理及对感染 *E. coli* O₁ 小鼠的保护率。【方法】分别采用酶标比浊法、微生物粘附法、试剂盒法和邻硝基苯 β-D-半乳糖苷(ONPG)法测定3种蒙药复方对 *E. coli* O₁ 生长曲线、细胞表面疏水性、细胞壁及细胞膜渗透性的影响。同时,采用人工感染小鼠法测定其对小鼠的保护率。【结果】3种蒙药复方均能不同程度地抑制致病性 *E. coli* O₁, 且对人工感染 *E. coli* O₁ 的小鼠有保护作用, 其中蒙药复方Ⅲ的保护率与环丙沙星相当, 均达到50%; 7味单药组成的蒙药复方Ⅲ水煎剂作用于 *E. coli* O₁ 细胞时, 首先改变其表面疏水性, 其次随作用时间的延长破坏其细胞壁的完整性, 进而破坏细胞膜并改变其通透性, 最终导致细胞结构的破坏, 从而起到抑制作用。【结论】蒙药复方Ⅲ的体内外抑菌效果最佳, 其效果与抗生素环丙沙星相当。

关键词: 蒙药复方, 致病性大肠杆菌, 抑菌机理, 保护率

Inhibition of pathogenic *Escherichia coli* O₁ and protection of infected mice by three Mongolian medicinal compounds

YANG Si-Qin¹ CHEN Aorigele^{1*} WANG Chun-Jie² CHEN Yu-Jie¹ ZHOU Ting¹

(1. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)
(2. College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

Abstract: [Objective] We studied the antibacterial effect of three Mongolian medicinal compounds against pathogenic *Escherichia coli* O₁ and their protection of mice infected with *E. coli* O₁. [Methods] The effects of Mongolian medicinal compounds on the growth curve, cell surface hydrophobicity, the cytoderm and cell membrane permeability of *E. coli* O₁ were determined by turbidimetry, the microbial adhesion to solvents method, reagent kit and membrane permeability assay with ONPG as a substrate. In addition, the protection of mice was evaluated by *E. coli* O₁ challenge. [Results] All three compound recipes inhibited the growth of pathogenic *E. coli* O₁ and protected mice against *E. coli* O₁. The highest

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31060318, 31260570); Key Technologies R&D Program of China (No. 20BAD12B09-02)

*Corresponding author: Fax: 86-471-4309152; E-mail: aori6009@163.com

Received: September 03, 2015; Accepted: October 20, 2015; Published online (www.cnki.net): January 07, 2016

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31060318, 31260570); 国家科技支撑计划项目(No. 20BAD12B09-02)

*通讯作者: Fax: 86-471-4309152; E-mail: aori6009@163.com

收稿日期: 2015-09-03; 接受日期: 2015-10-20; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-01-07

protection rate (50%) was obtained for mice treated with Mongolian medicinal compound recipe III, as same rate as ciprofloxacin treated mice. When acting on the *E. coli* O₁ cells, the decoction of Mongolian medicinal compound recipe III consisted of 7 herbs firstly changed the surface hydrophobicity of the cell and secondly destroyed the integrity of the cell wall over time, and then destroyed the cell membrane and changed the permeability, which eventually destroyed the cell structure. **[Conclusion]** Mongolian medicinal compound recipe III showed the best antibacterial effect against *E. coli* O₁ both *in vivo* and *in vitro* and its protection rate in mice infected with *E. coli* O₁ was comparable with the antibiotic ciprofloxacin.

Keywords: Mongolian medicinal compound, Pathogenic *Escherichia coli*, Antibacterial mechanism, Protection rate

蒙医药学是吸收古印度、波斯及藏族医药学理论的精华与蒙古地区特有的药材相结合而形成的独特的蒙古医药学理论体系^[1]。研究发现蒙药具有抗菌消炎、提高机体免疫力等作用。

致病性大肠杆菌 (Pathogenic *Escherichia coli*) 是医学和兽医学临床上中最常见的病原菌之一。致病性 *E. coli* 不仅是引起动物腹膜炎、腹泻及败血症等的病原菌^[2], 而且也是造成发展中国家幼儿腹泻的重要病原菌^[3]。通常致病性 *E. coli* 采用抗生素治疗, 但近年来, 抗生素的滥用导致病原菌产生耐药性日趋严重, 因而亟待寻求天然、绿色药物的研发。

目前, 关于蒙药研究较多的是其对病原微生物的体外抑菌和体内抗菌方面, 而对病原菌抑菌机理方面的研究较少。因此本研究通过一系列实验, 对蒙药的抑菌机理进行了探究。

1 材料与方

1.1 供试菌株和受试蒙药复方

致病性 *Escherichia coli* O₁ (*E. coli* O₁) 和蒙药复方均由内蒙古农业大学动物科学学院动物生产实验室提供。3种蒙药复方(经前期研究发现对致病性 *E. coli* O₁ 体外抑菌作用明显)分别为: 蒙药复方III (枸杞、大黄、诃子、当归、玉竹、红花和黄芩, 比例为 2:1:2:2:2:2); 蒙药复方IV (红花、大黄、诃子、枸杞和木瓜, 比例为 2:1:1:2:2); 蒙药复方V (当归、黄芩、大黄、诃子、木瓜、枸杞和黄芪, 比例为 2:2:1:2:2:2:2)。

1.2 试验动物及试剂

20±2 g 的健康小鼠购自内蒙古大学动物中心;

普通营养琼脂培养基、LB 肉汤, 广东环凯微生物科技有限公司; n-十六烷、氯仿、乙酸乙酯、KNO₃、磷酸盐缓冲液(PBS)和邻硝基苯 β-D-半乳糖苷 (ONPG), 上海国药试剂有限公司; 碱性磷酸酶(AKP) 测试盒, 南京建成生物工程研究所。

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; Multifuge X1R 离心机, 美国 Thermo Scientific Heraeus 公司; 酶标仪, 美国 BioTek 公司。

1.4 3种蒙药复方水煎剂的制备

将 3 种蒙药复方中各单味蒙药按比例进行称取, 放入滤药袋, 加入 10 倍量水, 室温浸泡过夜, 煮沸 1.5 h, 过滤药液; 滤渣加 5 倍量水, 煮沸 1 h, 合并 2 次药液, 小火浓缩至生药量为 1 g/mL。1×10⁵ Pa 高压灭菌, 4 °C 保存备用^[4]。

1.5 致病性 *E. coli* O₁ 菌液的制备

致病性 *E. coli* O₁ 经营养琼脂纯化 3 次, 使得菌落生长状况及菌落形态特征趋于一致, 并与典型的描述特征相符合时接种于 LB 肉汤, 于 37 °C、110 r/min 培养 16 h, 4 °C 保存备用^[5]。

1.6 3种蒙药复方对 *E. coli* O₁ 生长曲线的影响

将 3 种蒙药复方水煎剂用营养肉汤分别配制成 2 MIC (Minimum inhibitory concentration) 浓度的药液, 以营养肉汤作为阳性对照, 0.013 g/mL 的盐酸环丙沙星(用营养肉汤稀释)为阴性对照, 以上每种溶液各 5 mL。每种溶液中加 200 μL 菌悬液

(1×10^6 CFU/mL), 37 °C、110 r/min 连续培养, 每隔 2 h 取样一次, 酶标仪测定 OD_{630} 值, 在细菌培养至稳定期后结束测定, 每次取样重复 3 孔, 取平均值, 并绘制生长曲线^[6]。

1.7 3 种蒙药复方对 *E. coli* O₁ 细胞表面疏水性的影响

将生长到对数期的 *E. coli* O₁ 5 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 菌体沉淀用 0.1 mol/L 灭菌 PBS (pH 7.2) 洗涤 3 次, 并重新悬浮于 0.1 mol/L KNO₃ (pH 6.2) 中, 调整菌浓度 (A_0) 为 $OD_{400}=0.4$ (约 10^6-10^7 CFU/mL)。按表 1 加入各溶液, 室温孵育 10 min, 涡旋 2 min, 使各溶液充分混合, 静置 15 min 后快速吸取上清液, 测定 OD_{400} (A_1)。 *E. coli* O₁ 对各溶剂的粘附性计算公式为: $(1-A_1/A_0) \times 100$ ^[7]。

1.8 3 种蒙药复方对 *E. coli* O₁ 细胞壁的影响^[8]

将生长到对数期的 *E. coli* O₁ 5 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 菌体沉淀用 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次, 并用 0.01 mol/L PBS 将浓度调整为 10^6 CFU/mL。吸取等体积 *E. coli* O₁ 菌液与蒙药复方进行混合, 使得蒙药复方终浓度为 2 MIC 浓度, 37 °C、110 r/min

培养。培养至 0、1、2、3、4、5、6 h, 各时间点取样一次, 将取样混合液 3 500 r/min 离心 10 min, 根据碱性磷酸酶(AKP)试剂盒说明书测定 AKP 的含量。根据 AKP 含量变化反映蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞壁的影响。

1.9 3 种蒙药复方对 *E. coli* O₁ 细胞膜的影响

将致病性 *E. coli* O₁ 接种于含 2% 乳糖的 LB 肉汤中, 生长到对数期时 5 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 菌体沉淀用 0.1 mol/L 灭菌 PBS 洗 3 次, 并用 0.01 mol/L (pH 7.5) PBS 将菌浓度调整为 10^8 CFU/mL。于 96 孔板中设置阴性对照孔、阳性对照孔和试验孔, 每孔均加入 200 μ L 致病性 *E. coli* O₁ 菌悬液和 10 μ L 0.03 mol/L ONPG。此外, 阴性对照孔加入 10 μ L 生理盐水, 阳性对照孔加入 10 μ L 2% TritonX-100, 试验孔加入蒙药复方 III、IV、V (2 MIC 浓度) 各 10 μ L。于 37 °C、110 r/min 摇床培养, 测定 0、10、30、60、90、120 min 时各孔溶液的 OD_{415} ^[9]。根据 OD 值计算 β -半乳糖苷酶释放量, 计算公式: ONP (min/mL) = $[A_{415} \times 1\ 000 / \text{样品体积}(\mu\text{L})] / \text{反应时间}(\text{min}) \times 4.86$ 。其中, A_{415} 为无细胞上清液的吸光值

表 1 蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞表面疏水性的影响试验方案
Table 1 The experiment protocol of the effect of Mongolian medicinal compounds on the hydrophobicity of pathogenic *E. coli* O₁

组别 Group	试验方案 Experiment protocol
空白对照组 The control group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 0.1 mol/L KNO ₃
非极性溶剂组 The non-polar solvent group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 十六烷
碱性溶剂组 The alkaline solvent group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 乙酸乙酯
酸性溶剂组 The acid solvent group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 氯仿
蒙药复方 III 组 The compound Mongolian medicine III group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 2MIC 浓度蒙药复方 III
蒙药复方 IV 组 The compound Mongolian medicine IV group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 2MIC 浓度蒙药复方 IV
蒙药复方 V 组 The compound Mongolian medicine V group	1.2 mL <i>E. coli</i> O ₁ 菌悬液+0.2 mL 2MIC 浓度蒙药复方 V

OD₄₁₅, 4.86 为 ONP 消光系数[L/(mmol·cm)]。

1.10 3种蒙药复方对感染 *E. coli* O₁ 小鼠保护率的测定

蒙药复方对感染致病性 *E. coli* O₁ 小鼠保护率的测定试验给药方案见表 2。试验于第 4 天最后一次灌胃 1 h 后, 各组试验小鼠分别腹腔注射 0.3 mL (80% MLD) 致病性 *E. coli* O₁, 观察并记录各组感染后 72 h 内的死亡情况, 计算保护率。

保护率=(未治疗组死亡数-处理组死亡数)/未治疗组死亡数×100%^[1]。

1.11 数据分析

采用 Excel 作图。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SAS 9.0 统计软件 ANOVA 对数据进行方差分析, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 生长曲线的影响

3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 生长曲线的影响见图 1。由图 1 可知, 营养肉汤组 *E. coli* O₁ 生长曲线呈 S 形, 随着培养时间的延长菌液浓度逐渐增加。环丙沙星与蒙药复方 III 组 *E. coli* O₁ 生长曲线基本呈现水平状态, 而蒙药复方 IV 和 V 组 *E. coli* O₁ 随着培养时间的延长浓度略有增加趋势。但 3 种蒙药复方组和环丙沙星组与营养肉汤组相比, *E. coli* O₁ 的生长明显受到药物的抑制作用。表明 3 种蒙药复方对 *E. coli* O₁ 的生长有很好的抑制作用, 其中复方 III 的抑制效果与环丙沙星相当。

表 2 试验分组及给药方案
Table 2 Dosage regimen and experiment grouping

组别 Groups	动物数 Animals	剂量 Dosage (mL/each)	给药方案 Dosage regimen
未治疗组 The untreated group	10	0.2	灌服灭菌蒸馏水, 连续 7 d, 2 次/d
环丙沙星组 The ciprofloxacin group	10	0.2	灌服环丙沙星 0.13 g/kg, 连续 7 d, 2 次/d
蒙药复方 III 组 The compound Mongolian medicine III group	10	0.2	灌服蒙药复方 III 0.54 g/kg, 连续 7 d, 2 次/d
蒙药复方 IV 组 The compound Mongolian medicine IV group	10	0.2	灌服蒙药复方 IV 0.54 g/kg, 连续 7 d, 2 次/d
蒙药复方 V 组 The compound Mongolian medicine V group	10	0.2	灌服蒙药复方 V 0.54 g/kg, 连续 7 d, 2 次/d

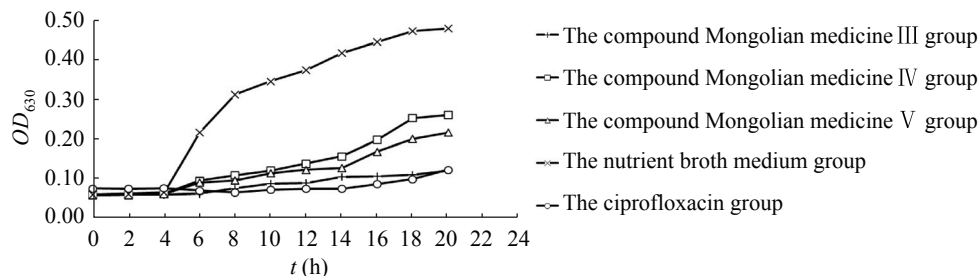


图 1 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 生长曲线的影响

Figure 1 Effect of 3 Mongolian medicinal compounds on the growth curve of pathogenic *E. coli* O₁

2.2 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞表面疏水性的影响

3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞表面疏水性的影响见图2。由图2可知,碱性乙酸乙酯组致病性 *E. coli* O₁ 的疏水性最低,与非极性十六烷组和酸性氯仿组均差异显著($P<0.05$)。空白对照组疏水性显著高于碱性溶剂组和3种蒙药复方组($P<0.05$),同时显著低于酸性氯仿组($P<0.05$)。致病性 *E. coli* O₁ 对酸性氯仿粘附性较高,对碱性乙酸乙酯的粘附性较低,对非极性溶剂的粘附性也较低,因此推断致病性 *E. coli* O₁ 具有强碱弱酸且相对亲水的特性。3种蒙药复方降低了致病性 *E. coli* O₁ 的疏水性,且与碱性乙酸乙酯差异不显著($P>0.05$),说明3种蒙药复方为碱性溶液,从而使致病性 *E. coli* O₁ 更加亲水。

2.3 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞壁的影响

3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞壁的影响见图3。由图3可知,营养肉汤组 AKP 含量基本呈现一条水平线,说明营养肉汤组 *E. coli* O₁ 细胞壁完整,AKP 含量几乎无变化。而3种蒙药复方和环丙沙星组 AKP 含量呈逐渐上升趋势,说明蒙药复方

和环丙沙星可破坏细菌细胞壁并使其通透性增加,从而使存在于细胞壁与细胞膜之间的碱性磷酸酶(AKP)渗透到细胞外。蒙药复方III组与环丙沙星组 AKP 含量趋势基本一致,表明蒙药复方III对致病性 *E. coli* O₁ 细胞壁的破坏程度与环丙沙星基本一致,而蒙药复方IV和V对致病性 *E. coli* O₁ 细胞壁的破坏程度低于复方III和环丙沙星。

2.4 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细菌细胞膜渗透性的影响

3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细菌细胞膜渗透性的影响见图4。由图4可知,生理盐水组的 OD 值趋于直线,无明显变化,可知细菌细胞膜无破坏、无渗透,因此检测不出 β -半乳糖苷酶的释放。而2% Triton X-100 和3种蒙药复方组的 OD 值随时间的延长而增加,表明细菌细胞膜遭到破坏、通透性增加, β -半乳糖苷酶释放与 ONPG 反应并生成黄色邻-硝基苯酚(ONP)。蒙药复方III对细胞膜渗透性的影响与2% Triton X-100 相近,而复方IV和V对细胞膜的破坏性不如复方III和2% Triton X-100。由此可知蒙药复方可破坏细菌细胞膜增加通透性从而起到抑菌作用。

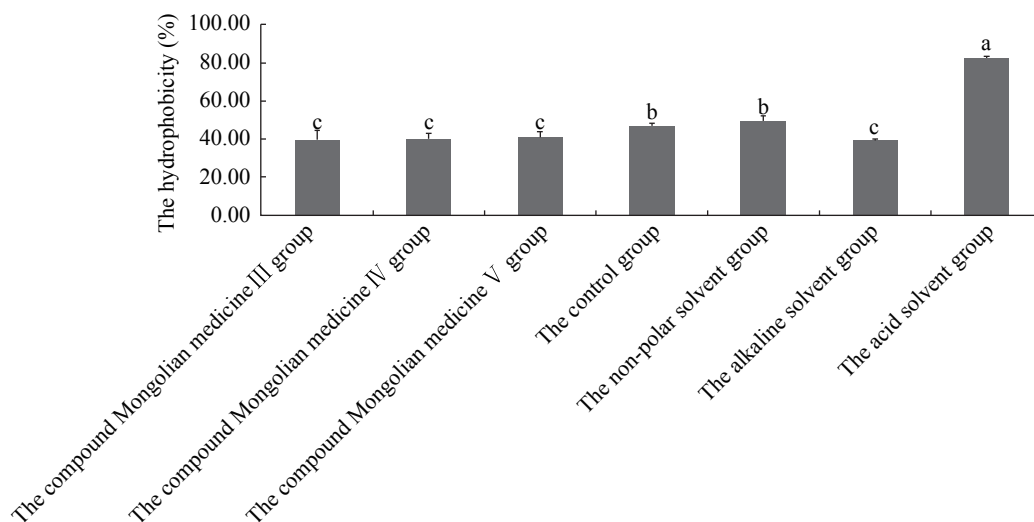


图2 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞表面疏水性的影响

Figure 2 Effect of 3 Mongolian medicinal compounds on the hydrophobicity of pathogenic *E. coli* O₁

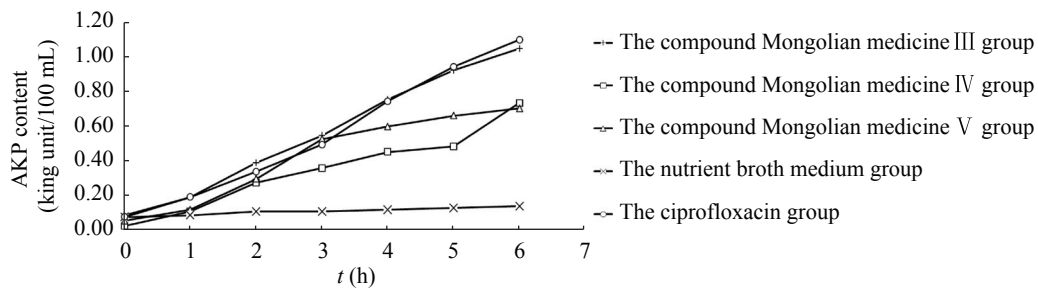


图3 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细胞壁的影响

Figure 3 Effect of 3 Mongolian medicinal compounds on the cell wall of pathogenic *E. coli* O₁

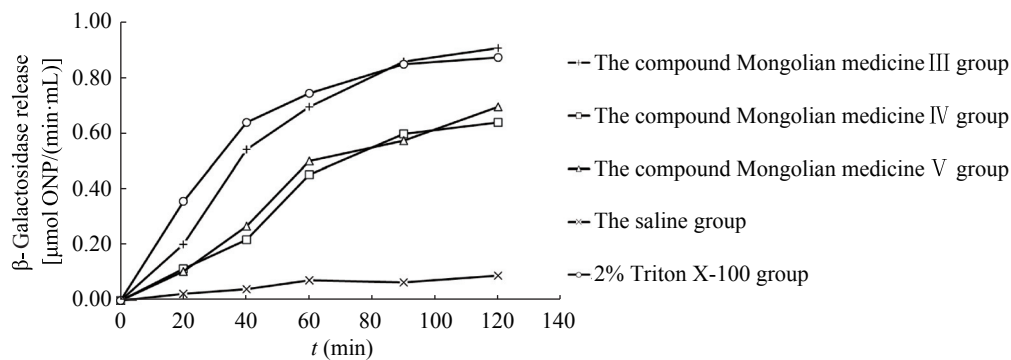


图4 3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 细菌细胞膜渗透性的影响

Figure 4 Effect of 3 Mongolian medicinal compounds on the cell membrane permeation of pathogenic *E. coli* O₁

2.5 3种蒙药复方对感染 *E. coli* O₁ 小鼠保护率的影响

3种蒙药复方对感染 *E. coli* O₁ 小鼠保护率的测定结果见表3。由表3可知,腹腔注射80%MLD *E. coli* O₁ 后,未治疗组小鼠存活2只,环丙沙星和复方III组小鼠各存活6只,保护率为50.0%。复方IV和V组各存活5只和4只,保护率分别为37.5%和25.0%。可知蒙药复方III对感染 *E. coli* O₁ 小鼠的保护率与环丙沙星一致。

3 讨论

微生物生长曲线的变化可揭示微生物的群体生长变化,而药物对微生物生长曲线的变化不仅揭示药物对该菌的抑菌作用,而且揭示药效强弱随时间的变化情况^[9]。张祎娜等^[9]报道草药连翘提取物对乳房链球菌和无乳链球菌的生长曲线有不同程度的抑制。杨艾青等^[10]报道草药黄芩和鹿蹄草乙醇

提取物对沙门氏菌生长曲线有较强的抑制作用。蒙药属于纯天然药物,其成分复杂种类繁多。有报道指出,草药的某些成分会成为细菌的“营养物质”;而某些成分使细菌产生钝化酶和菌膜,从而产生耐药性^[10]。本研究中,3种蒙药复方对致病性 *E. coli* O₁ 生长曲线的影响与文献^[9-10]报道一致,出现不同程度的抑制作用,其中复方III的抑菌效果强于复方IV和复方V。因此推测,复方IV和复方V中某些成分可能为细菌提供些许“营养物质”,同时含有抑菌物质,且抑菌物质比“营养物质”多,因而其抑菌作用不如复方III。

细菌细胞表面结构复杂,同时含有疏水位点和亲水位点。亲水位点主要为带电荷的基团,疏水位点主要为脂类、脂多糖和蛋白质^[11]。微生物粘附于非极性十六烷的强弱可反映细菌表面是亲水性或疏水性,而粘附于氯仿和乙酸乙酯数值的高低可反

表3 3种蒙药复方对感染 *E. coli* O₁ 小鼠保护率
Table 3 The protection rates of mice infected with *E. coli* O₁ of 3 Mongolian medicinal compounds

组别 Groups	动物数 Animals	存活数 Survival	保护率 Protection rate (%)
未治疗组 The untreated group	10	2	0
环丙沙星组 The ciprofloxacin group	10	6	50.0
蒙药复方III组 The compound Mongolian medicine III group	10	6	50.0
蒙药复方IV组 The compound Mongolian medicine IV group	10	5	37.5
蒙药复方V组 The compound Mongolian medicine V group	10	4	25.0

映其电子供体(碱性)或电子受体(酸性)特性^[7,12]。陈玉洁等^[13]研究报道, *E. coli* O₈为相对亲水性,呈强碱弱酸性;碱性溶液降低 *E. coli* O₈的疏水性。本研究结果显示,3种蒙药复方为碱性溶液;*E. coli* O₁细胞表面为相对亲水性、呈强碱弱酸性(图2);且蒙药复方降低了 *E. coli* O₁的疏水性,本结果与陈玉洁等研究结果一致。

细菌细胞壁的主要功能为保持细胞外形和抑制机械和渗透损伤。碱性磷酸酶(AKP)是一种存在于细胞壁与细胞膜间的酶,细胞壁无损伤时细胞外AKP极少,而当细胞壁遭到破坏后,细胞壁通透性增加,从而AKP渗透到胞外。因此测定细胞外AKP含量可反映细菌细胞壁的完整情况^[14]。姚媛媛^[15]报道传统蒙药复方对大肠杆菌细胞壁有一定的破坏性。本研究结果显示,加入3种蒙药复方后,AKP含量明显增多,随时间呈直线上升趋势,与文献^[15]报道一致。复方III对 *E. coli* O₁细胞壁的破坏最强,即抑菌作用最强。推测复方III中抑菌成分较多。

细菌细胞膜内含有β-半乳糖苷酶。邻硝基苯β-D-半乳糖苷(ONPG)是β-半乳糖苷酶的底物,β-半乳糖苷酶可将ONPG水解成半乳糖和黄色的ONP。正常情况下胞外检测不到其活性,但当细胞膜的结构遭到破坏,细胞膜通透性改变,β-半乳糖苷酶释放到胞外或ONPG进入到胞内^[11]。因此,通

过培养液中ONP颜色变化可知细胞膜是否破坏或通透性改变。研究结果显示,加入3种蒙药复方后,β-半乳糖苷酶释放量明显高于生理盐水组,表明其对细胞膜有一定的破坏性。其中复方III组的释放量最大,推测其抑菌成分多于复方IV和复方V。其成分还有待于进一步研究。

本研究中,蒙药复方对感染致病性 *E. coli* O₁小鼠有不同程度的保护效果。战永波研究发现,蒙药复方对混合菌感染小鼠保护率最高可达75%^[1]。姚媛媛研究发现,传统蒙药复方对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌混合菌感染的小鼠有保护性,其保护率达到87.5%^[15]。而本研究中蒙药复方III的保护率最好,与抗生素环丙沙星一致,达到50.0%。其保护率低于以上两位报道的结果,其原因可能是由于蒙药复方的成分、感染菌种来源、实验小鼠个体差异不同所导致。

参 考 文 献

- [1] Zhan YB. Screening of compound Mongolian medicine treating bovine mastitis and research of its mechanism on anti-inflammation and immunoenhancement[D]. Hohhot: Doctoral Dissertation of Inner Mongolia Agricultural University, 2010 (in Chinese)
战永波. 治疗奶牛乳房炎蒙药复方的筛选及其抗炎免疫机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文, 2010
- [2] Du XD. Studies on epidemiology of class I integron among bovine *E. coli* and mechanism of its resistance to florfenicol[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2005 (in Chinese)

- 杜向党. 牛源大肠杆菌 I 型整合子的调查及对氟苯尼考耐药性的研究[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2005
- [3] Croxen MA, Law RJ, Scholz R, et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2013, 26(4): 822-880
- [4] Yang SQ, Ao RGL, Wang CJ, et al. Antibacterial effects of Mongolian medicines on bovine pathogenic *Escherichia coli* in vitro[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(1): 124-128 (in Chinese)
杨斯琴, 敖日格乐, 王纯洁, 等. 蒙药对牛源致病性大肠杆菌的体外抑菌效果研究[J]. *中国农业大学学报*, 2015, 20(1): 124-128
- [5] Han MH. Antibacterial effects of 10 Chinese herbal medicines on *Staphylococcus aureus* strain from chicken arthritis in vitro[J]. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2011, 8(10): 240-242, 248 (in Chinese)
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: 自然科学版*, 2011, 8(10): 240-242, 248
- [6] Lee HJ, Choi GJ, Cho KY. Correlation of lipid peroxidation in *Botrytis cinerea* caused by dicarboximide fungicides with their fungicidal activity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(2): 737-741
- [7] Pelletier C, Bouley C, Cayuela C, et al. Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(5): 1725-1731
- [8] Sun JX, Wang WJ. Antimicrobial action mechanism of tea polyphenols on pseudomonad[J]. *Meat Industry*, 2010(1): 36-39 (in Chinese)
孙京新, 王文娟. 茶多酚对假单胞菌抑菌机理研究[J]. *肉类工业*, 2010(1): 36-39
- [9] Zhang YN, Bai JH, Huang Z, et al. Effects of *Forsythia suspense* on growth curve of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus agalactiae* about endometritis pathogens in dairy cows[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(17): 54-57 (in Chinese)
张祎娜, 白佳桦, 黄正, 等. 连翘对奶牛子宫内膜炎致病菌(乳房链球菌和无乳链球菌)生长曲线的影响[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(17): 54-57
- [10] Yang AQ, Ai QJ, Zhang DQ. Effects of several Chinese herbal medicine extracts on growth curve of *Salmonella*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(14): 73-76 (in Chinese)
杨艾青, 艾启俊, 张德权. 几种中草药乙醇提取物对沙门氏菌生长特性曲线的影响[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(14): 73-76
- [11] Hou LX, Zhai P, Shi YH, et al. Effect on the bacterial cell surface characteristics and cell membrane of the antibacterial peptide of housefly (*Musca domestica*)[J]. *Microbiology China*, 2007, 34(3): 434-437 (in Chinese)
侯利霞, 翟培, 施用晖, 等. 家蝇抗菌肽对细菌细胞表面特性影响及其作用机理的研究[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(3): 434-437
- [12] Bellon-Fontaine MN, Rault J, van Oss CJ. Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial-cells[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1996, 7(1/2): 47-53
- [13] Chen YJ, Chen ARGL, Wang CJ, et al. Effects of antimicrobial compounds of *Kluyveromyces marxianus* in Koumiss on pathogenic *Escherichia coli* and its cell surface characteristics[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(4): 683-689 (in Chinese)
陈玉洁, 敖日格乐, 王纯洁, 等. 酸马奶提取 *Kluyveromyces marxianus* 代谢抗菌复合物对致病性大肠杆菌的抑菌和细胞表面特性的影响[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(4): 683-689
- [14] Hou WF, Xie J, Lan WQ, et al. Antimicrobial mechanisms of phytic acid against *Escherichia coli*[J]. *Jiangsu Journal of Agriculture Science*, 2012, 28(2): 443-447 (in Chinese)
侯伟峰, 谢晶, 蓝蔚青, 等. 植酸对大肠杆菌抑菌机理的研究[J]. *江苏农业学报*, 2012, 28(2): 443-447
- [15] Yao YY. A study on the isolation and identification of *E. coli* from calf diarrhea and antimicrobial effect of Mongolian medicine on they[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2014 (in Chinese)
姚媛媛. 致犊牛腹泻病肠道大肠杆菌的分离鉴定及蒙药复方对其抗菌效果研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2014