

复方芩连汤对几种禽病病毒体外 增殖的抑制作用

王学斌, 魏战勇, 崔保安*, 胡梅, 徐端红
(河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 以黄连、黄芩、板蓝根、黄芪等为主要成分的复方芩连汤作为抗病毒药, 利用细胞病变(CPE)抑制试验测定中药复方在长成单层的鸡胚成纤维细胞(CEFC)上对鸡新城疫病毒(NDV)、鸡传染性支气管炎病毒(IBV)、鸡传染性法氏囊病病毒(IBDV)等几种禽病病毒的抑制作用。结果表明: 中药复方对NDV具有较好的抑制作用, 其最小直接杀灭浓度为 $7.81 \mu\text{g/mL}$, 最小阻断浓度为 $3.9 \mu\text{g/mL}$, 最小治疗浓度为 $15.62 \mu\text{g/mL}$; 中药复方在体外对IBV的T株和M₄₁株也具有显著定的抑制作用, 而对IBDV的抑制作用则不明显。

关键词: 中药复方; 新城疫病毒; 鸡传染性支气管炎病毒; 鸡传染性法氏囊病病毒

中图分类号: S853.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2007)08-0099-06

The Anti-avian Virus Effect of Traditional Chinese Herbal Medicine Compound *in Vitro*

WANG Xue-bin, WEI Zhan-yong, CUI Bao-an*, HU Mei, XU Duan-hong
(Engineering College of Animal and Veterinary Science, Henan Agricultural
University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The traditional Chinese herbal medicine is composed mainly of the following Chinese medicine: coptis Chinensis Franch, Scutellaria baicalensis Georgi, Isatis indigotica Fort, Astragalus membranaceus, etc, and its antiviral effects to several poultry virus (NDV, IBV, IBDV, etc.) were tested on the chick embryo fibroblast cell (CEFC) *in vitro*. The result showed that the compound could inhibit NDV and IBV infection significantly, had little effect on IBDV. So it may be used in treating, and even preventing ND, IB and IBD in Avian.

Key words: Traditional Chinese herbal medicine compound; Newcastle disease virus; Infectious Bronchitis virus; Infectious bursal disease virus

新城疫(ND)是由副黏病毒科的新城疫病毒(NDV)引起禽的一种急性、高度传染性疫病, 主要侵害鸡和火鸡, 亦可感染其他禽类和人类, 是重要的禽类传染病之一^[1]。目前, 在我国发生的多为非典型性鸡新城疫, 危害较为严重, 免疫防制难度大, 临床上尚无有效的治疗药物。鸡传染性支气管炎(IB)

是由冠状病毒科的鸡传染性支气管炎病毒(IBV)引起的一种急性、高度接触传染病, 表现为气管啰音、咳嗽、产蛋下降, 以及肾脏和肠道疾病^[2]。由于血清类型较多, 临床免疫效果不佳, 目前常用血清和卵黄抗体治疗, 但往往存在效果不确定和传播其他疾病的危险。鸡传染性法氏囊病(IBD)是由鸡传染性法

收稿日期: 2007-03-12

基金项目: 河南省农业科技成果转化资金项目

作者简介: 王学斌(1974-), 男, 河南信阳人, 讲师, 本科, 主要从事中兽药研究与开发。

通讯作者: 崔保安(1948-), 男, 河南荥阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事兽医病原分子生物学和免疫学研究。

氏囊病病毒(IBDV)引起的一种急性、高度接触性、杀淋巴细胞性传染病,可导致法氏囊器官萎缩,不仅引起感染鸡的发病与死亡,而且还可导致鸡的免疫抑制,进而出现其他微生物感染或者疫苗免疫应答能力下降^[3]。据资料报道,部分中药对 ND^[4,5], IB^[6], IBD^[7]有良好的治疗效果。为验证中药的抗病毒作用,同时为了临床上有效防治以上几种传染病,选择了具有抗病毒、增强免疫机能、安全高效的几种中药,结合中医传统理论与现代免疫学研究成果,自拟中药复方进行试验;结果初步表明,中药复具有有较强的抗病毒作用。现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和病毒 取 9 日龄 SPF 鸡胚(购自北京梅丽亚实验动物保健中心),按文献[8]方法制备鸡胚成纤维细胞(CEFC)。鸡新城疫病毒、鸡传染性支气管炎病毒 T 株、鸡传染性支气管炎病毒 M₄₁ 株、鸡传染性法氏囊病毒均购自中国兽药监察所,已适应鸡胚成纤维细胞。

1.1.2 主要试剂 标准新生牛血清(批号 200402003)购自郑州伯安生物工程有限公司;MEM 培养基购自 GIBCO 公司;胰蛋白酶购自 AMRESCO 公司产品;其他常规试剂由动物性食品安全重点实验室提供。

1.1.3 复方中药制剂 中药复方由黄连、黄芩、山茶叶、板蓝根、黄芪、甘草等 6 种药材组成,将中药复方用水煎剂制备:取中药复方粉剂 100g,加水 800mL,冷浸 48h,煎煮 3 遍;加热沸腾后改文火煎煮开始计时:第一遍煎煮 40min,第二遍加水 500mL 煎煮 30min,第三遍加水 500mL 煎煮 20min,分别过滤,合并 3 次滤液并浓缩至 0.3 g/mL (按中药复方粉剂计算其重量)。4000 r/min 离心 15 min,取上清,用细菌滤器(孔径 0.22μm)过滤即得水煎剂。用 7 %的 NaHCO₃ 溶液调 pH 值至 7.0 分装于青霉素瓶中备用。

1.1.4 主要仪器 Nikon Ts-100 倒置显微镜,日本尼康公司;371 型 CO₂ 培养箱,美国 Thermo 公司;96 孔细胞板,Coning 产品。

1.2 方法

1.2.1 中药复方对 CEFC 细胞的最大安全浓度的测定^[9]

1.2.1.1 中药复方对 CEFC 细胞贴壁的影响^[10] 用含 8%灭活小牛血清的 1640 液将细胞浓度稀释为 10³/mL,并用细胞悬液将中药倍比稀释后(稀释浓度见表 1),加入无菌 96 孔板上,每孔 200μL,37℃5% CO₂ 培养箱内培养;24h 后观察细胞的形态变化及有无细胞病变,设空白细胞对照(C),试验重复 3 次。

表 1 药物的稀释浓度

项目	孔号											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
药物浓度(mg/mL)	16.00	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.0156	ck

1.2.1.2 中药复方对 CEFC 单层的影响 用 PBS 液冲洗长满单层 CEFC 的 96 孔细胞培养板,加入用 1640 维持液倍比稀释的药物,每孔 200μL,37℃ 5% CO₂ 培养箱内培养;24 h 后观察细胞的形态变化及有无细胞病变,设空白细胞对照,试验重复 3 次,药物稀释方法同上。

1.2.2 病毒滴定 用 CEFC 原代细胞悬液将病毒进行连续 10 倍稀释。依次稀释 8 个稀释度,分别加入已培养为单层的 CEFC 的 96 孔细胞培养板孔内,72h 后观察 CPE 细胞病变。根据 Reed—Muench 公式计算 IBV 和 IBDV 的半数细胞培养感染量 TCID₅₀。

1.2.3 中药复方对病毒的抑制试验

1.2.3.1 中药复方对病毒的杀灭作用(中药复方与病毒作用后加入 CEFC) 用 1640 维持液将病毒作 1000 TCID₅₀稀释,再用 1000 TCID₅₀稀释的病毒液

将无毒浓度的复方作倍比稀释,加入到无菌的 96 孔细胞培养板上,每孔 200μL,密封后于 5%CO₂ 培养箱作用 1h;然后加入到另一块长满单层 CEFC 的 96 孔细胞培养板内,并设细胞空白对照和病毒对照,每孔 100μL,96 h 后观察记录 CPE。

1.2.3.2 中药复方对病毒的阻断作用(先加复方后感染病毒) 将无毒浓度的复方用 1640 维持液作倍比稀释后加入长满单层 CEFC 的 96 孔板内,每孔 100μL,37℃ 5%CO₂ 培养箱内培养 2h,然后加入 10³ 稀释的病毒液,每孔 100μL,并设细胞空白对照和病毒对照,96 h 后观察并记录 CPE。

1.2.3.3 中药复方的治疗作用(先感染病毒后加复方) 长满单层 CEFC 的 96 孔细胞培养板内,先加入 1000 TCID₅₀ 稀释的病毒液,每孔 100μL,37℃ 5%CO₂ 培养箱内作用 1h,然后加入用 1640 维持液倍比稀释的复方,每孔 100μL,设细胞空白对照和

病毒对照, 96 h 后观察结果并记录 CPE。

1.2.4 中药复方对病毒抑制试验的结果测定 在以上 3 组试验中, 当病毒对照孔 CPE 出现 75 % 以上病变、细胞对照孔细胞生长良好时进行结果测定, 用倒置显微镜观察, 记录各孔 CPE; 出现 75 % 以上细胞病变记为 +++, 50 % 以上细胞病变记为 ++, 25 % 以上细胞病变记为 +, 无病变记为一。

2 结果与分析

2.1 中药复方对 CEFC 的最大无毒浓度

中药复方对 CEFC 贴壁的最小有毒浓度为 (第 10 孔) 0.25 mg/mL, 复方中药对 CEFC 单层的最小有毒浓度为 (第 9 孔) 0.5 mg/mL, 综合两者复方对 CEFC 的最小有毒浓度为 0.25 mg/mL。

2.2 病毒 TCID₅₀ 的测定结果

将病毒接种 CEFC 后, 72 h 后观察 CPE。根据 Reed—Muench 公式计算病毒的 TCID₅₀ (表 2)。

表 2 NDV, IBDV, IBV 在 CEFC 上的 TCID₅₀ 测定

项目	病毒			
	NDV	IBDV	IBV (T 株)	IBV (M ₄₁ 株)
TCID ₅₀	10 ^{6.43} /0.1 mL	10 ^{5.30} /0.1 mL	10 ^{6.22} /0.1 mL	10 ^{6.59} /0.1 mL

2.3 中药复方对病毒的抑制作用

2.3.1 中药复方对病毒的杀灭作用 将中药复方与病毒作用后加入 CEFC 测定中药对病毒杀灭作用, 72 h 后观测结果, 其结果分别见表 3、表 4、表 5、表 6。

由表 3 可知, 中药复方制剂与 NDV 作用后对 CEFC 的 CPE 产生了较好的抑制作用, 其体外直接

杀灭最小浓度为 7.81 μg/mL。

由表 4 可知, 复方中药制剂与 IBDV 作用后对 CEFC 的 CPE 产生具有一定的抑制作用, 其体外杀灭最小浓度为 125 μg/mL。

由表 5 可知, 中药复方制剂在无毒浓度 250 ~ 31.25 μg/mL 范围内与 IBV (T 株) 作用后对 CEFC 的 CPE 产生了显著的抑制作用, 其体外杀灭最小浓度为 31.25 μg/mL。

由表 6 可知, 中药复方制剂在无毒浓度 250 ~ 15.62 μg/mL 范围内与 IBV (M₄₁ 株) 作用后对 CEFC 的 CPE 产生具有显著的抑制作用, 其体外杀灭最小浓度为 15.62 μg/mL。

2.3.2 复方中药制剂对病毒的阻断作用 复方中药制剂对病毒的阻断作用见表 7~10。由表 7 可知复方中药制剂在无毒浓度 30.30 ~ 1.875 μg/mL 范围内与 CEFC 作用后对 NDV 引起的 CPE 具有较好的阻断作用, 其最小阻断浓度为 3.9 μg/mL。

由表 8 可知, 复方中药制剂体外与 CEFC 作用后对 IBDV 引起的 CPE 有一定的阻断作用, 其体外最小作用浓度为 125 μg/mL。

由表 9 可知, 复方中药制剂在无毒浓度 250 ~ 7.81 μg/mL 范围内与 CEFC 作用后对 IBV (T 株) 引起的 CPE 具有显著的阻断作用, 其最小阻断浓度为 7.81 μg/mL。

由表 10 可知, 复方中药制剂在无毒浓度 250 ~ 7.81 μg/mL 范围内与 CEFC 作用后对 IBV (M₄₁ 株) 的 CPE 具有显著的阻断作用, 其最小阻断浓度为 7.81 μg/mL。

表 3 与中药复方作用后的 NDV 对 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度 (μg/mL)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	+++	—
II	—	—	—	—	—	—	+	++	++	++	+++	—
III	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	—

表 4 与复方中药制剂作用后的 IBDV 对 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度 (μg/mL)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	+	++	++	++	+++	+++	++++	+++	—
II	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	—
III	—	—	+	+	++	++	++	++	++	+++	+++	—
IV	—	—	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	—

表 5 与复方中药制剂作用后的 IBV(T 株)对 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度($\mu\text{g/mL}$)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	++	+++	—
II	—	—	—	—	+	++	++	+	++	++	+++	—
III	—	—	—	—	+	+	++	++	++	+++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	+	+	+	++	+++	+++	—

表 6 与复方中药制剂作用后的 IBV(M₄₁ 株)对 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度($\mu\text{g/mL}$)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	+	++	+	++	+++	+++	—
II	—	—	—	—	—	+	+	++	++	++	+++	—
III	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	—	+	++	++	++	+++	—

表 7 复方中药制剂与 CEFC 作用后对 NDV 引起的 CPE 阻断作用

组别	药物浓度($\mu\text{g/mL}$)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	—
II	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	—
III	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	—

表 8 复方中药制剂与 CEFC 作用后对 IBDV 引起的 CPE 阻断作用

组别	药物浓度($\mu\text{g/mL}$)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	+	+	+	++	++	++	+++	—
II	—	—	—	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	—
III	—	—	+	+	++	+	+	++	+++	+++	+++	—
IV	—	—	—	+	+	+	++	++	++	++	+++	—

表 9 复方中药制剂与 CEF 作用后对 IBV(T 株)引起的 CPE 阻断作用

组别	药物浓度($\mu\text{g/mL}$)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	+++	—
II	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	+++	—
III	—	—	—	—	—	—	+	++	++	+++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	—

表 10 复方中药制剂与 CEF 作用后对 IBV(M₄₁ 株)引起的 CPE 阻断作用

组别	药物浓度($\mu\text{g/mL}$)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	—	+	+	+	++	+++	—
II	—	—	—	—	—	—	+	++	++	+++	+++	—
III	—	—	—	—	—	—	—	+	++	++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	—

2.3.3 复方中药制剂的治疗作用 复方中药制剂的治疗作用见表 11~14。

由表 11 可知,复方中药制剂对感染 NDV 后的 CEFC 的 CPE 具有一定的抑制作用,其最小治疗浓

度为 15.62 $\mu\text{g/mL}$ 。

由表 12 可知,复方中药制剂对感染 NDV 后的 CEFC 的 CPE 抑制作用不明显。

由表 13 可知,复方中药制剂在无毒浓度 250~

31.25 μ g/mL 范围内对感染 IBV (T 株) 后的 CEFC 的 CPE 具有显著的抑制作用, 其最小治疗浓度为 31.25 μ g/mL。

由表 14 可知, 复方中药制剂在无毒浓度 250 ~ 31.25 μ g/mL 范围内对感染 IBV (M41 株) 后的 CEFC 的 CPE 具有明显的抑制作用, 其最小治疗浓

表 11 复方中药制剂对感染 NDV 后的 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度(μ g/mL)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	—
II	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	—
III	—	—	—	—	—	++	++	++	+++	+++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	+	++	+++	++	+++	+++	—

表 12 复方中药制剂对感染 IBDV 后的 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度(μ g/mL)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	+	+	+	++	++	++	++	+++	+++	+++	—
II	—	—	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	—
III	—	—	—	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	—
IV	—	+	+	+	+	+	++	+++	++	+++	+++	—

表 13 复方中药制剂对感染 IBVT 株后的 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度(μ g/mL)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	—
II	—	—	—	—	+	++	++	++	++	+++	+++	—
III	—	—	—	—	+	+	++	++	+	++	+++	—
IV	—	—	—	—	+	+	+	+	++	+++	+++	—

表 14 复方中药制剂对感染 IBVM₄₁ 株后的 CEFC 的 CPE 影响作用

组别	药物浓度(μ g/mL)										病毒对照	空白对照
	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.975	0.49		
I	—	—	—	—	+	++	++	++	++	+++	+++	—
II	—	—	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	—
III	—	—	—	—	+	+	++	++	++	+++	+++	—
IV	—	—	—	—	—	+	+	++	++	++	+++	—

度为 31.25 μ g/mL。

3 小结与讨论

经过 3 次重复测定, 中药复方制剂对 CEFC 细胞的最大无毒浓度为 0.25mg/mL。在小于这个浓度时, 中药复方制剂对细胞无毒性作用。中药复方制剂在体外对 IBV 的 T 株和 M₄₁ 株均具有显著的抑制作用, 其最小直接杀灭浓度分别为 31.25 μ g/mL, 15.62 μ g/mL; 最小阻断浓度均为 7.81 μ g/mL, 最小治疗浓度均为 31.25 μ g/mL。对于同一病毒两毒株出现抗复方中药的浓度并不一样, 可能由于这两种病毒来源、本身的特性不一或者 CEFC 适应性不一造成的。中药复方制剂在最小毒性浓度内对 IBDV 的抑制作用不明显, 这与朱连勤等报道的研究结果基本一致^[7]。

现代中药研究表明, 复方中药制剂中的黄连、黄芩、板蓝根、山茶叶具有清热解毒之功效, 为抗病毒主药; 黄芪具有益气健脾之功效, 可增强机体免疫力; 甘草为调和诸药之辅药, 具有润肺止咳之功效。试验对该复方中药制剂的抗病毒感染作用进行了初步研究, 结果表明: 复方中药制剂对 NDV, IBV 的预防与治疗效果较好, 这与雷红等报道的研究结果基本一致^[6]。

药物对细胞的安全测定一般采用本试验所用的形态观察法, 综合药物贴壁和单层 CEFC 影响的试验结果表明: 复方中药制剂对未贴壁 CEFC 的影响较单层 CEFC 大, 但两者结果总体趋势一致。根据试验要求, 药物的最大安全浓度对未贴壁 CEFC 和单层 CEFC 均无负面影响。该法虽简单易行, 但客观性较差, 因此采用了 TCID₅₀ 指标以减少不确定因

AHP 法在南阳黄牛可持续发展决策中的应用研究

梁子安, 鲁云凤, 王庆林
(南阳师范学院 生命科学与技术学院, 河南 南阳 473061)

摘要: 南阳黄牛可持续发展受到诸多因素影响。基于模糊数学的 AHP 法理论, 建立了南阳黄牛可持续发展目标的模糊综合评价数学模型。将各种影响因素综合考虑, 并予以量化, 从而做出科学合理的评价, 以利于科学制定发展战略, 提高南阳畜牧业发展水平。

关键词: AHP 法; 可持续发展; 南阳黄牛

中图分类号: S823.8⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004—3268(2007)08—0104—03

南阳黄牛是我国五大良种黄牛之一, 由于近年来过度追求肉牛的经济效益, 盲目引进高度培育的品种进行杂交, 以及缺乏强有力的资金、技术、环境等的支持, 导致南阳黄牛数量日趋减少, 品种严重衰退, 许多宝贵的基因丢失。同时, 长期近交为主的繁殖方式也造成了南阳黄牛品种单一化程度高、抗逆性能降低。针对此种现状, 在查阅相关资料及走访调查的前提下, 利用形态标记和分子标记手段, 对

南阳境内的南阳黄牛进行了调查, 并提出了南阳黄牛可持续发展的目标, 制订相应的方案^[1,2]。为了使经费投入更具有科学性、合理性, 实现南阳黄牛可持续发展目标和提高整体畜牧养殖效益的目的, 就必须客观、公正地对方案进行科学论证、评价、决策。而立项评价是一项科学性很强的工作, 现有的评价方法主要有专家评议、加权求和等方法, 这些方法操作较为简单, 但结果不尽人意。

收稿日期: 2007—02—28
作者简介: 梁子安(1965—), 男, 河南焦作人, 副教授, 本科, 主要从事动物学教学工作。

素对试验结果的影响。根据试验结果, 复方中药制剂的无毒浓度较小, 这与复方中药制剂的成分相互协同作用有关; 也与复方中药制剂^[11]对 NDV 有抑制作用的研究结果基本一致。

在中药复方制剂对病毒的抑制试验中, 复方中药制剂直接作用于病毒, 复方中药制剂与病毒同时加到 CEFC 细胞上, CEFC 细胞感染后加复方中药制剂 3 组试验中: 阻断作用> 杀灭作用> 治疗作用。该结果提示, 中药是通过提高细胞自身抗病毒能力来实现对病毒的抑制作用, 一旦病毒感染了细胞, 中药将通过提高未感染细胞的自身抗病毒能力来局限病变、杀死病毒, 这为复方中药制剂在兽医临床上对传染性病毒病的预防和治疗提供了科学依据。

参考文献:

[1] 秦卓明, 王友令, 徐怀英. 新城疫病毒的流行和毒力演变趋势[J]. 动物医学进展, 2007, 28(2): 58—62.

[2] 焦红梅, 潘志明, 孟松树, 等. 鸡传染性支气管炎病毒分离株核衣壳基因克隆、序列分析和真核表达[J]. 中国预防兽医学报, 2007, 29(3): 185—189.

[3] 何秀苗, 阳秀英, 韦平. 传染性法氏囊病及其病原分子生物学研究进展[J]. 动物医学进展, 2007, 28(2): 48—51.

[4] 孙桂昕, 范学辉. 中药制剂新囊素及治疗、预防 ND 和 IBD 的研究[J]. 中国兽药杂志, 1996, 4(30): 22—15.

[5] 王学林, 刘文森, 王承宇, 等. 五种中草药对鸡新城疫病毒作用研究[J]. 中兽医医学杂志, 2003(5): 5—7.

[6] 雷红, 祁成年. 中药治疗鸡肾型传染性支气管炎临床实验研究[J]. 中兽医学杂志, 2000(3): 6—7.

[7] 朱连勤, 朱风华, 张宗敏, 等. 中草药制剂对鸡人工感染 IBD 防治效果的研究[J]. 中兽医学杂志, 2002(4): 2—4.

[8] 殷霞, 刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1997: 204—246.

[9] 刘家国, 胡元亮, 陈玉库, 等. 几种天然药物成分在体外 CEF 中的最大安全浓度的测定[J]. 动物医学进展, 2002, 23(3): 88—91.

[10] 刘家国, 胡元亮, 陈玉库, 等. 几种中药粗提物对鸡胚成纤维细胞生长的影响[J]. 江苏农业学报, 2002, 4(18): 229—232.

[11] 王学林, 刘文森. 复方制剂抗鸡新城疫病毒作用的初步研究[J]. 中兽医医学杂志, 2004(1): 10—13.