

徐晓津, 李秀华, 马一帆, 等. 49 味中药及其复方与抗生素对溶藻弧菌的体外抑菌作用[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39 (6): 30-38.

49 味中药及其复方与抗生素对溶藻弧菌的体外抑菌作用

徐晓津^{1,2}, 李秀华³, 马一帆⁴, 李慧耀^{1,2},
祁欣^{1,2}, 陈郁浓^{1,2}, 吕海龙^{1,2}, 鄢庆枇^{1,2}(1. 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建天马科技股份有限公司, 福建 福州 350308;
3. 厦门医学院附属第二医院中医科, 福建 厦门 361021; 4. 厦门大学海洋与地球学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 【目的】筛选对溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 有抑菌作用的中草药及其复方以及抗生素。【方法】采用改良的牛津杯法对诃子、白芍、甘草等 49 种单味中药进行溶藻弧菌体外抑菌试验, 以体外抗菌活性较好的 22 种药物, 按中药配伍规则组成二联、三联复方, 采用生药质量浓度分别为 60、240 mg/mL 的中药进行中药复方体外抑菌试验。用抗生素对溶藻弧菌进行药敏试验。【结果】当单种中药体外抑菌药物质量浓度为 240 mg/mL 时, 诃子、乌梅、醋五味子等对溶藻弧菌抑菌作用明显, 为极敏感。在二联中药体外抑菌试验中, 当中药质量浓度为 60 mg/mL 时, 诃子、乌梅组成复方中药等 8 种复方对溶藻弧菌协同抑菌作用明显, 为极敏感, 药物质量浓度在 240 mg/mL 时, 诃子与白芍等 14 种双联中药的协同抑菌作用明显, 为极敏感。在三联中药体外抑菌试验中, 在药物质量浓度 60 mg/mL 时, 诃子、乌梅、蒲公英等组成 24 种复方中药按质量比 1:1:1 的抑菌效果极为敏感, 药物质量浓度在 240 mg/mL 时, 黄芩、诃子、黄芪等 22 种复方中药按质量比 1:1:1 对的抑菌作用明显, 为极敏感。溶藻弧菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、土霉素及甲氧苄啶/磺胺甲噁唑 4 种药物高度敏感。【结论】18 种单味中药对溶藻弧菌有抑制作用, 黄芩、诃子、黄芪等 24 个三联复方中药药效较强, 多个抑菌作用效果良好的三联复方中药可用于鱼病防治研究。

关键词: 中药; 抗生素; 溶藻弧菌; 抑菌作用

中图分类号: S948; S941.42

文献标志码: A

文章编号: 1673-9159 (2019) 06-0030-09

doi: 10.3969/j.issn.1673-9159.2019.06.005

In Vitro Bacteriostasis of 49 Kinds of Chinese Herbs, Antibiotics and Their Compound Prescriptions Against *Vibrio alginolyticus*XU Xiao-jin^{1,2}, LI Xiu-hua³, MA Yi-fan⁴, LI Hui-yao^{1,2}, QI Xin^{1,2},
CHEN Yu-nong^{1,2}, LÜ Hai-long^{1,2}, YAN Qing-pi^{1,2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fujian Tianma Science and Technology Group Co. Ltd., Fuzhou 350308, China; 3. Department of Traditional Chinese Medicine, Second Affiliated Hospital of Xiamen Medical College, Xiamen 361021, China; 4. College of Marine and Earth, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: 【Objective】 To screen out the Chinese herbs, antibiotics and their compound antibacterial activity against *Vibrio alginolyticus*. 【Method】 Fifty Chinese herbs including *Terminalia chebula*,

收稿日期: 2019-07-01

基金项目: 国家自然科学基金 (31702384、31502194); 福建省科技重大专项 (2016NZ0001-3); 2018 年开放课题基金项目 (LYC2018RS04, 闽海鸥[2018]31 号); 福建省自然科学基金项目 (2018J01455); 2017 年集美大学研究生教育教学改革研究项目 (集大研 No. [2017] 18 号); 教育部鳗鱼工程研究中心开放基金项目 (RE201704)

第一作者: 徐晓津 (1969—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为水产微生物学。E-mail: xiaojinxu@jmu.edu.cn

通信作者: 鄢庆枇 (1971—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为水产微生物学。E-mail: yanqp@jmu.edu.cn

Paeonia lactiflora Pall, and *Glycyrrhiza uralensis*, etc. were employed to test their antibacterial effect on *V. alginolyticus* and *Staphylococcus aureus* by using improved oxford-cup tests *in vitro*. Then the herbs that had the optimal effect were chosen to compose as the combination compounds prescription to compare their antibacterial activity. The concentrations of Chinese medicines were 60, and 240 mg/mL, respectively. Each experiment was repeated 3 times. 8 antibacterial drugs against *Vibrio alginolyticus* were tested. 【Results】*T. chebula*, *F. mume* and *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill etc had obvious inhibitory effect. The concentrations of Chinese medicines were 60 mg/mL, and 8 compound prescriptions, such as *Terminalia chebula* and *Fructus mume*, had obvious inhibitory effect. Fourteen compound prescriptions, such as *T. chebula* and *Paeonia lactiflora* Pall, had obvious inhibitory effect at a concentration of 240 mg/mL. 24 compound prescriptions, such as *Terminalia chebula*, *Fructus mume* and *Taraxacum mongolicum* had obvious inhibitory effect at a concentration of 60 mg/mL. Twenty two compound prescriptions, such as *Radix scutellariae*, *T. chebula* and *Astragalus mongholicus* had obvious inhibitory effect at a concentration of 240 mg/mL. *Vibrio alginolyticus* were susceptible to enrofloxacin, oxytet racycline, oxytetracycline, and trimethoprim. 【Conclusion】Eighteen Chinese drugs had inhibitory effect, 24 compound prescriptions such as *Radix scutellariae*, *T. chebula* *astragalus* had obvious inhibitory effects. Traditional Chinese herbal medicine (TCHM) formulas and TCHM formulas combined with antibiotics could be used for preventing the diseases outbreak in *Epinephelus coioides*.

Key words: quantitative Real-time PCR; reference gene; *Sipunculus nudus*

溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 是鱼、虾、贝等海水养殖动物的条件致病菌, 在我国南方沿海和台湾等地区, 大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[1]、石斑鱼 (*Epinephelus*)、卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*)^[2]、红笛鲷 (*Lutjanus erythropterus*) 等重要经济鱼类易感染溶藻弧菌而发病, 死亡率高, 对石斑鱼的危害尤为严重^[3], 患溶藻弧菌病的种类包括点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*)、青石斑鱼 (*E. awoara*)、鲑点石斑鱼 (*E. fario*) 和赤点石斑鱼 (*E. akaara*) 等, 主要表现为败血症、烂尾、烂鳃等症状, 给水产养殖业带来较大经济损失^[4-11]。在水产养殖中, 抗生素和化学抗菌药广泛用于预防和治疗各种弧菌病, 但随着抗生素的广泛应用, 耐药性细菌不断出现, 给治疗带来困难。中药治疗细菌性疾病有悠久的历史, 有抗菌作用的中草药种类多, 且有成本低、加工方便、抗菌性好、细菌不易产生耐药性、能增强鱼类免疫力等优点。国内学者已进行少数中草药饲料添加剂在水产养殖上的应用研究, 但如何选择有效抗菌中药成为近年来研究的难点。本研究选用 49 种中药, 通过溶藻弧菌体外中药单方和复方的体外抑菌试验, 以及溶藻弧菌对抗生素药敏试验, 筛选有较强抑菌作用的中药三联复方, 探讨其对溶藻弧菌的抑制作用, 为石斑鱼、大黄鱼等海水鱼细菌

病治疗提供帮助。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

溶藻弧菌菌液由集美大学水产学院国家海洋局渔用疫苗工程中心实验室制备、保存^[12]。溶藻弧菌分离自患病石斑鱼, 将溶藻弧菌分别用 LB 液体培养基培养, 28 ℃ 下恒温培养 8~12 h, 取对数生长期的菌液。磷酸盐缓冲液 (PBS) 调整菌液浓度达 OD 值 0.5 (含菌量约为 10⁸ cfu/mL), 置于 4 ℃ 冰箱内保存, 备用。

1.2 中药对溶藻弧菌体外抑制试验

1.2.1 单方中药的选取与药液制备 选择水产养殖生产病害防治有关的 49 种中药进行溶藻弧菌体外抑菌试验。选用艾叶、鱼腥草、大黄、黄柏、黄连、黄芩、连翘、板蓝根、白茅根、苦参、金银花、栀子、蒲公英、地锦草、千里光、乌梅、槟榔、榧子、使君子、柴胡、青蒿、槐花、木香、贯众、炒川楝子、大蒜、螺旋藻、刺五加、黄芪、杜仲叶、穿心莲、白芍、醋五味子、党参、刺五加、枸杞子、大蒜、甘草、地锦草、白头翁、五倍子、诃子、茯苓、钩藤、虎杖、柴胡、郁金、炒槐花、野菊花等中药颗粒剂 (均由江阴天江药业有限公司生产)。

所有中药配方颗粒由公司统一生产,生产过程包括药材的炮制、浓缩提取、制粒包装。颗粒剂可溶于水,并保持生药同样药性。将中药配方颗粒溶解于无菌蒸馏水中,于沸水中热浴 30 min。每包药标注相当于生药材质量,据此对各种中药进行逐一换算浓度、稀释,将各中药颗粒剂配成相当于生药质量浓度分别为 60、120、180 mg/mL 的溶液。由于多数中药因浓度太低,药效不明显,抑菌圈较小,不利于各中药药效的筛选,因此配制相当于生药的质量浓度为 240 mg/mL 的中药颗粒剂溶液,较多药物对溶藻弧菌有体外抑菌效果,根据其抑制圈大小筛选有效药物。

1.2.2 复方二联中药的选取与药液制备 选择 1.2.1 中有体外抑制作用的 18 种中药:诃子、黄连、乌梅、大黄、黄柏、白芍、醋五味子、槟榔、栀子、青蒿、黄芩、连翘、炒槐花、木香、艾叶、炒川楝子、蒲公英、野菊花,根据药物的特性及养殖生产实践中复方中药治疗细菌病的研究报道,增加甘草、板蓝根、黄芪、贯众四种单味药,制定复方二联中药组合。复方中药(中药颗粒剂溶液)二联按质量比 1:1,中药最终相当于生药的质量浓度为 60、240 mg/mL。

1.2.3 复方三联中药的选取与药液制备 按 1.2.1 方法选择 22 种单味中药配方颗粒,根据药物的特性及养殖生产实践中复方中药治疗细菌病的研究报道,制定复方三联中药(中药颗粒剂溶液),复方中药三联按质量比 1:1:1,中药最终相当于生药的质量浓度为 60、240 mg/mL。

1.2.4 单方、复方二联、复方三联中药体外抑菌活性的测定方法 用改良的牛津杯法对 49 种单方中药、复方二联中药、复方三联中药进行溶藻弧菌体外抑菌试验。在平板中倒入 10 mL 灭菌 LB 固体培养基,待凝固后,在每个培养皿中等距离放入 4 个牛津杯,取 15 mL 的 LB 培养基混合均匀倒于平板上,待凝固后,取下牛津杯。制备菌悬液,将培养 12 h 的溶藻弧菌离心,去上清,用 PBS 重悬,调整 $D(600\text{ nm}) = 0.4$,取 0.1 mL 菌悬液滴入平板,涂布均匀,在 1 个孔中加入 200 μL 无菌水为对照,其他 3 个孔中加入含生药 240 mg/mL 的 3 种不同药液 200 μL ,置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下恒温培养 18 ~ 24 h,用 SupcreG1 菌落计数/筛选/抑菌圈测量联用仪(杭州迅数科技有限公司)测量抑菌圈大小,每个试验重复 3 次,计算抑菌圈直径平均值,根据抑菌圈直径

判定其抑菌能力。判定标准:抑菌圈直径 $\geq 20\text{ mm}$ 为极敏感; $15\text{ mm} \leq$ 抑菌圈直径 $< 20\text{ mm}$ 为高度敏感; $10\text{ mm} \leq$ 抑菌圈直径 $< 15\text{ mm}$ 为中度敏感; 抑菌圈直径 $< 10\text{ mm}$ 低度敏感或无效。

1.3 溶藻弧菌对抗生素药敏试验

用牛津杯法,对恩诺沙星(兴化市恒威生物技术有限公司)、盐酸多西环素(河南海天生物技术有限公司)、土霉素(河南佰吉特生物技术有限公司)、磺胺嘧啶(山东亚康药业股份有限公司)、氟苯尼考(上海瑞博丘生物工程有限公司)、硫酸新霉素(宜兴市苏亚达生物有限公司)、硫酸庆大霉素(青岛富坤兽药原料有限公司)、磺胺甲噁唑(广州骏杰生物技术有限公司)进行药敏试验,使用剂量参照 WHO 推荐的 K-B 纸片琼脂扩散法中相应的药物浓度^[13]。将溶藻弧菌用 8.5 g/L 生理盐水稀释至 1×10^8 cfu/mL,分别取 200 μL 菌悬液均匀涂布于 LB 培养基平板,每个平板放置 4 个牛津杯,每个孔分别加入以上 8 种抗生素药液。28 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温培养 24 h 后,并用前述 SupcreG1 菌落计数/筛选/抑菌圈测量联用仪测量抑菌圈大小,每个平板做 3 个重复。根据 CLSI M100 的最新标准判定溶藻弧菌的敏感性^[14]。

2 结果与分析

2.1 不同中药单方对溶藻弧菌的体外抑制效果

诃子、乌梅、醋五味子对溶藻弧菌抑菌作用较强,为极敏感。槟榔、木香、白芍、艾叶、栀子、黄芩、青蒿抑菌作用较明显,为高度敏感。连翘、大黄、黄柏、炒川楝子、蒲公英、炒槐花、野菊花抑菌效果为中度敏感。灭菌作用以诃子最强。鱼腥草、黄连、板蓝根、白茅根、苦参、金银花、栀子、地锦草、千里光、榧子、使君子、柴胡、槐花、贯众、大蒜、螺旋藻、刺五加、黄芪、杜仲叶、穿心莲、党参、刺五加、枸杞子、大蒜、甘草、地锦草、白头翁、五倍子、茯苓、钩藤、虎杖、柴胡、郁金等 33 种中药对溶藻弧菌无抑菌效果(表 1)。

2.2 不同复方二联中药对溶藻弧菌的体外抑制效果

在 60 mg/mL 的低药物质量浓度时,复方中药诃子+乌梅、黄芩+诃子、诃子+醋五味子、诃子+白芍、诃子+乌梅、乌梅+醋五味子、乌梅+白芍、黄芩+乌梅对溶藻弧菌的抑菌作用明显,为极敏感。选择协同增效的药物组合可增强疗效,二联中药的各味药用量较一联中药少,抑菌效果增强,如乌梅与板蓝根单味药 60 mg/mL 时无药效,但 60

mg/mL 二联中药有较强药效。复方中药黄连+诃子、黄柏+诃子、黄连+板蓝根、板蓝根+诃子抑菌为中度敏感。黄柏+黄连组成、黄连+醋五味子、黄柏+黄连、黄连+醋五味子、黄连+白芍、大黄+黄连、黄柏+板蓝根、黄芩+黄连、黄柏+白芍等 10 种复方中药无抑菌作用（表 2），说明多种二联中药组合有拮抗作用，无药效。药物质量浓度为 240 mg/mL 时，以下 14 种复方双联中药对溶藻弧菌的抑菌作用明显，为极敏感（表 3），药效从高到低分别是（诃子+白芍）、（诃子+乌梅）、（白芍+醋五味子）等。黄连+醋五味子等 3 种复方中药对溶藻弧菌的抑菌作用明显，为高度敏感，抑菌圈直径大于 15 mm。槐花与大黄等六种复方中药抑菌效果为中度敏感。黄柏+黄连、槐花+大黄、大黄+黄连、黄柏+板蓝根、黄柏+白芍、黄芩+黄连、贯众+白芍、黄芪+白芍、黄芪+大黄、槐花+黄柏等组成 29 个复方中药无药效（表 2、3）。相对于一联中药，二联中药各组合物中，有起协同增效的药物组合，也有起拮抗作用、降低药效的药物组合。

2.3 不同复方三联中药对溶藻弧菌的体外抑制效果

在 60 mg/mL 的低浓度药物时，诃子+乌梅+蒲公英、黄芩+诃子+黄芪组成复方中药等 22 种中药抑菌效果极为敏感，抑菌圈直径大于 22 mm。黄连+诃子+黄芪、白芍+贯众+大黄、白芍+醋五味子+大黄等组成复方中药抑菌效果为高度敏感。大黄+槐花+白芍、大黄+黄芪+白芍等组成 15 种复方中药

抑菌效果为中度敏感。以下 11 种复方中药无抑菌效果，包括黄连+醋五味子+黄芪、大黄+黄芪+白芍、黄连+白芍+黄柏、黄连+大黄+黄芪、黄连+连翘+黄芪等（表 4）。

表 1 240 mg/mL 浓度单味中药对溶藻弧菌的抑菌作用
Table 1 Results of in vitro bacteriostatic experiment of traditional Chinese medicinal plant (240 mg/mL) on *Vibrio alginolyticus*

中药 Traditional Chinese medicinal plants	抑菌圈直径 Diameter of bacteriostatic circle /mm	相对敏感度 Relative sensitivity
诃子 <i>Terminalia chebula</i>	35.56 ± 0.99	+++
乌梅 <i>Fructus mume</i>	29.46 ± 1.64	+++
黄连 <i>Coptis chinensis</i>	26.96 ± 0.67	+++
醋五味子	23.72 ± 0.73	+++
<i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.)Baill		
槟榔 <i>Semen arecae</i>	18.15 ± 0.79	++
木香 <i>Radices saussureae</i>	17.34 ± 1.89	++
白芍 <i>Paeonia lactiflora</i>	16.05 ± 1.20	++
艾叶 <i>Artemisia argyi leaf</i>	15.96 ± 1.64	++
梔子 <i>Fructus gardeniaea</i>	15.80 ± 0.63	++
黄芩 <i>Radix scutellariae</i>	15.65 ± 2.38	++
青蒿 <i>Artemisia apiacea</i>	15.37 ± 0.08	++
连翘 <i>Forsythia suspensa Vahl</i>	12.76 ± 0.20	+
大黄 <i>Rheum officinale</i>	12.69 ± 0.81	+
黄柏 <i>Platycladus orientalis</i>	12.21 ± 0.26	+
炒川楝子	11.10 ± 2.40	+
<i>Melia toosendan</i> Siebet et Zucc		
蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i>	10.92 ± 0.21	+
炒槐花 <i>Sophora japonica L.</i>	10.45 ± 0.85	+
野菊花 <i>Floschrysanthemi indici</i>	10.40 ± 0.16	+

说明：+++，极敏感；++，高度敏感；+，中度敏感。

表 2 60 mg/mL 浓度二联中药对溶藻弧菌的抑菌作用

Table 2 Results of in vitro bacteriostatic experiment of compound prescriptions (60 mg/mL) with 2 species of traditional Chinese medicinal plants against *Vibrio alginolyticus*

二联中药 Combination of two traditional Chinese medicinal plants	抑菌圈直径 Bacteriostatic circle diameter /mm	相对敏感度 Relative sensitivity
诃子+乌梅 <i>Terminalia chebula</i> and <i>Fructus mume</i>	27.29 ± 0.53	+++
黄芩+诃子 <i>Scutellaria baicalensis</i> and <i>T. chebula</i>	26.95 ± 1.34	+++
诃子+醋五味子 <i>T. chebula</i> and <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz)Baill	25.99 ± 1.47	+++
诃子+白芍 <i>T. chebula</i> and <i>Paeonia lactiflora</i> Pall	24.98 ± 1.79	+++
乌梅+醋五味子 <i>F. mume</i> and <i>S. chinensis</i>	22.55 ± 1.75	+++
乌梅+白芍 <i>F. mume</i> and <i>Paeonia lactiflora</i>	21.4 ± 0.82	+++
黄芩+乌梅 <i>Scutellaria baicalensis</i> and <i>F. mume</i>	20.5 ± 0.95	+++
板蓝根+乌梅 <i>Radix isatidis</i> and <i>F. mume</i>	19.62 ± 1.60	++
黄柏+乌梅 <i>Platycladus orientalis</i> and <i>F. mume</i>	18.22 ± 1.11	++
黄柏+醋五味子 <i>P. orientalis</i> and <i>S. chinensis</i>	16.27 ± 0.88	++
黄连+乌梅 <i>Coptis chinensis</i> and <i>F. mume</i>	15.02 ± 1.73	++
黄连+诃子 <i>C. chinensis</i> and <i>T. chebula</i>	13.89 ± 0.60	+
黄柏+诃子 <i>P. orientalis</i> and <i>T. chebula</i>	12.4 ± 0.40	+
黄连+板蓝根 <i>C. chinensis</i> and <i>R. isatidis</i>	11.48 ± 0.39	+
板蓝根+诃子 <i>R. isatidis</i> and <i>T. chebula</i>	11.34 ± 0.05	+

说明：+++，极敏感；++，高度敏感；+，中度敏感。

表3 240 mg/mL 浓度二联中药对溶藻弧菌的抑菌作用

Table 3 Results of in vitro bacteriostatic experiment of compound prescriptions (240 mg/mL) with 2 species of traditional Chinese medicinal plants against *Vibrio alginolyticus*

二联中药 Combination of two traditional Chinese medicinal plants	抑菌圈直径 Bacteriostatic circle diameter/mm	相对敏感度 Relative sensitivity
诃子+白芍 <i>Terminalia chebula</i> and <i>Paeonia lactiflora</i>	36.69 ± 0.55	+++
诃子+乌梅 <i>T. chebula</i> and <i>Fructus mume</i>	36.51 ± 0.33	+++
乌梅+醋五味子 <i>F. mume</i> and <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz)Baill	32.24 ± 1.74	+++
诃子+醋五味子 <i>T. chebula</i> and <i>S. chinensis</i>	31.86 ± 2.75	+++
黄芩+乌梅 <i>Scutellaria baicalensis</i> and <i>F. mume</i>	31.34 ± 4.65	+++
黄芩+诃子 <i>S. baicalensis</i> and <i>T. chebula</i>	31.21 ± 2.76	+++
板蓝根+乌梅 <i>Radix isatidis</i> and <i>F. mume</i>	30.57 ± 0.39	+++
黄柏+乌梅 <i>Platyclusus orientalis</i> and <i>F. mume</i>	29.90 ± 0.36	+++
乌梅+白芍 <i>F. mume</i> and <i>Paeonia lactiflora</i>	29.83 ± 1.50	+++
黄连+乌梅 <i>Coptis chinensis</i> and <i>F. mume</i>	27.96 ± 1.05	+++
黄柏+醋五味子 <i>P. orientalis</i> and <i>S. chinensis</i>	20.88 ± 1.63	+++
板蓝根+诃子 <i>R. isatidis</i> and <i>T. chebula</i>	20.81 ± 0.18	+++
白芍+醋五味子 <i>Paeonia lactiflora</i> and <i>S. chinensis</i>	20.40 ± 2.50	+++
黄连+醋五味子 <i>C. chinensis</i> and <i>S. chinensis</i>	18.20 ± 1.27	++
黄柏+诃子 <i>P. orientalis</i> and <i>T. chebula</i>	18.04 ± 0.30	++
黄连+诃子 <i>C. chinensis</i> and <i>T. chebula</i>	15.09 ± 0.81	++
黄连+白芍 <i>C. chinensis</i> and <i>Paeonia lactiflora</i>	14.40 ± 0.85	+
黄芩+板蓝根 <i>S. baicalensis</i> and <i>R. isatidis</i>	13.68 ± 0.85	+
黄连+板蓝根 <i>C. chinensis</i> and <i>R. isatidis</i>	13.66 ± 0.96	+
蒲公英+苦参 <i>Taraxacum mongolicum</i> and <i>S. flavescens</i>	13.07 ± 0.46	+
蒲公英+醋五味子 <i>T. mongolicum</i> and <i>S. chinensis</i> .	11.51 ± 0.25	+

说明: +++, 极敏感; ++, 高度敏感; +, 中度敏感。

药物质量浓度在 240 mg/mL 时, 以下 24 种复方中药对溶藻弧菌的抑菌作用明显, 抑菌直径大于 20 mm, 为极敏感, 包括黄芩+诃子+黄芪、乌梅+醋五味子+黄连等。13 种复方对溶藻弧菌的抑菌作用较明显, 为高度敏感, 包括乌梅+板蓝根+黄连、

乌梅+黄芩+黄连等。12 种复方中药对溶藻弧菌的抑菌效果为中度敏感, 分别为大黄+黄芪+白芍、黄柏+醋五味子+黄芪等(表 5)。相对于一联中药、二联中药, 抑菌作用强三联中药的复方总数增加较多, 说明选择起协同增效的药物组合可增强疗效。

表4 60 mg/mL 浓度三联中药对溶藻弧菌的抑菌作用

Table 4 Results of in vitro bacteriostatic experiment of compound prescriptions (60 mg/mL) with 3 species of traditional Chinese medicinal plants against *Vibrio alginolyticus*

三联中药 Combination of three traditional Chinese medicinal plants	d/mm	相对敏感度 Relative sensitivity
诃子+乌梅+蒲公英 <i>Terminalia chebula</i> + <i>Fructus mume</i> + <i>Taraxacum mongolicum</i>	30.760 ± 1.458	+++
黄芩+诃子+黄芪 <i>Scutellaria baicalensis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>Astragalus mongholicus</i>	29.577 ± 1.106	+++
诃子+白芍+蒲公英 <i>T. chebula</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>T. mongolicum</i>	29.051 ± 1.754	+++
乌梅+白芍+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>T. chebula</i>	28.348 ± 0.245	+++
乌梅+醋五味子+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.)Baill + <i>T. chebula</i>	28.317 ± 0.971	+++
乌梅+板蓝根+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>T. chebula</i>	28.218 ± 1.578	+++
乌梅+黄芩+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Scutellaria baicalensis</i> + <i>Terminalia chebula</i>	28.130 ± 2.043	+++
诃子+乌梅+甘草 <i>T. chebula</i> + <i>F. mume</i> + <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	28.130 ± 0.689	+++
诃子+醋五味子+板蓝根 <i>T. chebula</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>Radix isatidis</i>	28.007 ± 0.951	+++
诃子+乌梅+板蓝根 <i>T. Chebula</i> + <i>F. mume</i> + <i>Radix isatidis</i>	27.489 ± 0.972	+++
蒲公英+木香+诃子 <i>Taraxacum mongolicum</i> + <i>Radices saussureae</i> + <i>T. chebula</i>	27.430 ± 1.235	+++
黄柏+诃子+黄芪 <i>Platyclusus orientalis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>A. mongholicus</i>	27.406 ± 2.430	+++
诃子+醋五味子+蒲公英 <i>T. chebula</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>T. mongolicum</i>	27.245 ± 1.387	+++
诃子+白芍+板蓝根 <i>T. chebula</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>R. isatidis</i>	27.122 ± 2.013	+++

续表 4 (Continued)

三联中药 Combination of three traditional Chinese medicinal plants	<i>d</i> /mm	相对敏感度 Relative sensitivity
诃子+醋五味子+甘草 <i>T. chebula</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>G. uralensis</i>	27.218 ± 1.434	+++
诃子+白芍+甘草 <i>T. chebula</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>G. uralensis</i>	25.822 ± 0.876	+++
乌梅+黄柏+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Platyclusus orientalis</i> + <i>T. chebula</i>	25.431 ± 0.894	+++
蒲公英+野菊花+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>Flos chrysanthemi indicis</i> + <i>T. chebula</i>	24.599 ± 0.976	+++
蒲公英+五味子+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>T. chebula</i>	24.458 ± 1.270	+++
板蓝根+诃子+甘草 <i>Radix isatidis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>G. uralensis</i>	24.359 ± 2.473	+++
蒲公英+苦参+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>S. flavescens</i> + <i>T. chebula</i>	22.791 ± 1.203	+++
黄连+诃子+黄芪 <i>Coptis chinensis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>A. mongholicus</i>	18.639 ± 0.564	++
白芍+贯众+大黄 <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>Cyrtomium fortunei</i> + <i>Rheum officinale</i>	16.097 ± 1.072	++
白芍+醋五味子+大黄 <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>R. officinale</i>	15.215 ± 1.354	++
大黄+栀子+白芍 <i>Rheum officinale</i> + <i>Fructus gardeniaea</i> + <i>Paeonia lactiflora</i>	14.895 ± 0.846	+
乌梅+白芍+黄连 <i>F. mume</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>Coptis chinensis</i>	14.274 ± 0.946	+
大黄+槐花+白芍 <i>Rheum officinale</i> + <i>Sophora japonical</i> + <i>Paeonia lactiflora</i>	12.952 ± 0.946	+
黄连+板蓝根+黄柏 <i>Coptis chinensis</i> + <i>R. isatidis</i> + <i>P. orientalis</i>	11.946 ± 0.375	+
黄连+乌梅+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>F. mume</i> + <i>A. mongholicus</i>	11.824 ± 1.168	+
黄连+诃子+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>P. orientalis</i>	11.768 ± 1.568	+
黄连+板蓝根+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>A. mongholicus</i>	11.496 ± 0.426	+
黄连+白芍+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>A. mongholicus</i>	11.481 ± 1.024	+
乌梅+黄柏+黄连 <i>F. mume</i> + <i>P. orientalis</i> + <i>Coptis chinensis</i>	11.001 ± 0.483	+
黄连+黄芪+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>A. mongholicus</i> + <i>P. orientalis</i>	10.968 ± 1.635	+
黄连+大黄+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>Rheum officinale</i> + <i>P. orientalis</i>	10.930 ± 1.004	+
黄连+醋五味子+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>P. orientalis</i>	10.892 ± 0.942	+
黄连+乌梅+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>F. mume</i> + <i>P. orientalis</i>	10.820 ± 0.842	+
黄连+连翘+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>Forsythia suspensa</i> Vahl + <i>P. orientalis</i>	10.717 ± 1.024	+

说明: *d*, 抑菌圈直径 Bacteriostatic circle diameter; +++, 极敏感; ++, 高度敏感; +, 中度敏感。

表 5 240mg/mL 浓度三联中药对溶藻弧菌的抑菌作用

Table 5 Results of in vitro bacteriostatic experiment of compound prescriptions (240 mg/mL) with 3 species of traditional Chinese medicinal plants against *Vibrio alginolyticus*

三联中药 Combination of three traditional Chinese medicinal plants	<i>d</i> /mm	相对敏感度 Relative sensitivity
诃子+白芍+甘草 <i>T. chebula</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>G. uralensis</i>	33.584 ± 2.012	+++
板蓝根+诃子+甘草 <i>Radix isatidis</i> + <i>T. Chebula</i> + <i>G. uralensis</i>	32.783 ± 1.035	+++
蒲公英+苦参+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>S. flavescens</i> + <i>T. chebula</i>	32.758 ± 0.997	+++
诃子+醋五味子+蒲公英 <i>T. chebula</i> + <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill + <i>T. mongolicum</i>	32.331 ± 1.756	+++
诃子+乌梅+甘草 <i>T. chebula</i> + <i>Fructus mume</i> + <i>G. uralensis</i>	31.965 ± 2.476	+++
乌梅+黄柏+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Platyclusus orientalis</i> + <i>T. chebula</i>	31.574 ± 1.058	+++
诃子+乌梅+蒲公英 <i>T. chebula</i> + <i>F. mume</i> + <i>T. mongolicum</i>	31.107 ± 1.235	+++
蒲公英+木香+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>Radices saussureae</i> + <i>T. chebula</i>	30.627 ± 0.726	+++
诃子+醋五味子+甘草 <i>T. chebula</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>G. uralensis</i>	30.422 ± 0.542	+++
诃子+白芍+蒲公英 <i>T. Chebula</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>T. mongolicum</i>	30.139 ± 0.953	+++
乌梅+醋五味子+诃子 <i>F. mume</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>T. chebula</i>	30.083 ± 1.359	+++
乌梅+黄芩+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Scutellaria baicalensis</i> + <i>T. chebula</i>	29.677 ± 1.548	+++
乌梅+白芍+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>T. chebula</i>	29.137 ± 1.479	+++
诃子+白芍+板蓝根 <i>T. chebula</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>Radix isatidis</i>	29.003 ± 1.350	+++
蒲公英+五味子+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>T. chebula</i>	28.846 ± 0.412	+++
蒲公英+野菊花+诃子 <i>T. mongolicum</i> + <i>Flos chrysanthemi indicis</i> + <i>T. chebula</i>	28.624 ± 0.462	+++
黄柏+诃子+黄芪 <i>P. orientalis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>Astragalus mongholicus</i>	28.533 ± 1.256	+++
诃子+醋五味子+板蓝根 <i>T. chebula</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>Radix isatidis</i>	27.484 ± 1.762	+++
黄连+诃子+黄芪 <i>Coptis chinensis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>A. mongholicus</i>	25.533 ± 1.972	+++

续表5 (Continued)

三联中药 Combination of three traditional Chinese medicinal plants	<i>d</i> /mm	相对敏感度 Relative sensitivity
乌梅+板蓝根+诃子 <i>F. mume</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>T. chebula</i>	25.156 ± 1.658	+++
黄连+诃子+黄柏 <i>Coptis chinensis</i> + <i>T. chebula</i> + <i>P. orientalis</i>	24.097 ± 3.410	+++
黄连+乌梅+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>F. mume</i> + <i>P. orientalis</i>	20.985 ± 2.794	+++
乌梅+醋五味子+黄连 <i>F. mume</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>C. chinensis</i>	20.430 ± 1.562	+++
乌梅+板蓝根+黄连 <i>F. mume</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>C. chinensis</i>	19.921 ± 1.476	++
黄连+大黄+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>Rheum officinale</i> + <i>P. orientalis</i>	18.712 ± 0.986	++
黄连+醋五味子+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>P. orientalis</i>	18.639 ± 2.378	++
黄连+大黄+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>R. officinale</i> + <i>A. mongholicus</i>	19.938 ± 2.468	++
苦参+五味子+白芍 <i>S. flavescens</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> Pall	18.309 ± 1.324	++
黄连+连翘+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>Forsythia suspensa</i> Vahl + <i>P. orientalis</i>	18.119 ± 0.753	++
乌梅+黄柏+黄连 <i>F. mume</i> + <i>P. orientalis</i> + <i>Coptis chinensis</i>	17.537 ± 1.756	++
黄连+白芍+黄柏 <i>Coptis chinensis</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>P. orientalis</i>	17.282 ± 1.493	++
白芍+醋五味子+大黄 <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>Schisandra chinensis</i> + <i>R. officinale</i>	17.196 ± 0.423	++
大黄+槐花+白芍 <i>R. officinale</i> + <i>Sophora japonica</i> L. + <i>Paeonia lactiflora</i>	16.737 ± 2.497	++
白芍+贯众+大黄 <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>Cyrtomium fortunei</i> + <i>R. officinale</i>	16.484 ± 1.483	++
乌梅+白芍+黄连 <i>F. mume</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>C. chinensis</i>	16.097 ± 1.243	++
乌梅+黄芩+黄连 <i>F. mume</i> + <i>Scutellaria baicalensis</i> + <i>C. chinensis</i>	15.992 ± 1.423	++
大黄+黄芪+白芍 <i>R. officinale</i> + <i>A. mongholicus</i> + <i>Paeonia lactiflora</i>	14.639 ± 0.942	+
大黄+栀子+白芍 <i>R. officinale</i> + <i>Fructus gardeniae</i> + <i>Paeonia lactiflora</i>	14.378 ± 0.723	+
黄连+板蓝根+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>A. mongholicus</i>	14.091 ± 2.479	+
黄连+连翘+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>Forsythia suspensa</i> Vahl + <i>A. mongholicus</i>	13.518 ± 0.761	+
黄连+乌梅+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>F. mume</i> + <i>A. mongholicus</i>	13.518 ± 1.751	+
黄连+醋五味子+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>A. mongholicus</i>	12.788 ± 1.468	+
黄连+黄芪+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>A. mongholicus</i> + <i>P. orientalis</i>	12.711 ± 0.426	+
黄连+板蓝根+黄柏 <i>C. chinensis</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>P. orientalis</i>	12.346 ± 1.438	+
黄芩+连翘+黄芪 <i>Scutellaria baicalensis</i> + <i>F. suspense</i> + <i>A. mongholicus</i>	11.514 ± 2.475	+
黄连+白芍+黄芪 <i>C. chinensis</i> + <i>Paeonia lactiflora</i> + <i>A. mongholicus</i>	11.209 ± 0.996	+
黄芩+板蓝根+黄芪 <i>S. baicalensis</i> + <i>Radix isatidis</i> + <i>A. mongholicus</i>	10.941 ± 0.736	+
黄柏+醋五味子+黄芪 <i>P. orientalis</i> + <i>S. chinensis</i> + <i>A. mongholicus</i>	10.832 ± 1.212	+

说明：*d*，抑菌圈直径 Bacteriostatic circle diameter；+++，极敏感；++，高度敏感；+，中度敏感。

2.4 抗生素药物敏感试验

表6可见，溶藻弧菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、土霉素及甲氧苄啶/磺胺甲噁唑4种药物高度敏

感。对硫酸新霉素、氟苯尼考2种药物中度敏感。对硫酸庆大霉素及磺胺嘧啶2种药物耐药。

表6 溶藻弧菌对8种抗生素的药物敏感性
Table 6 8 kinds of antibiotic sensitivity of *Vibrio alginolyticus*

药物 Drugs	抑制圈直径判断标准 Judgement standard of inhibition zone diameter /mm			含量 Dose/ ($\mu\text{g}/\text{孔}$)	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter/ mm	敏感度 Sensitivity
	R	I	S			
恩诺沙星 Enrofloxacin	≤15	15~21	≥21	5	30.549 ± 1.576	S
盐酸多西环素 Oxytetracycline	≤12	12~16	≥16	30	25.758 ± 2.153	S
土霉素 Oxytetracycline	≤14	14~19	≥19	30	20.100 ± 1.436	S
甲氧苄啶/磺胺甲噁唑 Trimethoprim	≤10	10~16	≥16	25	16.663 ± 1.351	S
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	≤12	12~17	≥17	30	12.518 ± 1.230	I
氟苯尼考 Florfenico	≤12	12~18	≥18	30	14.887 ± 1.554	I
硫酸庆大霉素 Gentamicin sulfate	≤12	12~15	≥15	10	-	R
磺胺嘧啶 Sulfadiazine	≤12	12~17	≥17	25	-	R

说明：S：高度敏感；I：中度敏感；R：耐药。

Note: S: Highly sensitive; I: Medium sensitivity; R: Resistant.

3 讨论

3.1 单味中药的抗菌作用

许多中药有显著的抗菌作用及广谱的抗菌活性, 并用以治疗动物疾病。中药免煎配方颗粒已得到较广泛的运用, 其抑菌效果好, 可克服汤剂需要浸泡、煎煮、耗时、不易储存、不易定量等缺点, 有较多优势^[15-20]。同一种药物颗粒剂与水煎剂对同种菌的抑菌圈大小差异较小^[21]。使用中药颗粒剂研究动物疾病防治还可避免研究人员的操作误差。因此, 本研究选用中药颗粒剂进行溶藻弧菌体外抑菌试验。

在抑菌试验中, 用改良的牛津杯法测定抑菌圈是测定药物效价和活性的通用方法, 本研究的 49 种中药对溶藻弧菌抑菌圈结果可靠: 在中药质量浓度为 240 mg/mL 时, 诃子、乌梅、醋五味子对溶藻弧菌抑菌效果为极敏感, 以诃子灭菌作用最强; 白芍、艾叶、黄芩等对溶藻弧菌抑菌效果为高度敏感; 黄连、金银花、栀子、五倍子等 33 种中药无抑菌效果。其他学者亦有相似结果: 黄连、黄柏、黄芩对鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*) 抑菌效果最好, 五味子、黄连、乌梅、黄柏、艾叶 4 种药物对鸡源多杀性巴氏杆菌 (*Pasteurella multocida*)、嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 有较强抑菌活性, 黄芩、大黄、虎杖中药对猪源金黄色葡萄菌 (*Staphylococcus aureus*) 有良好的抑菌活性^[22]。五倍子、大黄、虎杖和黄芩单味药对养殖病鳗 (*Anguilla japonica*) 中的嗜水气单胞菌均有较好的抑菌作用, 以黄芩抑菌效果最佳, 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌 (*Escherichia coli*)、肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumonia*)、鲍曼不动杆菌有一定的抑菌效果^[23]。连翘对铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌亦有一定的抑菌效果^[23]。曲径等^[24]筛选出黄连、黄柏、艾叶对禽多杀性巴氏杆菌敏感。黄连、黄芩、连翘等对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、链球菌均有较强抑菌作用, 黄芪等对金黄色葡萄球菌也有抑菌作用^[25], 对于金黄色葡萄球菌, 抑菌作用五味子 > 黄芩 > 黄连。实验手段、条件、所试细菌毒力的强弱、药物的采集部位、药物处理等对实验结果有

一定影响。

3.2 中药复方的抗菌作用

由于中药复方由多种药构成, 化学成分多样, 合理的单味药配伍组成复方可协同增效, 抑菌效果比单味中药更佳, 可较好地治疗复杂疾病^[25]。本研究中, 在 60 mg/mL 的低药物浓度时, 诃子+乌梅等组成 8 个复方二联中药对溶藻弧菌的抑菌效果为极敏感。诃子+乌梅+蒲公英等 22 种组成复方三联中药抑菌效果极为敏感。药物质量浓度为 240 mg/mL 时, 诃子+白芍等 14 种复方二联中药对溶藻弧菌的抑菌效果为极敏感。24 种三联中药对溶藻弧菌的抑菌效果为极敏感。相对于一联、二联中药, 三联中药抑菌作用强的复方总数增加较多, 说明选择有协同增效作用的药物组合能增强疗效。本研究中, 五倍子、诃子等药物对溶藻弧菌有较强抑菌作用, 与其他药物组成与二联复方、三联复方的抑菌作用显著增强, 国内学者研究结果也表明复方中药对细菌有抑制作用: 五倍子、地锦草、大黄、乌梅、诃子等药物对嗜水气单胞菌有较强抑菌作用, 其中五倍子抑菌效果最佳, 药效持久, 为理想的抑菌药物。五倍子分别与黄连、诃子、大黄组成复方灭菌活性较强, 复方抑菌效果较单味药有显著增强作用, 说明合理的药物组合有协同增效作用。黄芩、黄连、诃子、大黄、五味子等对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、链球菌、巴氏杆菌有较强灭菌作用, 党参、黄芪对金黄色葡萄球菌抑菌作用不强^[25], 复方中药不是每种单味药有效成分的总和, 而是不同药物间有化学变化, 产生新的物质, 起协同增效作用^[23]。单味中药与复方中药抑菌的有效成分、作用机理仍需进一步的深入研究。

3.3 抗生素对溶藻弧菌的抑制作用

为进一步进行抗生素与所筛选中药的联用研究, 减少鱼病防治中的抗生素用量, 本研究进行 8 种抗生素对溶藻弧菌的体外抑菌试验, 以筛选对溶藻弧菌抑菌效果较好的抗生素。结果发现, 溶藻弧菌对恩诺沙星、盐酸多西环素、土霉素及甲氧苄啶/磺胺甲噁唑 4 种药物高度敏感, 对硫酸新霉素、氟苯尼考 2 种药物中度敏感。

目前, 寻找敏感的抗生素仍是生产实践中溶藻弧菌病药物防治的方法之一。本研究中药与抗生素的体外抑菌研究结果可为有效治疗细菌性疾病提供依据。在治疗中使用抑菌效果好药物, 可达到减少使用剂量, 为水产养殖业健康发展提供帮助。

参考文献

- [1] 曹际, 马林, 张文畅, 等. 大黄鱼源溶藻弧菌的鉴定及其菌蜕制备[J]. 微生物学通报, 2018, 45(1): 129-137.
- [2] 余庆, 李菲, 王一兵, 等. 广西北部湾大宗海水养殖鱼类卵形鲳鲹感染溶藻弧菌及其致病性研究[J]. 广西科学, 2018, 25(1): 68-73.
- [3] 霍建强, 赵玲敏, 覃映雪, 等. 变形假单胞菌灭活疫苗研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2017, 22(4): 12-19.
- [4] 黄雪敏, 梁华芳, 薛明, 等. 凡纳滨对虾烂尾病病原的分离鉴定及药敏分析[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(4): 1-7.
- [5] 梁彩凤, 庞欢瑛, 刘建勇. 溶藻弧菌 HY9901 *vscH* 基因克隆及生物信息学分析[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(4): 85-91.
- [6] 陆友云, 温崇庆, 李志桦, 等. 不同感染复数下海洋蛭弧菌 DA5 对溶藻弧菌的控制效率[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(2): 80-82.
- [7] 邓平平, 施永海, 徐嘉波, 等. 3 种药物对金钱鱼幼鱼的急性毒性[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(5): 83-86.
- [8] 赵亭亭, 张岩, 陈超, 等. 3 种养殖石斑鱼的肌肉营养成分分析与品质评价[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(6): 1-9.
- [9] 刘志轩, 王印庚, 张正, 等. 几种消毒剂对凡纳滨对虾致病性弧菌的杀灭作用[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(3): 112-119.
- [10] 赵骏凯, 张健东, 陈刚, 等. 循环水系统养殖杂交石斑鱼的运行效果[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(2): 118-125.
- [11] 李炎璐, 陈超, 陈建国, 等. 云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交 F1 与亲本的形态学比较[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(6): 1-5.
- [12] 林桂芳, 陈文博, 苏永全, 等. γ -干扰素对溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 在青石斑鱼 (*Epinephelus awoara*) 巨噬细胞胞内存活的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(5): 1241-1248.
- [13] 桂炳东, 徐建民, 胡龙华, 等. 96 株肺炎链球菌耐药性的检测[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001(s1): 87-88.
- [14] 临床和实验室标准协会. CLSI M100 2018 抗微生物药物敏感性试验的执行标准[S], 2018. [15] 刘彦利, 闫瑞梅. 中药免煎颗粒与传统中药汤剂治疗肝郁脾虚型慢性萎缩性胃炎的对照研究[J]. 当代医学, 2018, 24(6): 139-140.
- [16] 李睿, 翟华强, 田伟兰, 等. 中药煮散的历史源流及其与现代配方颗粒的对比性分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 965-969.
- [17] 唐怀庆, 张健东, 陈刚, 等. 养殖密度、投喂频率和投喂水平对珍珠龙胆石斑鱼特定生长率、饲料转化率和胃蛋白酶活力的协同影响[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(1): 22-31.
- [18] 林紫薇, 汤菊芬, 简纪常, 等. 复方中草药在罗非鱼养殖中的安全性评价[J]. 广东海洋大学学报, 2017, 37(3): 43-48.
- [19] 李焯新, 蔡小辉, 黄瑜, 等. 中草药与抗生素联用对罗非鱼源无乳链球菌的体外抑菌作用[J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(4): 45-49.
- [20] 胡斌, 宋理平, 冒树泉, 等. 饲料中添加 4 种中草药制剂对大口黑鲈幼鱼生长和抗氧化能力的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(2): 46-52.
- [21] 毛红梅. 几种中药颗粒剂与水煎剂对不同种类耐药菌株的体外抑菌作用比较[J]. 当代医学, 2017, 23(19): 73-74.
- [22] 吴贤丽, 庞载元, 敖茂程, 等. 4 种中药对广泛耐药鲍曼不动杆菌的抑菌作用[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(8): 1030-1031; 1034.
- [23] 李蔼文, 谭俊青, 王康椿, 等. 5 种中药颗粒剂与水煎剂对 5 种耐药菌株的体外抑菌作用比较[J]. 检验医学, 2015(6): 567-570.
- [24] 曲径, 殷中琼, 贾仁勇, 等. 艾叶等 20 种中药对禽多杀性巴氏杆菌的体外抗菌活性[J]. 华中农业大学学报, 2015(2): 91-94.
- [25] 智晓艳, 崔恩慧, 范云鹏, 等. 14 种中药及其复方的体外抗菌活性[J]. 西北农业学报, 2014, 23(7): 114-119.

(责任编辑: 刘庆颖)