

四環素及氯黴素對草蝦、斑節蝦、熊蝦、 紅尾蝦、砂蝦和淡水長腳大蝦等蝦苗 藥浴之忍受度試驗*

廖 一 久** • 郭 錦 朱**

Studies on the Tolerance of Tetracycline and Chloramphenicol
to Postlarvae of *Penaeus monodon*,
P. japonicus, *P. semisulcatus*, *P. penicillatus*, *Metapenaeus ensis* and
*Macrobrachium rosenbergii**

I-Chiu Liao** and Jiin-Ju Guo**

ABSTRACT

The TLm values of tetracycline and chloramphenicol on postlarvae of *Penaeus monodon*, *P. japonicus*, *P. semisulcatus*, *P. penicillatus*, *Metapenaeus ensis* and *Macrobrachium rosenbergii* were studied. The results were calculated with Van der Waerden method as follows: For tetracycline, the TLm values of post-larvae of prawns in the above order were 324 ppm, 123 ppm, 629 ppm, 682 ppm, 39 ppm and 594 ppm respectively. For chloramphenicol, the TLm values of postlarvae of prawns in the above order were 247 ppm, 334 ppm, 362 ppm, 404 ppm, 437 ppm and 2,717 ppm respectively.

*東港分所研究報告A-59號
(Contribution A No. 59 from the Tungkang Marine Laboratory)

**東港水產試驗分所
(Tungkang Marine Laboratory)

前 言

近年來集約養殖引起的各種蝦病中，以細菌性疾病居多，傳染迅速，死亡率高，一旦發生便很難控制及杜絕，今四環素及氯黴素對此類疾病有認可之療效（尾崎⁽¹⁾⁽²⁾，1970a，1970b；黃⁽³⁾，1977；楊等⁽⁴⁾，1978；郭、郭⁽⁵⁾，1980；劉、蔡⁽⁶⁾，1980），唯由於養蝦業者普遍缺乏正確用藥知識，而有濫用藥物以致產生抗藥菌之慮，因此，在法令未對水產用藥有明確的限制前，爲了確保用藥的安全性及預防抗藥菌的產生及蔓延，本分所進行一系列之各種水產藥物對蝦苗忍受度之探討，本篇即其中之一，以氯黴素及四環素對草蝦苗、斑節蝦苗、熊蝦苗、紅尾蝦苗、砂蝦苗及淡水長腳大蝦苗進行24小時的藥浴試驗，以求得半致死濃度，以供養蝦業者防治疾病上及相關研究上之參考。

材 料 與 方 法

1. 藥物：

四環素 (Tetracycline hydrochloride crystalline, Sigma Chemical Co., potency more than 90.0%)

氯黴素 (Chloramphenicol crystalline, Sigma Chemical Co., potency more than 900 $\mu\text{g}/\text{mg}$)

2. 蝦苗：大小皆爲P L15—20

蝦之種類：草 蝦 *Penaeus monodon*

斑節蝦 *P. japonicus*

熊 蝦 *P. semisulcatus*

紅尾蝦 *P. penicillatus*

砂 蝦 *Metapenaeus ensis*

淡水長腳大蝦 *Macrobrachium rosenbergii*

3. 供試水：

海水：鹽度 32ppt，溫度25.2-29.5°C，pH 7.9-8.0

淡水：鹽度 0 ppt，溫度25.2-29.5°C，pH 7.4-7.5

4. 方法：

先作預備試驗，對蝦苗進行24小時藥浴，求出大概的上限（百分之百致死的最低濃度）和下限（百分之百活存的最高濃度），然後在所得之上限和下限間，依據幾何等比級數，將供試藥物分別配成數種不同濃度，再進行藥浴試驗，爲了避免在試驗期間，蝦苗互相殘食，因此，將每一尾蝦苗分別收容在180cc的塑膠杯中，每一組10尾，於藥浴結束後，觀察並記錄蝦苗活存情形，再以Van der Waerden 法（高木、小澤⁽⁷⁾，1967；劉、王⁽⁸⁾，1978；Brown⁽⁹⁾，1980；簡等⁽¹⁰⁾，1983）計算，求出半致死濃度（TLm），其計算方程式如下：

$$L = X_n - (h_1 + h_2 + \dots + h_{n-1})d - \frac{1}{2}d$$

$$TLm = \text{Antilog } L$$

$$V_{(m)} = d^2 \sum \frac{hi(1-hi)}{n-1}$$

$$M_U = L + t \sqrt{V_{(m)}}$$

$$M_L = L - t \sqrt{V_{(m)}}$$

式中L 代表TLm值之log值

X_n 代表百分之百致死的最低濃度之log值

hi 代表各濃度藥浴後，蝦苗的死亡率

d 代表各濃度間公比的log值

- n 代表每一濃度使用的蝦苗尾數
- $V_{(m)}$ 代表一個標準差之平方的log值
- M_u 代表信賴界限之上限的log值
- M_L 代表信賴界限之下限的log值
- t 代表常數1.96 ($p=0.05$)

結 果

1. 以四環素及氯黴素藥浴之半致死濃度 (TLm) 及感受性 (Sensitivity) :

本次針對上述草蝦、斑節蝦、熊蝦、紅尾蝦、砂蝦和淡水長腳大蝦等六種蝦苗進行藥浴試驗，結果如Table 1 及 Table 2 所示，由表中的半致死濃度可知淡水長腳大蝦苗對氯黴素的感受性最弱，而草蝦苗最強；至於，對四環素的感受性，則以砂蝦苗最強，紅尾蝦苗最弱，有關其理由目前尚無從獲知，不過，若能瞭解此些藥物在蝦體內之吸收及其代謝情形，則相信不難掌握其機制 (Mechanism)。

Table 1 Relationship between concentration of tetracycline (TC) and chloramphenicol (CP) and mortality of postlarvae of six prawn species

Prawns	Conc. of drug (ppm)	Mortality (%)	Mortality (%)									
			0	10	20	30	40	50	60	70	80	100
<i>Penaeus monodon</i>	TC		167		229		314				430	589
	CP		160		192	230			276			331
<i>P. japonicus</i>	TC		55		77	108				151		211
	CP		258		288		321	358				400
<i>P. semisulcatus</i>	TC		400		496			615		763		946
	CP		170	233		319				437		599
<i>P. penicillatus</i>	TC		450		535		636		756			899
	CP		250	311			387		482			600
<i>Metapenaeus ensis</i>	TC		8.3	15		27		49				88
	CP		362				404		451		503	561
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	TC		170		300		530			935		1,650
	CP		1,190	1,704			2,440			3,493		5,001

Table 2 Tolerance, TLm and limit of dependence of prawn postlarvae calculated with Van der Waerden method

	Tetracycline (TC) (ppm)			Chloramphenicol (CP) (ppm)		
	tolerance	TLm	limit of dependence	tolerance	TLm	limit of dependence
<i>Penaeus mondon</i>	167	324	278-378	160	247	225-271
<i>P. japonicus</i>	55	123	104-146	258	334	315-353
<i>P. semisulcatus</i>	400	629	563-702	170	362	313-419
<i>P. penicillatus</i>	450	682	626-742	250	404	364-450
<i>Metapenaeus ensis</i>	8	39	29-51	363	437	412-462
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	170	594	444-793	1,190	2,717	2,286-3,228

2. 試驗期間四環素及氯黴素溶液之pH值及溶氧變化情形：

四環素及氯黴素溶液之溶氧，經測定結果，皆在 5mg/l 以上，因此，可提供蝦苗足夠之需氧量(陳⁽¹¹⁾，1981)。至於，pH值之變化，氯黴素約在 6—8 之間，而四環素因是鹽酸鹽製劑，所以 pH 值有偏酸現象，而此現象在高濃度藥浴時更趨明顯，不過，經測定的結果，在高濃度 587ppm 藥浴時，其pH值為 6，因此，當實際應用於蝦病防治時，對蝦之活存應不會構成太大的威脅。

討 論

水產藥物之急性毒性試驗，一般測定其半致死濃度 (TL₅₀)，即測定供試對象浸浴在各種不同濃度之藥物溶液中，在一定時間內計算50%活存率所得之濃度。一般以24，48，96小時為測定標準，本報告乃採用24小時之藥浴試驗，並以 Van der Waerden 法為計算方法，此法係利用劑量及死亡率所形成之面積來推算半致死濃度，計算簡單容易，所以採用之。

本試驗所採用的四環素及氯黴素皆屬廣效性制菌抗生素(尾崎⁽¹⁾⁽²⁾，1970a，1970b；陳⁽¹²⁾，1981；Goth⁽¹³⁾，1981)，而抗生素乃是活微生物的代謝產物，在水產界常用為細菌性疾病之治療劑，不過易於產生抗藥菌(尾崎⁽¹⁾⁽²⁾，1970a，1970b；劉、蔡⁽⁸⁾，1980；陳、郭⁽¹⁴⁾，1978；郭、鍾⁽¹⁵⁾，1980；林等⁽¹⁶⁾，1983)，且有殘留現象(尾崎⁽¹⁾⁽²⁾，1970a，1970b)，價格昂貴，因此，最好於使用呋喃劑 (Furan drug) 及磺胺劑 (Sulfa drug) 無效後，再使用為佳。它們的作用機制 (mechanism) 皆為細菌之蛋白質合成抑制劑；但作用點不同，四環素作用於核糖體循環 (Ribosomal cycle) (陳⁽¹⁷⁾，1981) 上之30S處，抑制Amino-t-RNA 與30S上起始密碼 (AUG) 的結合反應(尾崎⁽²⁾，1970b)；而氯黴素作用於 50S 處，抑制 Aminoacyl-t-RNA 與50S之結合反應(尾崎⁽¹⁾，1970a)，會阻斷蛋白質的合成作用，屬於制菌劑，而非殺菌劑。

四環素可由鏈絲菌科之一種絲菌 *Streptomyces aureofaciens* 之培養液中提取製得之。其基本結構由四個環(曾⁽¹⁸⁾，1981) 接合而成，屬兩性化合物，對 *Aeromonas hydrophila*，*A. punctata*，*Vibrio anguillarum*，*Flexibacter columnaris*，*Edwardsiella anguillarum* 及 *pasteurella piscida* 等病原體有抑制作用(尾崎⁽²⁾，1970b)，其製劑有鈣鹽及鹽酸鹽二種，鈣鹽者用於飼料添加劑，鹽酸鹽者一般作為治療劑用，但因四環素水溶液安定性低，易受 pH 值變化的影響，其基本結構會遭受破壞以致失效，並且遇光或遇熱時亦會分解變質，顏色變深，效價減弱或消失，因此藥浴投藥時，宜採高濃度短時間藥浴法，以達治療之效。

氯黴素亦由鏈絲菌科之一種絲菌 *Streptomyces venezuelae* 之培養液中提取製得之。分子結構簡單，目前皆以化學合成法製造，為硝化基苯之衍生物 (Derivative of nitrobenzene) (曾⁽¹⁸⁾，1981)，對於 *Aeromonas hydrophila*，*A. salmonicida*，*Edwardsiella anguillimortiferum*，*Flexibacter columnaris*，*Pseudomonas anguilliseptica* 及 *Vibrio anguillarum* 等病原體有抑制作用(尾崎⁽¹⁾，1970a；郭等⁽¹⁹⁾，1977)，其抗菌範圍，作用機制及效力皆與四環素相類似，但在水溶液中却較安定，遇光不易分解，所以在臺灣水產界廣為被利用，然因一般養殖戶對於魚病之知識不足，常聽信藥商的片面之詞，有濫用藥品(林、蕭⁽²⁰⁾，1977)之嫌，不但對治療無效，且徒致浪費，甚至易導致抗藥菌的產生與蔓延，因此，在歐美各國除狗以外，已將氯黴素禁用於畜產及水產，日本亦於1984年3月宣佈禁用於水產界，其原因是氯黴素為治療人類霍亂或赤痢等腸內感染症最有效的藥物，所以禁止廣泛使用，以免造成微生物抗藥菌問題，以期延長氯黴素的可能使用壽命，又氯黴素對於造血系統有很大的傷害作用，因此，禁止使用於畜產或水產界，以免殘留於動物體內之藥物，侵入人體後造成傷害，或減弱藥物對人體的治療效果。基於上述種種原因，臺灣的有關單位也應該早日有某種因應措施，唯，現實問題上有關法令未制定前，即政府未能有效對水產藥物加強管制前，先進行上述二種藥物對六種蝦苗的半致死濃度試驗，以供養蝦業者用藥時之參考。

總之，本試驗係探討有關藥物對蝦苗忍受度之一系列研究之一，目的在於求得四環素及氯黴素對

六種蝦苗的半致死濃度。至於，藥物在蝦體內及蝦池中的殘留試驗，停藥期的測定及抗藥菌之檢查等，則有待今後更進一步的研討。

摘 要

四環素及氯黴素對六種蝦苗，包括草蝦苗、斑節蝦苗、熊蝦苗、紅尾蝦苗、砂蝦苗及淡水長脚蝦苗等之忍受度進行試驗獲得如下結果：四環素對上述六種蝦苗之半致死濃度依次分別為 324 ppm, 123 ppm, 629 ppm, 682 ppm, 39 ppm 及 594 ppm。氯黴素則依次分別為 247 ppm, 334 ppm, 362 ppm, 404 ppm, 437 ppm 及 2,717 ppm。

謝 辭

本試驗所供試之蝦苗，均由本分所蝦苗繁殖部門提供，才得以完成，謹致謝意。又，本試驗承蒙業發展委員會74農建-4.1產漁-87(5)及省公務預算56.09006.1.03-13(3)之經費補助，謹此誌之。

參 考 文 獻

1. 尾崎久雄，(1970a)，魚類藥理學Ⅱ—抗生物質 1。綠書房，p1-102.
2. 尾崎久雄，(1970b)，魚類藥理學Ⅲ—抗生物質 2，綠書房，p1-56.
3. 黃銀河，(1977)，虱目魚越冬期間細菌疾病研究—初步報告，魚病研究專集 I, p 50-54。
4. 楊美桂、羅竹芳、扈佰爾、郭光雄，(1978)，新竹區養殖文蛤病原菌 *Vibrio parahaemolyticus* 之分離，魚病研究專集 II, p 59-67.
5. 郭上卿、郭光雄，(1980)，鰻線感染水黴菌 *Saprolegnia ferax* 之因子，魚病研究專集 (二), p 86-93.
6. 劉正義、蔡信雄，(1980)，臺灣養殖鰻之潰瘍病，魚病研究專集 (三), p 109-117.
7. 高木敬次郎、小澤光，(1967)，藥物學實驗，南山堂，p 198-199.
8. 劉朝鑫、王金和，(1978)，水產藥物對於鰻魚毒理學之研究，魚病研究專集 II, p 33-43.
9. Brown, V.K. (1980). Acute toxicity in theory and practice. p 14-32. John Wiley & Sons Ltd., New York, Toronto.
10. 簡肇衡、李福銓、余廷基，(1983)，幾種水產藥品及化學物對吳郭魚之毒性及病理研究，魚病研究專集 (四), p 10-21.
11. 陳建初，(1981)，水質分析，九大圖書公司，p 10-11
12. 陳岱全、陳德輝，(1981)，藥理學下冊，合記圖書出版社，p 71-74.
13. Goth, A. (1981). Medical pharmacology. p645-648. The C.V. Mosby Company, Toronto, London.
14. 陳宏遠、郭光雄，(1978)，水產養殖抗藥細菌之研究— I 養殖鰻抗藥菌之抗藥性，魚病研究專集 II, p 1-13.
15. 郭光雄、鍾虎雲，(1980)，養鰻池之R⁺抗藥細菌，魚病研究專集 (三), p 1-8.
16. 林敏雄、陳秀男、郭光雄，(1983)，臺灣地區魚病研究之回顧，魚病研究專集 (四), p 1-9.
17. 陳正宗，(1981)，生物化學指引上冊，南山堂，p 195-220.
18. 曾誠齊，(1981)，基礎藥物化學，正川出版社，p 461-463.
19. 郭上卿、鍾虎雲、郭光雄，(1977)，養殖鰻潰瘍病病原菌 *Edwardsiella anguillimortiferum* 之分離，魚病研究專集 I, p 1-6.
20. 林曜松、蕭世民，(1977)，魚池生態環境與魚病關係之研究— I 臺灣鰻魚疾病之統計分析，魚病研究專集 I, p 57-61.