

水產藥物對於鰻魚毒理學之研究

劉朝鑫* · 王金和**

Toxicological Studies of Some Drugs in Cultured
Eels (*Anguilla japonica*)

C. K. Liu* and C. H. Wang**

Abstract

Acute and chronic toxicity of Chloramphenicol, Chlortetracycline hydrochloride, Spectinomycin, Neomycin sulfate, Nifurpirinol and Nitrofurazone to cultured eels was studied.

The tolerant dose and safety period of the drugs in cultured eels are as follows: Chloramphenicol, 180 ppm for 6 days; Chlortetracycline hydrochloride, 7 ppm for 3 days; Spectinomycin, 100 ppm for 30 days; Neomycin sulfate, 280 ppm for 30 days; Nifurpirinol, 0.4 ppm for 6 days; Nitrofurazone, 8 ppm for 30 days.

前 言

目前鰻魚養殖業對於疾病的防治，尚無有效的生物製劑可供應用，端賴水產藥物防治疾病。因此隨着我國養鰻事業之發展，水產藥品在臺灣之製造及銷售，無論是藥物種類及數量，均有極快速的增加。我國對於水產藥品，尚無適當的管制，且我國民族性向來喜愛用藥，以致養殖業者可以自由購用水產藥物，無論以多高的濃度，或多長的期間使用，隨心所欲，毫無限制。因此常發生藥物中毒問題。

本研究曾就6種水產藥物，檢討其對鰻魚之急性毒性及慢性毒性，求出其50%致死濃度，安全濃度及安全使用期間，以供有關當局及業者之參考。

材 料 及 方 法

(一) 材 料：

(1) 使用藥物：Chloramphenicol, Chlortetracycline hydrochloride, Spectinomycin, Neomycin sulfate 等4種抗生素及 Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 2種呋喃類藥物。

(2) 使用鰻魚：使用鰻魚為日本鰻 (*Anguilla japonica*)，每尾重10~20g左右，購自行政院國軍退除役官兵輔導委員會魚殖管理處。

(二) 方 法：

(1) 急性毒性試驗：求各種藥物對於鰻魚之半數致死濃度 TLm (median tolerance limit)，其方法係依據日本農林省之方法⁽¹⁾及 Van der Waerden 之方法⁽²⁾混合使用。即先做預備試驗，求大概的上限（百分之百致死濃度）及大概的下限（百分之百生存濃度）。預備試驗時每一濃度使用2尾

* 臺灣大學獸醫學系 (Dept of Vet. Medi, Nat, Taiw. Univ.)

** 中區病理中心 (Pathology Center, Central Taiwan)

鰻魚

求出大概的上限及下限後，即進入正式試驗，即在所獲得的上限及下限之間，依幾何級數分成 5~6 種濃度，每一濃度使用 10 尾鰻魚。無論預備試驗或本試驗，均依規定計算 48 小時的死亡鰻。

試驗進行時水溫為 20°~28°C，水溫變化盡量保持在 ±2°C 以內。供試藥液量約為每 1 g 供試鰻魚與每 1 ℓ 之比。同時設有用於稀釋藥液的水的對照組。

在 48 小時以前死亡之供試鰻魚均做病理學肉眼及組織切片之檢查。組織切片之製法，包埋切成厚度約 6 μ，然後以 Hematoxylin-Eosin 染色。

在 48 小時試驗結束時仍然存活之供試鰻，均做血液學之檢查。其項目包括紅血球計數，白血球計數及分類計數，血紅素以及血球形態變化之觀察。

(2) 慢性毒性試驗：以各種藥物之 TLm 值為基礎，分別乘係數 0.1 及 0.2，所獲得濃度做為試驗組，另設 1 組對照組，各組均由 20 尾鰻魚組成。試驗組藥浴於一定濃度的藥液中，對照組則浸浴於清水中，定期撈取 2 尾鰻魚，做血液學及病理學檢查。在試驗期間死亡者，均做病理學的檢查。

試驗進行時水溫夏季約在 28°C 左右，冬季則在 20°C 左右，水溫變化盡量保持在 ±2°C 以內。供試藥液量與鰻魚體重之比，與急性毒性試驗相同。在慢性毒性試驗期間，不餵飼料。

結 果

(一) 急性毒性試驗

(1) TLm 值

a. 氯黴素 Chloramphenicol

本藥物之 TLm 值之測定在 20°C 水溫中進行，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	1000	1300	1690	2197	2856
死 亡 率	0/10	1/10	3/10	8/10	10/10

$$d = \log 1.3$$

$$\begin{aligned} L &= Xn - (h_1 + h_2 + \dots + h_{n-1})d - \frac{1}{2}d \\ &= \log 2856 - \log 1.3 \left(\frac{1}{10} + \frac{3}{10} + \frac{8}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.3 \\ &= 3.4557 - 0.1139 \times 1.2 - 0.05695 \\ &= 3.4557 - 0.13668 - 0.05695 = 3.2621 \end{aligned}$$

$$TLm = \text{anti log } L = 1828 \text{ (ppm)}$$

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i(1-h_i)}{n-1} = (0.1139)^2 \times \frac{0.09 + 0.21 + 0.16}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1139}{3} \times \sqrt{0.46} = 0.0257$$

$$mu = L + t \sqrt{V(m)} = 3.2621 + 1.96 \times 0.0257 = 3.3125$$

$$m_L = L - t \sqrt{V(m)} = 3.2621 - 1.96 \times 0.0257 = 3.2117$$

故信賴界限為 1628~2053 ppm (P=0.05)

b. 氯四環素鹽酸 Chlortetracycline HCl

本藥物之 TLm 值之測定，在水溫 20°C 中進行，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	40	52	68	88	114	149
死亡 率	0/10	1/10	3/10	8/10	10/10	10/10

$$d = \log 1.3$$

$$L = \log 114 - \log 1.3 \left(\frac{1}{10} + \frac{3}{10} + \frac{8}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.3$$

$$= 2.0569 - 0.1139 \times 1.2 - 0.05695$$

$$= 2.0569 - 0.1367 - 0.05695 = 1.8633$$

$$TLm = \text{anti log } L = 73 \text{ (ppm)}$$

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1139)^2 \times \frac{0.09+0.21+0.16}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1139}{3} \times \sqrt{0.46} = 0.0257$$

$$\mu = L + t \sqrt{V(m)} = 1.8633 + 1.96 \times 0.0257 = 1.9137$$

$$m_L = L - t \sqrt{V(m)} = 1.8633 - 1.96 \times 0.0257 = 1.8129$$

故信賴界限為 65~82 ppm (p=0.05)

c. 觀徽素 Spectinomycin

本藥物之 TLm 值，是在 25°C 水溫中進行測定，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	1000	1050	1102	1157	1215	1276
死亡 率	0/10	2/10	4/10	8/10	9/10	10/10

$$d = \log 1.05$$

$$L = \log 1276 - \log 1.05 \left(\frac{2}{10} + \frac{4}{10} + \frac{8}{10} + \frac{9}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.05$$

$$= 3.1058 - 0.0128 \times 2.3 - \frac{1}{2} \times 0.0128 = 3.0700$$

$$TLm = \text{anti log } L = 1175 \text{ (ppm)}$$

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.0128)^2 \times \frac{0.16+0.24+0.16+0.09}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.0128}{3} \times \sqrt{0.65} = 0.0034$$

$$\mu = L + t \sqrt{V(m)} = 3.070 + 1.96 \times 0.0034 = 3.0767$$

$$m_L = 3.0700 - 1.96 \times 0.0034 = 3.0633$$

故信賴界限為 1157~1193 ppm (p=0.05)

d. 硫酸新徽素 Neomycin sulfate

本藥物之 TLm 值是在 25°C 水溫中測定，所獲數據如下：

濃度 (ppm)	1100	1430	1859	2416	3141	4083
死亡 率	0/10	1/10	1/10	2/10	5/10	10/10

$$d = \log 1.3$$

$$L = \log 4083 - \log 1.3 \left(\frac{1}{10} + \frac{1}{10} + \frac{2}{10} + \frac{5}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.3$$

$$= 3.6110 - 0.9 \times 0.1139 - \frac{1}{2} \times 0.1139$$

$$= 3.6110 - 0.1025 - 0.0569 = 3.4516$$

TLm = anti log L = 2829 (ppm)

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1139)^2 \times \frac{0.09+0.09-0.16+0.25}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1139}{3} \times \sqrt{0.59} = 0.0292$$

$$\mu = L + t \sqrt{V(m)} = 3.4516 + 1.96 \times 0.0292 = 3.5088$$

$$m_L = L - t \sqrt{V(m)} = 3.4516 - 1.96 \times 0.0292 = 3.3944$$

故信賴界限為 2480~3227 ppm

e. Nifurpirinol

本藥物之 TLm 值，是在 20°C 水溫中測定，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	2.00	2.80	3.90	5.50	7.70	10.78
死亡 率	0/10	3/10	4/10	8/10	10/10	10/10

$$d = \log 1.4$$

$$L = \log 7.70 - \log 1.4 \left(\frac{3}{10} + \frac{4}{10} + \frac{8}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.4$$

$$= 0.8865 - 0.1461 \times 1.5 - \frac{1}{2} \times 0.1461 = 0.5942$$

TLm = anti log L = 3.93 (ppm)

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1461)^2 \times \frac{0.21+0.24+0.16}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1461}{3} \times \sqrt{0.61} = 0.0380$$

$$\mu = 0.5942 + 1.96 \times 0.0380 = 0.6550$$

$$m_L = 0.5942 - 1.96 \times 0.0380 = 0.5198$$

故信賴界限為 3.31~4.52 ppm (p=0.05)

f. Nitrofurazone

本藥物之 TLm 值，是在 25°C 水溫中測定，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	15	23	35	53	80	120
死亡 率	0/10	0/10	2/10	2/10	6/10	10/10

$$d = \log 1.5$$

$$L = \log 120 - \log 1.5 \left(\frac{2}{10} + \frac{2}{10} + \frac{6}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.5$$

$$= 3.0792 - 0.1761 \times 1 - 0.00880 = 2.8943$$

TLm = anti log L = 78.40 (ppm)

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i(1-h_i)}{n-1} = (0.1761)^2 \times \frac{0.16+0.16+0.24}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1761}{3} \times \sqrt{0.56} = 0.0439$$

$$\mu = 2.8943 + 1.96 \times 0.0439 = 2.9803$$

$$m_L = 2.8943 - 1.96 \times 0.0439 = 2.8083$$

故信賴界限為 64.3~95.6 ppm (p=0.05)

(2) 病理變化

6 種供試藥引起鰻魚急性中毒之病理變化，大都類似，只是程度不同。最多見的病變為鰓薄板細胞的增生過盛 (hyperplasia)，因而使鄰近薄板互相融合 (fusion)。鰓的這種病變 (表示於圖 1)，6 種供試藥物急性中毒死亡的鰻魚，均曾發生。

肝的病變，以肝細胞之空胞化 (Vacuolization) 最多，6 種供試藥均引起這種病變 (圖 2)。氮

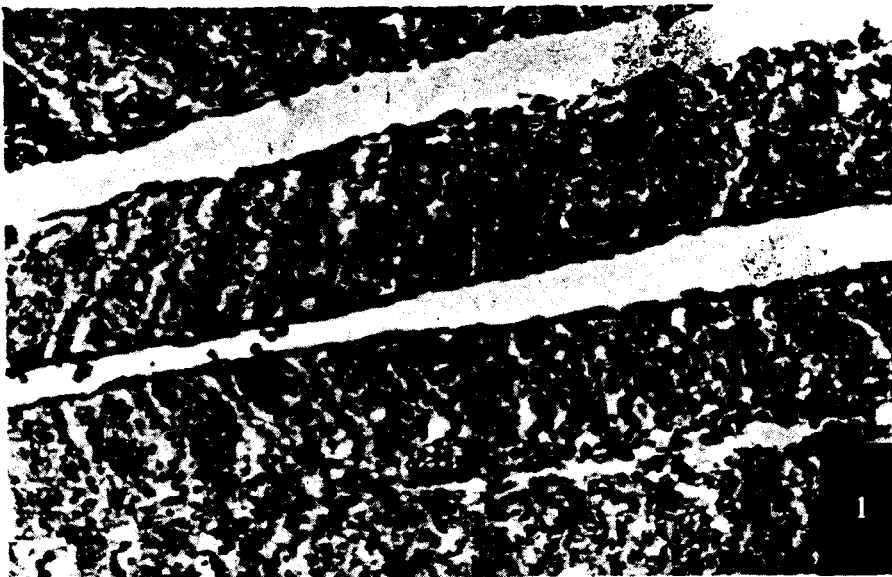


Fig. 1. Hyperplasia and fusion of gill lamellae. H & E $\times 200$



Fig. 2. Vacuolization of liver cells. H&E $\times 100$

黴素，氯四環素及觀黴素均能引起肝的局限性壞死 (Focal necrosis) (圖3)。氮黴素，Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 則引起 triaditis (圖4)。

6 種供試藥均能引起腎小管的擴張 (圖5) 及 hyalinedegeneration (圖6)。Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 則會引起腎的 massive necrosis (圖7)。Nitrofurazone 引起腎小管的 hydropic change。

至於心臟的病變，氮黴素，硫酸新黴素及 Nitrofurazone 會引起心肌出血 (圖8)。Nifurpirinol 則會引起心肌及心包膜的淋巴球浸潤。

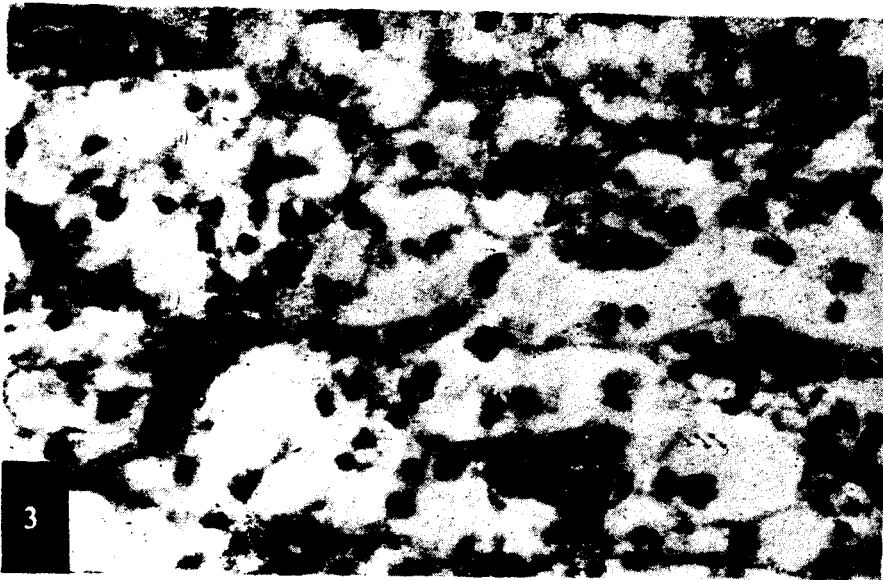


Fig. 3. Focal necrosis of liver cells. H&E. $\times 450$

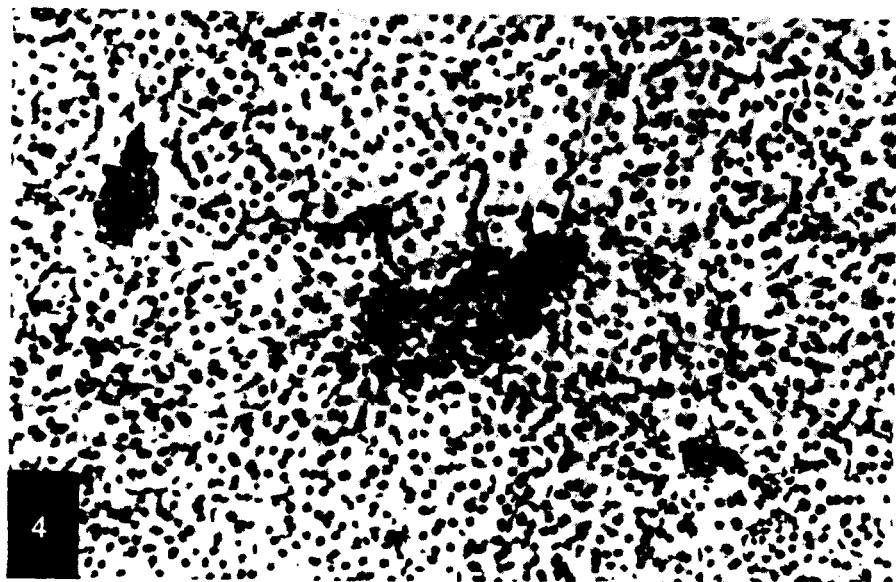


Fig. 4. Triaditis in liver. H&E $\times 100$

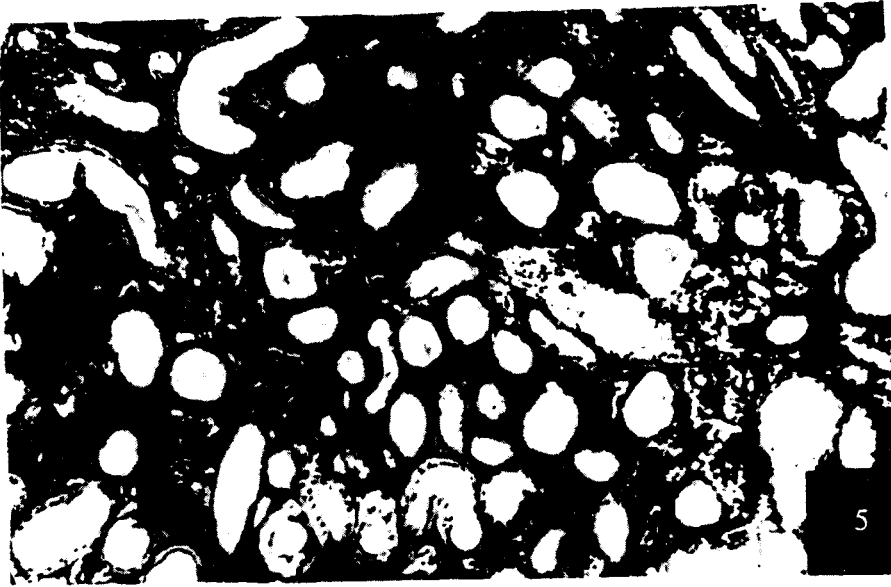


Fig. 5. Tubular dilation of kidney. H&E $\times 100$

Fig. 6. Hyaline degeneration of renal tubules. H&E $\times 100$

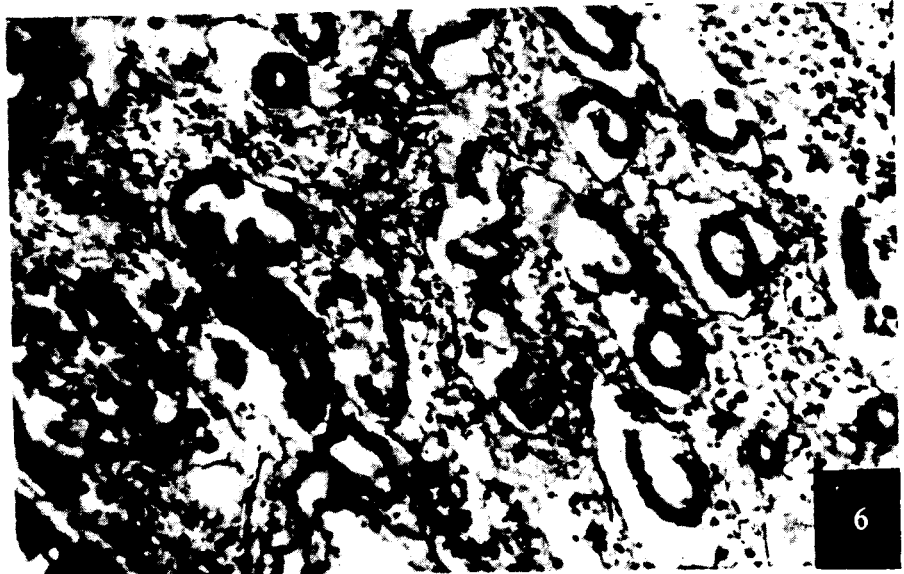
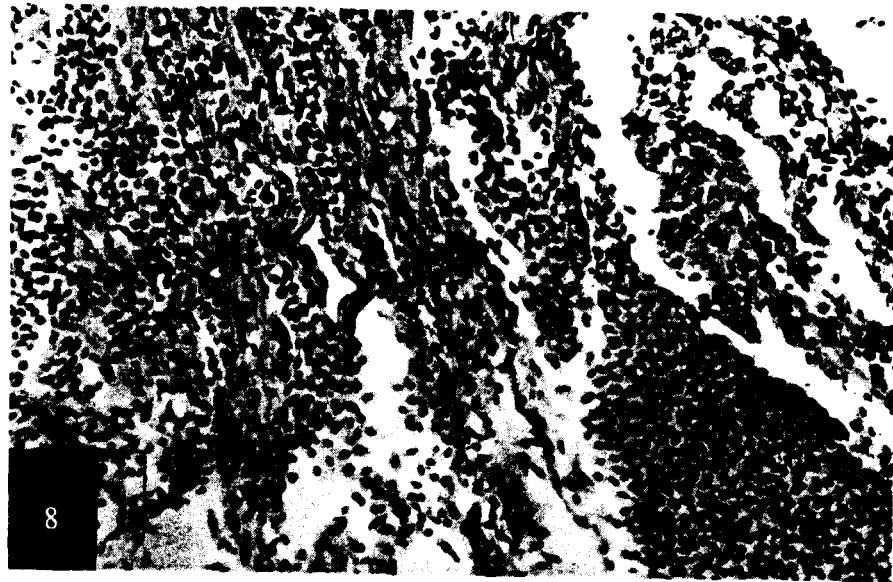


Fig. 7. Massive necrosis of kidney. H&E $\times 40$

Fig. 8. Hemorrhage in myocardium.
H&E ×200



6 種供試藥均能引起脾臟的 hemosiderosis 及充血。前者的程度以氯黴素最為顯著，後者則以 Nitrofurazone 最嚴重。

6 種供試藥均能引起皮膚上皮細胞的變形，粘液細胞增生而變大。

(3) 血液學檢查

鰻魚經 6 種供試藥藥浴 48 小時後的血液學之變化，表示於表 1。如表 1 所示，所有 6 種供試藥，均能使鰻魚紅血球數目減少，但血紅素量則除 Nitrofurazone 外，均維持正常量。至於白血球數目，硫酸新黴素能顯著增加，Nitrofurazone 畧能增加外，其餘 4 種均減少。至於白血球分類計數，6 種供試藥均使中性球增加，而使淋巴球減少。

Table 1. Hematological effects of drugs to eels.

Drugs	R B C 10 ⁶	Hb g%	W B C	Differential leucocyte count in %		
				Neut.	Lymph.	Mono.
Control	3.16	12.00	3,950	16.00	75.25	8.75
Chloramphenicol	2.64	14.00	3,150	41.00	49.00	10.00
Chlortetracycline hydrochloride	2.85	11.00	3,350	46.00	54.00	0
Spectinomycin	2.95	11.00	2,600	23.00	73.00	4.00
Neomycin sulfate	2.42	11.50	22,100	66.00	23.67	10.33
Nifurpirinol	2.87	12.00	3,200	48.00	50.00	2.00
Nitrofurazone	2.91	7.00	4,683	25.57	67.85	6.58

(二) 慢性毒性試驗

(1) 氯黴素

氯黴素之 TLm 值為 1828 ppm，故以 180 ppm，360 ppm 及對照組進行試驗。每 3 天撈取 2 尾鰻魚進行血液學及病理學檢查。

藥浴在 360 ppm 濃度的鰻魚，在第 3 天時血液學及病理學檢查均正常，但在第 6 天時紅血球減少為 2,180,000，血紅素降低為 10，白血球 2,100，而於第 8 天時全部死亡。病理學檢查，在第 6 天時

鰓薄板細胞增生，鄰近薄板互相融合，肝細胞空胞化，脾有 hemosiderosis，腎小管擴張及 hyaline degeneration。第 8 天後的病理變化，除與第 6 天相似外，尚有肝細胞的局限性壞死。

藥浴在 180 ppm 氯黴素水溶液中的鰻魚，在第 3 天及第 6 天血液學及病理學均屬正常。但在第 9 天時紅血球，血紅素及白血球均降低，鰓，肝，脾及腎均出現與 360 ppm 濃度組類似的病變。第 12 天時亦呈相似變化，剩餘的鰻魚於 14 天全部死亡。

(2) 氯四環素鹽酸

氯四環素鹽酸對於鰻魚的 TLm 為 73 ppm，故以 7 ppm，14 ppm 及對照組進行試驗。每 3 天撈取 2 尾鰻魚進行血液學及病理學檢查。

藥浴在 14 ppm 組鰻魚，血液學檢查在第 3 天時正常，第 6 天時紅血球，血紅素及白血球畧為減少，而於第 9 天時紅血球減少至 1,960,000，血紅素降低為 9，白血球為 2,000。病理變化則於第 3 天呈現輕度的鰓的細胞增生，第 6 天時鰓呈現充分的細胞增生及鰓薄板的融合，肝的局限性壞死，腎小管擴張。第 5 天時有 1 尾鰻魚死亡，第 8 天時有 2 尾死亡。第 13 天時全部死亡。

藥浴在 7 ppm 組鰻魚，血液學變化於第 9 天時出現，而於 15 天時呈現明顯降低。病理組織學變化於第 6 天時出現鰓病變，其後至試驗結束，未出現別的病變。

(3) 觀黴素

觀黴素的 TLm 為 1,175 ppm，故以 100 及 200 ppm 進行慢性毒性試驗。

200 ppm 組血液學的變化出現於第 6 天，病理變化則在第 12 天出現鰓病變，肝局限性壞死。21 天時全部死亡。

100 ppm 組在試驗結束前，未發現血液學及病理學的變化。

(4) 新黴素硫酸

新黴素硫酸的 TLm 為 2,829 ppm，因此以 280 及 560 ppm 進行慢性毒性試驗。

560 ppm 組在試驗過程中未發現血液學的變化。病理學變化則在第 9 天時發現鰓的病變以外，在試驗過程中未發現其他病變。280 ppm 組則於試驗過程中未發生任何變化。

(5) Nifurpirinol

Nifurpirinol 的 TLm 值為 3.93 ppm，所以以 0.4 ppm 及 0.8 ppm 進行慢性中毒試驗。

0.8 ppm 組於第 6 天時開始出現貧血現象。病理變化則於第 3 天出現鰓的細胞增生及肝細胞空胞化。第 6 天時引起腎的 massive necrosis。而於第 11 天時全部死亡。

0.4 ppm 組在試驗過程中未發生血液學的變化，但在第 9 天時發現肝細胞的空胞化。

(6) Nitrofurazone

Nitrofurazone 的 TLm 為 78.4 ppm，故以 8 及 16 ppm 進行慢性毒性試驗。但在 16 及 8 ppm 組試驗過程，均未發現血液學及病理學的變化。

Table 2. TLm and tolerant doses of drugs to eels

Drugs	TLm (ppm)	Tolerant dose (ppm)
Choramphenicol	1828	180
Chlortetracycline hydrochloride	73	7
Spectinomycino	1175	100
Neomycin sulfate	2829	280
Nifurpirinol	3.93	0.4
Nitrofurazone	78.4	8

討 論

工業廢水及農藥對於魚類急性毒性的表現方法，通常測定 TLm (Median Toleranc Limit) 表示。關於水產藥物對於魚類的急性毒性的表現方法，亦借用 TLm⁽²⁾ 表示。TLm 之測定是將供試魚藥浴於各種濃度的毒物或藥物溶液中，在一定時間內計算供試魚生存50%的濃度，一般所定的時間為 24 小時，48 小時及 96 小時⁽²⁾。但日本農林省的標準為 48 小時⁽¹⁾。本研究即以 48 小時為標準，測定氯黴素，氯四環素鹽酸，觀黴素，新黴素硫酸，Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 等 6 種水產藥物之 TLm。

Doudoroff⁽⁴⁾ 提倡以作圖法求出 TLm，但著者以一般藥理學中常用的 Van der Waerden 法⁽³⁾ 計算 TLm，兩者結果一致，但以電子計算器普遍使用之今日，使用後者較為簡便。

藥物的 TLm 與對魚類的安全濃度之間的關係，有各種換算方法，但以俄亥俄水質基準⁽⁵⁾ 受到廣泛的應用。其方式是以所獲得的 48 小時 TLm 乘安全係數 0.1。

本研究中各水產藥物對於鰻魚的 TLm 值及乘 0.1 之安全濃度如表 2 所示。依據表 2 所示，目前在臺灣所使用的濃度，均在安全濃度範圍。

至於以 TLm 乘安全係數 0.1 所獲得的安全濃度，其安全使用期間，即以慢性毒性試驗，不發生血液學及病理學的變化的期間，各種藥物之間有很大的差異。氯黴素 180 ppm 在藥浴 6 天以前不發生血液學及病理學的變化，但第 9 天以後即發生變化，故其安全期間為 6 天。氯四環素鹽酸的安全濃度 7 ppm，第 9 天時可引起鰻魚血液學的輕度變化，而第 6 天時可引起鰓病變，故其安全期間為 3 天。觀黴素的安全濃度 100 ppm 在 30 天的試驗期間，均未引起鰻魚血液學管及病理學的變化，故其安全期間至少為 30 天。新黴素硫酸的安全濃度 280 ppm 的安全期間，至少亦為 30 天。Nifurpirinol 的安全濃度 0.4 ppm，在試驗過程中雖未引起血液學的變化，但在第 9 天時引起鰻魚肝細胞的空胞化，故其安全期間為 6 天。Nitrofurazone 的安全濃度 8 ppm，在 30 天內未引起鰻魚血液學及病理學的變化，故其安全期間為 30 天。

本研究結果明瞭了 6 種水產藥物，對於鰻魚的 TLm，安全濃度及安全使用期間，可提供業者及有關當局做為參考。

摘 要

本研究曾就 6 種水產藥物，檢討其對於鰻魚之急性及慢性毒性，以求出 TLm，安全濃度及安全使用期間如下：

氯黴素之 TLm 為 1,828 ppm，安全濃度 180 ppm，安全使用期間 6 天；氯四環素鹽酸之 TLm 為 73 ppm，安全濃度 7 ppm，安全使用期間為 3 天；觀黴素之 TLm 為 1,175 ppm，安全濃度 100 ppm，安全使用期間為 30 天；新黴素硫酸之 TLm 為 2,829 ppm，安全濃度 280 ppm，安全使用期間為 30 天；Nifurpirinol 之 TLm 為 3.93，安全濃度 0.4 ppm，安全使用期間為 6 天；Nitrofurazone 的 TLm 為 78.4 ppm，安全濃度 8 ppm，安全使用期間為 30 天。

謝 辭

本研究是農復會支持的 78 (ARDP)-5.3-0-158 魚病防治研究延續，謹申謝意。並感謝方美蓉小姐的協助。

參 考 文 獻

- 1) 日本農林省 (1965). 魚類に對する毒性試驗法，日本農林省告示，昭和 40 年 11 月 25 日 B 第 2735 號：153~155。

- 2) 田端健三 (1964). 魚類による産業廃水の急性毒評價法, 水処理技術, 5: 37~44。
- 3) 高木敬次郎・小澤光編 (1960). 藥物実験132--133 南山堂。
- 4) Doudoroff, P. (1951). Bioassay methods for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. Sewage and Ind. Wastes. 23: 1380。
- 5) ORSANCO (1955). Aquatic life water quality criteria, first progress report. Sewage & Ind. Wastes. 27: 1。