

梭鱼出血性败血病药物防治研究*

梁德海 王新成 彭树杰

(中国科学院海洋研究所)

王文兴 宋庆云

(国家海洋局第一海洋研究所)

细菌性鱼病对鱼类养殖业危害广、威胁严重。以淡水鱼类和梭鱼等为主要危害对象的细菌出血性败血病危及我国养鱼水域,给渔业生产造成了巨大的损失。目前,鲤鱼的出血性败血症已得到有效控制,海水鱼类如牙鲆、真鲷、梭鱼等的出血性败血症正在研究之中。为防治该病的蔓延,我们于 1995 年进行了梭鱼出血性败血病病原菌研究,从患病梭鱼病灶处分离到该病的病原菌为嗜水气单胞菌。在此基础上,我们又对防治梭鱼出血性败血病药物的药效进行了比较研究,根据药敏试验结果,筛选出 4 种安全、有效、价廉的鱼用口服药物氟哌酸、鱼血散、氯霉素和磺胺 + TMP。本研究用氟哌酸对梭鱼细菌出血性败血病进行了防治,疗效显著。

一、材料和方法

1. 试验用药

采用鱼血散、土霉素、氟哌酸和庆大霉素等 8 种化学合成药物,皆为市售;磺胺、氯霉素、呋喃唑酮和青霉素等 12 种药敏纸片由国家海洋局第一海洋研究所提供。

2. 供试菌种和鱼种

试验菌种为嗜水气单胞菌(9501 株),由本所分离鉴定。试验梭鱼来自河北省黄骅市海水养殖公司养鱼场,平均体重 116.5g。

3. 鱼体外抑菌试验

定性试验采用平皿打孔法和纸片法(徐叔云等,1982)进行,测量各孔或纸片周围抑菌直径;氟哌酸的最低抑菌浓度(MIC)的测定采用二倍系列稀释法(徐叔云等,1982)进行;联合药敏试验按琼脂扩散纸片法(郑钧镛等,1989)进行。

4. 鱼体内抗菌试验

在药物筛选的基础上,将氟哌酸通过鱼体腹腔注射和口灌两种方式给药,对梭鱼进

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3768 号。
收稿日期:1999 年 4 月 5 日。

行预防性或治疗性给药试验,并计算其有效率。

(1) 腹注 水温 17.5—19.4 ℃。a. 预防性给药:先用氟哌酸 25 mg/kg 鱼体重的剂量对梭鱼进行腹腔注射给药,间隔 2h 后,再腹腔注射菌液 5×10^6 个/尾; b. 治疗性给药:先腹腔注射菌液 5×10^6 个/尾,间隔 2h 后,再腹腔注射氟哌酸 30 mg/kg 鱼体重。

(2) 口服 水温 17.5—19.4 ℃。a. 预防性给药:先口灌氟哌酸 25 mg/kg 鱼体重,2h 后腹腔注射菌液 5×10^8 个/尾; b. 治疗性给药:先腹腔注射 5×10^8 个/尾,2h 后口灌氟哌酸 30 mg/kg 鱼体重。

5. 毒性试验

(1) 急性毒性试验 试验梭鱼暂养 3 d 后随机分成 6 个试验组,每组 10 尾。用氟哌酸剂量比为 1.2:1,以 0.04 mL/g 鱼体重进行腹腔注射,并设空白对照,注射后观察鱼的中毒症状,并记录 48 h 内的死亡数,计算半致死量 LD_{50} 及 LD_{50} 的 95% 的可信限,试验药物的安全剂量范围。

(2) 微核试验 (艾晓辉等,1997) 将梭鱼随机分成两组,每组 10 尾,口灌氟哌酸,给药剂量选择实际治疗剂量和 1.7 倍治疗量 (约等于安全剂量) 进行试验,另设 10 尾作为空白对照。灌药前后,将对照组的 10 尾梭鱼取样,灌药后第 72 h,144 h,288 h 各取 5 尾,断尾取血,甲醇原液固定 5—10 min,风干,然后 Giemsa 染色 15 min,水洗风干后镜检。镜检时,每条鱼的血涂片记录 5000 个红细胞中出现微核的细胞数,以 % 表示,然后取平均值。通过检测微核出现率可间接反应染色体畸变发生率的高低,从而判断氟哌酸是否具有致突变作用。

6. 池塘治疗试验

将氟哌酸、鱼血散、磺胺 + TMP 和氯霉素 4 种药物各自作为一个实验组,每组设 600 m² 的池塘各 2 个,每个池塘放养患病梭鱼 (体表和鳍斑状充血) 600 尾,对其进行药物防治对比实验。先将各种药物分别用面粉作载体混合稀释,然后与饲料原料混合均匀,加工成 4 mm 的软颗粒饲料,按 25 mg 药量/kg 鱼体重,直接投喂给患病梭鱼,连用 10 d,比较所用药物疗效。试验鱼平均体重 127 g,水温 21.3—22.5 ℃,pH7.5。

二、试验结果

1. 鱼体外抑菌结果

各种药物对嗜水气单胞菌的抑菌效果见表 1。从表 1 中可以看出,抑菌效果由高到低的次序是:氟哌酸 > 氯霉素 > 鱼血散 > 磺胺 + TMP > 庆大霉素 > 呋喃唑酮 > 新诺明 > 新霉素 > 土霉素 > 呋喃丙胺 > 青霉素 > 红霉素。从药物的抑菌效果、物理特性和价格等方面进行全面衡量,我们认为作为预防和治疗药物应该首选氟哌酸和鱼血散两种。

表 1 各种药物对嗜气单胞菌的抑菌结果

药物名称	氟哌酸	青霉素	呋喃唑酮	氯霉素	鱼血散	磺胺 + TMP
抑菌圈 (mm)	41	16	29	39	36	35
药物名称	土霉素	红霉素	庆大霉素	新诺明	新霉素	呋喃丙胺
抑菌圈 (mm)	20	15	32	25	22	19

2. 鱼体内抗菌结果

我们选用氟哌酸进行了鱼体内抗菌试验（表2）。由表2可知，氟哌酸在15—30 mg/kg 鱼体重范围内，无论是用于预防或是治疗梭鱼出血性败血病均有较好的效果，防治有效率达到80%以上。

表2 氟哌酸对梭鱼的体内抗菌试验结果

给药方式		组别	鱼数 /尾	剂量 /mg·kg ⁻¹	发病死亡数 /尾	有效率 /%
预防	腹注	实验 1 组	10	15	1	90
		实验 2 组	10	25	0	100
	口灌	实验 1 组	10	15	1	90
		实验 2 组	10	25	0	100
治疗	腹注	实验 1 组	10	20	1	90
		实验 2 组	10	30	0	100
	口灌	实验 1 组	10	20	2	80
		实验 2 组	10	30	0	100
对照		接菌	10	—	10	—
		空白	10	—	0	—

3. 毒性试验结果

（1）急性毒性试验结果 氟哌酸8个浓度梯度的试验结果（见表3）。高浓度组在注射氟哌酸2 h即出现死亡，其他各组随着浓度的降低死亡时间依次推迟，死亡前梭鱼呼吸频率加快，以后逐渐减慢，最后嘴张得大而圆。解剖可见鱼体的肝肾肿大，48 h各组的死亡鱼数量见表3。并根据孙氏综合计算法计算出半致死量：

$$LD_{50} = 514.6$$

$$LD_{50} \text{ 的 } 95\% \text{ 的可信限是 } 426.2—630.4$$

$$\text{安全剂量} = LD_{50} \times \text{应用系数} = 514.6 \times 0.1 = 51.46$$

从半致死量可知，氟哌酸属低毒药物，其实际治疗量在安全剂量范围之内，因此，使用氟哌酸15—30 mg/kg 鱼体重的剂量来防治梭鱼出血性败血病是安全的。

表3 氟哌酸对梭鱼的急性毒性试验结果

药物剂量/mg·kg ⁻¹	受试鱼数/尾	死亡鱼数/尾	死亡率/%
1450	10	10	100
1220	10	10	100
1010	10	8	80
810	10	7	70
620	10	6	60
510	10	5	50
390	10	3	30
300	10	1	10
0	10	0	0

(2) 微核试验结果 梭鱼微核试验结果 (见表 4), 由表 4 可知, 试验组梭鱼红细胞微核率与对照组相比无明显增多, 即使给药时间延长, 其微核率也无明显变化。试验结果表明, 氟哌酸诱发梭鱼红细胞微核率不明显, 由此可以初步认为, 氟哌酸对梭鱼不会产生远期的诱变效应, 将其作为鱼用药物无潜在危害性。

表 4 氟哌酸诱发梭鱼红细胞微核率结果

氟哌酸 灌药时间/h	红细胞微核率/‰		
	对照组	30/mg·kg ⁻¹	50/mg·kg ⁻¹
0	0.41	—	—
72	—	0.35	0.29
144	—	0.46	0.50
288	—	0.43	0.42

4. 池塘药物治疗试验结果

4 种药物对养殖池患出血性败血病梭鱼进行的治疗结果见表 5。由表 5 可以看出, 氟哌酸、鱼血散、氯霉素和磺胺 + TMP 对梭鱼出血性败血病都具有较好的治疗效果, 且前两种药物比后两种药物疗效更为显著。氟哌酸和鱼血散组的患病梭鱼成活率各为 89.5% 和 85.7%, 比氯霉素和磺胺 + TMP 组高出 10% 以上, 与对照组的 47.5% 相比, 氟哌酸和鱼血散分别比对照组高出了 42% 和 38.3%。

表 5 4 种药物对池塘患病梭鱼的治疗效果

池号	药物名称	剂量/ $\times 10^{-6}$	受试鱼数/尾	死亡鱼数/尾	成活率/%
1	氟哌酸	20	600	72	88.0
2	氯霉素	20	600	149	75.2
3	鱼血散	20	600	94	84.3
4	磺胺 + TMP	20	600	183	69.5
5	对照	0	600	315	47.5

三、结论与讨论

1. 梭鱼出血性败血病的病原对氟哌酸、氯霉素、鱼血散和磺胺 + TMP 等高度敏感, 是防治该病的首选药物, 但该病原对很多药物不敏感或敏感性极差。我们在预实验中发现, 对某些药物 (如漂白精等) 甚至会产生惊人的抵抗性, 这种高度耐药性可能与养殖场的过量用药和滥用药物有关, 应引起高度重视。

2. 出血性败血病的病原菌在梭鱼的血液、肝、肾等组织中都存在, 病情有的呈急性, 来势凶猛, 暴发性死亡, 这就要求所选的药物口服后吸收良好, 且速度快, 便于药物迅速作用于组织。研究表明, 氟哌酸在 15—25 mg/kg 鱼体重和 20—30 mg/kg 剂量下分别用梭鱼出血性败血病的预防和治疗, 其防治有效率均达到 80% 以上, 可以说疗效

显著。

3. 水产养殖必须贯彻“防重于治”的方针，平时对养殖池应进行定期消毒，防病于未然。一旦发病，应采用内服和外用相结合的方法，及时治疗。否则，再敏感的药物也难以挽救“重病”者。

参 考 文 献

- 艾晓辉等，1997，淡水养殖鱼类细菌性败血病药物防治研究，中国水产科学，4（3）：54—61。
郑钧镛等，1989，药品微生物学及检验技术，人民卫生出版社，353。
徐叔云等，1982，药理实验方法学，人民卫生出版社，1063—1098。
梁德海等，2000，梭鱼出血性败血病病原菌研究，海洋科学集刊，42：81—85。

STUDY ON PREVENTION AND CONTROL OF HEMORRHAGIC SEPTICEMIA IN MUGIL SO-IUY BASILEWSKY BY DRUG ADMINISTRATION*

Liang Dehai, Wang Xincheng, Peng Shujie

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

Wang Wenxin, Song Qingyun

(The First Institute of Oceanology, State Oceanic Administration)

ABSTRACT

12 Kinds of fisheries druges were tested to see the sonsitirity of the strain of hemorrhagic septicemia in Mugil So-iuy Basilewsky. The results showed that the effioiency of some kinds, such as norfloracin, chloramphenicol and MZ + TMP. Were much stronger than thoes of oth-ers, the effioiency rates that 15—25 mg/kg and 20—30 mg/kg of norfloxacin separately prerented and controled the hemorrhhatgic septicemia in *Mugic So-iuy*, Basilewsky. Were all more than 80%, Norfloxacin's LD₅₀ was 514.6 mg/kg in *Mugil So-iuy*, Basilewsky, The micronucleus test showed that norfloxiacin didn't sharply cause the micronucleus rate of red celles The effioiency rate of nerfloxacin's controlling this disease was 89.5% and higher 42% on the testing pond than that of the control group of 47.5%.

* Contribution No. 3768 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.