

消毒劑對虱目魚紅斑病之藥浴效果

林清龍·吳慶麗·丁雲源

Effects of Benilin-50 and DISINFECTANT by Medicated Bath on the Red Spot Disease (Vibriosis) of Milkfish (*Chanos chanos*)

Ching-Long Lin, Chin-Lii Wu and Yun-Yuan Ting

The LC_{50} (Medium Lethal Concentration) values for milkfish, the Phenol coefficient for *Vibrio anguillarum* bacteria, the protection effects for artificially infected (by immersion and by injection) vibriosis in milkfish of two quarter ammonia disinfectants: Benilin-50 and DISINFECTANT and the comparison with San-0-Fec-50 were studied. The results were summarized as follows:

1. The LC_{50} (48 hrs.) values of Benilin-50, DISINFECTANT and San-0-Fec-50 were 3.63ppm, 15ppm and 11ppm as the orders.
2. The Phenol coefficient for Benilin-50, DISINFECTANT and San-0-Fec-50 on *Vibrio anguillarum* were 150, 230 and 210 as the orders.
3. The Synthetic results of the therapeutic effects on two kinds artificially infected vibriosis, DISINFECTANT had the same good results with San-0-Fec-50, but Benilin-50 was had. The therapeutic rates were DISINFECTANT: 57.5% in immersion group, 20% in injection group; San-0-Fec-50: 60% in immersion group, 10% in injection group; Benilin-50: 22.5% in immersion group; 0% in injection group.

前 言

對虱目魚紅斑病 (*Vibrio anguillarum*) 之治療，筆者經過多年的研究。得知消毒劑對治療紅斑病在實驗室內及田間試驗均具療效 (Lin, 1981⁽¹⁾、1983⁽²⁾、1985⁽³⁾)，且消毒劑又以 4 級銨類消毒劑較其他種類消毒劑效果較顯著。但市面上所出售之 4 級銨類消毒劑之種類繁多，故今年選擇兩種來做探討，比較 (Benilin-50, DISINFECTANT)。尋求更多種 4 級銨類對虱目魚紅斑病的治療效果的資料，以求經濟有效的來控制虱目魚紅斑病，期提高養成收益，嘉惠漁民。

材料與方法

一藥品的選購：

尋找市面上銷售量較多的四級銨類消毒劑：共取得 Benilin-50 (含 N-Alkyl Dimethyl Benzalkonium chloride 50%)，DISINFECTANT (含 Alkyl Aryl Trimethyl Ammonium chloride 50%) 等兩種。

二藥劑對 Milkfish (*Chanos Chanos*) 的 LC_{50} (48 小時)：

將體長 5.5 - 6.0 公分，平均體重 1.27 g 的虱目魚經兩天的馴養適應後，先做預備試驗，求出大概之上限 (百分之百致死濃度) 與下限 (百分之百活存濃度)。預備試驗時每一濃度使用二尾虱目魚。之後，在此段之間再以更小的稀釋階段進入本試驗。在 24ℓ 的白色塑膠長方形桶內，放入泡好各濃度的藥稀釋液 4 ℓ，每桶放入 10 尾，記錄 24 hrs. 及 48 hrs. 之活存尾數。根據 Doudorff (1953)⁽⁴⁾ 及 Rand (1976) 之 Stand Method⁽⁵⁾ 求出 24 hrs. 及 48 hrs. 之 LC_{50} (Medium Lethal Concentration)。一般來說 LC_{50} 值是水產藥物的安全指標，大約為 LC_{50} (48 hrs.) 值的 0.1 倍。

三藥劑對 *Vibrio anguillarum* 的石碳酸係數 (Phenol Coefficient)：

以 *Vibrio anguillarum* (Strain: 750227-k) 為供試菌，以 TSB (2% NaCl) 為培養液，將石碳酸與各種消毒劑以無菌蒸餾水配成所需之藥濃度，所有的操作過程均在 Laminar flow 中無菌下操作。先以較大的稀釋液進行第一次測定，找出大概的數目後，第二次再做詳細的稀釋。以 5 分鐘內菌不死，而 10 分鐘內菌會死的消毒藥最大稀釋倍數與同樣之石碳酸之最大稀釋倍數之比，即為石碳酸係數。

四藥劑在實驗室內的治療效果：

由 (一)、(二) 的結果決定出治療試驗的藥劑濃度。

(一) Challenged by Immersion：虱目魚平均體重 4.0 g，平均體長 7.1 cm，每 20 尾為一組，二重複、共三組。以 *Vibrio anguillarum* (Strain: 750227-k) 4.03×10^8 cells/c.c. 之菌濃度於 15°C 下，攻擊 30 分鐘。在攻擊時並加以打氣。在此條件下致虱目魚死亡之百分率應在約 90% (Song 1980)⁽⁶⁾。攻擊後的魚放在內已置有泡好的藥劑濃度 10 ℓ 水量的 40 ℓ 容積之玻璃缸中，該浸泡藥劑濃度之決定依 (二) 之安全濃度。觀察兩天之治療效果，治療期間給予打氣，不投餌、不換水。以海水不加任何藥劑的做為對照組。死亡魚再從腎臟中分離與鑑定細菌，以確定其死於 Vibriosis。

(二) Challenged by injection：虱目魚體重 15 ~ 20 g，體長 12 ~ 14 cm，每 10 尾一組，二重複，共三組，每尾魚經由腹鰭 (Pelvic Fin) 下部位注射 0.1 c.c. 的 *Vibrio anguillarum* 菌液 (Strain: 750227-k)，而菌量為 4 mg/100 g (菌重量/魚體重)。依此條件，對照組應在二天之內會死亡，注射完之魚放入內置有已泡好濃度的藥劑溶液 10 ℓ 水量之玻璃缸 (40 ℓ) 中，其劑量與 A 之劑量相同，治療期間亦如 A 之處理、觀察兩天之治療效果。以不含任何藥物的海水為對照組 (Control)、若以注射 0.1 c.c. 的生理食鹽水至虱目魚，且蓄養水不加任何藥物的一組做為 "Negative control"。

結果與討論

一藥劑對虱目魚之安全濃度 (LC_{50})：

結果由表 1 所示，在水溫 25.5°C ~ 28.5°C 下，水的 pH 值為 8.1，鹽度 28‰ 的情況下，此二種藥劑的 LC_{50} 24 hrs. 與 LC_{50} 48 hrs. 分別為：Benilin-50 24 hrs. 與 48 hrs. 均為 3.63 ppm，DISINFECTANT 24 hrs. 為 16.3 ppm，48 hrs. 為 15 ppm，由此可知此二種藥劑對虱目魚的安全濃度以 DISINFECTANT 的安全性較高為 1.5 ppm，而 Benilin-50 較低為 0.363 ppm。

表 1 三種四級銨類消毒劑對於虱目魚的 24 小時及 48 小時的 LC_{50}
 Table 1 A comparison of 24 hrs. and 48 hrs. LC_{50} (Median Lethal Concentration) values of three quarter ammonia disinfectants for milkfish* (*Chanos chanos*).

Drugs	LC_{50} 24hrs. (ppm)	LC_{50} 48hrs.(ppm)
Benilin-50	3.63	3.63
DISINFECTANT	16.30	15.00
San-O-Fec-50	11.40	11.00

* Average body weight: 1.27g; body length: 5.5-6.0 cm

** Water temperature : 25.5°C - 28.5°C; pH: 8.1; Salinity: 28‰.

二藥劑對 *Vibrio anguillarum* 之抑制效果 (In Vitro test) :

由表 2 可知 DISINFECTANT 的殺菌力最強，石碳酸係數 (Phenol coefficient) 為 230，高於 San-O-Fec-50。而 Benilin-50 最低，石碳酸係數為 150

表 2 三種四級銨類消毒劑對於 *Vibrio anguillarum* 在含 0.5% 食鹽的 T S B 培養基， 20 ± 0.1 °C 18 小時的培養下的石碳酸係數

Table 2 A comparison of Phenol coefficient of three quarter ammonia disinfectants for *Vibrio anguillarum* bacteria was incubated in TSB (0.5% NaCl) at 20 ± 0.1 °C for 18 hrs.

Drugs	Phenol coefficient
Benilin-50	150
DISINFECTANT	230
San-O-Fec-50	210

三藥劑在實驗室內之治療效果 (In Vivo test) :

由表 3 及表 4 之二種不同感染方式的治療效果，可看出 DISINFECTANT 的療效與 San-O-Fec-50 的療效大致相同，而前者似略優於後者。Benilin-50 最差，三者的活療率 DISINFECTANT : 57.5% (浸泡組)，20% (注射組)；San-O-Fec-50 : 浸泡組 60%，注射組 10%；Benilin-50 : 浸泡組 22.5%，注射組 0%，由上之資料顯示出 DISINFECTANT 的安全性高的療效與 San-O-Fec-50 在伯仲之間，此可說是新發現有效且又安全的虱目魚紅斑病治療劑，然其藥劑量為 San-O-Fec-50 的 3 倍，在經濟方面則劣於後者，San-O-Fec-50，至於田間防治的

表3 三種四級銨類消毒劑對以浸泡感染紅斑菌的虱目魚的藥浴效果

Table 3 Bathing effect of three quarter ammonia disinfectants on *Vibrio anguillarum* (Strain : 750227-K) infected by immersion* in milkfish** (*Chanos chanos*).

Drugs	Day after infection					
	0			1		
	0	1	2	0	1	2
	(A)			(B)		
Benilin-50	15***	6	3	18	16	6
DISINFECTANT	15	14	9	20	19	14
San-0-Fec-50	15	12	10	18	18	14
Control	14	11	0	17	15	0

* Immersed in bacteria concentration 40.3×10^8 cells/c.c. at 15°C , 30 min.

** Test fish number: 20 ; average body weight: 4.0 g ; body length: 7.1 cm.

*** Survival number

**** Water temperature in test period: 28.7°C - 29.5°C ; pH: 8.21 ; Salinity: 31‰.

表4 三種四級銨類消毒劑對以注射方式感染紅斑菌的虱目魚的藥浴效果

Table 4 Bathing effect of three quarter ammonia disinfectants (Strain: 750227-K) infected by injection* in milkfish** (*Chanos chanos*).

Drugs	Day after infection		
	0	1	2
Benilin-50	6***	0	0
DISINFECTANT	6	3	2
San-0-Fec-50	6	2	1
Contral	6	2	10
Negative control	10	10	10

* Bacteria concentration: 4mg/100g (Bacteria weight/Fish body weight).

** Test fish number: 10 ; average body weight: 15-20g; body length: 12-14cm.

*** Survival number.

**** Water temperature in test period: 26 - 28.5°C .

結果則有待來年的實施。

摘 要

以二種四級銨類消毒劑：Benilin-50, DISINFECTANT 來探討其對虱目魚的 LC_{50} 值及對虱目魚紅斑病原菌 *Vibrio anguillarum* 之石碳酸係數，並探討對於不同感染方式的虱目魚在試驗室的治療效果，並與 San-0-Fec-50 消毒劑做比較。其結果如下：

一三種消毒劑對於虱目魚之 LC_{50} (48 hrs.) 值：Benilin-50 3.63ppm, DISINFECTANT 15 ppm, San-0-Fec-50 11 ppm。

二三種消毒劑對於 *V. anguillarum* 之石碳酸係數為：Benilin-50 150, DISINFECTANT 230, San-0-Fec-50 210。

三綜合二種不同感染方式的治療效果，DISINFECTANT 與 San-0-Fec-50 的效果在伯仲之間，Benilin-50 的效果最差。其治癒率 DISINFECTANT：57.5% (浸泡組)，20% (注射組)；San-0-Fec-50：60% (浸泡組)，10% (注射組)；Benilin-50：22.5% (浸泡組)，0% (注射組)。

謝 辭

本研究悉由省府研究補助計畫編號 75-03-13(3) 魚病防治研究所補助，方得以完成，在此深表謝意。

參考文獻

1. Lin, C. L., Lin, M.N. and Ting, Y. Y., (1981). The studies on the Prevention and Treatment of Red Spot Disease (vibriosis) in the milkfish (*Chanos chanos*). Bull, Tai, Fish. Res. Insti., **33**, 626-636.
2. Lin, C. L., and Ting, Y. Y., 1983. Effect of Chemotherapeutic Agents by Medicated Bath on the Red Spot Disease (vibriosis) of milkfish (*Chanos chanos*). C.A.P.D., Fisheries Series No. 9, Fish Disease Research (V): 51-61.
3. Lin, C. L., Ting, Y.Y., and Wu, C. L. (1985). Effects of Quarter Ammonia Disinfectants by Medicated Bath on the Red Spot Disease (Vibriosis) of Milkfish (*Chanos chanos*) in Publishing. Bull, Tai. Fish. Res. Insti.
4. Doudorff, P. and Katz, M., (1953). Critical Rewiew of Literature on the Toxicity of Industrial Wastes and their Components to fish, *ibid.* 25: 802-839.
5. Rand, M. C., Greenberg, A.E. and Taras, M.J. (1976). Calculating and Reporting Results of Bioassays, in "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water": 731-740.
6. Song, Y.L., Chen, S.N., Kou, G. H., Lin, C. L. and Ting, Y. Y., 1980. Evaluation of HIVAX *Vibrio anguillarum* Bacterin in the Vaccination of Milkfish (*Chanos chanos*) Fingerlings, C.A.P.D., Fish. Seri. No. 3 Fish Disease Research (III): 101-108.