(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101842012 A
(43)申请公布日 2010.09.22

(21)申请号 200880113776.7

(22)申请日 2008.10.29

(30)优先权数据
2007-279789 2007.10.29 JP

(85)PCT申请进入国家阶段日
2010.04.28

(86)PCT申请的申请数据
PCT/JP2008/069673 2008.10.29

(87)PCT申请的公布数据
WO2009/057653 JA 2009.05.07

(71)申请人 日本水产株式会社
地址 日本东京都

(72)发明人 河野文美 平泽德高

(74)专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司 11243
代理人 钟晶

(51)Int.Cl.
A01N 43/80(2006.01)
A01K 61/00(2006.01)
A01N 43/54(2006.01)
A01N 43/824(2006.01)
A01N 43/90(2006.01)
A01P 5/00(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 18 页 附图 9 页

(54)发明名称

鱼类寄生虫驱除剂及鱼类寄生虫驱除方法

(57)摘要

本发明提供一种含有叶酸合成抑制剂和/或叶酸活化抑制剂作为有效成分的鱼类寄生虫驱除剂。优选叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂，作为叶酸合成抑制剂优选磺胺剂。作为叶酸活化抑制剂可以使用二氢叶酸还原酶抑制剂、叶酸拮抗剂等。该寄生虫驱除剂可以通过口服给药来驱除鱼类的寄生虫。在鱼类寄生虫中对属于纤毛虫的寄生虫特别有效。

CN 101842012 A

1. 一种鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，含有叶酸合成抑制剂和 / 或叶酸活化抑制剂作为有效成分。

2. 根据权利要求 1 所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，是叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，叶酸合成抑制剂为磺胺剂。

4. 根据权利要求 3 所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述磺胺剂是磺胺甲基异噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺异噁唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺异唑、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

5. 根据权利要求 1 至 4 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述叶酸活化抑制剂为二氢叶酸还原酶抑制剂。

6. 根据权利要求 1 至 4 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述叶酸活化抑制剂为嘧啶甲胺、甲氧苄氨嘧啶、奥美普林、甲氨蝶呤、二甲叶酸、蝶罗呤、氨基蝶呤、依达曲沙、吡曲克辛、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

7. 根据权利要求 1 至 6 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界的寄生虫。

8. 根据权利要求 7 所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界纤毛虫门的寄生虫。

9. 根据权利要求 8 所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述寄生虫为白点虫。

10. 根据权利要求 1 至 9 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述鱼类是鲈形目、鲽形目、鲱形目、鲀形目、鲤形目、鳗鲡目或鲇形目的鱼类。

11. 一种鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，用叶酸合成抑制剂和 / 或叶酸活化抑制剂对鱼类进行给药。

12. 根据权利要求 11 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，用叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂进行给药。

13. 根据权利要求 11 或 12 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述叶酸合成抑制剂为磺胺剂。

14. 根据权利要求 13 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述磺胺剂是磺胺甲基异噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺异噁唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺异唑、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

15. 根据权利要求 11 至 14 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述叶酸活化抑制剂为二氢叶酸还原酶抑制剂。

16. 根据权利要求 11 至 14 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述叶酸活化抑制剂为嘧啶甲胺、甲氧苄氨嘧啶、奥美普林、甲氨蝶呤、二甲叶酸、蝶罗呤、氨基蝶呤、依达曲沙、吡曲克辛、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

17. 根据权利要求 11 至 16 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其特征在于，所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界的寄生虫。

18. 根据权利要求 17 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界纤毛虫门的寄生虫。

19. 根据权利要求 18 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述寄生虫为白点虫。

20. 根据权利要求 11 至 19 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，所述鱼类是鲈形目、鲽形目、鲱形目、鲀形目、鲤形目、鳗鲡目或鲇形目的鱼类。

21. 根据权利要求 11 至 20 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征在于，根据鱼的体重，以 1 ～ 1000mg/kg 口服给药叶酸合成抑制剂和 / 或叶酸活化抑制剂。

鱼类寄生虫驱除剂及鱼类寄生虫驱除方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种鱼类寄生虫的驱除剂及驱除方法。更详细的涉及将叶酸合成抑制剂和/或叶酸活化抑制剂作为有效成分的鱼类寄生虫的驱除剂。尤其涉及寄生在养殖鱼中而成为问题的鱼类寄生虫的驱除剂以及驱除方法。

背景技术

[0002] 由于在海面养殖中寄生虫病妨碍稳定的生产，所以是非常大的问题。属于原生动物亚界纤毛虫门的海水白点虫Cryptocaryon irritans寄生在海水鱼中而引起白点病。作为其结果，寄生鱼会衰弱至死。近年，海水白点虫养殖鱼的的寄生在日本养殖业中成为了深刻的问题。目前报道了海水白点虫寄生在比目鱼Paralichthys olivaceus、杜氏鰤Seriola dumerili、五条鰤Seriola quinqueradiata、真鲷Pagurs major、红鳍东方鲀Takifugu rubripes。白点虫有海水白点虫和淡水白点虫Ichthyophthitius multifiliis。海水白点虫的生活史和引起淡水鱼白点虫病的淡水白点虫的生活史类似，重复进行以下生命周期：寄生在鱼体内且使宿主至死的营养体（成虫），从鱼体脱离到海水中的原分裂前体，原分裂前体沉降并附着在水底等处而停止活动的分裂前体（也称作包囊、耐性卵），从分裂前体再次放出并寻找成为寄生宿主的鱼的在水中浮游的掠食体（幼虫）的阶段。营养体寄生在鱼的表皮和腮的上皮组织，从宿主的组织摄取营养，并长到用眼睛能看得见的大小。

[0003] 掠食体对药物比较弱，可以比较容易地杀死，寿命也短。帚体（phoront，寄生后的幼虫）进入到鱼体表的真皮附近的表皮层而成为成虫（营养体），所以难以将它们从鱼的体表的外侧用药物驱除。包囊也有外壳包裹，用药物难以驱除。因此，为了驱除白点虫，需要定期重复进行药浴，驱除没有进入体表的真皮层的掠食体或营养体来减少白点虫的数量，最终切断增殖循环。尽管采用这种花费时间进行驱除的方法，但还是存在抑制不了鱼的毙死受害的情况。

[0004] 作为口服给药制剂，对于真鲷的白点病，氯化溶菌酶作为水产用药品被认可。另外，乳铁蛋白也作为水产用添加剂而市售（专利文献1）。据报道，如果将乳铁蛋白按40mg/kg鱼体重/天的比例口服给药，则在28天的实验期间，没有发现感染，与此相对，给与无添加饲料的鱼死亡了大半。目前认为氯化溶菌酶或乳铁蛋白的作用机理是提高宿主鱼的非特异性机体防御功能，其效果有限（非专利文献1）。期待通过口服给药就能够直接驱除寄生虫的寄生虫药。

[0005] 已知磺胺剂是具有磺胺基的抗菌剂，并已知机制是抑制细菌的叶酸合成。另外，作为与磺胺剂同样地通过与叶酸相关的机制显示抗菌作用的药剂有：作为叶酸代谢拮抗剂已知的甲氧苄氨嘧啶、奥美普林等。甲氨蝶呤、氨基蝶呤是叶酸的衍生物，分别作为抗癌剂、灭鼠剂使用。

[0006] 磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶与奥美普林的配合剂是所谓的抗菌、抗生素的类别，作为水产用药品而被认可。磺胺剂原本是抗菌剂，已知对人的疟疾，或者作为动物用药品对动物或者鸡球虫病等有效（专利文献2）。

[0007] 专利文献 1 :日本特开平 9-301807 号

[0008] 专利文献 2 :日本特公昭 51-16346 号

[0009] 非专利文献 1 :小川和夫 (2004) :原虫症 . 魚介類の感染症 • 寄生虫 (若林久嗣 • 室贺清邦 編),恒星社厚生阁,pp.285-320。

[0010] 非专利文献 2 :Dickerson,H.W.,Dawe,D.L.(1995)Ichthyophthiriusmultifiliis and Cryptocaryon irritans(Phylum Ciliophora).In :Woo,P.T.K.(Ed),Fish Diseases and Disorders.Protozoan and Metazoan Infection,vol.1,CABInternational,UK,pp.181-227.

发明内容

[0011] 发明要解决的问题

[0012] 本发明的课题是提供一种鱼类寄生虫的驱除剂,特别是白点虫的驱除剂。

[0013] 解决问题的手段

[0014] 本发明人等为了获得作为鱼类的寄生虫驱除剂而有效的物质,对广泛范围的化合物反复进行了研究。虽然研究了很多作为动物用的寄生虫药已知的物质,但是由于就寄生虫而言寄生虫本身也分为很多种类,且宿主也各种各样,所以即使动物的抗寄生虫病药对动物的寄生虫病有效,但不一定对鱼类的寄生虫病也有效,一直也没有发现对白点虫有效的物质。其中,发现具有与叶酸代谢有关的机制的物质对白点虫有效,从而完成了本发明。

[0015] 本发明提供以下的 (1) ～ (10) 的寄生虫驱除剂。

[0016] (1) 一种鱼类的寄生虫驱除剂,其中,含有叶酸合成抑制剂和 / 或叶酸活化抑制剂作为有效成分。

[0017] (2) 根据 (1) 所述的寄生虫驱除剂,该寄生虫驱除剂是叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂。

[0018] (3) 根据 (1) 或 (2) 所述的寄生虫驱除剂,其中,所述叶酸合成抑制剂为磺胺剂。

[0019] (4) 根据 (3) 所述的寄生虫驱除剂,其中,所述磺胺剂是磺胺甲基异噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺异噁唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺异唑、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

[0020] (5) 根据 (1) 至 (4) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂,其中,所述叶酸活化抑制剂为二氢叶酸还原酶抑制剂。

[0021] (6) 根据 (1) 至 (4) 中的任一项所述的寄生虫驱除剂,其中,所述叶酸活化抑制剂为嘧啶甲胺、甲氧苄氨嘧啶、奥美普林、甲氨蝶呤、二甲叶酸、蝶罗呤、氨基蝶呤、依达曲沙、吡曲克辛、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

[0022] (7) 根据 (1) 至 (6) 中的任一项所述的寄生虫驱除剂,其中,所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界的寄生虫。

[0023] (8) 根据 (7) 所述的鱼类的寄生虫驱除剂,其中,所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界纤毛虫门的寄生虫。

[0024] (9) 根据 (8) 所述的鱼类的寄生虫驱除剂,其中,所述寄生虫为白点虫。

[0025] (10) 根据 (1) 至 (9) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂,其中,所述鱼类是鲈形目、鲽形目、鲱形目、鲀形目、鲤形目、鳗鲡目或鲇形目的鱼类。

[0026] 另外，本发明提供以下 (11) ～ (21) 的鱼类的寄生虫驱除方法。

[0027] (11) 一种鱼类的寄生虫驱除方法，其特征是，用叶酸合成抑制剂和 / 或叶酸活化抑制剂对所述鱼类进行给药。

[0028] (12) 根据 (11) 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其特征是，用叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂进行给药。

[0029] (13) 根据 (11) 或 (12) 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述叶酸合成抑制剂为磺胺剂。

[0030] (14) 根据 (13) 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述磺胺剂是磺胺甲基异噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺异噁唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺异唑、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

[0031] (15) 根据 (11) 至 (14) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述叶酸活化抑制剂为二氢叶酸还原酶抑制剂。

[0032] (16) 根据 (11) 至 (14) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述叶酸活化抑制剂为嘧啶甲胺、甲氧苄氨嘧啶、奥美普林、甲氨蝶呤、二甲叶酸、蝶罗呤、氨基蝶呤、依达曲沙、吡曲克辛、以及它们的药学上可接受的盐中的任意一种。

[0033] (17) 根据 (11) 至 (16) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其中，所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界的寄生虫。

[0034] (18) 根据 (17) 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述寄生虫是属于鱼类原生动物亚界纤毛虫门的寄生虫。

[0035] (19) 根据 (18) 所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述寄生虫为白点虫。

[0036] (20) 根据 (11) 至 (19) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除方法，其中，所述鱼类是鲈形目、鲽形目、鲱形目、鲀形目、鲤形目、鳗鲡目或鲇形目的鱼类。

[0037] (21) 根据 (11) 至 (20) 中的任一项所述的鱼类的寄生虫驱除剂，其中，根据鱼的体重，以 1 ～ 1000mg/kg 口服给药叶酸合成抑制剂和 / 或叶酸活化抑制剂。

[0038] 发明效果

[0039] 通过本发明的鱼类寄生虫驱除剂，可以驱除鱼类的寄生虫特别是属于纤毛虫的寄生虫。特别是对在养殖界成为问题的白点虫有效。本发明的白点虫驱除剂可以口服给药，特别是可以通过与饲料进行混合后喂食的方法给药，对于寄生在鱼体的寄生虫也能发挥生长抑制效果或者杀虫效果。

附图说明

[0040] 图 1 是将实施例 1 的结果用对照区的寄生数作为 1 时的各区的寄生数表示的图。

[0041] 图 2 是在实施例 2 中寄生在暴露 3 天后的各区真鲷腮中的白点虫照片。细长的是鳃，附着在上面的呈黑色圆形至椭圆形的是白点虫。图中，(a) 为喂食无药剂添加饲料的对照区；(b) 是将磺胺间二甲氧嘧啶按 216mg/kg 鱼体重 / 天和甲氧苄氨嘧啶按 24mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区；(c) 是将磺胺甲基异噁唑按 429mg/kg 鱼体重 / 天和甲氧苄氨嘧啶按 86mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区。

[0042] 图 3 是表示实施例 2 的结果，显示了暴露 3 天后的寄生虫长度的比较。在图 3 中，* 表示 $P < 0.01$。

[0043] 图4是表示实施例3和4的各区寄生虫的生长率的图。比较了将对照区作为100时的白点虫的大小。各区测定的白点虫数均为60个体。在图4中，最左侧的棒状图(control：对照区）表示没有投药时的结果，从左起第2～8个棒状图分别表示将叶酸合成抑制剂(SDMX，SMXZ，SMMX，SMDN，SID，SMZ以及SIZ)按300mg/kg鱼体重/天给药3天后的结果，从左起第9～12个棒状图分别表示将叶酸活化抑制剂(MTX，PRY，TMP以及PMD)按60mg/kg鱼体重/天给药3天后的结果，最右侧的棒状图(SDMX+TMP)表示将叶酸合成抑制剂SDMX按216mg/kg鱼体重/天和叶酸活化抑制剂TMP按24mg/kg鱼体重/天给药3天后的结果。全部的区与对照区比较均有显著性差异($P \leqslant 0.01$).

[0044] 图5是表示实施例5的试验概要的图。

[0045] 图6中，(a)是表示实施例5的暴露第3天的对照区2的寄生数的图；(b)是表示实施例5的暴露第5天的各区的寄生数进行比较的图。

[0046] 图7是表示实施例5的各区的(a)包囊数和(b)包囊大小进行比较的图。(a)表示暴露5天后、9天后的各区的包囊数。在(a)中，白色棒状图（□）表示暴露5天后的结果，黑色棒状（■）表示暴露9天后的结果。(b)表示暴露5天后的各区的包囊长度。在(a)和(b)中，*表示$P < 0.01$。

[0047] 图8是表示实施例5的各区的毙死数进行比较的图。

[0048] 图9中，(a)是表示实施例6的无投药区暴露3天后的对照区2的寄生数的图；(b)是表示实施例6的暴露5天后的各区的包囊长度进行比较的图。在(a)和(b)中，*表示$P < 0.01$。

[0049] 图10是表示实施例6的各区毙死数进行比较的图。

[0050] 图11是表示实施例7的暴露3天后的对照区2的寄生数的图。

[0051] 图12中，(a)是表示实施例7的各区暴露5天后的平均寄生数的图；(b)是表示实施例7的各区的暴露5天后的平均寄生虫长度的图。在(b)中，*表示$P < 0.05$。

[0052] 图13是表示实施例7的暴露后的各区寄生数的变化的图。

[0053] 图14是表示实施例7的各区毙死数进行比较的图。

[0054] 图15中，(a)是表示实施例8的暴露3天后的各区红鳍东方鲀的白点虫寄生数（平均寄生数）进行比较的图；(b)是表示实施例8的寄生在暴露3天后的各区红鳍东方鲀中的白点虫的寄生虫长度（平均寄生虫长度）进行比较的图。在(b)中，*表示$P < 0.01$。

[0055] 图16中，(a)是表示实施例9的暴露3天后的各区比目鱼的白点虫寄生数（平均寄生数）进行比较的图；(b)是表示实施例9的寄生在暴露3天后的各区比目鱼中的白点虫的寄生虫长度（平均寄生虫长度）进行比较的图。在(a)中，*表示$P < 0.05$，**表示$P < 0.01$。在(b)中，*表示$P < 0.01$。

[0056] 图17中，(a)是表示实施例10的暴露3天后的各区杜氏鲬的白点虫寄生数（平均寄生数）进行比较的图；(b)是表示实施例10的寄生在暴露3天后的各区杜氏鲬中的白点虫的寄生虫长度（平均寄生虫长度）进行比较的图。在(a)中，*表示$P < 0.05$；在(b)中，*表示$P < 0.01$。

[0057] 图18中，(a)是表示实施例11的暴露3天后的各区七带石斑鱼的白点虫寄生数（平均寄生数）进行比较的图；(b)是表示实施例11的寄生在暴露3天后的各区七带石斑鱼中的白点虫的寄生虫长度（平均寄生虫长度）进行比较的图。在(a)中，*表示$P < 0.05$；

在 (b) 中，* 表示 P ＜ 0.05，** 表示 P ＜ 0.01。

[0058] 图 19 是表示实施例 12 的暴露第 3 天和第 7 天的各区寄生数进行比较的图。

[0059] 图 20 是拍摄了实施例 12 的暴露第 9 天的受试鱼（黑龙睛金鱼 (Carassiusauratus auratus)）的淡水白点虫寄生状况的图。(a) 表示对照区的感染第 9 天的状况。在受试鱼的体表能看见无数的白点虫。(b) 表示将 AMMX+OMP 的配合剂进行给药的区的感染第 9 天的状况。与对照区比较几乎看不到白点虫。

具体实施方式

[0060] 在本发明中鱼类包括海产鱼、淡水鱼的任意鱼种。从实用上是需要驱除寄生虫的、作为养殖鱼或者观赏鱼而对待的鱼种。其中在产业上特别重要的是养殖鱼，例如鲀形目鲀形科的红鳍东方鲀、鲈形目鲳科的石斑鱼、鲈形目丽鱼科的罗非鱼、鲇形目鲇形科或者鲤形目鲇形科的鲇鱼等已知会寄生白点虫等鱼类寄生虫的鱼种，或者存在寄生鱼类寄生虫的可能性的鱼种，可以将本发明的药剂用作预防或者治疗。

[0061] 成为本发明的对象的鱼种包括生活在淡水或海水中的全部年龄的养殖鱼、水族馆或者商业的观赏鱼。特别是作为已知会寄生白点虫等的鱼种，养殖鱼为鲈形目、鲽形目、鲱形目、鲀形目、鲤形目、鳗鲡目、鲇形目、鼠鳐目的鱼类等，是五条鰤类、石斑鱼类、鲷类、比目鱼类、鲑鱼类、鲀鱼类、鲤鱼类、鳗鱼类、鲇鱼类的鱼。具体可以举出杜氏鰤、长鳍杜氏鰤 (Greater amberjack Seriola dumerili)、五条鰤 (hamachi)、黄尾鰤、竹夹鱼、条纹鲹、鲐鱼、鲈鱼、真鲷、条石鲷、斑石鲷、罗非鱼、军曹鱼、赤点石斑鱼、褐石斑鱼、七带石斑鱼、点带石斑鱼、驼背鲈、花斑刺鳃鮨、鞍带石斑鱼、斜带石斑鱼、褐菖鲉、北方蓝鳍金枪鱼、南方蓝鳍金枪鱼、大眼金枪鱼、黄鳍金枪鱼、长鳍金枪鱼、比目鱼、条斑星鲽、圆斑星鲽、大菱鲆、大比目鱼、虹鳟、大西洋鲑、银鲑鱼、红鲑、香鱼、红鳍东方鲀、丝背细鳞鲀、黄高鳍刺尾鱼、鲤鱼、日本鳗鲡、欧洲鳗鲡、斑点叉尾鮰、虱目鱼 (Milkfish) 等。

[0062] 本发明中的寄生虫是原虫。寄生在鱼类中的原虫类分类在鞭毛虫、纤毛虫、顶复体、微孢子虫的动物门。本发明对其中的白点虫所属的纤毛虫特别有效。具体可以举出属于纤毛虫的白点虫 (Ichthyophthirius multifiliis、Crvptocaryon irritans)、车轮虫 (Trichodina sp.)、斜管虫 (Chilodonella Sp.)、动基片纲类的布鲁克原虫 (Brooklynella hostilis)、纤毛虫（スクーチカ）(海洋尾丝虫 (Uronemamarinum)、盾纤虫 (Philasterides dicentrarchi)、贪食迈阿密虫 (Miamiensis avidus)、暗尾丝虫 (Uronema nigricans)、尾丝虫 (Uronema sp.)) 等。对海水白点虫、淡水白点虫尤其有效。

[0063] 本发明人等发现叶酸合成抑制剂、叶酸活化抑制剂等具有抑制叶酸功能的机制的药剂具有驱除鱼类寄生虫的作用。这些药剂不仅能够驱除寄生虫，还可以抑制寄生虫的生长。这表示白点虫是自己合成叶酸，并将叶酸作为其生存、生长的必须成分的原虫。将叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂进行给药的结果，确认了更加明显的生长抑制和驱虫效果。极少数的该虫变成了包囊，但是其大小与对照区相比显著地小。对这些包囊进行 12 天观察的结果，观察到孵化延迟或者包囊产生异常，处于不能正常生长的状态。因此，具有阻碍叶酸的合成或其利用的作用的药剂对驱除鱼类的寄生虫有效。

[0064] 在本发明中的叶酸合成抑制剂是作为抗菌剂已知的药物群。细菌将鸟苷作为原料经过数阶段的反应而生物合成 2- 氨基 -4- 羟基 -6- 羟基甲基二氢蝶啶焦磷酸，对其加成对

氨基苯甲酸 (PABA) 而成为二氢蝶呤酸 (DHP)。催化该反应的酶是 DHP 合成酶，以磺胺剂为代表的叶酸合成抑制剂作起到 PABA 的代谢拮抗剂的作用，抑制 DHP 的合成。其结果，导致细菌不能生物合成叶酸。四氢叶酸 (THF) 是嘌呤或胸腺嘧啶等核酸碱基或者蛋氨酸、丝氨酸、甘氨酸等氨基酸的生物合成所必需的辅酶，所以其合成如果受抑制则细菌的增殖受抑制。另一方面，以人为代表的高等动物没有 DHP 合成路线，将从外部摄取的叶酸还原而合成 THF，所以不受磺胺剂的影响。抗结核药物对氨基水杨酸或者抗麻风病药物二氨基二苯基砜也以相同的机理显示抗菌活性。磺胺剂是对以对氨基苯磺酰胺作为基本骨架，酰胺基被各种杂环取代的化合物群的总称。作为磺胺剂合成了多达数千种的化合物，但是作为用于本发明的磺胺剂是确认了对人或者动物的效果和安全性的化合物，特别是优选使用作为鱼类用抗菌剂使用的磺胺剂。作为此类磺胺剂可以举出磺胺甲基异噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺异噁唑、磺胺二甲异嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺异唑，进一步作为其它的磺胺剂可以举出磺胺二甲嘧啶 (sulfadimidine)(sulfamethazine)、磺胺喹沙啉、磺胺嘧啶 (sulfadiazine)、磺胺胍、磺胺醋酰、磺胺甲氧基哒嗪、磺胺乙氧基哒嗪、磺胺氯吡嗪、磺胺氯哒嗪、柳氮磺胺吡啶、磺胺曲沙唑、磺胺噻唑、磺胺苯酰、磺胺多辛、磺胺硝苯、氨苯磺胺、磺胺吡啶、磺胺溴甲嘧啶、磺酰氨苯砜 (sulfamoildapsone)、10- 脱氮氨基蝶呤 (pralatrexate，下一代叶酸拮抗剂) 等。

[0065] 本发明中的叶酸活化抑制剂是指叶酸合成抑制剂以外的与叶酸的代谢相关的、被称为叶酸活化抑制剂、叶酸拮抗剂、叶酸类似物等的药物。作为主要的叶酸活化抑制剂，已知的有二氢叶酸还原酶抑制剂。它是将二氢叶酸还原成活化型的四氢叶酸的酶的抑制剂。已知它们还可以作为与叶酸合成抑制剂进行组合的合剂来利用，作为抗菌剂能够显示协同效果。另外，被称为叶酸拮抗剂或者叶酸类似物的具有与叶酸类似结构、也是通过酶抑制等来抑制叶酸的活化的药物也已知。作为此类叶酸活化抑制剂，已知的有 :嘧啶甲胺、甲氧苄氨嘧啶、奥美普林、甲氨蝶呤、二甲叶酸、蝶罗呤、氨基蝶呤、依达曲沙、吡曲克辛、双氨藜芦嘧啶、喷他脒、培美曲塞 (pemetrexed)、曲美沙特等。

[0066] 本发明的寄生虫驱除剂可以通过口服给药来发挥效果。另外，还可以通过将鱼浸泡在溶解有药剂的液体中的药浴来给药或者通过注射来给药。

[0067] 对于本发明的寄生虫驱除剂的给药量，在口服给药的情况下，每 1 天对鱼体重 1kg 给 1 ～ 2000mg/g 的有效成分叶酸合成抑制剂、叶酸活化抑制剂或者所述叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的合剂，优选在 1 ～ 1000mg/kg 的范围内给药。另外，1 次的给药期间为 1 ～ 15 天较为适当。如果是作为封闭体系的水槽，还可能将寄生虫完全消灭，但是在与外海接触的鱼篓中，根据其环境寄生虫的生存、残存状态是各种各样的，所以优选在掌握鱼的健康状态、寄生虫的寄生状态的同时，重复进行停药期间和上述的给药。例如，如果是磺胺间甲氧嘧啶与奥美普林的合剂、或者是磺胺间二甲氧嘧啶与嘧啶甲胺的合剂的情况下，通过每 1 天对鱼体重 1kg 给药 25 ～ 500mg，口服给药 3 ～ 15 天，可以获得足够的效果。优选考虑寄生虫的生命周期的同时重复进行给药。

[0068] 另外，可以在养殖水中溶解驱除剂，将鱼浸渍于其中，直接接触。在这种情况下，在溶解后有效成分的浓度为 0.5 ～ 500ppm 的养殖水中，放入受试鱼，接触 10 分钟～ 15 天。如果是注射，一次给药 0.1 ～ 200mg/kg，优选 0.5 ～ 100mg/kg。另外，此时的给药期间为 1 ～ 15 天比较合适。

[0069] 本发明的寄生虫驱除剂除了单独使用作为有效成分的上述化合物以外，根据需要可以与其它物质组合使用，其他物质例如是载体、稳定剂、溶剂、赋形剂、稀释剂等辅助性成分。叶酸合成抑制剂、叶酸活化抑制剂是广泛用于人、动物，且对鱼类也作为抗菌剂使用的化合物，已知有各种制剂。用于本发明的目的时也可以使用它们所使用的制剂。

[0070] 另外，形态也可以是粉末、颗粒、片剂、胶囊等通常用于这些化合物的形态中的任一种。如果是对化合物的味道或者气味敏感的鱼，可以通过包衣等方法防止饲料的嗜好性的降低，并且可以使化合物难以漏出。

[0071] 如果是鱼类，通常将口服给药的药剂添加到饲料中使用。将本发明的寄生虫驱除剂添加到饲料中时，优选使用考虑到了各种鱼种所必需的营养成分或者物性的饲料。通常使用将鱼粉、糟糠类、淀粉、矿物质、维生素、鱼油等进行混合的团粒状的物质，或者将沙丁鱼等冷冻鱼和在鱼粉中添加有维生素等的粉末饲料 (mash) 进行混合的团粒状物质等。根据鱼的种类、大小，1 天的摄食量大致已确定，所以在饲料中添加换算量的本寄生虫驱除剂，使其达到上述的用法用量。本寄生虫驱除剂可以将 1 日量进行 1 次给药，也可以分成数次给药。

[0072] 以下记载了本发明的实施例，但本发明不被这些所限定。

[0073] 在本实施例中使用的药剂是以下制品。

[0074] • 磺胺间甲氧嘧啶 + 奥美普林配合剂 (Sulfamonomethoxine，Ormetoprim)

[0075] 商品名“水产用 Ekuteshin”，制造销售商 :明治制果株式会社，制造商 :第一精细化工株式会社

[0076] • 磺胺间甲氧嘧啶 (Sulfamonomethoxine)

[0077] 商品名“水产用 Daimeton Soda”，制造销售商 :明治制果株式会社，制造商 :第一精细化工株式会社

[0078] • 磺胺异唑钠 (Sulfisozole Na)

[0079] 商品名“Isuran Soda”，销售商 :先灵葆雅动物保健公司，制造销售商 :SERACHM 株式会社

[0080] •磺胺甲基异噁唑 (Sulfamethoxazole)、磺胺间二甲氧嘧啶 (Sulfadimethoxine)、磺胺二甲异嘧啶标准品 (Sulfisomidine)、嘧啶甲胺 (Pyrimethamine)、甲氧苄氨嘧啶 (Trimethoprim)、甲氨蝶呤 (Methotrexate)，和光纯药株式会社制造，试剂

[0081] • 奥美普林标准品 (Ormetoprim)，关东化学株式会社，试剂

[0082] • 羟乙基磺酸戊双脒盐 (Pentamidine Isetionate Salt)、磺胺甲基嘧啶 (Sulfamerazine)、磺胺甲噻二唑 (Sulfamethizole)，SIGMA-ALDRICH Janpan 公司制造，试剂

[0083] 在实施例中，记载了在团粒中添加药剂的情况下，是将药剂溶解于含有低糖化还原糖浆 (Esui-30，日研化成株式会社制造) 的水溶液中，涂撒在团粒的表面来使用的。

[0084] 实施例 1

[0085] 口服给药叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果 -1

[0086] 试验方法 :在 200 升水槽中饲养约 7 天 70 尾平均鱼体重约 20g 的真鲷，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料 (日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒)，将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.4 升 / 分钟。寄生

虫感染是通过使 200 升的水槽停水，并投入约 20 万个体的白点虫孵化幼虫，使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 7 座 100 升水槽中各收容 10 尾。饲养期间的注水设为 1.2 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后，将全部的鱼进行取样，对寄生在左侧鳃的白点虫进行计数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0087] 试验区：设定了将嘧啶甲胺按 8mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、将甲氧苄氨嘧啶按 50mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、将磺胺间甲氧嘧啶按 300mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、将磺胺甲基嘧啶钠按 50mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、将磺胺间二甲氧嘧啶按 216mg/kg 鱼体重 / 天和将甲氧苄氨嘧啶按 24mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、将磺胺甲基异噁唑按 429mg/kg 鱼体重 / 天和将甲氧苄氨嘧啶按 86mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、喂食无药剂添加饲料的对照区，共计 7 个区。将规定量的各药剂添加到湿性饲料（将鱼粉、鱼油、活性谷蛋白、瓜尔豆胶、维生素组合、矿物质组合、饲料油、大豆卵磷脂分别按 80、3、2、4、3、6、2 重量％的比例进行混合，在该粉体中加入重量为粉体重量的 30％的水，充分混合并制成团粒状的物质）中作为试验饲料。

[0088] 效果的判断：通过比较寄生数，观察寄生虫形态来进行。

[0089] 寄生虫形态的观察结果，判明在全部的药剂给药区中，寄生在真鲷的鳃中的该虫的大小与对照区相比小。该虫长度在对照区中为约 350μm，在全部的药剂给药区中为 100 至 250μm。该结果表示叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂共同抑制该虫的生长。因此，明确了该虫是自己合成叶酸的寄生虫，可以通过对此进行阻碍来抑制其生长。寄生数的结果如图 1 所示。在嘧啶甲胺给药区、甲氧苄氨嘧啶给药区、磺胺间二甲氧嘧啶和甲氧苄氨嘧啶给药区、以及磺胺甲基异噁唑和甲氧苄氨嘧啶给药区中显示了寄生虫数多的倾向。该结果被认为是由于该虫的生长极端被抑制，所以该虫从用于形成包囊的宿主脱离的晚的原因。在海水温度 25℃左右的白点虫的生活过程是：首先经过约 4 天由包囊孵化成 30μm 左右的幼虫，它寄生在宿主的鳃或体表约 3 天从宿主摄取营养物质而生长到 350μm 左右。生长后的该虫从宿主脱离而成为包囊。

[0090] 实施例 2

[0091] 口服给药叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果 -2

[0092] 试验方法：在 200 升水槽中饲养约 7 天 24 尾平均鱼体重约 39g 的真鲷，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.4 升 / 分钟。寄生虫感染是通过使 200 升的水槽停水，并投入约 17 万个体的白点虫孵化幼虫，使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 3 座 100 升水槽中各收容 8 尾。饲养期间的注水设为 1.2 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料，该时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后，将全部的鱼进行取样，测定了寄生于鳃的白点虫长度。

[0093] 试验区：设定了将磺胺间二甲氧嘧啶按 216mg/kg 鱼体重 / 天和将甲氧苄氨嘧啶按 24mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、将磺胺甲基异噁唑按 429mg/kg 鱼体重 / 天和将甲氧苄氨嘧啶按 86mg/kg 鱼体重 / 天口服给药 3 天的区、喂食无药剂添加饲料的对照区，共计

3 个区。将规定量的各药剂添加到湿性饲料中作为试验饲料。

[0094] 效果的判断 :通过比较寄生在鳃上的该虫的寄生虫长度来进行。

[0095] 结果如图 2 和图 3 所示。磺胺间二甲氧嘧啶和甲氧苄氨嘧啶给药区、以及磺胺甲基异噁唑和甲氧苄氨嘧啶给药区的寄生虫长度与对照区的该虫长度相比明显小 ($P < 0.01$),它的生长受到阻碍。从而,重现了实施例 1 的结果。并且,药剂给药区的该虫的运动与对照区相比迟钝,明显受到药剂的影响。

[0096] 实施例 3

[0097] 口服给药叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果 -3

[0098] 试验方法 :在 500 升水槽中饲养约 12 天 56 尾平均鱼体重约 91g 的真鲷,并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料 (日本水产株式会社制造,直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒),将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.4 升 / 分钟。寄生虫感染是通过使 500 升的水槽停水,并投入约 50 万个体的白点虫孵化幼虫,使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后,分别在 8 座 100 升水槽中各收容 7 尾。饲养期间的注水设为 1.4 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料,其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后,暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后,将全部的鱼进行取样,测定了寄生于鳃的白点虫长度。

[0099] 试验区 :设定了将磺胺甲基异噁唑 (SMXZ) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天、将磺胺间二甲氧嘧啶 (SDMX) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天、将磺胺间甲氧嘧啶 (SMMX) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天、将磺胺甲基嘧啶 (SMDN) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天、将磺胺二甲异嘧啶 (SID) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天、将磺胺甲噻二唑 (SMZ) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天、将磺胺异唑 (SIZ) 按 300mg/kg 鱼体重 / 天分别进行 3 天口服给药的区、喂食无药剂添加饲料的对照区,共计 8 个区。将规定量的各药剂添加到湿性饲料中作为试验饲料。

[0100] 效果的判断 :通过比较寄生在鳃上的该虫的寄生虫长度来进行。

[0101] 并且,该结果与实施例 4 一起进行叙述。

[0102] 实施例 4

[0103] 口服给药叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果 -4

[0104] 试验方法 :在 500 升水槽中饲养约 12 天 42 尾平均鱼体重约 113.5g 的真鲷,并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料 (日本水产株式会社制造,直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒),将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.4 升 / 分钟。寄生虫感染是通过使 500 升的水槽停水,并投入约 50 万个体的白点虫孵化幼虫,使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后,分别在 6 座 100 升水槽中各收容 7 尾。饲养期间的注水设为 1.4 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料,其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后,暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后,将全部的鱼进行取样,测定了寄生于鳃的白点虫长度。

[0105] 试验区 :设定了将甲氧苄氨嘧啶 (TMP) 按 60mg/kg 鱼体重 / 天、将甲氨蝶呤 (MTX) 按 60mg/kg 鱼体重 / 天、将嘧啶甲胺 (PRY) 按 60mg/kg 鱼体重 / 天、将羟乙基磺酸戊双脒盐 (PMD) 按 60mg/kg 鱼体重 / 天分别进行 3 天口服给药的区、将磺胺间二甲氧嘧按 216mg/kg 鱼体重 / 天和将甲氧苄氨嘧啶按 24mg/kg 鱼体重 / 天进行混合并进行 3 天口服给药的区、喂食无药剂添加饲料的对照区,共计 6 个区。将规定量的各药剂添加到湿性饲料中作为试

验饲料。

[0106] 效果的判断：通过比较寄生在鳃上的该虫的寄生虫长度来进行。

[0107] 实施例 3 和 4 的结果如图 4 所示。将药剂进行给药的全部区的寄生虫长度与对照区的该虫长度相比显著地小 ($P < 0.01$)，其生长受到阻碍。进一步，观察到在全部药剂给药区中，该虫的运动与对照区相比迟钝。这表示该虫受到药剂的影响而导致维持生命的机能下降。先前的实施例 1 的结果以及本实施例 3、4 的结果表示叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂共同抑制该虫的生长，给白点虫的生命活动造成不良影响。因此，明确了该虫是自己合成叶酸的寄生虫，可以通过对此进行阻碍来抑制其生长或者寄生活动。另外，与将叶酸合成抑制剂或者叶酸活化抑制剂分别单独给药的区相比，将叶酸合成抑制剂（磺胺间二甲氧嘧啶）和叶酸活化抑制剂（甲氧苄氨嘧啶）的配合剂进行给药的区更加阻碍本虫的生长。因此，认为在该虫的驱除中，相对于将叶酸合成抑制剂或者叶酸活化抑制剂分别单独给药，将叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂进行给药能够获得高驱虫效果。

[0108] 实施例 5

[0109] 口服给药叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果 -5

[0110] 试验方法：在 200 升水槽中饲养约 7 天 62 尾平均鱼体重约 32g 的真鲷，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.4 升 / 分钟。寄生虫感染是通过使 200 升的水槽停水，并投入约 20 万个体的白点虫孵化幼虫，使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 4 座 100 升水槽中各收容 15 尾。预先在 100 升的水槽中放入 6 张载玻片，以观察各区的包囊形成状况。另外，为了调查暴露 3 天后的该虫的感染状况，将剩下的 2 尾收容到 1 座 100 升水槽中。饲养期间的注水设为 1.2 升 / 分钟。试验概要如图 5 所示。就含药剂的试验饲料而言，设定了从暴露后开始 5 天连续喂食的区和 15 天连续进行给药的区，试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后对调查该虫的感染状况的区的 2 尾鱼进行取样，并对寄生于左鳃的白点虫数进行计数。从暴露开始 5 天后对各区的 3 尾鱼进行取样，并对寄生于左鳃的白点虫数进行计数。同时为了获知包囊形成状况，回收所投入的载玻片，并对所附着包囊数进行计数。为了调查这些包囊是否孵化，在含有海水的 300ml 烧杯中放入附着有包囊的载玻片，观察 12 天。为了继续了解包囊的形成状况，向各区再投入 6 张载玻片。继续饲养到从暴露开始 23 天。对饲养期间的全部毙死鱼的寄生于左鳃的白点虫进行计数。另外，在确认出任意区有大量毙死鱼的情况下，从其它的全部区各取样 3 尾，对寄生于左鳃的白点虫进行计数。并且同时将放入的载玻片回收进行计数。为了继续了解饲养区中的包囊的形成状况，再放入 6 张载波片。

[0111] 试验区：将如图 5 所示的规定量的各药剂添加到湿性饲料中作为试验饲料。另外，在药剂给药区，药剂给药期间结束后喂食与对照区相同的无药剂添加饲料。

[0112] 效果的判断：通过比较寄生数、包囊形成数、包囊长度、有无孵化包囊、毙死尾数来进行。

[0113] 暴露 3 天后的感染确认区（对照区 2）的左鳃的寄生数为约 300 个体（图 6a）。该结果表示在本试验中白点虫的感染按目标完成。图 6b 中表示了暴露 5 天后的各区的该虫寄生数。对照区的寄生数大致为 0。图 7a 表示了暴露 5 天后和暴露 9 天后的包囊形成数的结果。对照区的包囊形成数与其它区相比明显多，这可以认为是由于该虫为了成为包囊而

从宿主鳃脱离并成为了包囊。结果是试验区 1 的该虫寄生数是与对照区同样较少。但是，包囊形成数与对照区相比明显少 ($p < 0.01$)。这可以认为是由于试验区 1 的该虫在成为包囊之前被杀灭的原因。因此，明确了将磺胺间二甲氧嘧啶和甲氧苄氨嘧啶进行给药具有明显的驱虫效果。另一方面，试验区 2、3 的寄生虫数明显多，据推测可能是由于该虫的生长受到阻碍而从宿主脱离的晚的原因。虽然在对照区 1 以外的区也是少数 ($p < 0.01$)，但是能看到包囊形成。药剂给药区的包囊长度与对照区相比明显小，受到了影响（图 7b）。另外，通过观察 12 天来调查这些包囊的孵化率的结果，对照区为 100%、试验 1 为 95.8%、试验 2 为 35%、试验 3 为 45.2%。直至孵化的天数是：对照区 1 为 3 天、试验区 1 为 8 天到 10 天、试验区 2、3 为 10 天到 12 天。因此，可知这些药剂在该虫包囊形成后也妨碍包囊的正常孵化。

[0114] 在对照区，暴露 9 天后受试鱼全部毙死（图 8）。调查左鳃的该虫寄生数的结果，寄生有 1000 个体以上的白点虫。这可以认为是由于从包囊孵化的幼虫再次感染所致。从暴露 9 天后的试验区 1、2 以及 3 各取样 3 尾，调查左鳃的寄生虫数的结果，全部个体均看不到该虫的寄生。这可以认为是由于包囊数少且包囊的正常产生受到阻碍，没有孵化出新的幼虫的原因。在图 7b 中表示了暴露 9 天后的包囊形成数的结果。在试验区 2、3 中，包囊数大致为 0。在试验区 2、3 中，暴露 5 天后看到在鳃上寄生有很多该虫，但是暴露 9 天后看不到在鳃上寄生的该虫，暴露 9 天后的包囊形成数大致为 0，由此认为寄生的该虫在第 5 天到第 9 天之间被杀灭。因此，明确了将磺胺甲基异噁唑、甲氧苄氨嘧啶进行给药具有驱虫效果。

[0115] 然后，将试验区 1 至 3 继续饲养，从试验开始饲养了 30 天。在饲养期间，在试验区 1 中 3 尾毙死、在试验区 2 中 1 尾毙死、在试验区 3 中 1 尾毙死。对毙死鱼的鳃进行观察的结果，没有观察到白点虫。全部的毙死鱼均失去双眼，毙死原因判断为嗜食同类。饲养结束时将全部的鱼进行取样并观察鳃，在全部区（试验区 1 至 3）中没有看到白点虫的寄生。同时回收载玻片并调查了有无包囊，没有观察到包囊。因此，认为试验区 1 至 3 的仍存活的鱼的白点虫感染已经完全治愈。

[0116] 从以上的结果，可知叶酸合成抑制剂、叶酸活化抑制剂不仅能够阻碍该虫的生长，还具有对该虫的驱虫效果，以及在包囊形成后也持续发挥作用而阻碍包囊的正常产生的效果。

[0117] 实施例 6

[0118] 口服给药由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果

[0119] 试验方法：在 500 升水槽中饲养约 13 天 103 尾平均鱼体重约 62g 的真鲷，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.4 升 / 分钟。寄生虫感染是通过使 500 升的水槽停水，并投入约 60 万个体的白点虫孵化幼虫，使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 5 座 100 升水槽中各收容 20 尾。另外，为了调查暴露 3 天后的该虫的感染状况，将剩下的 3 尾收容在 1 座 100 升水槽中。饲养期间的注水设为 1.2 升 / 分钟。连续 5 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天、3 天、4 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后，对调查该虫的感染状况的区的 3 尾鱼进行取样，对寄生于左鳃的

白点虫进行计数。从暴露开始5天后，对各区的受试鱼4尾进行取样，对寄生于左鳃的白点虫进行计数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0120] 继续饲养到从暴露开始的27天后。对饲养期间中的全部毙死鱼的寄生于左鳃的白点虫进行计数。另外，在任意区中发生了认为该虫是原因的大量毙死的情况下，从其它的全部区取样各3尾，对寄生于左鳃的白点虫进行计数。

[0121] 试验区：设定了将磺胺甲基异噁唑按125mg/kg鱼体重/天和甲氧苄氨嘧啶按25mg/kg鱼体重/天进行混合并口服给药5天的区、将磺胺间甲氧嘧啶按112.5mg/kg鱼体重/天和奥美普林按37.5mg/kg鱼体重/天进行混合并口服给药5天的区、将磺胺间二甲氧嘧啶按135mg/kg鱼体重/天和甲氧苄氨嘧啶按15mg/kg鱼体重/天进行混合并口服给药5天的区、将磺胺间二甲氧嘧啶按136.4mg/kg鱼体重/天和嘧啶甲胺按13.6mg/kg鱼体重/天进行混合并口服给药5天的区、喂食无药剂添加饲料的对照区，共计5个区。配合剂给药区的药剂给药量设定为150mg/kg鱼体重/天的配合剂。将规定量的各药剂添加到湿性饲料中作为试验饲料。

[0122] 效果的判断：通过比较寄生数、寄生虫形态、包囊形态、毙死尾数来进行。

[0123] 暴露3天后的感染确认区（无投药区）的3尾真鲷的左鳃的平均寄生数是每1尾155个体（图9a）。该结果表示在本试验中白点虫的感染按目标完成。另外，寄生在鳃中的该虫60个体的平均寄生虫长度为约204μm。暴露3天后，无投药区的1尾真鲷毙死。左鳃的该虫寄生数为180个体，没有达到能够毙死程度的寄生数。毙死鱼失去了左眼，毙死原因判断为嗜食同类。

[0124] 暴露5天后的各区的该虫寄生数是：无投药区为0个体、试验区1为3个体、试验区2为1个体、试验区3为0个体、试验区4为2个体。据此可以认为在全部区中该虫为了形成包囊而从宿主鳃上脱离。

[0125] 从暴露第5天后的宿主脱离的各区30个体的包囊长度的比较结果如图9b所示。无投药区的平均包囊直径为约320μm。试验区1的平均包囊直径为约215μm，试验区2的平均包囊直径为约206μm，试验区3的平均包囊直径为约226μm，试验区4的平均包囊直径为约213μm。在全部的药剂给药区中的包囊长度显著地小于对照区，虽然该虫成了包囊，但是受到药剂的影响而生长受到阻碍。

[0126] 暴露7天后在无投药区、试验区2和试验区4中各有1尾真鲷毙死。左鳃的该虫寄生数是：无投药区的毙死鱼为8个体，试验区2和试验区4的毙死鱼为0个体。全部的毙死鱼失去了双眼，毙死原因判断为嗜食同类。

[0127] 在无投药区暴露9天后受试鱼开始毙死（图10）。调查暴露9天后死亡的受试鱼的左鳃的该虫寄生虫数，结果寄生有1000个体以上的白点虫。可以认为这是由包囊孵化的幼虫再感染所致。从暴露9天后的试验区1、2、3和4各取样3尾，调查左鳃的寄生数，结果在全部个体中该虫的寄生数均为0。无投药区的受试鱼暴露10天后全部死亡。此后，将试验区1至4继续饲养，从试验开始饲养27天。

[0128] 暴露13天后，在试验区1和试验区3中各有1尾真鲷毙死。左鳃的该虫寄生数是：试验区1的毙死鱼为6个体，试验区3的毙死鱼为23个体。毙死鱼失去了双眼，毙死原因判断为嗜食同类。

[0129] 暴露15天后，将试验区1至4的受试鱼各取样3尾，调查左鳃的该虫寄生数的结

果，试验区 1 为平均 5 个体，试验区 2 为平均 1 个体，试验区 3 为平均 6.3 个体，试验区 4 为 3.7 个体。

[0130] 暴露 21 天后，试验区 1 的 1 尾真鲷毙死。左鳃的该虫寄生数是 54 个体。毙死鱼失去了双眼，判断毙死原因为嗜食同类。同日，试验区 3 的 4 尾真鲷毙死。4 尾中，失去双眼的有 2 尾，失去左眼的有 1 尾，观察到白点虫病的症状眼睛白浊和体表发红的有 1 尾。毙死鱼的左鳃的该虫寄生数平均为 788 个体。观察到白点虫感染症状的 1 尾推测是由于白点虫病而毙死。

[0131] 暴露 22 天后，从试验区 1、试验区 2、试验区 4 各取样 3 尾，从试验区 3 取样 1 尾，调查左鳃的该虫寄生虫数的结果，试验区 1 为平均 9.3 个体、试验区 2 为平均 9 个体、试验区 3 为 294 个体、试验区 4 为平均 2.7 个体。此后，暴露 24 天后试验区 3 的 3 尾毙死，翌日 25 天后试验区 1、试验区 3、试验区 4 全部死亡。任意一个在左鳃上都确认了 1000 个体以上的该虫寄生。暴露 27 天后，将试验区 2 的 6 尾仍存活的鱼全部取样，结束了试验。捞上来的受试鱼的左鳃上寄生有平均 1000 个体以上的该虫。

[0132] 通过这些结果明确了试验的全部配合剂均具有抗白点虫作用。其中，可以认为试验区 2 的磺胺间甲氧嘧啶和奥美普林配合区的效果最好。据推测这是由于所使用的药剂的组合、叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合量不同的原因。在本试验中的叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合比是：试验区 1 为 5 比 1，试验区 2 为 3 比 1，试验区 3 为 9 比 1，试验区 4 为 10 比 1。因此，推测叶酸活化抑制剂的配合比例更多的一方，对该虫的效果更加好。

[0133] 实施例 7

[0134] 由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂的不同给药量对真鲷的白点虫寄生的驱虫效果

[0135] 试验方法：在 500 升水槽中饲养 19 天平均鱼体重 38g 的真鲷 104 尾，并在 24.9℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 2.5％。寄生虫感染是通过使 500 升的水槽停水，并投入约 60 万个体的白点虫孵化幼虫，使受试鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 5 座 100 升水槽中各收容 20 尾。另外，为了调查暴露 3 天后的该虫的感染状况，将剩下的 4 尾收容在 1 座 100 升水槽中。注水设为 1.4 升 / 分钟。连续 5 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天后、暴露 2 天后、暴露 3 天后、暴露 4 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2％。从暴露开始 3 天后，将调查该虫的感染状况的区的鱼取样 4 尾，对寄生于左鳃的白点虫进行计数。从暴露开始 5 天后，将各区取样 5 尾，对寄生于左鳃的白点虫进行计数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0136] 继续饲养到从暴露开始 29 天后。对饲养期间中的全部毙死鱼的寄生于左鳃的白点虫进行计数。并且，在任意区中发生了认为该虫是原因的大量毙死的情况下，从其它的全部区各取样 3 尾，对寄生于左鳃的白点虫进行计数。

[0137] 试验区：设定了试验区 1（将磺胺间甲氧嘧啶按 37.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 12.5mg/kg 鱼体重 / 天进行混合并口服给药 5 天的区（作为合剂为 50mg/kg 鱼体重 / 天））、试验区 2（将磺胺间甲氧嘧啶按 75mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 25mg/kg 鱼体重

/ 天进行混合并口服给药 5 天的区（作为合剂为 100mg/kg 鱼体重 / 天））、试验区 3（将磺胺间甲氧嘧啶按 187.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 62.5mg/kg 鱼体重 / 天进行混合并口服给药 5 天的区（作为合剂为 250mg/kg 鱼体重 / 天））、试验区 4（将磺胺间甲氧嘧啶按 375mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 125mg/kg 鱼体重 / 天进行混合并口服给药 5 天的区（作为合剂为 500mg/kg 鱼体重 / 天））、喂食无药剂添加饲料的对照区，共计 5 个区。将规定量的各药剂添加到湿性饲料中作为试验饲料。

[0138] 效果的判断：通过比较寄生数、寄生虫形态、包囊形态、毙死尾数来进行。

[0139] 暴露 3 天后的感染确认区（对照区 2）的 4 尾真鲷的左鳃的平均寄生数是每 1 尾 420 个体（图 11）。该结果表示在本试验中白点虫的感染按目标完成。

[0140] 观察投放试验饲料时的鱼的摄食状况。在对照区和试验区 1 至试验区 3 摄食了全部试验饲料，只有在试验区 4（作为合剂 500mg/kg 鱼体重 / 天）偶尔能发现摄食后吐出的个体。这暗示出作为合剂 500mg/kg 鱼体重 / 天，给药量比较多的情况下，存在向饲料中添加该合剂对真鲷的摄食产生不良影响的可能性。寄生于暴露 5 天后的各区 5 尾的左鳃的白点虫数的平均是：对照区为 0.3 个体、试验区 1 为 40.3 个体、试验区 2 为 157.8 个体、试验区 3 为 140.3 个体、试验区 4 为 184 个体（图 12a）。此时的试验区 1 至试验区 4 的寄生虫长度如图 12b 所示。另外，比较了附着于预先铺在各水槽底部的载玻片上的包囊的直径（包囊长度），每个区比较 30 个体，结果对照区为约 320μm、试验区 1 为约 215μm、试验区 2 为约 206μm、试验区 3 为约 226μm、试验区 4 为约 213μm。这些结果表示，从比较少的给药量 50mg/kg 鱼体重 / 天到比较多的给药量 500mg/kg 鱼体重 / 天，均具有阻碍该虫生长的效果，阻碍从用于成为包囊的宿主脱离的效果等。

[0141] 图 13 表示了寄生于暴露后的各区真鲷的左鳃的白点虫数的变化。另外，图 14 中表示了试验期间中的死亡变化。在对照区中，暴露第 9 天受试鱼大量毙死，翌日第 10 天全部毙死。调查左鳃的该虫寄生数，结果均寄生有 1000 个体以上的白点虫。可以认为这是由于与实施例 5 同样再感染了由包囊孵化的幼虫所致。从暴露第 9 天的试验区 1、2、3 和 4 各取样 4 尾，调查左鳃的寄生数，结果全部个体中的该虫的寄生数为 0。可以认为这是由于包囊数少，包囊的正常产生被抑制，包囊的正常产生受阻碍而使幼虫的孵化延迟所致。

[0142] 在试验区 3 中暴露第 12 天发生了 1 尾毙死。观察毙死鱼的鳃，结果没有观察到白点虫。毙死鱼失去了双眼，毙死原因判断为嗜食同类。在试验区 1 中暴露第 18 天受试鱼全部毙死。调查毙死鱼左鳃的该虫寄生数，结果均寄生有 1000 个体以上的白点虫。对试验区 2、3 和 4 的受试鱼各取样 3 尾，调查左鳃的该虫寄生虫数，结果是：试验区 2 为每 1 尾平均约 74 个体，试验区 3 为约 4 个体、试验区 4 为约 1 个体。此后，将试验区 1 至 4 继续饲养，从试验开始饲养 29 天。

[0143] 暴露第 21 天试验区 2 的 1 尾受试鱼毙死，翌日第 22 天全部毙死。死亡的受试鱼左鳃的该虫寄生数是每 1 尾约 1000 个体。

[0144] 此后，继续饲养到暴露第 29 天。将暴露第 29 天仍存活的试验区 3 和试验区 4 的受试鱼全部取出，对左鳃的该虫寄生数进行计数，结果在试验区 3 和试验区 4 均观察到了每 1 尾约 1000 个体以上的白点虫。从对照区全部死亡之日起，试验区 1（合剂 50mg/kg 鱼体重 / 天）再经 8 天全部死亡，试验区 2（合剂 100mg/kg 鱼体重 / 天）是 12 天，试验区 3 和试验区 4 晚了 19 天以上。这些结果表示对该虫的驱虫效果随着该药剂的给药量的增加而

增加。

[0145] 实施例 8

[0146] 由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂对红鳍东方鲀的白点虫寄生的驱虫效果

[0147] 试验方法：在 200 升水槽中饲养约 20 天平均鱼体重约 183g 的红鳍东方鲀 15 尾，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 3mm 的红鳍东方鲀用 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 2%。寄生虫感染是通过使 200 升的水槽停水，并投入约 20 万个体的白点虫孵化幼虫，使受试鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 3 座 100 升水槽中各收容 5 尾。注水设为 1.4 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后，将全部的鱼进行取样，调查寄生于左鳃的白点虫数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0148] 试验区：设定了将磺胺间甲氧嘧啶按 112.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 37.5mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区 (SMMX+OMP 区）、将磺胺间二甲氧嘧啶按 136.4mg/kg 鱼体重 / 天和嘧啶甲胺按 13.6mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区 (SDMX+PRY 区）、喂食无药剂添加饲料的对照区 (Control 区），共计 3 个区。将规定量的各药剂添加到市售 EP 饲料中作为试验饲料。另外，为了在饵料中均匀地添加药剂，在饵料中添加将饵料量的 5% 量的水和 5% 量的淀粉加入到药剂中并进行混合而得到的混合物。

[0149] 效果的判断：通过比较寄生数、观察寄生虫形态来进行。

[0150] 比较寄生数的结果，与没有给药的对照区相比，在任意的药剂给药区中均显示了寄生数多的倾向（图 15a）。每片鳃的平均寄生数是：对照区为约 405 个体，磺胺间甲氧嘧啶和奥美普林的配合给药区为约 544 个体，磺胺间二甲氧嘧啶和嘧啶甲胺的配合给药区为约 558 个体，两药剂抑制了该虫从用于成为包囊的宿主上脱离。

[0151] 另外，观察寄生虫形态的结果，确定了在全部药剂给药区中，寄生于红鳍东方鲀鳃的该虫的大小与对照区相比显著地小（图 15b）。该虫长度在对照区为约 252μm、在磺胺间甲氧嘧啶和奥美普林的配合给药区为约 164μm，在磺胺间二甲氧嘧啶和嘧啶甲胺的配合给药区为约 197μm，在任意的药剂给药区中，该虫的生长均受到阻碍。

[0152] 由该结果可知，叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂，对于红鳍东方鲀的白点虫病，与对真鲷的白点虫病同样能够发挥抗白点虫作用。

[0153] 实施例 9

[0154] 由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂对比目鱼的白点虫寄生的驱虫效果

[0155] 试验方法：在 200 升水槽中饲养约 8 天平均鱼体重约 47g 的比目鱼 21 尾，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 2%。注水设为 2.2 升 / 分钟。寄生虫感染是通过使 200 升的水槽停水，并投入约 20 万个体的白点虫孵化幼虫，使受试鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 3 座 100 升水槽中各收容 7 尾。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后将全部的鱼进行取样，

调查寄生于左鳃的白点虫数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0156] 试验区：设定了将磺胺间甲氧嘧啶按 112.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 37.5mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区 (SMMX+OMP 区)、将磺胺间二甲氧嘧啶按 136.4mg/kg 鱼体重 / 天和嘧啶甲胺按 13.6mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区 (SDMX+PRY 区)、喂食无药剂添加饲料的对照区 (Control 区)，共计 3 个区。将规定量的各药剂添加到市售 EP 饲料中作为试验饲料。另外，为了在饵料中均匀地添加药剂，在饵料中添加将饵料量的 5％量的水和 5％量的淀粉加入到药剂中并进行混合而得到的混合物。

[0157] 效果的判断：通过比较寄生数、观察寄生虫形态来进行。

[0158] 比较寄生数的结果，与对照区相比，在任意的药剂给药区中均显示了寄生数多的倾向 (图 16a)。两药剂抑制了该虫从用于成为包囊的宿主上脱离。

[0159] 另外，观察寄生虫形态的结果，确定了在全部药剂给药区中，寄生于比目鱼鳃的该虫大小与对照区相比显著地小 (图 16b)。

[0160] 由该结果可知，叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂，对于比目鱼的白点虫病，与对真鲷的白点虫病同样能够发挥抗白点虫作用。

[0161] 实施例 10

[0162] 由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂对杜氏鰤的白点虫寄生的驱虫效果

[0163] 试验方法：在 200 升水槽中饲养约 7 天平均鱼体重约 26g 的杜氏鰤 24 尾，并在 25℃的水温中进行驯化。在此期间喂食市售饲料 (日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒)，将喂食率设为鱼体重的 2％。寄生虫感染是通过使 200 升的水槽停水，并投入约 20 万个体的白点虫孵化幼虫，使受试鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 3 座 100 升水槽中各收容 8 尾。注水设为 1.4 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2％。从暴露开始 3 天后将全部的鱼进行取样，调查寄生于左鳃的白点虫数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0164] 试验区：设定了将磺胺间甲氧嘧啶按 112.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 37.5mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区 (SMMX+OMP 区)、将磺胺间二甲氧嘧啶按 136.4mg/kg 鱼体重 / 天和嘧啶甲胺按 13.6mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区 (SDMX+PRY 区)、喂食无药剂添加饲料的对照区 (Control 区)，共计 3 个区。将规定量的各药剂添加到市售饲料 (日本水产株式会社制造，直径为 2.5mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒) 中作为试验饲料。另外，为了在饵料中均匀地添加药剂，在饵料中添加将饵料量的 5％量的水和 5％量的淀粉加入到药剂中并进行混合而得到的混合物。

[0165] 效果的判断：通过比较寄生数、观察寄生虫形态来进行。

[0166] 比较寄生数的结果，与对照区相比，在任意的药剂给药区中均显示了寄生数多的倾向 (图 17a)。两药剂抑制了该虫从用于成为包囊的宿主上脱离。

[0167] 另外，观察寄生虫形态的结果，确定了在全部药剂给药区中，寄生于杜氏鰤鳃的该虫的大小与对照区相比显著地小 (图 17b)。

[0168] 由该结果可知，叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂，对于杜氏鰤的白点虫病，与对真鲷的白点虫病同样也能够发挥抗白点虫作用。

[0169] 实施例 11

[0170] 由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂对七带石斑鱼的白点虫寄生的驱虫效果

[0171] 试验方法：将在 25℃的水温中驯化后的平均鱼体重约 14g 的七带石斑鱼 21 尾在 100 升水槽中饲养约 1 天，并用于试验。在此期间喂食市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒），将喂食率设为鱼体重的 3%。寄生虫感染是通过使 100 升的水槽停水，并投入约 10 万个体的白点虫孵化幼虫，使鱼暴露在寄生虫中 1 小时来进行。暴露后，分别在 3 座 100 升水槽中各收容 7 尾。注水设为 1.4 升 / 分钟。连续 3 天喂食含药剂的试验饲料，其喂食时间是暴露于幼虫后从收容在 100 升水槽开始 2 小时后，暴露 1 天、2 天后。试验饲料的喂食率为鱼体重的 2%。从暴露开始 3 天后将全部的鱼进行取样，调查寄生于左鳃的白点虫数。并且，同时观察寄生虫的大小。

[0172] 试验区：设定了将磺胺间甲氧嘧啶按 112.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 37.5mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区（SMMX+OMP 区）、将磺胺间二甲氧嘧啶按 136.4mg/kg 鱼体重 / 天和嘧啶甲胺按 13.6mg/kg 鱼体重 / 天进行配合并口服给药 3 天的区（SDMX+PRY 区）、喂食无药剂添加饲料的对照区（Control 区），共计 3 个区。将规定量的各药剂添加到市售 EP 饲料中作为试验饲料。另外，为了在饵料中均匀地添加药剂，在饵料中添加将饵料量的 5% 量的水和 5% 量的淀粉加入到药剂中并进行混合而得到的混合物。

[0173] 效果的判断：通过比较寄生数、观察寄生虫形态来进行。

[0174] 比较寄生数的结果，与对照区相比，在任意的药剂给药区中均显示了寄生数多的倾向（图 18a）。两药剂抑制了该虫从用于成为包囊的宿主上脱离。

[0175] 另外，观察寄生虫形态的结果，确定了在全部药剂给药区中，寄生于七带石斑鱼鳃的该虫大小与对照区相比显著地小（图 18b）。

[0176] 由该结果可知，叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂，对于七带石斑鱼的白点虫病，与对真鲷的白点虫病同样也能够发挥抗白点虫作用。

[0177] 由以上的结果判明了叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂共同阻碍该虫的生长，进一步还能阻碍包囊的产生。因此，可知该虫是自己合成叶酸的寄生虫，可以通过对此进行阻碍来抑制其生长或者寄生活动。另外，判明了虽然通过将叶酸合成抑制剂或叶酸活化抑制剂分别单独投给宿主鱼，能够获得明显的抗白点虫作用，但是将叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂进行给药会获得更高的驱虫效果。叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂在试验的全部鱼种，即鲈形目鱼类的真鲷、杜氏鰤、七带石斑鱼，鲀形目鱼类的红鳍东方鲀，鲽形目鱼类的比目鱼中发挥了抗白点虫作用。因此，可以认为叶酸合成抑制剂、叶酸活化抑制剂以及它们的配合剂对于各种鱼种所发生的海产白点虫病能够发挥抗白点虫作用。

[0178] 实施例 12

[0179] 由叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂组成的配合剂对淡水白点虫寄生的驱虫效果

[0180] 试验方法：将在 21℃的水温中驯化后的平均鱼体重约 3.6g 的黑龙睛金鱼 18 尾在 1 座 25 升水槽中饲养 3 天后，与感染了淡水白点虫的红丽丽鱼 (colisa labiosa) 混养 2 天，使其感染淡水白点虫，在新设置的 2 座 25L 水槽中分别收容 8 尾用于试验。为了确认剩

下的 2 尾黑龙睛金鱼是否感染成功，调查了寄生数。此时每 1 尾的体表寄生数平均为 66 个体。

[0181] 从感染第一天开始，每天对照区给予在市售饲料（日本水产株式会社制造，直径为 2mm 的初期试料 EP(expanded) 团粒）中添加了水的饲料，试验区给予含药剂的试验饲料。喂食率为鱼体重的 0.7％。

[0182] 在试验区，将磺胺间甲氧嘧啶按 112.5mg/kg 鱼体重 / 天和奥美普林按 37.5mg/kg 鱼体重 / 天（作为合剂是 150mg/kg 鱼体重 / 天）进行配合，每天给药。

[0183] 效果的判定是在试验开始第 3 天和第 7 天通过目视计算寄生在各区全部试验鱼体表的该虫数量。并且，在试验期间出现死亡鱼的情况下，计算寄生在体表的该虫数量。

[0184] 第 3 天的该虫寄生数是 :对照区为平均 2.9 个体，试验区为平均 0.9 个体，第 7 天的该虫寄生数是 :对照区为平均 50.8 个体，试验区为平均 0.1 个体（图 19）。

[0185] 试验开始第 9 天的对照区和试验区的受试鱼如图 20 所示。在该时刻，可以目视观察到对照区的受试鱼寄生有无数的淡水白点虫。另一方面，试验区的受试鱼仅能看到很少的寄生。

[0186] 试验开始第 11 天对照区的受试鱼全部死亡。调查毙死鱼的体表、鳍的结果，观察到了 2000 个体以上的该虫，该虫明显增殖。同日，捞出试验区的全部受试鱼调查体表、鳍，没有发现该虫的寄生。从这些结果可以判明叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂对淡水白点虫具有驱虫效果。因此，可知淡水白点虫与海产白点虫同样是自身合成叶酸的寄生虫，可以通过对此进行阻碍来抑制其生长或者寄生活动。

[0187] 对于海产白点虫，叶酸合成抑制剂和叶酸活化抑制剂的配合剂对试验的全部鱼种发挥了抗白点虫作用。因此，认为叶酸合成抑制剂、叶酸活化抑制剂以及它们的配合剂对各种鱼种所发生的淡水白点虫病能发挥抗白点虫作用。

[0188] 产业上利用的可能性

[0189] 本发明的寄生虫驱除剂通过口服给药而发挥鱼类寄生虫的驱除效果，对目前没有有效药剂的白点虫等寄生虫也能发挥效果。可以用于养殖鱼、观赏鱼等的寄生虫病的预防、治疗。

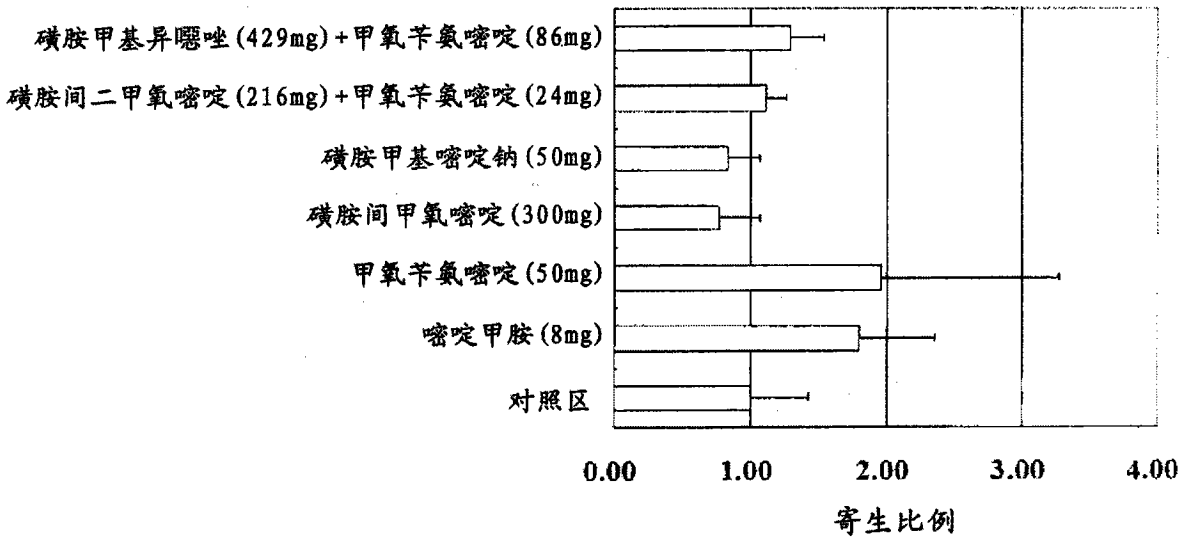

磺胺甲基异噁唑(429mg)+甲氧苄氨嘧啶(86mg)
磺胺间二甲氧嘧啶(216mg)+甲氧苄氨嘧啶(24mg)
磺胺甲基嘧啶钠(50mg)
磺胺间甲氧嘧啶(300mg)
甲氧苄氨嘧啶(50mg)
嘧啶甲胺(8mg)
对照区
0.00
1.00
2.00
3.00
4.00
寄生比例

图 1


(a)
(b)
(c)

图 2

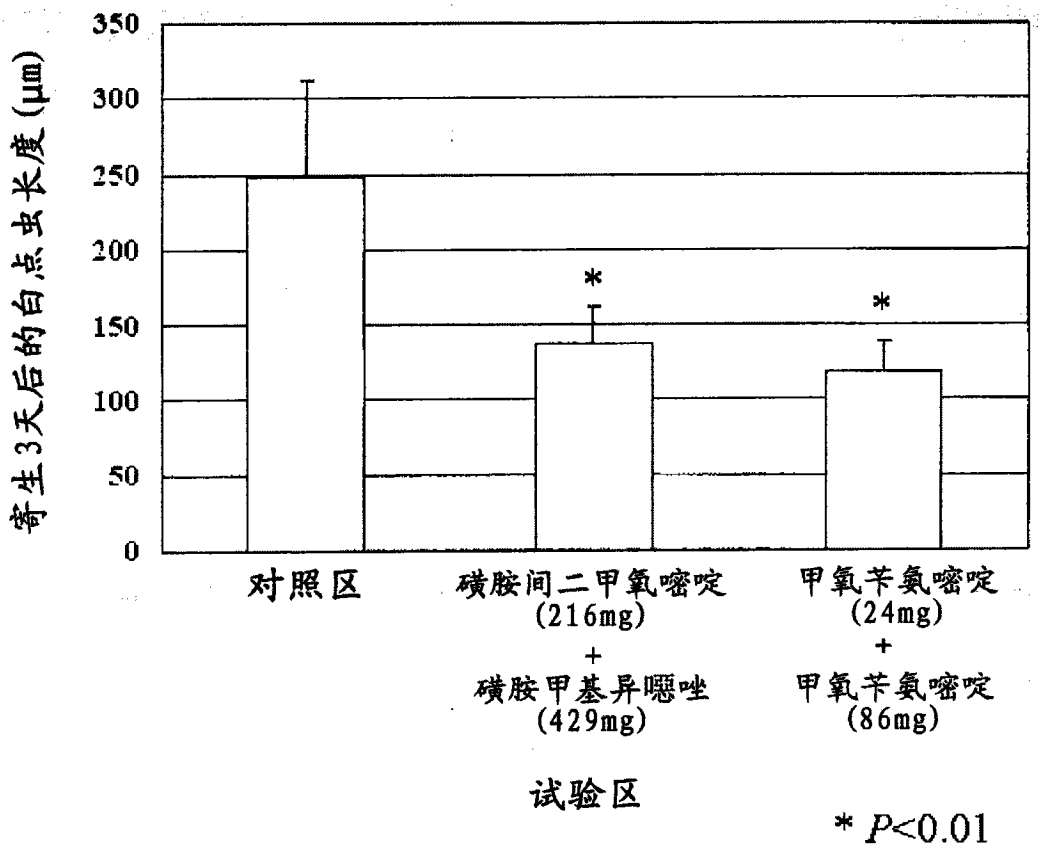

寄生3天后的白点虫长度(μm)
350
300
250
200
150
100
50
0
*
*
对照区
磺胺间二甲氧嘧啶
(216mg)
+
磺胺甲基异噁唑
(429mg)
甲氧苄氨嘧啶
(24mg)
+
甲氧苄氨嘧啶
(86mg)
试验区
* P<0.01

图 3

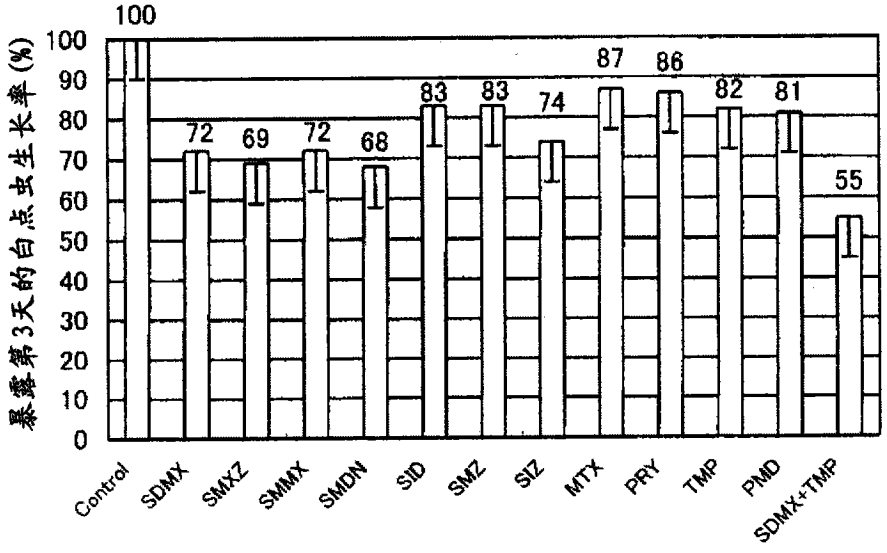

暴露第3天的白点虫生长率(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
100
72
69
72
68
83
83
74
87
86
82
81
55
Control
SDMX
SMXZ
SMMX
SMDN
SID
SMZ
SIZ
MTX
PRY
TMP
PMD
SDMX+TMP

图 4

试验区	给药药剂和给药条件（mg/kg鱼体重/天）	给药天数
试验区1	磺胺间二甲氧嘧啶(216mg)+甲氧苄氨嘧啶(24mg)	攻击后即刻开始15天
试验区2	磺胺甲基异噁唑(429mg)+ 甲氧苄氨嘧啶(86mg)	攻击后即刻开始15天
试验区3	磺胺甲基异噁唑(429mg)+ 甲氧苄氨嘧啶(86mg)	攻击后即刻开始5天
对照区1（通常饲料）	———	———
对照区2（通常饲料）	———	———

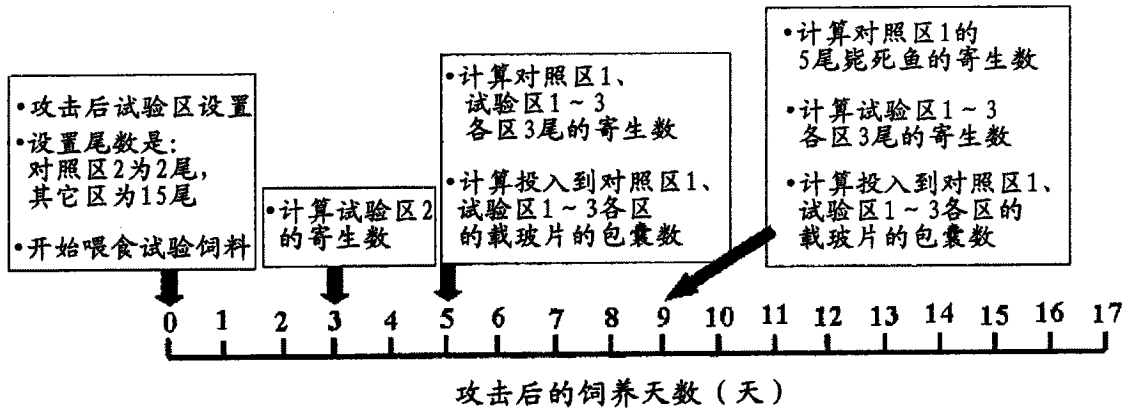


图 5

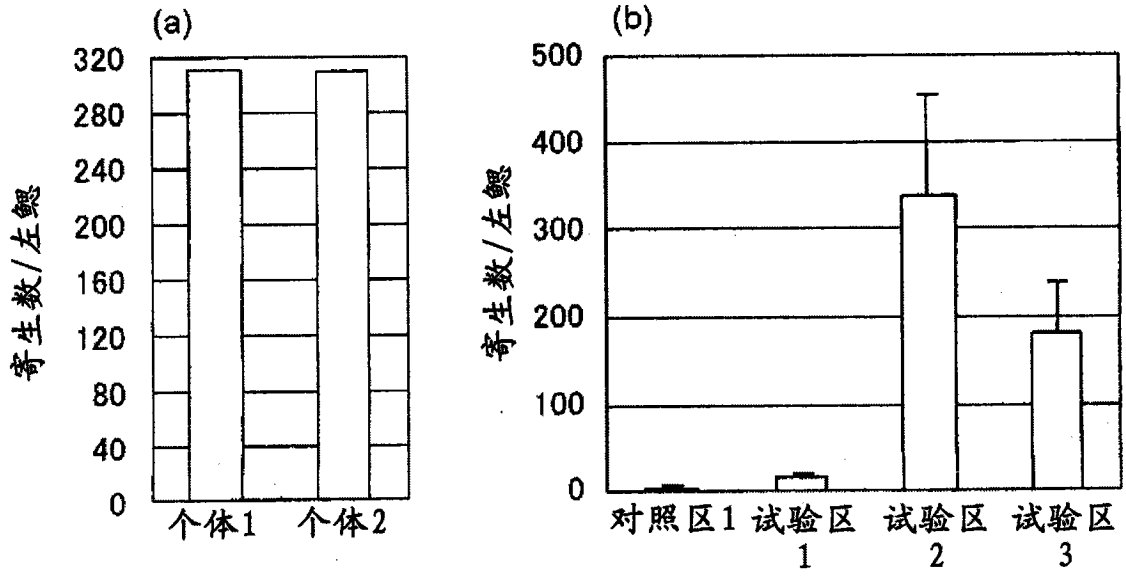


图 6

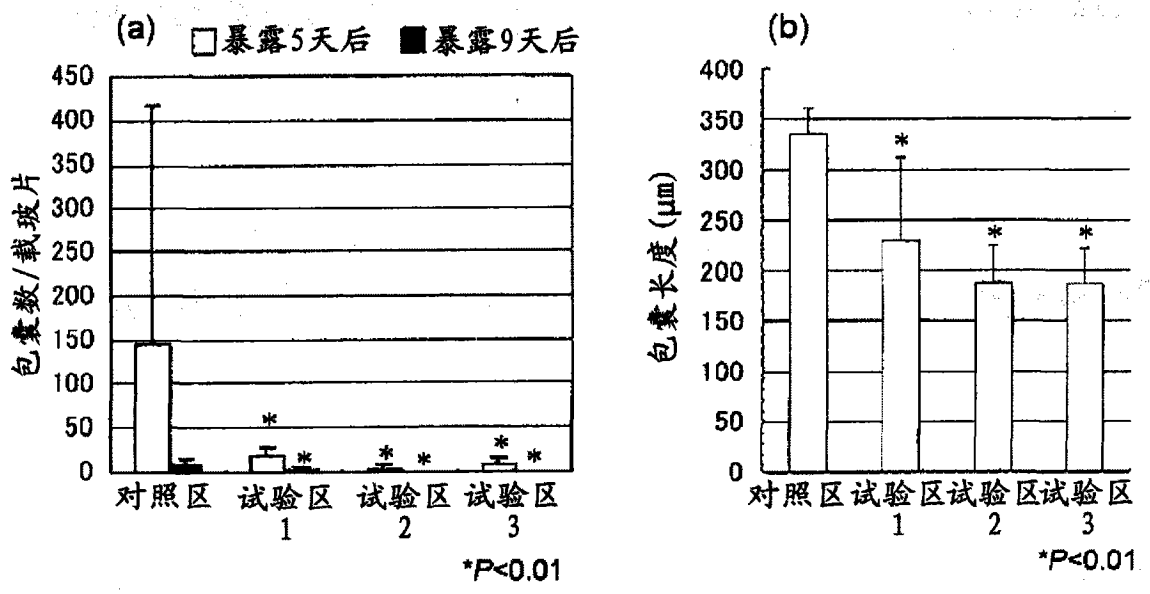

(a)
□暴露5天后 ■暴露9天后
包囊数/载玻片
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
对照区
试验区1
试验区2
试验区3
*P<0.01
(b)
包囊长度(μm)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
对照区
试验区1
试验区2
试验区3
*P<0.01

图 7

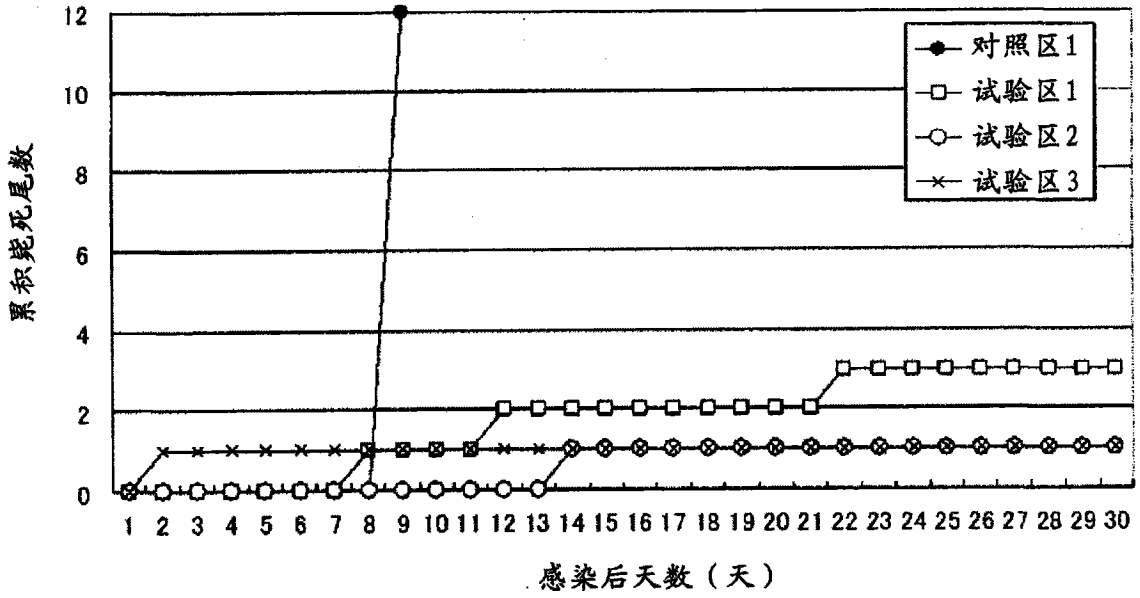

累积死亡数
12
10
8
6
4
2
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
感染后天数（天）
对照区1
试验区1
试验区2
试验区3

图 8

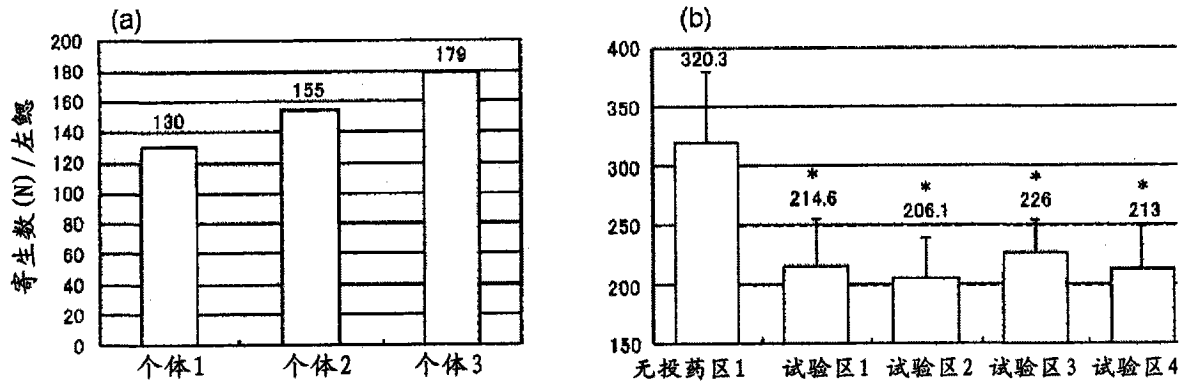

(a)
寄生数(N)/左鳃
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
130
155
179
个体1
个体2
个体3
(b)
400
350
300
250
200
150
320.3
214.6
206.1
226
213
无投药区1
试验区1
试验区2
试验区3
试验区4

图 9

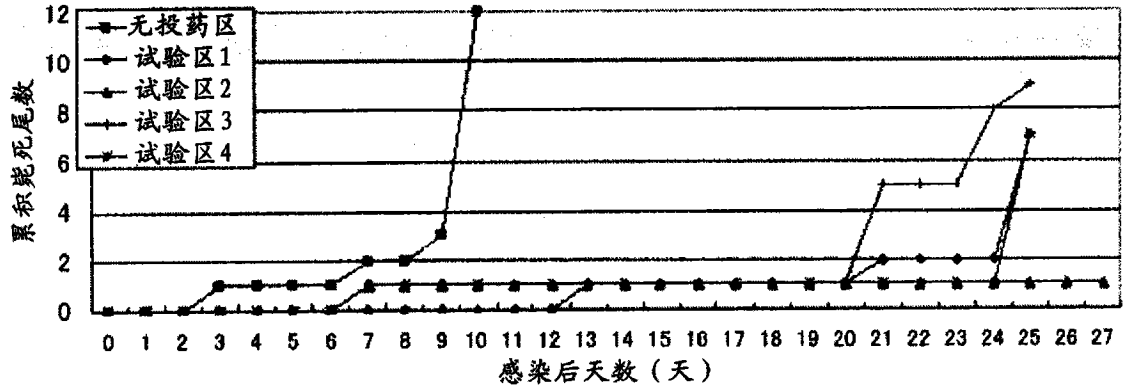

累积跳死尾数
无投药区
试验区1
试验区2
试验区3
试验区4
感染后天数（天）

图 10

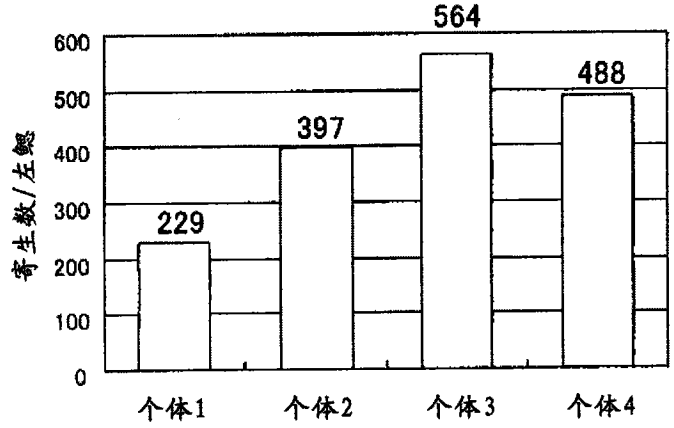

寄生数/左鳃
600
500
400
300
200
100
0
229
397
564
488
个体1
个体2
个体3
个体4

图 11

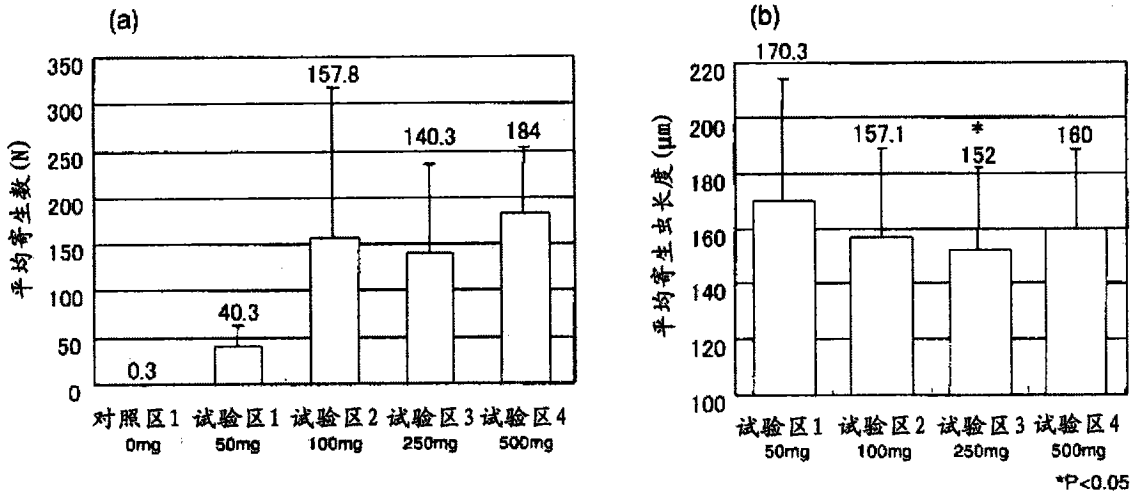


图 12

试验区 / 暴露后经过的天数	对照区1 0mg	试验区1 50mg	试验区2 100mg	试验区3 250mg	试验区4 500mg
暴露5天后平均寄生数(n) 各区4尾	0	40	157	140	184
暴露9天后平均寄生数(n) 各区4尾	≧1000	0	0	0	0
暴露18天后平均寄生数(n) 各区3尾	-	≧1000	74.3	4	1
暴露22天后平均寄生数(n) 试验区2 5尾	-	-	1092	-	-
暴露29天后平均寄生数(n) 试验区3和试验区4 各5尾	-	-	-	>1000	>1000

图 13

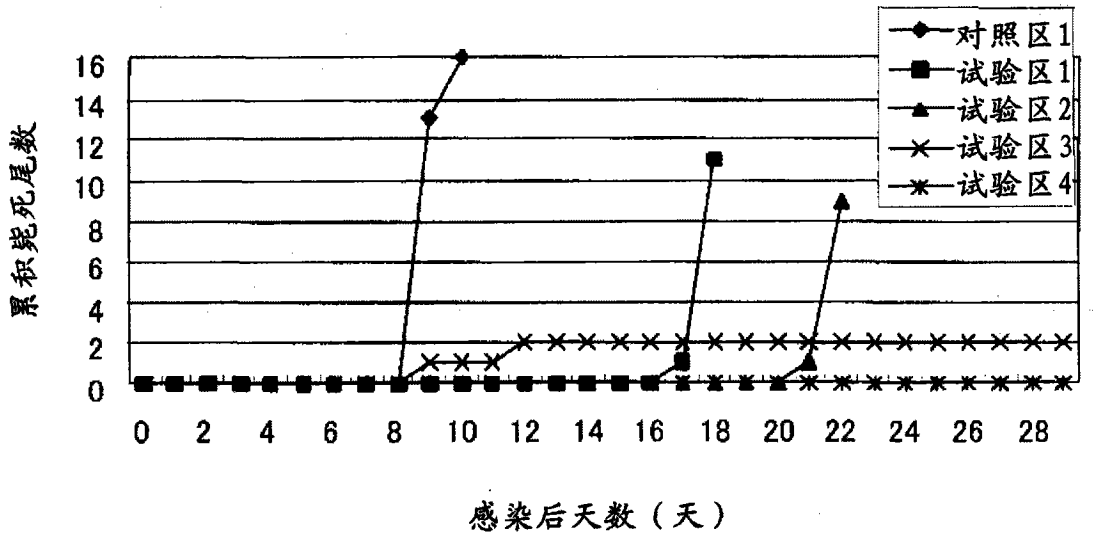

对照区1
试验区1
试验区2
试验区3
试验区4
累积毙死尾数
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28
感染后天数（天）

图 14

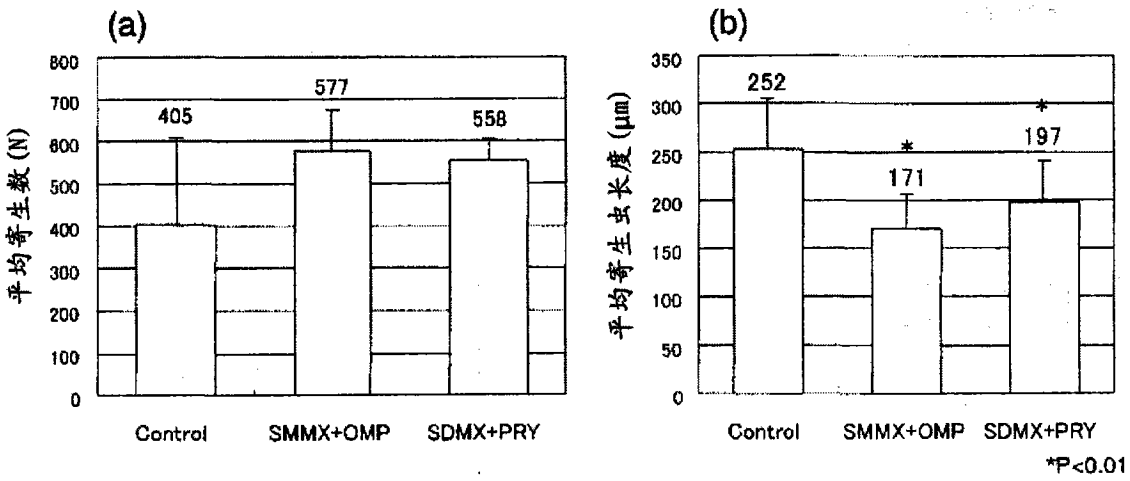

(a)
平均寄生数 (N)
405
577
558
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
(b)
平均寄生虫长度 (μm)
252
171
197
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.01

图 15

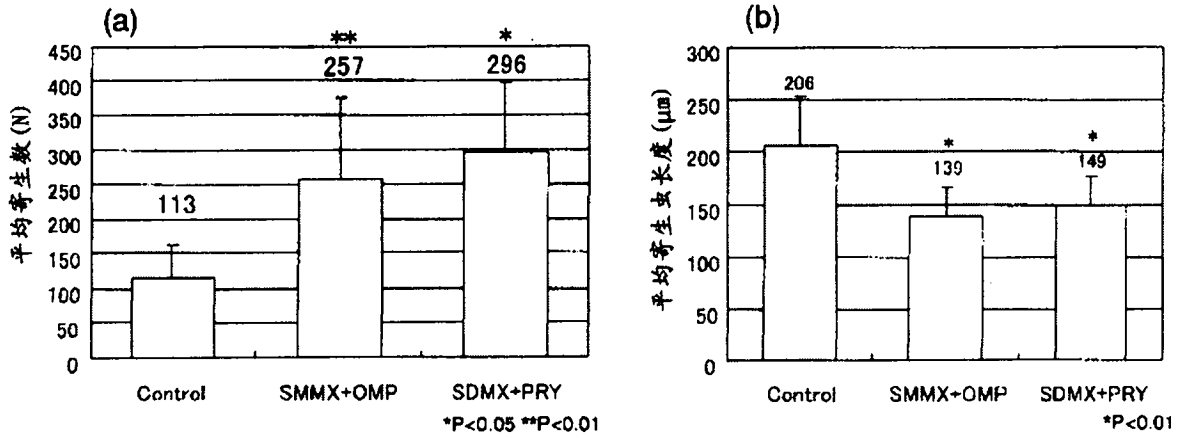

(a)
平均寄生数 (N)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
113
257
296
**
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.05 **P<0.01
(b)
平均寄生虫长度 (μm)
300
250
200
150
100
50
0
206
139
149
*
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.01

图 16

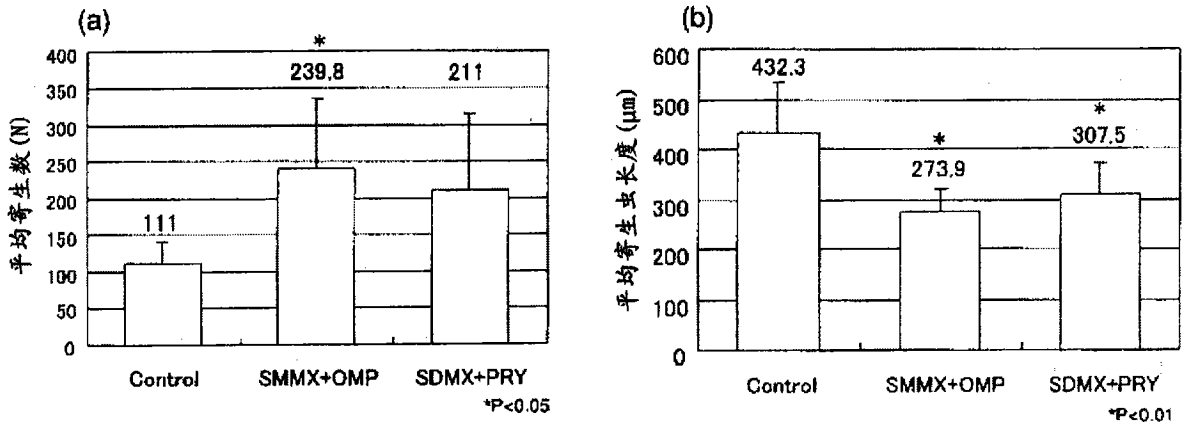

(a)
平均寄生数 (N)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
111
239.8
211
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.05
(b)
平均寄生虫长度 (μm)
600
500
400
300
200
100
0
432.3
273.9
307.5
*
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.01

图 17

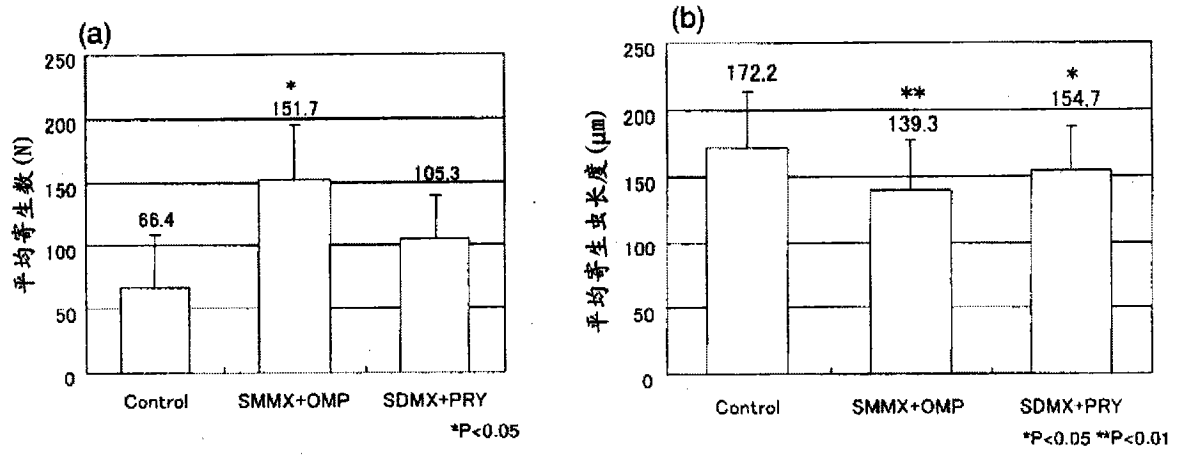

(a)
平均寄生数 (N)
250
200
150
100
50
0
66.4
151.7
105.3
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.05
(b)
平均寄生虫长度 (μm)
250
200
150
100
50
0
172.2
139.3
154.7
**
*
Control
SMMX+OMP
SDMX+PRY
*P<0.05 **P<0.01

图 18

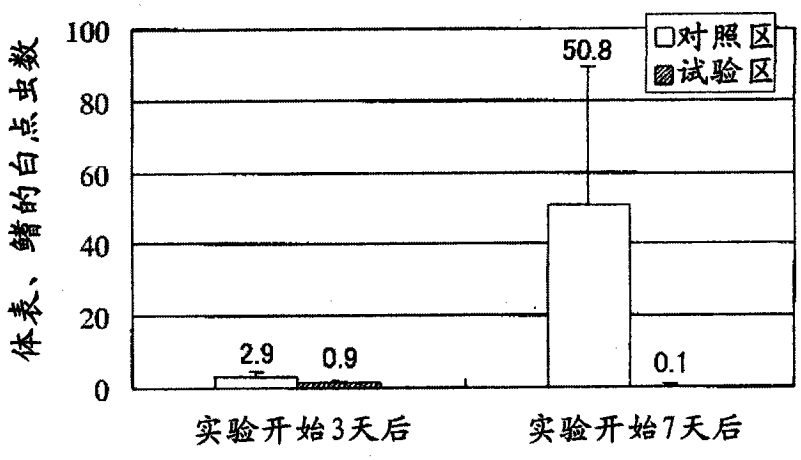

体表、鳍的白点虫数
100
80
60
40
20
0
2.9
0.9
50.8
0.1
□对照区
▨试验区
实验开始3天后
实验开始7天后

图 19

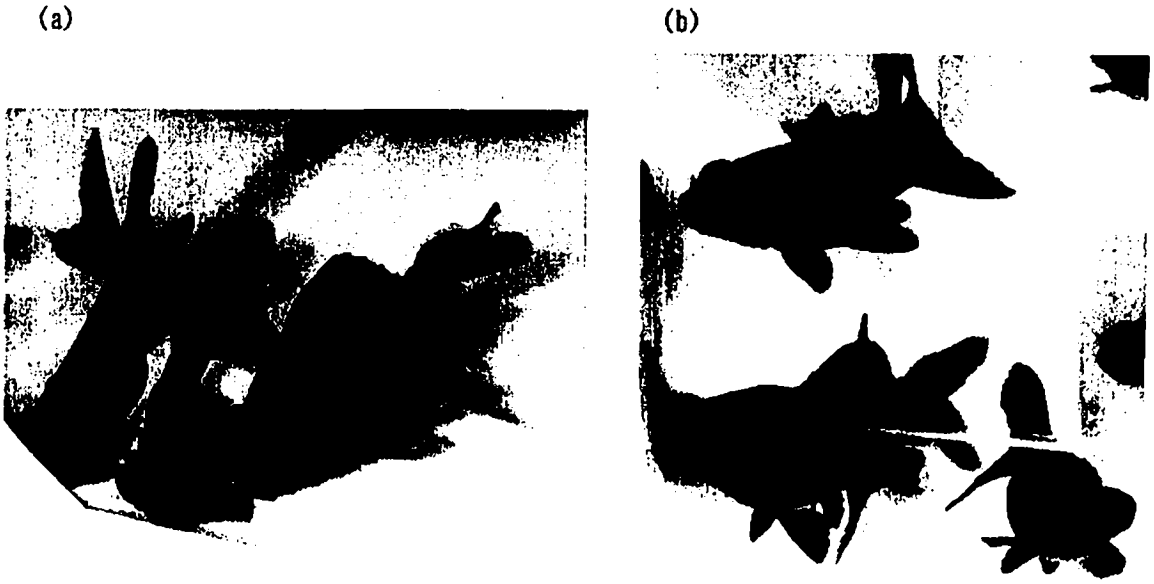

(a)
(b)

图 20