

# 中华鳖日本品系体内氟苯尼考 药物代谢动力学研究

张海琪<sup>①②</sup> 林静<sup>②</sup> 黎飞<sup>②</sup> 杜伟<sup>②</sup> 王扬<sup>②</sup>

① 浙江大学生命科学学院 杭州 310058; ② 浙江省水产质量检测中心 杭州 310012

**摘要:** 应用液相色谱-串联质谱技术研究了氟苯尼考在中华鳖日本品系 (*Pelodiscus sinensis* Japanese strain) 体内的残留代谢规律。在 (25.0 ± 2.0) °C 水温下, 150 只体重为 (250 ± 50) g 健康中华鳖日本品系连续 7 d 投喂含 30 mg/kg 氟苯尼考的饲料, 分别于最后一次给药后 1 h、2 h、4 h、8 h、16 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h、168 h、240 h、360 h 采集肝、血液、肌肉和肾样品。样品中氟苯尼考的残留量采用乙酸乙酯提取, 正己烷净化, 电喷雾负离子多反应监测模式下进行测定, 内标法定量, 并利用 3P97 药动学软件进行数据分析。结果表明, 氟苯尼考在中华鳖日本品系血液、肌肉、肝和肾中达峰浓度分别为 167 μg/kg、188 μg/kg、67.15 μg/kg 和 85.71 μg/kg, 达峰时间分别为 4 h、8 h、8 h 和 8 h, 消除半衰期分别为 14.9 h、9.4 h、29.5 h 和 13.0 h, 药动学方程分别为:  $C_{\text{血液}} = 210.332e^{-0.0706t} + 938.161e^{-0.0465t}$ ,  $C_{\text{肌肉}} = 5642.635e^{-0.0771t} + 5765.891e^{-0.0744t}$ ,  $C_{\text{肝}} = 111.596e^{-0.0360t} + 4.339e^{-0.0235t}$  和  $C_{\text{肾}} = 176.509e^{-0.0654t} + 615.697e^{-0.0536t}$ 。说明氟苯尼考在中华鳖日本品系体内残留代谢较快, 建议休药期为 15 d。

**关键词:** 中华鳖日本品系; 氟苯尼考; 药动学; 液相色谱-串联质谱

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2013)03-465-09

## Pharmacokinetics of Florfenicol in *Pelodiscus sinensis* Japanese Strain

ZHANG Hai-Qi<sup>①②</sup> LIN Jing<sup>②</sup> LI Fei<sup>②</sup> DU Wei<sup>②</sup> WANG Yang<sup>②</sup>

① College of Life Sciences, Zhejiang university, Hangzhou 310058;

② Zhejiang Fisheries Quality Testing Centre, Hangzhou 310012, China

**Abstract:** Pharmacokinetics of florfenicol were studied in tissues from *Pelodiscus sinensis* Japanese strain using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. One hundred fifty healthy soft-shell turtles with the weight of 250 ± 50 g were adnubstered florfenicol at a dosage of 30 mg/kg for 7 consecutive days under the temperature of 25.0 ± 2.0 °C. After the last feeding, tissues including blood, muscle, liver and kidney were collected at 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h, 144 h, 168 h, 240 h and 360 h, respectively. Florfenicols in different tissues were extracted with ethyl acetate, cleaned by hexane, and detected by HPLC-MS/MS with negative electrospray ionization under multiple reaction monitoring. Quantitative analysis was used by internal standard method. Results showed that: The peak times of concentrations of florfenicol in plasma, muscle, liver and kidney were 4 h, 8 h, 8 h and 8 h, with the maximum content of 167 μg/kg, 188 μg/kg, 67.15 μg/kg and 85.71 μg/kg, respectively. The elimination half life was 14.9 h, 9.4 h, 29.5 h and 13.0 h.

**基金项目** 浙江省科技厅重大攻关项目 (No. 2009C12075), 浙江省重点标准化研究项目 (No. 2008-6);

**第一作者介绍** 张海琪, 男, 高级工程师; 研究方向: 水产种质与质量安全; E-mail: zmk407@126.com。

**收稿日期:** 2012-09-10, **修回日期:** 2013-01-08

The concentration-time curves of florfenicol in blood, liver, muscle and kidney were:  $C_{\text{blood}} = 210.332 e^{-0.0706t} + 938.161 e^{-0.0465t}$ ,  $C_{\text{muscle}} = 5642.635 e^{-0.0771t} + 5765.891 e^{-0.0744t}$ ,  $C_{\text{liver}} = 111.596 e^{-0.0360t} + 4.339 e^{-0.0235t}$  and  $C_{\text{kidney}} = 176.509 e^{-0.0654t} + 615.697 e^{-0.0536t}$ , respectively. Florfenicol was absorbed and eliminated fast in *P. sinensis* Japanese strain. The withdraw period should not be less than 15 d under this experiment condition.

**Key words:** *Pelodiscus sinensis* Japanese strain; Florfenicol; Pharmacokinetics; High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

氟苯尼考是替代氯霉素和甲矾霉素的新一代氯霉素类抗生素,为白色或类白色结晶性粉末、无臭、味苦,在二甲基甲酰胺中极易溶解,在甲醇中溶解,在冰醋酸中略溶,在水或氯仿中微溶解(赵汉取等 2007)。因其具有很强的抗菌活性,对大多数革兰氏阳性菌及阴性菌都有作用,因此广泛应用于水产养殖中,国内外已有氟苯尼考在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) (Lundén et al. 1999)、鳕(*Gadus morhua*) (Samuelsen et al. 2004)、大西洋鲑(*Salmo salar*) (Martinsen et al. 1993)、中国明虾(*Fenneropenaeus chinensis*) (李静云等 2004)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*) (田丽粉 2009)、鲫(*Carassius auratus*) (刘海侠等 2011)以及多种鱼类(Chue et al. 2002)等水产动物上的研究报道,在中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)中也有相关报道(朱丽敏等 2006),但未见针对国家水产新品种中华鳖日本品系的相关研究。

中华鳖是浙江省第一大水产养殖品种,2011年产量为13.28万吨,产值约70亿元,约占全国养殖中华鳖的50%,但中华鳖养殖病害较多。随着我国中华鳖新品种的育成,中华鳖日本品系因其生长、品质等优异,逐渐成为主要中华鳖养殖品种。因药动学受种类和环境条件等因素影响,不同的养殖种类对同一药物的吸收和消除速率不同(孙红祥等 2002),故极有必要开展氟苯尼考在中华鳖日本品系体内的药动学研究。

本实验以氟苯尼考人为加入饲料中制作成药饵口服给药,应用高效液相色谱-串联质谱(high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)法分别测定

中华鳖日本品系经过连续7d给药后各组织中氟苯尼考的残留变化规律,旨在获得氟苯尼考在中华鳖日本品系体内不同组织的代谢特征及规律,为氟苯尼考的安全合理用药及休药期的制定提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 实验主要仪器与设备** 高效液相色谱仪(Agilent); API 4000 三重四极杆串联质谱仪(配有电喷雾离子源)(ABI公司); Milli-Q 超纯水器(法国 Milli); OA-SYSTEM 氮吹仪(美国); 高速离心机; 均质器。

**1.1.2 实验药品与试剂** 氟苯尼考标准品(纯度>99%), 氘代氯霉素内标标准品(纯度>99%), 乙酸乙酯(色谱纯), 正己烷(色谱纯) 氨水(分析纯), 无水硫酸钠(分析纯), 甲醇、乙腈(色谱纯): 购自 TEDIA 公司; 实验用水为 Milli-Q 超纯水, 符合国家一级用水要求; 肝素钠为分析纯。

**1.1.3 实验对象** 中华鳖 150 只来自杭州天福生物科技有限公司, 体重为(250 ± 50) g, 体质健壮, 行动活泼, 无伤残, 无畸形。实验前驯养 7 d, 检测本底含量, 均未测出有氟苯尼考, 然后正式实验。

### 1.2 方 法

**1.2.1 样品采集** 根据渔药供应商提供的使用说明书和药物最小抑菌浓度制作氟苯尼考浓度 30 mg/kg 的配合饲料。在(25 ± 2)℃水温下, 采用大棚水泥池控温养殖中华鳖日本品系, 连续给药饵 7 d, 日投喂总量为体重的 1% ~ 2%, 每天 8:00 时和 16:00 时各投喂一次, 投放

于食台上,以半小时之内吃完为止,7 d 日平均投饲率为 1.5%。自最后一次投喂之后按 1 h、2 h、4 h、8 h、16 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h、168 h、240 h 和 360 h 进行取样,每个采集时间点从养殖池塘中随机捕捞 9 只中华鳖,以 3 只的组织混合为 1 组,3 个平行,取血液于肝素处理过的离心管中,取肝、肌肉及肾组织分别保存于无菌的采样袋中, - 20℃ 冰箱保存待测定。

**1.2.2 检测前处理方法** 参照 GB/T 20756-2006 方法(国家标准 2006)略作改动后进行测定,具体步骤如下:称取一定量的各组织样品(血液、肝和肌肉均为 5 g,肾样品按实际重量称样,精确至 0.01 g)于 50 ml 聚丙烯离心管,加入 15 ml 乙酸乙酯,用微型高速万能试样粉碎机对样品进行均质 30 s,均质后用 5 ml 乙酸乙酯洗刀头,清洗液并入 50 ml 离心管,加入 20 μg/L 氘代氯霉素 200 μl,0.45 ml 氨水,5 g 无水硫酸钠,于涡旋混合仪中涡旋 30 s,4 500 r/min 离心 5 min,上清液移至 50 ml 比色管中,下层残渣加入 15 ml 乙酸乙酯,0.45 ml 氨水,用玻璃棒搅动下层残渣,于涡旋混合仪中涡旋 30 s,超声波提取 5 min,4 500 r/min 离心 5 min,合并提取液于 50 ml 比色管中,用乙酸乙酯定容至 50 ml,移取 10 ml 至试管,用氮气吹干。加入 1 ml 水溶解,加入 2 ml 正己烷涡旋混合 30 s,静置分层,弃除上层正己烷,再加入 2 ml 正己烷涡旋混合 30 s,静置分层,以 2 500 r/min,离心 5 min,过 0.2 μm 水相滤膜后,供液相色谱-串联质谱测定。

**1.2.3 仪器测定条件** 色谱条件,色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm × 150 mm × 5 μm),柱温 35℃,进样量 20 μl。流动相梯度洗脱程序见表 1。

质谱条件为,离子源:电喷雾离子源负离子模式(negative electrospray ionization, ESI<sup>-</sup>);扫描方式:多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM);电喷雾电压(ionspray voltage, IS): - 4 500 V;辅助气流速(aux gas flow, AUX): 8 L/min;离子源温度(ion source

temperature, TEM): 500℃。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure of mobile phase

步骤 Procedure	时间 (min) Time	流量 (μl/min) Rate of flow	甲醇 (%) Methanol	纯水 (%) H <sub>2</sub> O
0	0.00	200	35	65
1	1.00	200	35	65
2	3.00	200	75	25
3	5.00	200	75	25
4	5.10	200	35	65
5	10.00	200	35	65

**1.2.4 标准曲线制备** 取 6 支试管分别加入 20 μg/L 氟苯尼考标准溶液 0 μl、25 μl、50 μl、250 μl、500 μl、1 000 μl 和内标 20 ng/ml 氘代氯霉素 200 μl,氮气吹干后,用 1 ml 纯水溶解,过滤膜后供液相色谱-串联质谱测定。

**1.2.5 方法的回收率测定** 分别称取空白血液、肌肉、肝、肾样品各 5 g,采用加标回收法,分别添加 20 μg/L 氟苯尼考标准储备液 0 μl、250 μl、500 μl、1 000 μl,混匀 30 min 后,按照前处理方法实验,HPLC-MS/MS 测定氟苯尼考浓度,内标法进行定量分析。

**1.3 数据处理** 药代动力学模型拟采用 3P97 软件进行数据处理,得出药动学参数。休药期的计算参考林茂等(2011)的方法进行计算。

## 2 结果

**2.1 色谱和质谱条件的优化** 根据氟苯尼考的理化性质和分子量,采用流动注射的方式,将高浓度的标准工作溶液分别注入离子源中,一级质谱 Q1 扫描获得母离子峰,然后进行二级质谱 Q2 扫描,得到碎片离子信息(图 1),然后分别筛选两个离子强度较高的离子与母离子组建成 MRM 离子对,质荷比 m/z 为 356.1/335.9 和 356.1/185.1,再对去簇电压、聚焦电压、碰撞气、碰撞能量、电喷雾电压等质谱参数进行优化。最后以流动注射分析(flow inject analysis, FIA)方式优化雾化气、气帘气、电喷雾电压、辅助气温度等参数,获取最优化的质谱条件。

根据欧盟兽药残留检测规定确认点数

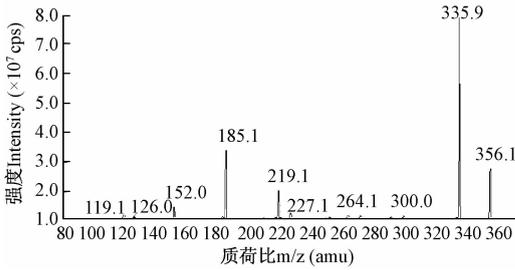


图 1 氟苯尼考的二级扫描质谱图

Fig.1 MS2 full scan mass spectrogram of florfenicol

(identified piont, IP) 不少于 4 的要求, 选取 2 个特征子离子  $m/z = 356.1/335.9$  和  $356.1/185.1$ , 进行多反应监测, 优化去簇电压、聚焦电压、碰撞气、碰撞能量等质谱参数, 以碰撞能量对离子对的丰度影响较大。图 2 分别显示了碰撞能量的优化结果。

经过对质谱条件的优化, 选取了适合的质谱条件作为测定条件, 优化后的部分质谱条件见表 2。

**2.2 样品前处理条件的优化** 氯霉素、甲矾霉素、氟苯尼考易溶于乙酸乙酯、乙腈, 因此采用乙酸乙酯、乙腈等均可作为提取溶剂。本实验表明, 采用乙酸乙酯可获得较高的氟苯尼考回收率, 因此本实验选用碱化乙酸乙酯作为提取溶剂。分别比较了 30%、20%、10%、5% 乙腈水溶液, 30%、20%、10% 甲醇水溶液和纯水作样品溶剂, 结果发现 10% 乙腈水溶液和水均取得较高的峰强度, 但是实际样品中, 10% 乙腈水溶液作定容溶液, 经正己烷脱脂时, 乳化现象严重。故选用纯水作为定容溶液。图 3 和图 4 分别显示了中华鳖肌肉空白样品和阳性样品中氟苯尼考的色质谱图。

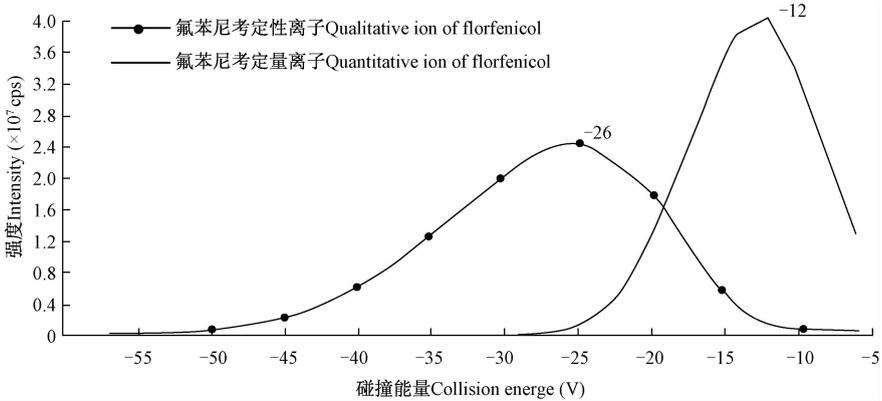


图 2 碰撞能量的优化结果

Fig.2 Optimization of collision energy

表 2 优化后的部分质谱条件

Table 2 Mass spectrometry condition after optimization

参数 Parameter	采用数值 Adoptive value
母离子 Precursor ion	356.1
子离子 Daughter ion	335.9(定量); 185.1(定性)
聚焦电压 Declustering potential(V)	-50
碰撞能量 Collision energy(V)	-12(定量); -26(定性)
电喷雾电压 Ionspray voltage(V)	-4 500
汽化温度 Drying gas temperature(℃)	500
雾化气 Nebulizing gas (psi)	50
辅助加热气 Heater gas (psi)	35
碰撞气 Collision gas (psi)	中等
入口电压 Entrance potential(V)	-10
出口电压 Collision cell exit potential(V)	-10

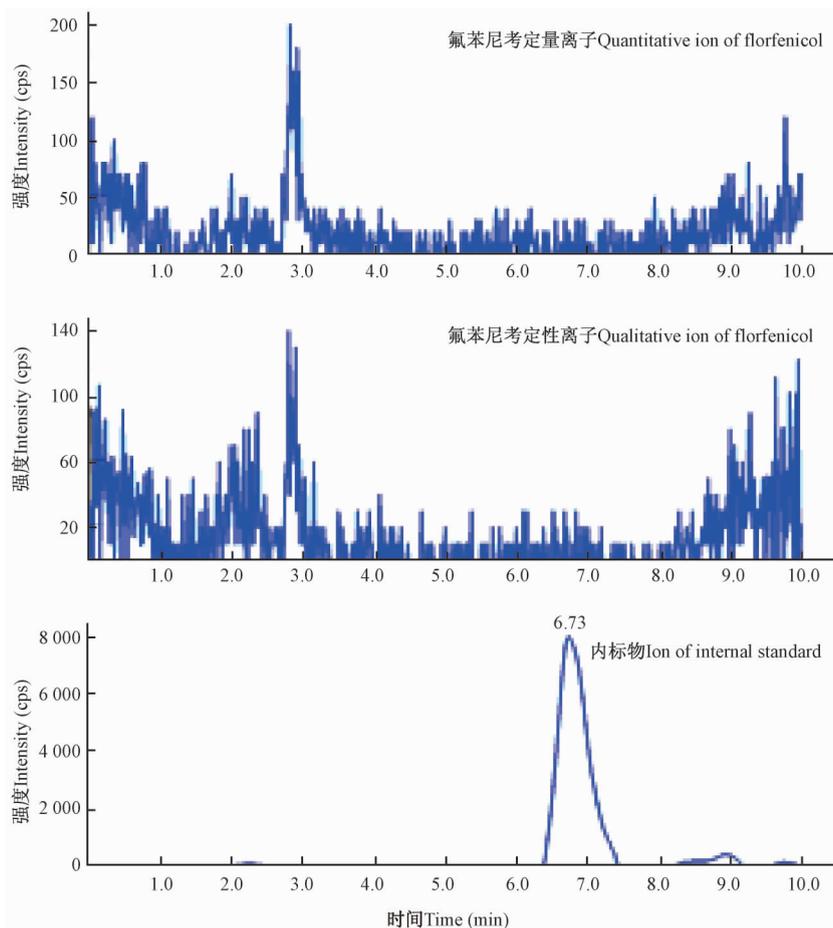


图3 肌肉空白样品的色谱图

Fig. 3 Chromatogram of florfenicol in blank muscle sample

**2.3 氟苯尼考标准曲线和灵敏度** 以测得氟苯尼考峰面积与氯霉素内标峰面积之比为纵坐标,对相应浓度作线性回归,并制作标准曲线,得回归方程  $y = 0.162x - 0.0364$  (式中的  $x$  为浓度比,  $y$  为定量离子对峰面积比值),在氟苯尼考的浓度为  $0 \sim 20 \mu\text{g/L}$  范围内具有很好的相关性 ( $r = 0.9992$ ),按信号 (signal,  $S$ ) 与噪音 (noise,  $N$ ) 的比值  $S/N = 3$  计算,最低检测浓度

为  $0.5 \mu\text{g/L}$ 。

**2.4 方法的回收率** 以空白基质样品添加3种不同水平的氟苯尼考,经上述条件测定,内标法计算,其回收率结果表明,方法准确可靠(表3)。

**2.5 氟苯尼考在组织中的浓度** 对14个时间点,每个时间点3组平行的血液、肝、肌肉和肾样品中氟苯尼考残留检测,实测结果见表4。

可以发现,在停止给药初期,血液中氟苯尼

表3 氟苯尼考在中华鳖日本品系4种组织中的回收率

Table 3 Recoveries of florfenicol in four different tissues from *Pelodiscus sinensis* Japanese strain

添加浓度 ( $\mu\text{g/kg}$ ) Additive concentration	血液回收率 (%) Recovery rate of blood	肝回收率 (%) Recovery rate of liver	肌肉回收率 (%) Recovery rate of muscle	肾回收率 (%) Recovery rate of kidney
1	101	98.6	95.1	94.2
2	100	84.7	103.0	88.6
4	102	87.9	104.0	85.5

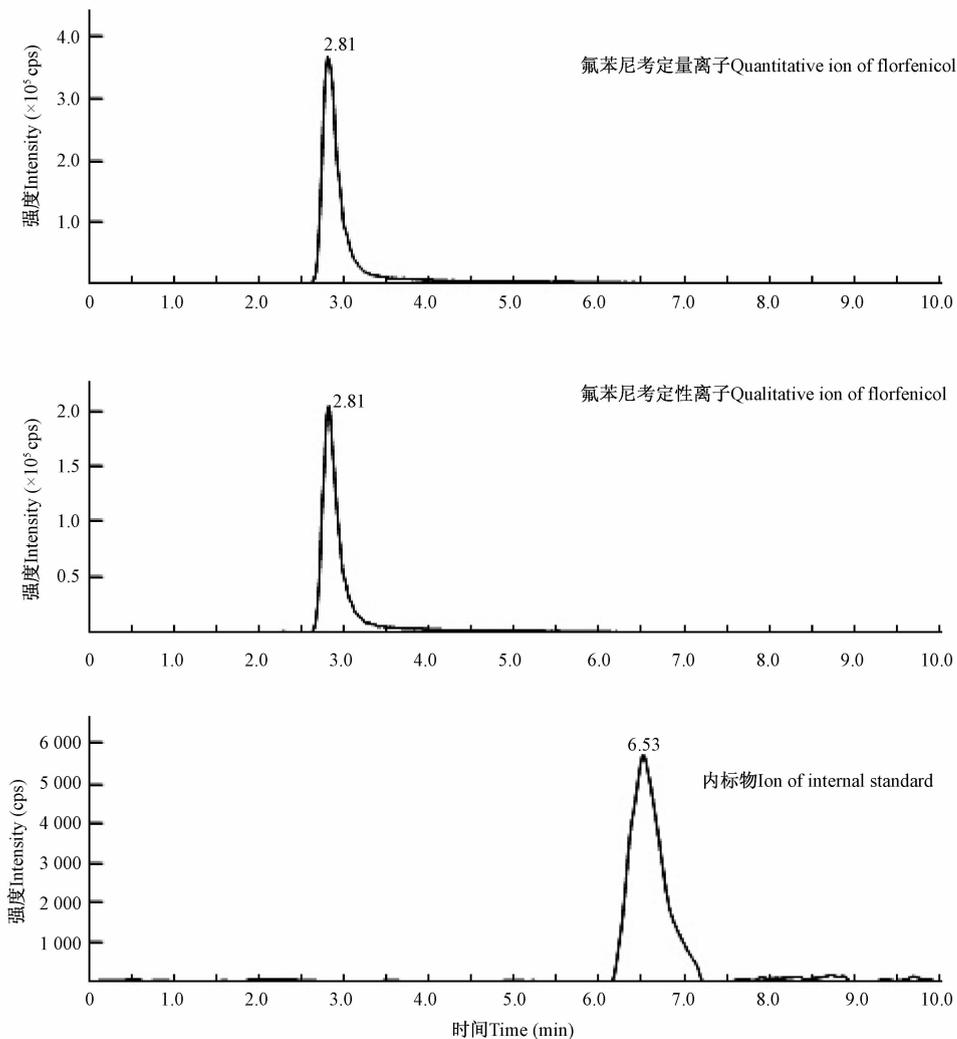


图4 肌肉阳性样品中氟苯尼考的色谱图

Fig. 4 Chromatogram of florfenicol in positive muscle sample

考的含量不断增大,峰值出现在4 h之后,此时的浓度为167  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。随后,就迅速下降,直到144 h时,血液中检测不出氟苯尼考的含量。肌肉中氟苯尼考的含量随着血液循环作用,肌肉中的峰值出现在8 h,最高浓度为188  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。随后,一直下降,到168 h时肌肉中检测不出氟苯尼考。肾中氟苯尼考的变化趋势与肌肉相似,也是在8 h出现最高峰值,浓度为67.15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。随后一直下降,到168 h肾中不再有氟苯尼考检出。肝中氟苯尼考的变化呈先下降,后上升趋势,在8 h出现最高峰值,浓度为85.71  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。随后一直下降,到360 h肝中不再有氟苯尼考检出。

**2.6 药动学参数的计算** 通过3P97药动学分析软件,分别计算了氟苯尼考在中华鳖血液、肾、肝和肌肉中的药动学参数。经过分析,氟苯尼考在中华鳖血液、肾、肝、肌肉中的代谢符合二室模型,药动学参数见表5。建立的药动学方程分别为: $C_{\text{血液}} = 210.332 e^{-0.0706t} + 938.161 e^{-0.0465t}$ ,  $C_{\text{肝}} = 111.596 e^{-0.0360t} + 4.339 e^{-0.0235t}$ ,  $C_{\text{肌肉}} = 5642.635 e^{-0.0771t} + 5765.891 e^{-0.0744t}$ 和  $C_{\text{肾}} = 176.509 e^{-0.0654t} + 615.697 e^{-0.0536t}$ 。式中的 $C$ 为浓度( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), $t$ 为停药后的时间(h)。

表 4 中华鳖日本品系组织样品中的氟苯尼考残留量( $n=3$ )Table 4 Concentration of florfenicol in four different tissues from *Pelodiscus sinensis* Japanese strain

取样时间点 Sampling time (h)	血液测定浓度 Concentration in blood ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	肝测定浓度 Concentration in liver ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	肌肉测定浓度 Concentration in muscle ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	肾测定浓度 Concentration in kidney ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	68.15 ± 6.45	69.90 ± 4.52	124.00 ± 6.45	30.90 ± 4.51
2	92.96 ± 7.12	59.89 ± 3.96	99.70 ± 7.87	27.20 ± 5.23
4	167.00 ± 8.25	31.28 ± 2.79	131.70 ± 05.36	22.10 ± 3.17
8	145.20 ± 6.12	85.71 ± 3.19	188.00 ± 7.27	67.15 ± 5.93
16	115.70 ± 11.89	35.59 ± 1.89	111.30 ± 10.46	43.95 ± 4.13
24	86.90 ± 6.34	29.17 ± 2.57	80.80 ± 8.21	37.30 ± 3.14
48	65.73 ± 3.79	20.08 ± 3.15	53.25 ± 7.31	24.55 ± 3.25
72	39.95 ± 4.59	14.52 ± 2.37	35.80 ± 5.39	8.45 ± 2.40
96	10.37 ± 1.46	3.67 ± 1.69	6.15 ± 2.16	1.60 ± 1.24
120	3.33 ± 0.73	1.06 ± 0.69	0.75 ± 0.29	1.15 ± 0.55
144	未检出	1.02 ± 0.45	0.55 ± 0.16	0.90 ± 0.39
168	未检出	1.01 ± 0.27	未检出	未检出
240	未检出	0.78 ± 0.29	未检出	未检出
360	未检出	未检出	未检出	未检出

表 5 氟苯尼考在中华鳖日本品系组织中的药动学参数

Table 5 Pharmacokinetic parameters of florfenicol in four different tissues from *Pelodiscus sinensis* Japanese strain

参数 Parameter	单位 Unit	血液 Blood plasma	肝 Liver	肌肉 Muscle	肾 Kidney
$A$	$\mu\text{g}/\text{kg}$	210.332	111.596	5 642.635	176.509
$\alpha$	1/h	0.070 6	0.036 0	0.077 1	0.065 4
$B$	$\mu\text{g}/\text{kg}$	938.161	4.339	5 768.891	615.697
$\beta$	1/h	0.046 5	0.023 5	0.074 4	0.053 6
$K_a$	1/h	0.070 1	0.111	0.078 5	0.066 4
$T_{(1/2)\alpha}$	h	9.9	19.3	9.0	10.6
$T_{(1/2)\beta}$	h	14.9	29.5	9.4	13.0
$T_{(1/2)K_a}$	h	9.9	6.3	8.9	10.5
$K_{21}$	1/h	0.070 7	0.024 0	0.076 4	0.065 2
$K_{10}$	1/h	0.046 5	0.035 2	0.075 0	0.053 8
$K_{12}$	1/h	-0.000 034	0.000 270	0.000 018	0.000 045
$AUC$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{kg}$	6 765.984	2 241.501	5 523.563	2 264.008
$CL_s$	$\text{L}/(\text{h}\cdot\text{kg})$	0.000 148	0.000 446	0.000 181	0.000 442
$WDT$	d	5.4	0.7	6.7	4.8

$A$ :  $t=0$  时分布相的起始浓度;  $B$ :  $t=0$  时消除相的起始浓度;  $\alpha$ : 在二室模型描述药物在体内分布的表现一级混合速率常数;  $\beta$ : 在二室模型描述药物在体内消除的表现一级混合速率常数;  $K_a$ : 吸收速率常数;  $T_{(1/2)\alpha}$ : 分布半衰期;  $T_{(1/2)\beta}$ : 消除半衰期;  $T_{(1/2)K_a}$ : 吸收半衰期;  $K_{21}$ : 药物由周边室向中央室转运的速率常数;  $K_{10}$ : 药物由中央室消除的速率常数;  $K_{12}$ : 药物由中央室向周边室转运的速率常数;  $AUC$ : 药时曲线下面积;  $CL_s$ : 整体清除率;  $WDT$  为休药期。

$A$ : Initial concentration of distribution phase;  $B$ : Initial concentration of elimination phase;  $\alpha$ : Apparent first-order absorption rate constant;  $\beta$ : Apparent first-order elimination rate constant;  $K_a$ : Absorption rate constant;  $T_{(1/2)\alpha}$ : Absorption half-life;  $T_{(1/2)\beta}$ : Elimination half-life;  $T_{(1/2)K_a}$ : Absorption half-life in central compartment;  $K_{21}$ : Transfer rate constant from tissue compartment to central compartment;  $K_{10}$ : Elimination rate constant from central compartment;  $K_{12}$ : Transfer rate constant from central compartment to tissue compartment;  $AUC$ : Area under the plasma concentration-time curve;  $CL_s$ : Total clearance;  $WDT$ : Withdrawal time.

### 3 讨 论

**3.1 不同组织的差异** 氟苯尼考在中华鳖日本品系血液、肾、肌肉和肝中的代谢有较大差异,氟苯尼考在肌肉中的浓度较其他组织要高。血液在 4 h 的时候,氟苯尼考浓度最快达到峰值,为 167  $\mu\text{g/L}$ ,而肌肉、肾与肝中的峰值都出现在 8 h。从 1~8 h 的过程来看,血液浓度先升后降,肌肉、肾和肝中药物的变化规律与血液不尽相同。氟苯尼考在中华鳖日本品系肝、肌肉、血液和肾中的消除半衰期分别为 29.5 h、9.4 h、14.9 h 和 13.0 h,高于朱丽敏等(2006)氟苯尼考在中华鳖血液和肌肉中的半衰期(3.63 h 和 5.28 h)的研究结果,这可能与水温、给药持续时间及不同品系中华鳖的差异有关。氟苯尼考在不同水生生物体内的代谢规律不尽相同。刘海侠等(2011)研究了口服氟苯尼考在鲫鱼血液中的半衰期为 16.7 h,田丽粉(2009)研究表明氟苯尼考在牙鲆体内的消除半衰期为 32.09~41.23 h,林茂等(2011)研究表明氟苯尼考在日本鳗鲡(*Anguilla japonicus*)和欧洲鳗鲡(*A. anguilla*)血液中半衰期分别为 7.8 d 和 8.3 d,潘红艳等(2011)研究了氟苯尼考在鲟鱼(*Acipenser sturio*)中的半衰期为 9.45 h。与它们相比,氟苯尼考在中华鳖日本品系体内的消除速度与鲫鱼、鲟鱼接近,快于牙鲆、日本鳗鲡和欧洲鳗鲡。不同化合物在中华鳖体内代谢也有较大差异。诺氟沙星在中华鳖血液中的消除半衰期为 4.24 h(陈文银等 1997),磺胺甲基异恶唑在中华鳖肌肉和血液的消除半衰期分别为 168.736 h 和 67.346 h(尹文林等 2004b),红霉素在中华鳖血液、肌肉和肝内的消除半衰期分别为 13.024 h、10.449 h 和 52.460 h(尹文林等 2004a)。不管是氟苯尼考在不同生物体内,还是不同药物在中华鳖血液内的消除半衰期相比较,表明氟苯尼考在中华鳖日本品系体内的消除速度较快。

**3.2 关于给药方案和休药期的探讨** 药物在生物体内的代谢过程和消除规律是制定给药方

案和休药期的理论基础。制定给药方案时主要考虑药物在动物体内的血药浓度和最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。从文献报道的结果可知,氟苯尼考对水产常见病病原菌 MIC 的范围为 0.000 98~16 mg/L(徐力文等 2005)。朱丽敏等(2006)通过肌肉注射和单次口服氟苯尼考在中华鳖体内残留分析及药代动力学的研究发现,水温 30 $^{\circ}\text{C}$  下肌肉注射和口服氟苯尼考的半衰期分别为 4.48 h 和 3.63 h,建议采用口服给药方式。为了取得较为理想的治疗效果,临床常需多次给药以维持一定的血药水平。结合实际养殖生产,本实验在 25 $^{\circ}\text{C}$  下采用连续 7 d 给药 30 mg/kg 氟苯尼考,该浓度在水产常见病病原菌 MIC 的范围内,可以起到治疗的效果。结果表明氟苯尼考在中华鳖日本品系肝中的半衰期最长,为 29.5 h;肌肉中的半衰期最短,为 9.4 h。水温越低、给药时间越长,其半衰期也相对延长,因此本实验结果与朱丽敏等(2006)的报道是相吻合的。休药期是指最后停止给药日至水产品作为食品上市出售的最短时间,一般参考药物的最大残留限量(maximum residue limit, MRL)值来制定。我国、美国和欧盟规定氟苯尼考的 MRL 为 1 mg/kg,日本则要求更严,规定鱼类氟苯尼考的 MRL 为 0.2 mg/kg(林茂等 2011),其他水生动物为 0.1 mg/kg。在本实验的环境、给药剂量和高灵敏度检测条件下,根据林茂等(2011)的方法计算出氟苯尼考在中华鳖日本品系血液、肝、肌肉和肾中的休药期分别为 5.4 d、0.7 d、6.7 d 和 4.8 d,以肌肉中为最长。综合考虑到中华鳖日本品系的个体差异及水温环境等因素的影响,建议氟苯尼考的休药期为 7 d。在食品安全高度重视下,消费者对无抗生素食品的要求越来越高。如按无抗生素残留的要求,到 15 d 时中华鳖日本品系所有组织不再有氟苯尼考检出,因此建议其休药期延长至 15 d。

### 参 考 文 献

- Chue V, Larry J S, Guy R S, et al. 2002. Liquid chromatographic determination of florfenicol in the plasma of

- multiple species of fish. *Journal of Chromatography B*, 780 (1): 111–117.
- Lundén T, Miettinen S, Lönnström L G, et al. 1999. Effect of florfenicol on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 67(4): 317–325.
- Martinsen B, Horsberg T E, Varma K J, et al. 1993. Single dose pharmacokinetic study of florfenicol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater at 11°C. *Aquaculture*, 112(1): 1–11.
- Samuelson O B, Bergh Ø. 2004. Efficacy of orally administered florfenicol and oxolinic acid for the treatment of vibriosis in cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 235(1/4): 27–35.
- 陈文银, 印春华. 1997. 诺氟沙星在中华鳖体内的药代动力学研究. *水产学报*, 21(4): 434–437.
- 国家标准. 2006. 可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱-串联质谱法. GB/T 20756-2006.
- 李静云, 王群, 李健, 等. 2004. 氟苯尼考在中国对虾组织内的代谢动力学及残留消除规律. *水产学报*, 28(增刊): 63–68.
- 林茂, 王雪虹, 姚志贤. 2011. 氟苯尼考在两种鳗鲡体内残留及消除规律的研究. *集美大学学报: 自然科学版*, 16(2): 45–50.
- 刘海侠, 刘晓强, 张振龙, 等. 2011. 氟苯尼考单剂量腹腔注射和灌服后在鲫鱼体内的药代动力学. *西北农业学报*, 20(5): 54–58.
- 潘红艳, 郭娇娇, 杨虎, 等. 2011. 氟苯尼考在鲟鱼体内的药物代谢动力学研究. *水产科学*, 30(7): 354–359.
- 孙红祥, 舒妙安. 2002. 中华鳖几种常见疾病病原的分离鉴定及药敏实验. *中国兽医学报*, 22(2): 140–142.
- 田丽粉. 2009. 氟苯尼考在牙鲆体内的药代动力学及残留消除规律研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 15–44.
- 徐力文, 廖昌容, 刘广锋. 2005. 氟苯尼考用于水产养殖的安全性. *中国水产科学*, 12(4): 512–518.
- 尹文林, 沈锦玉, 钱冬, 等. 2004a. 红霉素在中华鳖体内的药代动力学及中长期残留的研究. *水产学报*, 28(增刊): 69–72.
- 尹文林, 沈锦玉, 钱冬, 等. 2004b. 磺胺甲基异恶唑在中华鳖体内药代动力学及残留研究. *水产学报*, 28(增刊): 58–62.
- 赵汉取, 王雨晨, 袁韦肖, 等. 2007. 新一代抗生素——氟苯尼考及其在水产养殖中的应用. *水产科技情报*, 34(4): 165–168.
- 朱丽敏, 杨先乐, 林启存, 等. 2006. 肌注和口服氟苯尼考在中华鳖体内残留分析及药代动力学. *水产学报*, 30(4): 515–519.

## 勘 误

本刊2013年48卷第2期第219页刊出了短文“北京小龙门发现淡尾鸬莺”(作者:王代平 黄希 夏灿玮)。

由于排版的失误,文中第二段“北京小龙门个体灰色,顶冠纹不超过眼先、金黄色的眼圈完整、无明显翼斑、外侧两对尾羽内羽片末端白色。”出现错误,应更正为“北京小龙门个体的灰色顶冠纹不超过眼先、金黄色的眼圈完整、无明显翼斑、外侧两对尾羽内羽片末端白色。”

特此更正,并对作者及读者表示深深的歉意!