

文章编号:1001-5132(2007)01-0023-04

# 氟苯尼考在南美白对虾体内药物代谢及 残留消除规律

郑重莺, 丁雪燕, 张海琪, 薛辉利, 姚高华, 何 丰

(浙江省水产技术推广总站, 浙江 杭州 310012)

摘要: 研究了南美白对虾口服氟苯尼考药饵给药后, 在血液、肌肉中的残留及消除规律, 采用 Agilent 1100 型液相色谱仪测定组织中药物含量。口服给药后血液中氟苯尼考浓度在 1 h 立即达到峰值, 药物开始向肌肉组织中运转, 血药浓度在 1 h 后下降, 而肌肉中浓度达到峰值; 此后无论血液还是肌肉中氟苯尼考浓度均缓慢下降, 到 10 d 后血液中的氟苯尼考不能检出。口服氟苯尼考后, 在南美白对虾体内吸收快, 血药浓度高; 药物在肌肉中消除缓慢, 维持时间长。

关键词: 氟苯尼考; 血液; 肌肉; 药代动力学

中图分类号: S945.4

文献标识码: A

氟苯尼考(flornfenicol)是种氯霉素类广谱抗菌药物, 于 1999 年被批准投入用于防治细菌性疾病, 由于其结构中不含氯霉素中抑制骨髓造血机能有关的—NO<sub>2</sub>基团, 大大降低了对动物和人体的毒性, 在安全性和有效性方面比氯霉素和甲砒霉素具有明显的优势<sup>[1]</sup>。目前氟苯尼考已成为专用于水产饲料的替代常规氯霉素抗生素类药物之一, 广泛应用于防治细菌性疾病, 国内外已有氟苯尼考在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[2]</sup>、鳕(*Gadus morhua*)<sup>[3]</sup>、中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)<sup>[4]</sup>、中华鳖(*Trionyx smells*)<sup>[5]</sup>和几种淡水鱼(河鲈、湖鲟、湖鳊、杂交条纹鲈等)<sup>[6]</sup>等水产动物上的研究报道。本次实验首次研究并探讨了氟苯尼考在南美白对虾血液和肌肉中的代谢情况及合理休药期, 为水产用药提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试样材料

氟苯尼考标准品, 纯度 99.0%, Augsburg 公司生产。Agilent 1100 型高效液相色谱仪(二极管阵列检测器), 电子天平、离心机、恒温振荡器、真空旋发仪。

试验用对虾平均规格 8.35 cm、7.48 g, 由杭州下沙周宏水产养殖场提供。配合饲料购自宁波天邦科技股份有限公司(原料经测定不含任何抗生素), 按 2% 比例在空白饲料中添加氟苯尼考, 制成药饵。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 给药

2005 年 10 月 8 日~11 月 5 日, 在周宏水产养

殖场育苗室 8 m<sup>2</sup>小型水泥池中进行. 对虾放养后第二天开始进食, 稳定 2 d后, 开始投喂药饵, 投喂 5 d后抽样并改喂普通饲料. 试验期间饲料 1 d投喂 2 次, 水深保持 30~40 cm, 水温 21.5~16℃, 比重 1.002 0, pH值 7.8, 并视水质情况适量换水和泼洒少量微生物制剂, 及时清除残饵和死虾.

### 1.2.2 缓冲液、流动相和标准溶液的配制

磷酸盐缓冲液(pH值 7.0): 准确称取磷酸氢二钠 7.164 g和磷酸二氢钠 2.76 g, 用超纯水中溶解并定容至 100 mL, 浓度均为 0.2 mol·L<sup>-1</sup>, 然后按磷酸氢二钠:磷酸二氢钠=61:39(V/V)的比例混合即成.

流动相: 乙腈:水=27:73(V/V).

准确称取氟苯尼考 10(1±0.1) mg, 流动相定容至 10 mL, 浓度为 1 mg·mL<sup>-1</sup>, 实验过程按要求用流动相稀释到适当浓度, 备用, 保存期 3 个月.

### 1.2.3 样品采集

以 5 d 药饵投喂结束后的 1 h 作为起始时间, 从该时刻起按 0.5 h、1 h、2 h、4 h、8 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、168 h、240 h、480 h 时间段, 每次随机抽取对虾样本 10 尾, 提取对虾的血液、肝胰腺、肌肉, 于 -18℃ 保存备用. 为防止血液凝固, 放置和提取血液的离心管和针筒均用 0.2% 肝素钠处理后使用.

### 1.2.4 样品处理

称取泥状样品 1.0 g 于 20 mL 离心管中. 加入 1 mL 磷酸盐缓冲液, 4 mL 乙酸乙酯, 均质后超声提取 30 min, 5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液于另一玻璃离心管中. 残渣中再加入 4 mL 乙酸乙酯, 重复提取一次, 合并上清液. 40℃ 水浴氮气吹干, 加入 1 mL 流动相, 1.0 mL 正己烷, 涡动 2 min 溶解离心管中的残留物, 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 弃去正己烷, 下层过 0.22 μm 滤膜, 待测.

### 1.2.5 色谱条件

ODS C<sub>18</sub>柱; 柱温 30℃; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量 20 μL; 紫外检测波长为 224 nm; 流动相: 乙腈:水=27:73(V/V).

### 1.2.6 回收率的确定

将 10 μg·mL<sup>-1</sup>、20 μg·mL<sup>-1</sup>、50 μg·mL<sup>-1</sup> 氟苯尼考标准液 1 mL 加入空白样品 10.0 g, 按 1.2.5 方法处理后, 上机测定. 每个水平重复 5 次. 计算绝对回收率.

绝对回收率 = (预处理后样品的药物峰面积 ÷ 溶于流动相的药物峰面积) × 100%.

## 2 测定结果

### 2.1 氟苯尼考线性范围和灵敏度

用浓度为 0.05、0.5、1.0、5.0、10.0 μg·mL<sup>-1</sup> 标准液上机测定. 结果表明, 氟苯尼考在 0.05~10.0 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好, 相关系数 r = 0.999 99. 将引起三倍基线噪音的药物浓度定义为最低检测限. 该方法的最低检测限为 0.05 μg·mL<sup>-1</sup>.

### 2.2 回收率的测定

以 1 μg·g<sup>-1</sup>、2 μg·g<sup>-1</sup>、5 μg·g<sup>-1</sup> 3 个水平分别测定在肌肉、血液中的回收, 每个水平重复 3 次, 求出平均回收率, 如表 1 所示.

表 1 氟苯尼考在 2 种组织中的回收率

浓度 / (μg·g <sup>-1</sup> )	肌肉 / %	血液 / %
1.0	100 ± 0.96	95.3 ± 0.23
2.0	97.8 ± 2.15	96.4 ± 1.05
5.0	98.0 ± 1.98	93.0 ± 1.21
平均值	98.6	94.9

### 2.3 氟苯尼考在两种组织中的浓度变化

表 2 列出了南美白对虾喂药后, 不同时间的肌肉、血液样品内经液相色谱检测所得平均药物浓度值; 氟苯尼考在肌肉、血液中药时曲线见图 1.

### 2.4 氟苯尼考在南美白对虾体内的消除情况

南美白对虾在口服氟苯尼考后, 0.5 h 后即可在肌肉、血液中检测到药物的存在, 浓度分别为 0.15 μg·g<sup>-1</sup> 和 0.53 μg·g<sup>-1</sup>, 在肌肉中 4 h 左右药物浓度达到最高, 为 0.36 μg·g<sup>-1</sup>; 血液中的药物浓度最高浓度为 1.08 μg·g<sup>-1</sup>, 随后浓度即开始下降. 氟苯尼考在肌肉中消除较慢, 20 d 时仍有低量检出,

表2 氟苯尼考在2种组织中的浓度

时间/h	肌肉/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	血液/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )
0.5	0.15 ± 0.01	0.53 ± 0.01
1	0.12 ± 0.00	1.08 ± 0.13
2	0.35 ± 0.03	0.99 ± 0.02
4	0.36 ± 0.03	0.86 ± 0.02
8	0.25 ± 0.01	0.52 ± 0.02
24	0.15 ± 0.00	0.40 ± 0.06
48	0.13 ± 0.01	0.35 ± 0.02
72	0.12 ± 0.01	0.32 ± 0.02
96	0.11 ± 0.01	0.30 ± 0.01
120	0.11 ± 0.01	0.37 ± 0.00
168	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.00
240	0.11 ± 0.00	N.D.
480	0.07 ± 0.00	N.D.

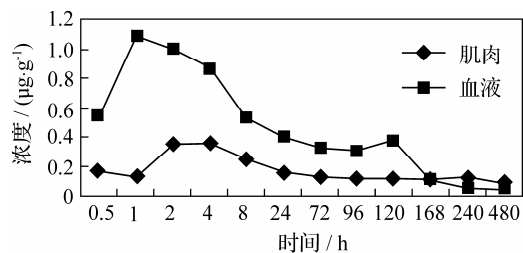


图1 氟苯尼考在肌肉、血液中的药时曲线图

为  $0.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  在血液中消除较肌肉中稍快,在 168 h 仍可检测到氟苯尼考药物残留存在,为  $0.098 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,但在第十天开始则未检出。

### 3 讨论

#### 3.1 氟苯尼考在南美白对虾体内代谢特征

氟苯尼考在南美白对虾体内吸收速度较快,在其他动物体内的吸收速度也都很快,国内蒋红霞等人<sup>[7]</sup>研究其在猪体内代谢、李秀波等人<sup>[8]</sup>研究其在绵羊体内代谢时,血药浓度均于静注后 5 min 达到峰值。氟苯尼考在中国对虾<sup>[4]</sup>体内的血药浓度达到峰值后,维持很短的时间后开始下降,以  $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的剂量注射 2 h 后血药浓度已降至  $1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  以下,但是在绵羊和猪体内以  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的剂量静注后则能维持血药浓度在  $1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  以上可达 712 h。根据杨先

乐等人<sup>[9]</sup>报道中华绒螯蟹肌注环丙沙星后,血药浓度立即达到峰值,房文红等研究肌注诺氟沙星在斑节对虾体内的代谢中报道血药浓度于给药后 1~2 min 内达到峰值。说明药物在甲壳类中的代谢比较快,这可能与其特殊的水生环境和开放式循环系统有关。

在喂药后前 8 h 内肌肉、血液代谢较快,8 h 后,速度明显放慢,肌肉中维持在  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  左右,含量变化不大。血液中维持在  $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  左右,均在一个比较高的水平上。当药物代谢到 10 d 后,血液未检出有氟苯尼考,当药物代谢到 20 d 时,仍可在肌肉中检出,含量为  $0.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,说明氟苯尼考在肌肉蛋白结合率较高,代谢需要较长时间。

本次试验中,氟苯尼考在南美白对虾体内代谢时间,与所报道的其在肉鸡<sup>[10]</sup>、猪<sup>[7]</sup>等体内代谢时间相比,消除速度不是很快。比较其他药物在甲壳类中的代谢时间,杨先乐等人<sup>[9]</sup>报道盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内的药物半衰期也远大于该药在其他动物体内的半衰期。对于此间差异,杨先乐认为,甲壳类这种低等的水生动物主要通过触角腺和肝胰腺对药物进行排泄和降解,而鱼类等可以通过肾脏、呼吸器官等进行扩散消除,哺乳动物还可以通过肾脏等器官的主动运转对药物加以消除,因而不同动物种属间代谢器官的差异,造成其对药物代谢消除机能的差别。

#### 3.2 氟苯尼考在南美白对虾体内休药期探讨

制定渔药休药期是为了保障动物食品的安全性,通常根据国家规定的最大残留限量(MRL)标准和动物对药物的残留消除规律来确定。欧盟和我国规定鱼类肌肉中氟苯尼考最大残留限量(MRL)为  $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  而日本对冻虾仁中氟苯尼考最大残留限量标准为  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。本次实验中,在给药温度为 21.5~16 时,连续 5 d 投喂含 2‰ 的氟苯尼考药饵(相当于  $40\sim60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  给药量)的情况下,不需要制订休药期即可达到欧盟和我国的最大残留限量。而对于出口日本较多的冻虾仁来说,168h(7d)时肌

肉和血液中含有量达到  $0.11$ 、 $0.098 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  仍高于日本肯定列表中对冻虾仁氟苯尼考限量( $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )的要求。20 d时肌肉中含有量达到  $0.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 血液中未检出, 已符合日本肯定列表中对冻虾仁氟苯尼考限量( $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )的要求。考虑到出口水产品的安全性, 因此在此给药剂量和环境条件下, 建议氟苯尼考在南美白对虾中的休药期大于 20 d。

#### 参考文献:

- [1] 杜向党, 阎若潜, 沈建忠, 等. 氯霉素类药物耐药机制的研究进展[J]. 动物医学进展, 2004, 25(2):27-29.
- [2] Lunden T, Miettinen S, Lonnstrom L G, et al. Effect of florfenicol on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Veterinary and Immunopathology, 1999, 67:317-325.
- [3] Ole B S. Efficacy of orally administered florfenicol and oxolinic acid for the treatment of vibriosis in cod (*Gadus morhua*)[J]. Aquac, 2004, 235:27-35.
- [4] 李静云, 王群, 李健, 等. 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[J]. 水产学报, 2004, 28:63-68.
- [5] 朱丽敏, 杨先乐, 林启存, 等. 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[J]. 水产学报, 2006, 30(4):515-519.
- [6] Chue V, Larry J S, Guy R S, et al. Liquid chromatographic determination of florfenicol in the plasma of multiple species of fish[J]. Journal of Chromatography, 2002, 780:111-117.
- [7] 蒋红霞, 冯淇辉, 曾振灵, 等. 氟甲砜霉素在猪体内的药物动力学[J]. 中国兽医学报, 2001, 21(1):86-89.
- [8] 李秀波, 沈建忠, 胡顶飞, 等. 氟苯尼考静注及肌注在绵羊体内的药代动力学研究[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(6):609-612.
- [9] 杨先乐, 刘至治, 横山雅仁, 等. 盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学研究[J]. 水生生物学报, 2003, 27(1):18-22.
- [10] 吴先爱, 沈建忠. 静注与口服氟苯尼考在大肠杆菌感染鸡体内的药代动力学[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(6):609-611.

## Rules of Pharmacokinetics and Residue Elimination of Florfenicol in *Penaeus vannamei*

ZHENG Chong-ying, DING Xue-yan, ZHANG Hai-qi, XUE Hui-li, YAO Gao-hua, HE Feng

(Aquatic Product Quality Testing Center of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** This paper investigates the residues of Florfenicol in *Penaeus vannamei*'s blood and muscle after taking dosage of Florfenicol. Using HPLC to detect the medicament content in tissues, it is found that Florfenicol concentration in the blood reaches its peak within an hour and begins to transfer to muscle tissues. Then, the medicament concentration in blood declines while concentration in muscle reaches its peak. After that, Florfenicol concentration in both blood and muscle gradually declines. 10 days later, Florfenicol concentration in blood cannot be detected. The results indicate that the assimilation of Florfenicol is faster and the medicament concentration in blood is higher. The medicament can remain in the muscle tissues for quite a long time.

**Key words:** Florfenicol; muscle; blood; pharmacokinetics

**CLC number:** S945.4

**Document code:** A

(责任编辑 章践立)