

恩诺沙星在余干乌鸡不同组织中的残留 消除规律研究

赵琳^{1,2}, 张大文³, 张瑞英^{1,2*}, 兰静^{1,2}, 孙向东^{1,2}, 王冰^{1,2}, 倪蓓^{1,2}, 武爽^{1,2}

[1. 黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所, 哈尔滨 150086; 2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(哈尔滨), 哈尔滨 150086; 3. 江西省农业科学院农产品质量安全与标准研究所, 南昌 330200]

摘要: **目的** 研究恩诺沙星可溶性粉在余干乌鸡各组织内的残留消除规律。**方法** 88 只 110 d 龄健康余干乌鸡, 随机分为 11 组, 以 0.75 g/L 饮水连续给药 5 d。停药后第 0.16、1、3、5、7、9、20、30、40 d 采集肌肉、肝脏、肾脏、皮脂样本, 经液相色谱-串联质谱法测定组织中恩诺沙星和环丙沙星残留量, 计算药物代谢半衰期, 并利用 WT1.4 软件计算恩诺沙星在余干乌鸡体内的休药期。**结果** 恩诺沙星在余干乌鸡体内的半衰期和休药期均长于普通肉鸡。恩诺沙星可溶性粉在余干乌鸡肌肉、肝脏、肾脏及皮脂中的休药期分别是 110、64、67 和 208 d。**结论** 为保证乌鸡产品质量安全和消费者健康, 推荐恩诺沙星可溶性粉在余干乌鸡体内的休药期应大于 210 d。

关键词: 恩诺沙星; 余干乌鸡; 残留; 休药期

Study on residue elimination rule of enrofloxacin in different tissues of Yugan black-bone fowl

ZHAO Lin^{1,2}, Zhang Da-Wen³, ZHANG Rui-Ying^{1,2}, LAN Jing^{1,2}, SUN Xiang-Dong^{1,2}, WANG Bing^{1,2}, NI Bei^{1,2}, WU Shuang^{1,2}

[1. *Quality & Safety Institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China*; 2. *Laboratory of Agro-product Quality and Safety Risk Assessment (Harbin), Harbin 150086, China*; 3. *Institute for Quality & Safety and Standards of Agricultural Products Research, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China*]

ABSTRACT: Objective To study the residue elimination rule of enrofloxacin soluble powder in various tissues of Yugan black-bone fowl. **Methods** Eighty-eight 110-day-old healthy Yugan black-bone fowls were randomly divided into 11 groups and given 0.75 g/L drinking water continuously for 5 days. Samples of muscle, liver, kidney and sebum were collected at 0.16, 1, 3, 5, 7, 9, 20, 30 and 40 d after drug withdrawal. The residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in tissues were determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The half-life of drug metabolism was calculated, and the drug withdrawal period of enrofloxacin in Yugan black-bone fowl was calculated by WT1.4 software. **Results** The half-life and withdrawal period of enrofloxacin in Yugan black-bone fowl were

基金项目: 江西省主要学科学术和技术带头人培养计划-领军人才项目(20213BCJ22008)、农业农村部项目禽产品风险评估项目(GJFP201800702)

Fund: Supported by the Academic and Technical Leader Training Program-Leading Talents Project of Jiangxi Province (20213BCJ22008), and the Risk Assessment Program of Poultry Products of Ministry of Agriculture and Rural Affairs (GJFP201800702)

***通信作者:** 张瑞英, 硕士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全评价。E-mail: zhruying@163.com

***Corresponding author:** ZHANG Rui-Ying, Master, Professor, Quality & Safety institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China. E-mail: zhruying@163.com

longer than those in common broilers. The withdrawal period of enrofloxacin soluble powder in muscle, liver, kidney and sebum of Yugan black-bone fowl was 110, 64, 67 and 208 d respectively. **Conclusion** It is recommended that the drug withdrawal period of enrofloxacin soluble powder in Yugan black-bone fowl should be greater than 210 days to ensure the quality and safety of black-bone chicken products and the health of consumers.

KEY WORDS: enrofloxacin; Yugan black-bone fowl; residue; withdrawal period

0 引言

恩诺沙星(enrofloxacin, Enr)属于氟喹诺酮类药物,广泛应用于禽类养殖业,用于治疗动物肠道和呼吸道感染^[1-2]。养殖过程中恩诺沙星使用剂量或管控措施不当容易造成产品中恩诺沙星及其代谢物环丙沙星残留,致使消费者产生耐药性和过敏反应^[3-5]。为保障食品安全,我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中对恩诺沙星在不同食品中的最大残留量进行了规定。禽肉中恩诺沙星最高残留量为恩诺沙星与环丙沙星之和,家禽肌肉、皮肤+脂肪、肝脏和肾脏中残留限量分别为 100、100、200 和 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

乌鸡因其肉中含有大量人体必需氨基酸、微量元素及具有抗氧化功能的黑色素^[6],深受广大消费者认可,但是近年来乌鸡的兽药残留问题层出不穷,食安通网站公布数据显示,近几年乌鸡中恩诺沙星残留问题较为突出,2019 年共 54 批禽肉恩诺沙星抽检不合格,其中 44 批次为乌鸡类;2020 年共 66 批禽肉恩诺沙星抽检不合格,其中 49 批次为乌鸡类;2021 年上半年 13 批次禽肉抽检不合格全部为乌鸡类^[7]。乌鸡中的恩诺沙星从何而来,分析原因可能是以下几点:(1)饲养期间不按照规定使用药物,超剂量使用;(2)休药期制定不合理。我国农业农村部第 278 号公告^[8]对氟喹诺酮类药物在肉鸡体内的休药期进行了规定,但是余军军等^[9]开展的恩诺沙星在白羽乌骨鸡的代谢研究,林海丹等^[10]分析氧氟沙星在竹丝乌骨鸡中代谢性质,吴强^[11]开展达氟沙星、沙拉沙星和二氟沙星在乌鸡中的代谢休药期研究,结果均发现氟喹诺酮类药物在乌鸡中的休药期均长于以白羽肉鸡制定的休药期。综上所述可知,目前针对普通肉鸡制定的休药期制度,难以满足保障乌鸡产品质量安全的要求,对喹诺酮类药物在乌鸡体内的休药期应开展进一步的评估。余干乌鸡是我国特殊的乌鸡品种,该品种全身乌黑与白羽乌骨鸡等具有较大差别,为了评估喹诺酮类药物在不同乌鸡品种中代谢情况的差异,本研究采用黑羽乌骨鸡余干乌鸡为试验材料评估恩诺沙星在乌鸡组织内的代谢规律,评估恩诺沙星在余干乌鸡体内的休药期,为乌鸡养殖相关管控措施的制定及风险评估提供科学依据,为畜产品安全保障提供数据支持,以确保食品质量安全。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

5%恩诺沙星可溶性粉剂(广东温氏大华农动物保健品

股份有限公司);恩诺沙星氘代物标准品(enrofloxacin-d₅, Enr-D5)(纯度 99.8%)、环丙沙星标准品(纯度 98.0%)、环丙沙星氘代物标准品(cyclopropoxicle-d₈, Cip-D8)(纯度 98%)(美国 Stanford Chemicals 公司);乙腈、甲酸(色谱级,北京迪马科技有限公司);十八烷基硅烷 C₁₈ (octadecylsilane C₁₈, ODS C₁₈)(天津博纳艾杰尔科技有限公司);乙腈、乙酸、氯化钠(分析纯,北京益利精细化学品有限公司)。

QTRAP 5500 液相色谱串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司);Avanti J-E 高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司);Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

选择日龄 110 d 的健康、活泼平均体重为(1.0±0.2) kg 余干乌鸡 88 羽为试验品种,分为 11 组,每组大小一致,公母各半,每组 8 只,期间不给任何抗菌药物,试验前后各组饲养条件相同。

1.2.2 给药与样本采集

试验前将余干乌鸡随机分为对照组和试验组,分别编号、称重、记录。对照组正常饮水,试验组按照产品标签推荐给药剂剂量每升水 0.75 g 恩诺沙星可溶性粉末进行喂饲,自由饮水,连续饮水喂药 5 d。分别从停药开始的第 0.16、1、3、5、7、9、20、30、40 d,每个时间点屠宰 8 只,公母各半,分别采集肌肉、肝脏、皮脂和肾脏组织,其中肌肉、皮脂切碎后匀浆置于-20 °C 条件下保存备用,肝脏和肾脏冷冻干燥后研磨成粉末密封冷冻备用,记录干燥前后试样重量。

1.2.3 样品前处理

前处理过程参考赵琳等^[12]鸡蛋中恩诺沙星中残留分析方法,具体步骤如下称取肌肉、皮脂样品 5 g,肝脏和肾脏组织 0.2 g(精确至 0.01 g),置于 50 mL 离心管中,分别加入 100 μL 100 ng/mL Enr-D5 和 Cip-D8 内标溶液,用 10 mL 1%乙酸乙腈溶液提取,振荡提取 40 min。加氯化钠 3 g,涡漩混匀 30 s 后 4000 r/min 离心 5 min,取上清液 1 mL,于含有 0.1 g C₁₈ 粉末的 15 mL 离心管,涡漩混匀 30 s,4000 r/min 离心 5 min,上清过 0.22 μm 有机滤膜,供液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定。采用内标法对不同组织中恩诺沙星及其代谢物环丙沙星进行定量。

1.2.4 色谱条件

美国Phenomenex Kinetex F5 (50 mm×3.0 mm, 2.6 μm)色谱柱;流速:0.4 mL/min;柱温:35 °C;进样量:2 μL;流动相:A为0.1%甲酸水溶液,B为乙腈;梯度洗脱程序见表1。

表1 液相色谱梯度洗脱程序

Table 1 Liquid chromatography gradient elution programs

| 时间/min | A/% | B/% | 流速/(mL/min) |
|--------|-----|-----|-------------|
| 0 | 97 | 3 | 0.4 |
| 0.10 | 97 | 3 | 0.4 |
| 4.00 | 75 | 25 | 0.4 |
| 4.01 | 5 | 95 | 0.4 |
| 5.00 | 5 | 95 | 0.4 |
| 5.01 | 97 | 3 | 0.4 |
| 6.00 | 97 | 3 | 0.4 |

1.2.5 质谱条件

离子源:电喷雾离子源;正离子扫描;喷雾电压:5500 V;离子源温度:600 °C;碰撞气:氮气;气帘气:35 psi;雾化器:50 psi;辅助加热气:50 psi;射入电压:10 V;碰撞室射出电压:10 V;扫描模式:多反应监测,选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量见表2。

表2 选择反应监测条件

Table 2 Select reaction monitoring conditions

| 化合物名称 | 母离子 (<i>m/z</i>) | 碎片离子 (<i>m/z</i>) | 去簇 电压/V | 碰撞 能量/V |
|---------|-----------------------|------------------------|------------|------------|
| 恩诺沙星 | 360 | 316.1 | 80 | 25.2 |
| | 360 | 245.1* | 80 | 35.1 |
| 恩诺沙星-D5 | 365.4 | 245.1 | 150 | 38.1 |
| | 365.4 | 203.2* | 150 | 38.1 |
| 环丙沙星 | 332.2 | 288.1 | 160 | 25.0 |
| | 332.2 | 245.1* | 160 | 33.0 |
| 环丙沙星-D8 | 340.2 | 322.2* | 200 | 47 |

注:*定量离子。

1.3 数据分析

用SAS 9.2对药物残留数据进行方差分析, $P<0.05$ 为差异显著,结果用“平均值±标准偏差”表示。采用WT1.4软件按95%置信区间计算恩诺沙星在肌肉、肝脏、肾脏、皮脂中的休药期。

2 结果与分析

2.1 恩诺沙星在余干乌鸡不同组织中残留消除规律

在饮水中添加0.75 g/L恩诺沙星粉剂,连续自由饮水5 d,停药后恩诺沙星在余干乌鸡肌肉、皮脂、肝脏和肾脏中的残留量随时间变化结果见表3。余干乌鸡停药后组织内恩诺沙星含量快速增加,停药0.16 h后皮脂中恩诺沙星含量高达(3579.9±427.4) μg/kg,不同组织中恩诺沙星残留量由大到小依次为皮脂>肝脏>肌肉和肾脏,恩诺沙星在皮脂组织中残留量最高,在肾脏中最低。0.16 h时皮脂中恩诺沙星残留约是肌肉中的1.8倍。停药40 d后,皮脂中仍含有较高浓度的恩诺沙星残留,显著高于其他组织($P<0.05$),肌肉、肾脏中恩诺沙星残留量差异不显著($P>0.05$),肝脏中残留量显著低于肌肉和肾脏。恩诺沙星有多种代谢途径,其中最主要的是在肝脏中脱去乙基代谢成为环丙沙星^[13]。因此虽然停药初期肝脏中恩诺沙星含量较高但是停药40 d后肝脏中恩诺沙星含量低于其他组织。余军军等^[9]以白羽乌鸡为研究对象,75 mg/L(以恩诺沙星计)连续用药5 d,停药9 d后,皮脂中恩诺沙星含量也最高达到(4513.94±676.28) μg/kg,肝脏中含量最低仅为18.81 μg/kg,与本研究结果相似。

表3 余干乌鸡不同组织中恩诺沙星残留量(μg/kg, n=8)

Table 3 Residues of enrofloxacin in different tissues of Yugan black-bone fowl (μg/kg, n=8)

| 停药后时间/d | 肌肉 | 肝脏 | 肾脏 | 皮脂 |
|---------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 0.16 | 1979.1±415.8 ^C | 2342.2±480.9 ^B | 1928.5±559.0 ^C | 3579.9±427.4 ^A |
| 1 | 1463.9±416.2 ^C | 1484.1±347.8 ^C | 1759.7±597.1 ^B | 3304.8±444.5 ^A |
| 3 | 1098.8±282.2 ^C | 1222.5±417.8 ^{BC} | 1532.4±296.8 ^B | 2428.8±467.0 ^A |
| 5 | 781.5±329.7 ^{BC} | 856.8±248.4 ^B | 970.9±334.2 ^B | 2474.3±953.3 ^A |
| 7 | 611.7±338.8 ^B | 446.5±138.6 ^C | 675.5±251.0 ^B | 2263.5±719.4 ^A |
| 9 | 405.1±161.8 ^B | 384.9±168.2 ^B | 519.0±215.3 ^B | 1789.5±475.2 ^A |
| 12 | 772.7±349.3 ^B | 393.6±204.1 ^C | 646.3±262.9 ^B | 2389.8±704.4 ^A |
| 20 | 497.4±257.1 ^B | 526.4±384.0 ^B | 607.0±337.6 ^B | 1860.4±552.3 ^A |
| 30 | 354.3±181.9 ^B | 166.3±75.8 ^C | 306.5±127.8 ^B | 1228.5±563.0 ^A |
| 40 | 346.7±347.4 ^B | 165.1±58.7 ^C | 302.9±207.1 ^B | 1194.2±655.5 ^A |

注:相同大写字母表示每行数据间差异不显著($P>0.05$),同行大写字母不同表示差异显著, $P<0.05$ 。

2.2 环丙沙星在余干乌鸡不同组织中残留消除规律

在饮水中添加 0.75 g/L 恩诺沙星粉剂, 连续自由饮水 5 d, 停药后恩诺沙星的特征性代谢物环丙沙星在余干乌鸡肌肉、皮脂、肝脏和肾脏中的残留量随时间变化结果见表 4。同恩诺沙星残留情况类似停药后组织内环丙沙星含量快速增加, 停药 0.16 h 后肝脏中环丙沙星含量为 (726.5±311.5) $\mu\text{g}/\text{kg}$, 不同组织中环丙沙星残留量由大到小依次为肝脏>肾脏>皮脂>肌肉, 环丙沙星在肝脏组织中残留量最高, 在肌肉中最低。0.16 h 时肝脏中环丙沙星残留约是肌肉中的 20 倍。停药 40 d 后, 皮脂中环丙沙星含量最高为 (54.0±23.4) $\mu\text{g}/\text{kg}$, 肌肉组织中环丙沙星残留量显著低于 ($P<0.05$) 其他组织部位, 仅为 (7.8±4.3) $\mu\text{g}/\text{kg}$, 肝脏、肾脏中环丙沙星残留量差异不显著 ($P>0.05$), 分别为 (20.5±8.0)、(22.1±8.3) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。恩诺沙星在肝脏中脱乙基形成代谢产物环丙沙星, 在停药初期肝脏中的恩诺沙星大量转换为环丙沙星, 其含量大于其他组织, 但随着停药时间的延长, 各组织中环丙沙星含量急速下降, 但试验动物体内依然存在恩诺沙星。王英俊等^[14]以 75 mg/L 连续喂饲普通肉鸡 5 d, 停药后肝脏、肾脏、肌肉组织中恩诺沙星代谢为环丙沙星的比例约为 50%。MORALES-GUTIÉRREZ 等^[15]以 10 mg/L 恩诺沙星连续喂饲普通肉鸡 4 d, 停药后肝脏、肾脏、肌肉组织中恩诺沙星代谢为环丙沙星的比例约为 30%~60%。但是余干乌鸡连续给药 5 d 停药 0.16 h 后肝脏、肾脏、肌肉中恩诺沙星代谢成环丙沙星的比例较低, 仅为 5%~10%, 皮脂中代谢率约为 4%, 与普通肉鸡存在较大差异。DUNNETT 等^[16]以马毛为研究对象也发现口服恩诺沙星后在深色马毛中恩诺沙星和环丙沙星的浓度比为 13:1, 该结果是由深色马毛中黑色素与恩诺沙星的强烈结合造成的。余干乌鸡与普通肉鸡相比体内均含有大量的黑色素, 推测黑色素的存在是影

响余干乌鸡体内恩诺沙星转换为环丙沙星的主要原因, 此结论尚需进一步验证。

2.3 不同组织中恩诺沙星代谢动力学

在本试验剂量下, 恩诺沙星在余干乌鸡体内的代谢过程符合一级动力学方程 $\ln C_t/C_0 = -kt$, 其中 C_t 表示时间为 t 时的浓度, C_0 表示起始浓度, k 为一级动力学反应速率常数 t 为时间, 消除动力学拟合曲线如图 1 所示。拟合得到恩诺沙星在余干乌鸡肌肉、肝脏、肾脏和皮脂中的代谢动力学参数, 包括消除速率常数(k)、半衰期($t_{1/2}$)如表 5 所示。恩诺沙星在肌肉、肝脏、肾脏和皮脂的消除速率常数范围为 0.182~0.278, 恩诺沙星在肝脏中代谢速度较快, 代谢半衰期显著低于其他组织 ($P<0.05$), 肌肉、肾脏中的半衰期差异不显著 ($P>0.05$), 但是在皮脂中恩诺沙星的半衰期显著高于其他组织 ($P<0.05$)。环丙沙星在肌肉、肝脏、肾脏和皮脂的消除速率常数范围为 0.201~0.375, 同恩诺沙星类似, 环丙沙星在肝脏中代谢速度较快, 半衰期显著低于其他组织 ($P<0.05$), 肌肉、肾脏中的半衰期差异不显著 ($P>0.05$), 但是在皮脂中环丙沙星的半衰期显著高于其他组织 ($P<0.05$)。在乌鸡皮脂中恩诺沙星和环丙沙星半衰期差异较大, 环丙沙星代谢较慢, 半衰期约为恩诺沙星的 2 倍。

2.4 不同组织中恩诺沙星的休药期

我国 GB 31650—2019 规定, 恩诺沙星残留标志物为恩诺沙星和环丙沙星之和, 家禽肌肉、皮脂中最大残留限量为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、家禽肝组织中最大残留限量为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾组织中最大残留限量为 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 采用 WT1.4 软件 (95%置信区间), 对恩诺沙星可溶性粉在余干乌鸡组织中休药期进行计算。恩诺沙星在余干乌鸡各组织中的残留消除拟合情况见图 2。

表 4 余干乌鸡不同组织中环丙沙星残留情况 ($\mu\text{g}/\text{kg}$, $n=8$)
Table 4 Residues of ciprofloxacin in different tissues of Yugan black-bone fowl ($\mu\text{g}/\text{kg}$, $n=8$)

| 停药后时间/d | 肌肉 | 肝脏 | 肾脏 | 皮脂 |
|---------|------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 0.16 | 42.7±11.0 ^D | 726.5±311.5 ^A | 176.5±28.9 ^B | 90.9±29.7 ^C |
| 1 | 25.5±6.8 ^D | 319.6±126.9 ^A | 161.1±103.9 ^B | 115.5±30.9 ^C |
| 3 | 24.4±5.5 ^C | 229.6±85.7 ^A | 95.7±38.6 ^B | 83.8±16.0 ^B |
| 5 | 18.0±8.7 ^C | 107.0±32.5 ^A | 77.1±51.1 ^B | 81.6±26.3 ^B |
| 7 | 11.2±4.6 ^C | 82.3±40.7 ^A | 38.6±10.3 ^B | 80.9±23.6 ^A |
| 9 | 9.3±3.6 ^C | 54.3±25.0 ^B | 42.7±17.5 ^B | 65.4±25.4 ^{AB} |
| 12 | 10.3±4.0 ^C | 48.1±33.0 ^B | 44.4±14.3 ^B | 102.6±50.0 ^A |
| 20 | 6.6±2.8 ^C | 36.0±15.3 ^B | 31.9±14.7 ^B | 67.3±17.6 ^A |
| 30 | 6.6±4.2 ^C | 25.6±12.6 ^B | 28.2±16.7 ^B | 64.3±43.7 ^A |
| 40 | 7.8±4.3 ^C | 20.5±8.0 ^B | 22.1±8.3 ^B | 54.0±23.4 ^A |

注: 相同大写字母表示每行数据间差异不显著 ($P>0.05$), 同行大写字母不同表示差异显著, $P<0.05$ 。

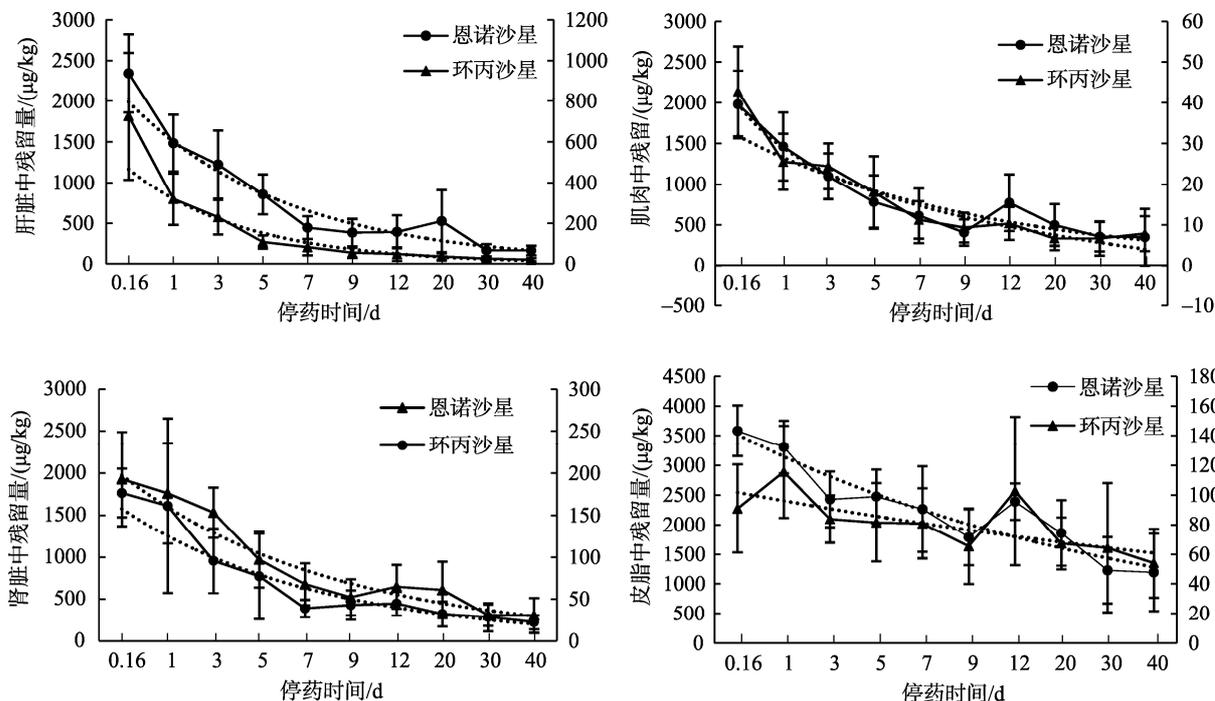


图 1 余干乌鸡不同组织中恩诺沙星和环丙沙星代谢拟合曲线图(n=8)

Fig.1 Metabolic fitting curves of enrofloxacin and ciprofloxacin in different tissues of Yugan black-bone fowl (n=8)

表 5 恩诺沙星在余干乌鸡不同组织中的代谢动力学参数(n=8)

Table 5 Metabolic kinetic parameters of enrofloxacin in different tissues of Yugan black-bone fowl (n=8)

| 序号 | 组织部位 | 药物成分 | 动力学方程(lnC _t /C ₀ =-kt) | 消除速率常数(k) | 半衰期/d | 拟合度(R ²) |
|----|------|------|--|-----------|--------------------|----------------------|
| 1 | 肌肉 | 恩诺沙星 | Y=-0.182X | 0.182 | 3.81 ^B | 0.8424 |
| | | 环丙沙星 | Y=-0.201X | 0.201 | 3.45 ^b | 0.8913 |
| 2 | 肝脏 | 恩诺沙星 | Y=-0.278X | 0.278 | 2.49 ^C | 0.9024 |
| | | 环丙沙星 | Y=-0.375X | 0.375 | 1.85 ^c | 0.9566 |
| 3 | 肾脏 | 恩诺沙星 | Y=-0.212X | 0.212 | 3.32 ^B | 0.9214 |
| | | 环丙沙星 | Y=-0.230X | 0.230 | 3.01 ^b | 0.9201 |
| 4 | 皮脂 | 恩诺沙星 | Y=-0.209X | 0.209 | 6.19 ^A | 0.9183 |
| | | 环丙沙星 | Y=-0.222X | 0.222 | 12.16 ^a | 0.9058 |

注: 大写字母不同表示不同组织中恩诺沙星半衰期差异显著, 小写字母不同表示不同组织中环丙沙星半衰期差异显著, P<0.05。

根据 WT1.4 软件计算出恩诺沙星肾脏组织的休药期为 67 d, 肌肉组织的休药期为 110 d, 肝脏组织的休药期为 64 d, 皮脂的休药期为 208 d, 长于我国农业农村部第 278 号公告规定的恩诺沙星在肉鸡中的休药期为 8 d。蒋志伟^[17]和吴波等^[18]采用黄羽肉鸡为研究对象、吴海坤等^[19]、刘素英等^[20]分别以岭南黄鸡、AA 肉鸡、艾维茵肉鸡为研究对象, 唐敏敏等^[21]以雪山肉鸡为研究对象获得的鸡组织内休药期结果与农业农村部推荐的休药期相类似, 但是本试验研究结果显示恩诺沙星在余干乌鸡组织内的残留时间大于其他普通肉鸡。余军军等^[9]以 10 日龄白羽乌骨鸡为研究对象, 按照 75 mg/L(以恩诺沙星计)剂量饮水喂饲恩诺沙星, 2 次/d, 连续用药 5 d, 恩诺沙星可溶性粉在乌骨鸡体内的休药期 117 d; 林海丹等^[10]以 2 日龄和 28 日龄乌骨鸡为研究

对象, 按 100 mg/L 剂量混饮氧氟沙星溶液, 2 次/d 连续给药 5 d 所计算出的氧氟沙星休药期为 70 d。本试验结果与余军军和林海丹等以白羽乌骨鸡为研究对象分析喹诺酮类药物在体内的休药期获得的结论有较大差异, 分析原因主要是由于试验动物日龄的差异本试验采用日龄为 110 d 的试验动物, 动物饮水量大、药物摄取量较多, 造成动物体内药物代谢时间长。

3 结论与讨论

与普通肉鸡相比, 乌鸡具有独特特征, 其在肌肉、骨髓、气管、爪、皮肤等多个器官中存在不同程度的黑色素, 有研究表明乌鸡骨髓中黑色素含量高达 2.057%, 皮肤中约 0.596%, 肌肉中约 0.230%, 内脏中含量较低, 仅为

0.157%^[22]。国内外研究结果表明氟喹诺酮类药物对黑色素具有较高的亲和力。MASAMICHI 等^[23]通过对含有不同含量黑色素眼虹膜的兔子进行氟喹诺酮类药物色素亲和力试验,发现兔子眼虹膜中黑色素含量与氟喹诺酮类药物浓度成正比,黑色素含量高的兔子眼虹膜中氟喹诺酮类药物含量是低色素含量的 2 倍以上。MARTA 等^[24]分析牛毛发中恩诺沙星的残留情况也发现,深色毛发中恩诺沙星及其代谢物环丙沙星的含量均高于浅色毛发。DUNNETT 等^[16]研究发现深色马毛中恩诺沙星含量是浅色马毛的 40 倍,同时体外试验结果表明黑色素与恩诺沙星的结合率大于 96%。ONO 等^[25]利用 Langmuir 吸附等温线开展药物结合的亲和力研究,结果表明喹诺酮类药物与黑色素的相互作用

中,喹诺酮类药物 7 位的碱性氮原子起了关键作用。药物和黑色素之间除了静电相互作用外,疏水和范德华相互作用也可形成药物-黑色素复合物。但是疏水作用和范德华作用比电化学作用弱得多。FUKUDA 等^[26]采用黑色素结构类似物分析喹诺酮类药物与黑色素结合的相互作用,结果表明黑色素结构类似物上的羟基和羧基主要通过离子键与氟喹诺酮类药物结合。研究结果表明恩诺沙星在乌鸡体内具有较长的代谢时间,推测这可能是由于乌鸡体内含有的大量的黑色素造成的。综合考虑乌鸡的消费情况,推荐恩诺沙星在乌鸡中的休药期为 210 d,同时建议针对乌鸡等黑色素含量较高的畜禽动物建立喹诺酮类药物使用指南,建立相关用药制度,保障乌鸡产品的质量安全。

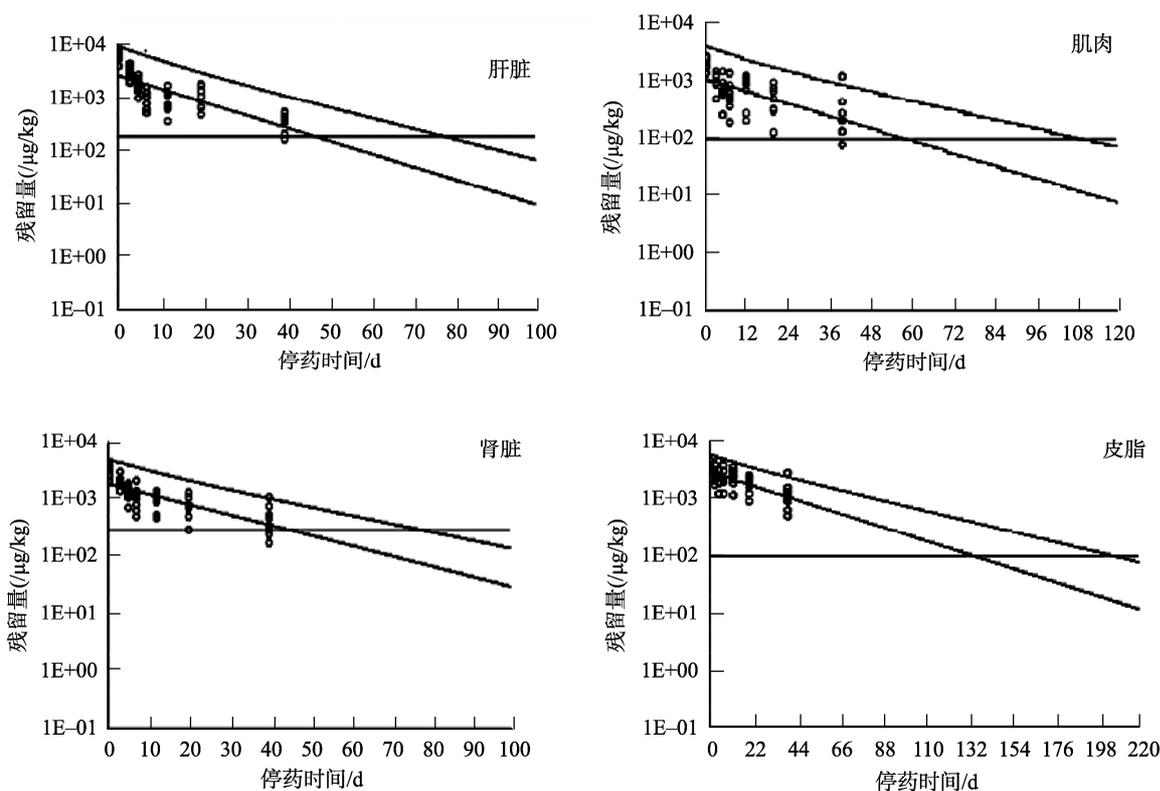


图 2 恩诺沙星在不同组织中的休药期拟合情况

Fig.2 Fitting of the withdrawal period of enrofloxacin in different tissues

参考文献

- [1] 李新朋, 姜金庆, 钱爱东, 等. 动物性食品中氟喹诺酮类药物多残留检测研究进展[J]. 动物医学进展, 2013, 34(9): 99-103.
LI XP, JIANG JQ, QIAN AID, *et al.* Progress on multi-residue detection for fluoroquinolones in animal food [J]. Prog Vet Med, 2013, 34(9): 99-103.
- [2] KANG JW, HOSSAIN MA, PARK H, *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic integration of enrofloxacin against *Salmonella enteritidis* after administering to broiler chicken by per-oral and intravenous routes [J]. J Vet Sci, 2019, 20(2): 15.
- [3] TEGLIA CM, GUIÑEZ M, CULZONI MJ, *et al.* Determination of residual enrofloxacin in eggs due to long term administration to laying

- hens. Analysis of the consumer exposure assessment to egg derivatives [J]. Food Chem, 2021. DOI: 0.1016/j. food chem. 2021.129279
- [4] BOURÉLY C, CAZEAU G, JOUY E, *et al.* Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from diseased food producing animals and pets [J]. Vet Microbiol, 2019, 235: 280-284.
- [5] SEO KW, LEE YJ. Detection of plasmid-mediated quinolone resistance genes in lactamase producing *Escherichia coli* isolates from layer hens [J]. Poult Sci, 2019, 98(3): 1480-1487.
- [6] 吴红静, 周晓琴. 乌骨鸡种质概况及营养成分研究进展[J]. 雅安职业技术学院学报, 2008, 22(2): 21-23.
WU HJ, ZHOU XQ. Research progress on germplasm survey and nutritional components of black-bone chicken [J]. J Ya'an Voc Coll, 2008, 22(2): 21-23.

- [7] 食安通网站. 食品抽检信息与分析 [EB/OL]. [2021-04-28]. <http://www.Eshian.com/sat/food sampling> [2021-09-08]. Shiantong Website. Food sampling information and analysis [EB/OL]. [2021-04-28]. <http://www.Eshian.com/sat/food sampling> [2021-09-08].
- [8] 农业农村部. 中华人民共和国农业部公告第278号 [EB/OL]. [2013-05-22]. http://www.moa.gov.cn/nygb/2003/snqi/201711/t20171126_5919564.htm [2021-06-15]. Ministry of Agriculture and Rural Affairs. No.278 announcement of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2013-05-22]. http://www.moa.gov.cn/nygb/2003/snqi/201711/t20171126_5919564.htm [2021-06-15].
- [9] 余建军, 谢焕龙, 宁军, 等. 恩诺沙星可溶性粉在白羽乌骨鸡组织中残留消除规律研究[J]. 畜牧兽医学(电子版), 2021, (5): 8-9. YU JJ, XIE HL, NING J, *et al.* Residue depletion study of enrofloxacin soluble powder in black-bone silky fowl [J]. *Graziery Vet Sci (Electron Ver)*, 2021, (5): 8-9.
- [10] 林海丹, 方炳虎, 袁照红, 等. 氧氟沙星在乌骨鸡体内残留消除规律研究[J]. 广东畜牧兽医科技, 2012, 37(4): 33-36. LIN HD, FANG BH, YUAN ZH, *et al.* Studies on residues of ofloxacin in black-bone silky fowl [J]. *Guangdong J Anim Vet Sci*, 2012, 37(4): 33-36.
- [11] 吴强. 达氟沙星、沙拉沙星和二氟沙星在乌鸡组织中的残留检测方法和消除规律的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2017. WU Q. Study on determination method and residue depletion of danofloxacin, sarafloxacin and difloxacin in black-bone chicken [D]. Guangzhou: South China Agriculture University, 2017.
- [12] 赵琳, 张瑞英, 孙向东, 等. 产前饲喂模式下恩诺沙星在初产蛋中的残留规律及膳食暴露评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7473-7479. ZHAO L, ZHANG RY, SUN XD, *et al.* Assessment of residue regularity and dietary exposure of enrofloxacin in primiparous eggs under prenatal feeding mode [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(18): 7473-7479.
- [13] 唐锡招, 李兆新, 邢丽红, 等. 恩诺沙星代谢产物研究进展[J]. 中国渔业质量与标准, 2015, 2: 65-74. TANG XZ, LI ZX, XING LH, *et al.* Research progress of metabolites of enrofloxacin [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2015, 2: 65-74.
- [14] 王英俊, 孙晓荣, 马丰英, 等. 恩诺沙星固体分散剂在肉鸡组织中残留的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医科技版, 2015, 5: 182-187. WANG YJ, SUN XR, MA FY, *et al.* Study on the residues of solid dispersion of enrofloxacin in broiler tissues [J]. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med*, 2015, 5: 182-187.
- [15] MORALES-GUTIÉRREZ FJ, BARBOSA J, BARRÓN D. Metabolic study of enrofloxacin and metabolic profile modifications in broiler chicken tissues after drug administration [J]. *Food Chem*, 2015, 172: 30-39.
- [16] DUNNETT M, RICHARDSON DW, LEES P. Detection of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in equine hair [J]. *Res Vet Sci*, 2004, 77(2):143-151.
- [17] 蒋志伟. 乳酸恩诺沙星可溶性粉在鸡的药动学及不同恩诺沙星盐制剂在鸡的残留消除规律研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2010. JIANG ZW. Pharmacokinetic of enrofloxacin lactate soluble powder and residues depletion of different enrofloxacin salt preparation in broilers [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2010.
- [18] 吴波, 段龙川, 罗厚强, 等. 恩诺沙星在黄羽肉鸡组织中残留消除规律研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2014, (6): 5-6. WU B, DUAN LC, LUO HQ, *et al.* Studies on residues depletion of enrofloxacin in huangyu broiler tissues [J]. *Shanghai J Anim Husb Vet Med*, 2014, (6): 5-6.
- [19] 吴海坤, 方炳虎, 时书宁, 等. 恩诺沙星混悬液的研制及其在鸡组织中的残留研究[J]. 动物医学进展, 2010, 31(4): 47-52. WU HK, FANG BH, SHI SN, *et al.* Study on preparation of enrofloxacin suspension and its residues study in chicken tissues [J]. *Prog Vet Med*, 2010, 31(4): 47-52.
- [20] 刘素英, 刘勇军, 尤华, 等. 恩诺沙星在肉鸡组织中残留消除规律研究[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(9): 19-22. LIU SY, LIU YJ, YOU H, *et al.* Studies on residues depletion of enrofloxacin in broiler tissues [J]. *Chin J Vet Drug*, 2005, 39(9): 19-22.
- [21] 唐敏敏, 朱磊, 栾枫婷, 等. 恩诺沙星在雪山鸡不同组织中残留消除规律研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(21): 215-219. TANG MM, ZHU L, LUAN FT, *et al.* Study on residue and elimination rule of enrofloxacin in different tissues of Xueshan chicken [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2020, 48(21): 215-219.
- [22] 李瑞成, 尚永彪, 管俊峰. 乌骨鸡黑色素及其研究进展[J]. 肉类研究, 2010, (10): 54-59. LI RC, SHANG YB, GUAN JF. Research on melanin from black-bone silky fowl [J]. *Meat Res*, 2010, (10): 54-59.
- [23] MASAMICHI F, KAZUYUKI S. Different iris coloration and uptake of a fluoroquinolone agent into the iris ciliary body of rabbit eyes [J]. *Ophthalmic Res*, 1994, 26: 137-140.
- [24] MARTA GC, JOSÉ-ANTONIO GR, MASSIMO C. Assessment of enrofloxacin and ciprofloxacin accumulation in pig and calf hair by HPLC and fluorometric detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387: 1991-1998.
- [25] ONO C, TANAKA M. Binding characteristics of fluoroquinolones to synthetic levodopa melanin [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55(8): 1127-1133.
- [26] FUKUDA M, MORITA Y, SASAKI K, *et al.* Studies on the binding mechanism of fluoroquinolones to melanin [J]. *J Infect Chemother*, 2020, 6(2): 72-76.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



赵琳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全评价。
E-mail: zhaolin78@126.com



张瑞英, 硕士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全评价。
E-mail: zhruying@163.com