

磷酸替米考星在猪组织中的残留消除研究

刘彩¹ 沈向荣¹ 杨迪¹ 张晓辉¹ 宗昕如¹ 王文超² 鲍恩东^{1*}

(1. 南京农业大学 动物医学院, 南京 210095; 2. 宁夏泰瑞制药股份有限公司, 银川 750001)

摘要 为了解磷酸替米考星在猪肌肉、肝脏、肾脏、皮肤和脂肪等组织中的残留消除规律, 制订安全合理的药物休药期, 利用高效液相色谱法(HPLC)在 280 nm 处检测 10% 磷酸替米考星可溶性粉的代谢物替米考星在猪组织中的残留情况, 对 HPLC 检测方法进行改良, 确定流动相体积比为乙腈: 四氢呋喃: 二丁胺磷酸盐缓冲液: 水 = 10: 5: 5: 80。测得猪肝、肾中替米考星的检测限为 0.025 $\mu\text{g/g}$, 定量限为 0.05 $\mu\text{g/g}$, 肌肉、脂肪和皮肤中替米考星的检测限为 0.01 $\mu\text{g/g}$, 定量限为 0.02 $\mu\text{g/g}$; 平均加标回收率为 77.56%~97.82%, 变异系数为 0.78%~10.5%。以 80 mg/L 临床推荐剂量进行饮水给药, 连续 7 d, 在肝、肾组织中药物残留量较高, 在肌肉、皮肤和脂肪中残留量较低。使用休药期 WT1.4 软件计算, 替米考星在肝脏的休药期为 5.73 d, 在肾脏的休药期为 3.75 d, 在肌肉的休药期为 11.57 d, 在皮肤和脂肪的休药期为 10.91 d, 按双侧 95% 置信区间计算替米考星在猪的休药期为 12 d。

关键词 猪; 磷酸替米考星; HPLC; 残留

中图分类号 S 859.79⁺6

文章编号 1007-4333(2013)04-0134-07

文献标志码 A

Study on residue depletion of tilmicosin phosphate in swine tissues

LIU Cai¹, SHEN Xiang-rong¹, YANG Di¹, ZHANG Xiao-hui¹,
ZONG Xin-ru¹, WANG Wen-chao², BAO En-dong^{1*}

(1. Nanjing Agricultural University, College of Veterinary Medicine, Nanjing 210095, China;

2. Ningxia Tairui Pharmaceutical Company Limited, Yinchuan 750001, China)

Abstract This purpose of this research is to study the tissue residues of the tilmicosin phosphate in swine and determine the withdrawal time. A high-performance liquid chromatography (HPLC) method with detection at 280 nm was used and validated for the determination of 10% tilmicosin phosphate soluble powder residues in pig tissues. The mobile phase was composed of acetonitrile, tetrahydrofuran, phosphate buffer and water with the volume ratio of 10:5:5:80. The limits of detection (LOD) was 0.025 $\mu\text{g/g}$, and the limits of quantitation (LOQ) was 0.05 $\mu\text{g/g}$ for liver and kidney; the LOD was 0.01 $\mu\text{g/g}$ and the LOQ was 0.02 $\mu\text{g/g}$ for muscle, fat and skin. Average recoveries ranged from 77.56% to 97.82%, coefficient of variance ranged from 0.78% to 10.5%. Administrated over 7-day by 80 mg/L of Tilmicosin Phosphate in drinking water, the residue levels were higher in liver and kidney, and lower in muscle, fat and skin. According to the calculation by software WT1.4, the withdrawal period of tilmicosin residues is 5.73 d in liver, 3.75 d in kidney, 11.57 d in muscle, 10.91 d in skin and fat. It is concluded that the expected withdrawal period of tilmicosin phosphate for swine should be 12 days.

Key words swine; tilmicosin phosphate; HPLC; residues

收稿日期: 2012-11-30

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

第一作者: 刘彩, 硕士研究生, E-mail: liucail.1003@163.com

通讯作者: 鲍恩东, 教授, 主要从事动物免疫病理学研究, E-mail: b_endong@njau.edu.cn

近几年我国畜产品污染和有毒、有害物质残留问题相当严重,而动物性食品中的兽药残留是其中最重要和最常见的污染物。兽药残留不仅直接影响人体健康,引起细菌耐药性增加,给生态环境带来不良影响,它还可通过环境和食物链作用对人体健康造成潜在危害,从而影响养殖业的发展,并成为我国动物性食品出口的主要制约因素。替米考星是泰乐菌素经酸水解后的衍生物,是半合成的大环内酯类抗生素。替米考星的残留在猪、羊体内肝、肾中残留较高,而肌肉、脂肪、皮肤中残留较低,其原形为主要残留物^[1],粪便中也存在微量。而磷酸替米考星是替米考星与3,5-二甲基哌啶反应生成的替米考星碱,再加磷酸和水后形成的。尽管其有效成分仍然为替米考星,但由于磷酸替米考星易溶于水,具有特殊的抗菌活性和药动学特征,所以在兽医临床上可广泛应用于预防和治疗动物的感染性疾病^[2]。尽管有关磷酸替米考星在动物组织中残留消除的研究报道并不鲜见,但改变剂型的磷酸替米考星可溶性粉在猪组织中的残留情况仍然需要进一步研究和明确。根据农业部《兽药残留试验技术规范(试行)》^[3]的要求,在建立猪组织中检测替米考星的高效液相色谱(HPLC)方法的基础上,对磷酸替米考星在猪体内的残留消除进行了解,以便使用该药防治猪的相关性疾病^[4]。本试验利用高效液相色谱(HPLC)技术,检测磷酸替米考星在猪肌肉、肝脏、肾脏、皮肤和脂肪等组织中的残留,并依其制订磷酸替米考星在猪体内安全合理的药物休药期,旨在为磷酸替米考星作为新兽药应用于兽医临床提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

44头健康姜曲海品种猪,购自江苏泰州姜曲海种猪场,体重约(25±2)kg,饲养于封闭的动物房中,雌雄各半,单笼饲养,试验开始前及试验过程中饲喂不含任何抗生素的全价饲料,每天定时给料2次。试验前先给猪打耳标,逐头称重并记录,并且连续饲喂3周以适应养殖环境。

1.1.2 试验药品与试剂

替米考星对照品(批号:k0310711,含量

91.0%)购自中国兽药监察所;10%磷酸替米考星可溶性粉(批号:20110401,标示量为94.0%)由宁夏泰瑞制药股份有限公司提供;磷酸(分析纯)、乙酸铵(分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司;乙腈(色谱纯)购自德国Merck公司;甲醇(色谱纯)购自江苏汉邦科技公司;四氢呋喃(色谱纯)购自美国TEDIA天地试剂公司;二丁胺(化学纯)购自江苏强盛功能化学股份有限公司。

1.1.3 主要仪器设备

高效液相色谱仪(LC-2010)为日本岛津公司产品;XTerra®RP18色谱柱(4.6 mm×50 mm,5 μm)为美国Waters公司产品;BondElut C18固相萃取柱(500 mg/6 mL)为美国Agilent公司产品;组织匀浆机(F8-8G)为德国弗鲁克公司产品;台式离心机(LD4-2A)为北京京立离心机有限公司产品;漩涡混合仪(WH-2)为上海沪西分析仪器厂有限公司产品;微量分析天平(FA1004N,精确度0.0001 g)为德国莎多利斯公司产品;pH计(pH221)为意大利哈纳HANNA公司产品;固相萃取真空管装置为天津市东康科技有限公司产品;溶剂过滤器为天津市奥特塞恩斯仪器有限公司产品;针筒式微孔滤膜过滤器(0.22 μm)为江苏汉邦科技公司产品。

1.1.4 主要溶液二丁胺磷酸缓冲液的配制

将100 mL磷酸(85%)慢慢地加到900 mL水中,边加边搅拌,再用水定容到1 000 mL。将10%磷酸溶液700 mL边加边搅拌,加到168 mL二丁胺中。待溶液冷却至室温后,用85%磷酸调至pH 2.5,加水定容至1 000 mL,配制成1 mol/L二丁胺磷酸缓冲液(贮备液)。该溶液稳定,但溶液变成棕色则不能使用。

1.2 试验设计

试验开始时,将44头受试猪随机分为空白对照组(4头)和试验组(40头)。试验组受试猪均采用磷酸替米考星推荐剂量80 mg/L饮水投药,自由饮水,连续给药7 d。投药后,分别在猪停药后的0.5、3.0、5.0、7.0、9.0、11.0、13.0、14.0、16.0和19.0 d(共10个检测点),随机于每个检测点选择4头试验猪进行屠宰。宰杀之前称重,将猪经颈静脉放血致死,快速取其肌肉(300~500 g)、肝脏(400~500 g)、脂肪和皮肤(200 g),双肾各取一半(纵切)。采

集的样本不作任何洗涤或处理,立即做好标记、包装,保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,待测。

1.3 检测处理条件

1.3.1 检测条件

检测波长 280 nm ;流速 1 mL/min ;柱温 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$;进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$,由自动进样器进样;流动相:乙腈-四氢呋喃-磷酸二丁胺缓冲液($\text{pH}2.5$)-超纯水(体积比为 $100:50:50:800$);XTerra®RP18色谱柱($4.6\text{ mm}\times 50\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$)。

1.3.2 流动相选择

根据文献报道^[5],配制流动相1,同时按照替米考星检测的国家标准配制流动相2。固相萃取吹干后复溶的定溶液也分别用流动相和稀释液,进行交叉试验确定最佳的流动相和定溶液。

流动相1: $V(\text{乙腈}):V(\text{四氢呋喃}):V(\text{二丁胺磷酸盐缓冲液}):V(\text{水})=10:5:5:80$,以 10% 磷酸溶液调节,流动相调节为 $\text{pH}2.5$ 。

流动相2: $V(\text{乙腈}):V(\text{四氢呋喃}):V(\text{二丁胺磷酸盐缓冲液}):V(\text{水})=130:55:25:790$,以 10% 磷酸溶液调节,流动相调节为 $\text{pH}2.5$ 。

替米考星标准液1为流动相定容;替米考星标准液2为稀释液定容。

1.3.3 标准曲线绘制

用流动相将替米考星标准贮备液($200\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、乙腈定容)稀释成 0.05 、 0.50 、 1.00 、 5.00 、 10.00 和 $25.00\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液,以其质量浓度为横坐标,峰面积(顺式和反式异构体的峰面积之和)为纵坐标,绘制标准曲线。

1.3.4 组织样品前处理

将冻存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中的待检组织(肝、肾、肉、脂肪和皮肤等)解冻,剪碎组织,于匀浆器中 $15\text{ }000\text{ r/min}$ 匀浆 3 min 。分别准确称取待检组织各 5.0 g ,置于 50 mL 聚丙烯离心管中,加 8 mL 乙腈,涡动混匀。中速振荡 20 min , $3\text{ }500\text{ r/min}$ 离心 10 min ,取上清液置于 100 mL 聚丙烯离心管,向组织凝块中分别加 5 mL 磷酸二氢钾缓冲液(0.1 mol/L , $\text{pH}2.5$)和 8 mL 乙腈,搅拌使组织凝块散开,涡动混匀,中速振荡 20 min , $3\text{ }500\text{ r/min}$ 离心 10 min ,合并2次上清液于 100 mL 聚丙烯离心管中,加 40 mL 水, $3\text{ }500\text{ r/min}$ 离心 10 min ,取上清

液于适当容器中,加 10 mL 水混匀,过SPE柱。将SPE柱置于固相萃取真空管装置上, 10 mL 甲醇活化和 10 mL 水平衡SPE柱,当样品通过SPE柱时,调整真空泵的压力使流速约 1 滴/s , 10 mL 水洗涤,再用 10 mL 乙腈洗涤,流速 1 滴/s ,乙腈从SPE柱流出后,将真空泵的压力调小,让SPE柱在真空下干燥至少 3 min , 2.5 mL 洗脱液(0.1 mol/L 乙酸铵甲醇-乙腈溶液(体积比为 $20:80$))洗脱。洗脱于刻度试管中, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹至近干。流动相稀释定容至 1 mL ,涡动 30 s ,放置 15 min , $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 针孔式滤膜过滤,取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 进HPLC分析。

1.3.5 定量限和检测限的测定

取空白的肝脏、肾脏、肌肉、皮肤和脂肪样品添加标样,采用倍比稀释,按上述样品前处理的方法进行处理,测得基线噪音值,按信噪比 $S/N=3$ 为检测限(LOD), $S/N=10$ 为定量限(LOQ)。

1.3.6 添加回收率和精密度

分别取空白肌肉 5.0 g 、肝脏 5.0 g 、肾脏 5.0 g 、脂肪和皮肤 5.0 g ,按照要求添加一定体积的标准溶液,使肝、肾中药物的质量分数为 0.05 、 0.50 和 $5.00\text{ }\mu\text{g/g}$;肌肉、脂肪和皮肤中药物的质量分数为 0.02 、 0.20 和 $2.00\text{ }\mu\text{g/g}$,每个质量分数设定3个平行,按上述样品前处理方法分别处理后进行HPLC测定,双针进样,分别测定,计算回收率和变异系数。

1.3.7 试样中替米考星含量的计算

计算公式为

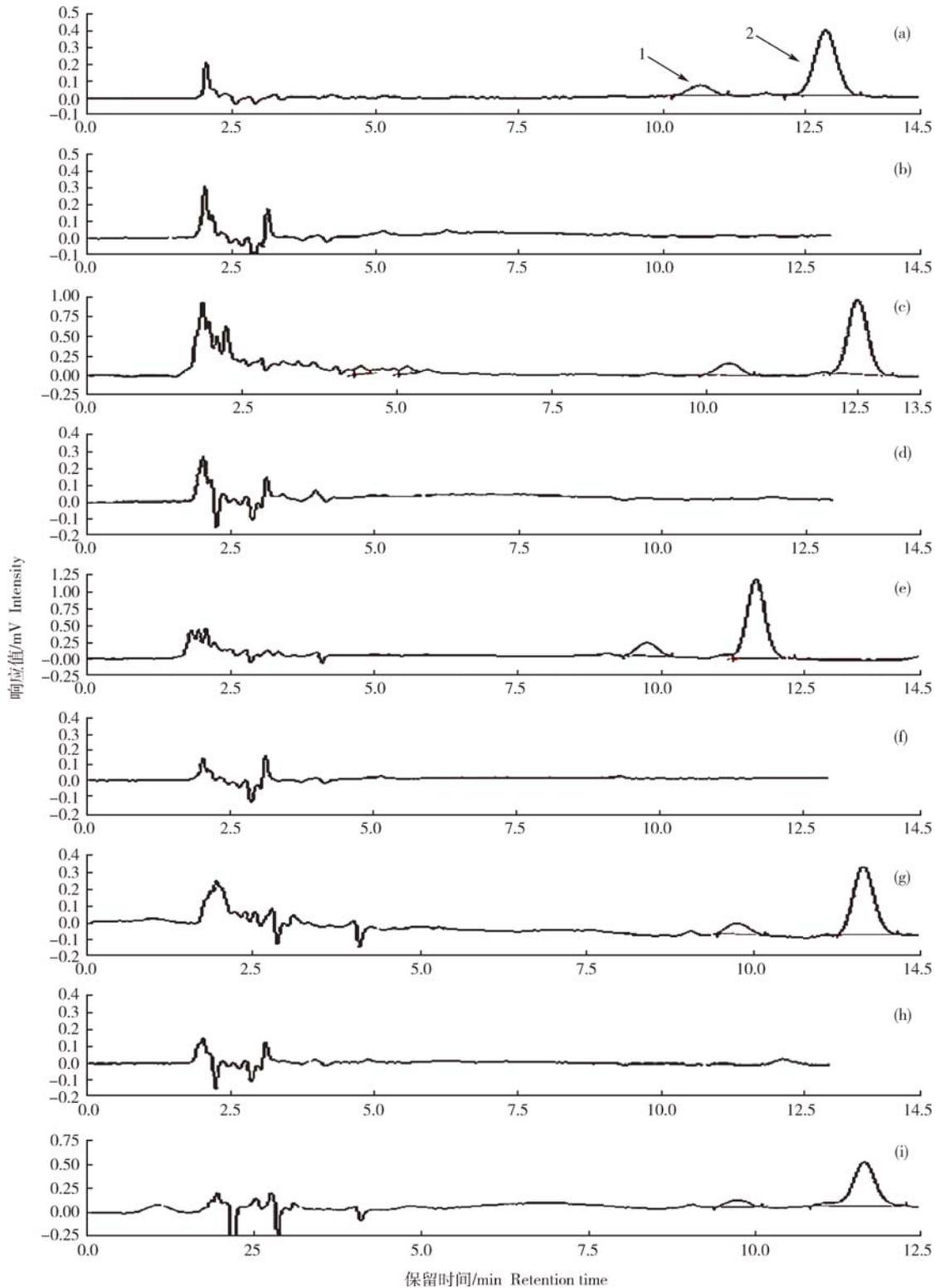
$$X = \frac{(S - B) \times V \times F}{K \times m}$$

式中: S 为替米考星的峰面积(顺式和反式异构体的峰面积之和); B 为标准曲线的截距; K 为标准曲线的斜率; V 为提取样品最终定容的体积, mL ; m 为样品的质量, g ; F 为浓缩(稀释)因子。

2 结果

2.1 色谱条件

在本试验色谱条件下,替米考星与组织中其他组分分离良好,色谱峰峰形较佳,测得的替米考星反式异构体和顺势异构体的出峰时间在 10.8 和 13.0 min 左右(图1)。



(a) 替米考星对照品色谱图(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) Chromatograms of tilmicosin standard, 1 为替米考星反式异构体色谱峰 Chromatogram of tilmicosin trans isomer; 2 为替米考星顺式异构体色谱峰 Chromatogram of tilmicosin cis isomer; (b) 空白肝脏色谱图 Chromatograms of control liver; (c) 添加肝脏样品色谱图(0.50 $\mu\text{g}/\text{g}$) Chromatograms of fortified liver; (d) 空白肾脏色谱图 Chromatograms of control kidney; (e) 添加肾脏样品色谱图(0.50 $\mu\text{g}/\text{g}$) Chromatograms of fortified kidney; (f) 空白肌肉色谱图 Chromatograms of control muscle; (g) 添加肌肉样品色谱图(0.20 $\mu\text{g}/\text{g}$) Chromatograms of fortified muscle; (h) 空白脂肪和皮肤色谱图 Chromatograms of control fat and skin; (i) 添加脂肪和皮肤样品色谱图(0.20 $\mu\text{g}/\text{g}$) Chromatograms of fortified fat and skin.

图1 猪组织中替米考星检测的高效液相色谱图
Fig. 1 Chromatograms of tilmicosin in swine tissues

2.2 标准曲线

各取 0.05~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作溶液 10 μL , 进 HPLC 分析, 以溶液质量浓度为横坐标, 峰面积 (顺式和反式异构体的峰面积之和) 为纵坐标, 绘制标准曲线 (图 2)。得知 $y=14\ 192x-1\ 035$, $R^2=0.999\ 8$, 说明替米考星浓度和峰面积呈完全正相关。

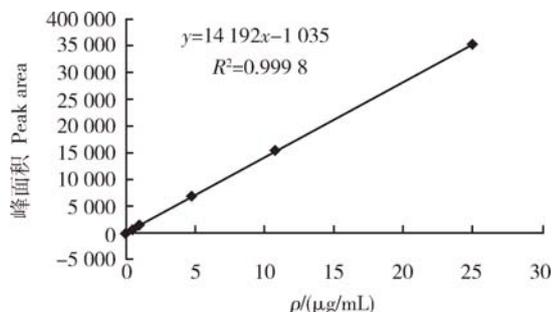


图 2 替米考星对照品标准溶液线性图

Fig. 2 Standard curve of tilmicosin

2.3 检测限和定量限

按信噪比 $S/N=3$ 为 LOD, $S/N=10$ 为 LOQ, 求得猪肝脏和肾脏中替米考星的检测限为 0.025 $\mu\text{g}/\text{g}$, 定量限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$; 肌肉、脂肪和皮肤中替米考星的检测限为 0.01 $\mu\text{g}/\text{g}$, 定量限为 0.02 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

2.4 回收率试验

由表 1 可知, 在 0.05、0.50 和 5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时, 从肝脏中药物提取的平均回收率分别为 97.82%、81.81% 和 88.67%, 变异系数为 3.72%~8.17%; 从肾脏中药物提取的平均回收率分别为 92.82%、92.87% 和 90.24%, 变异系数为 1.05%~10.5%。在 0.02、0.20 和 2.00 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时, 从肌肉中药物提取的平均回收率分别为 96.09%、89.64% 和 77.56%, 变异系数为 2.34%~8.99%; 从脂肪和皮肤中药物提取的平均回收率分别为 91.57%、96.21% 和 81.15%, 变异系数为 0.78%~8.87%。由此可知, 该组织前处理方法和检测方法均可靠, 重复性好。

表 1 猪组织中替米考星的回收率和变异系数 ($n=5$)

Table 1 Recoveries and CVs of tilmicosin fortified in swine tissues ($n=5$)

样品 Sample	添加质量分数/ $(\mu\text{g}/\text{g})$ Added	实测值/ $(\mu\text{g}/\text{g})$ Determined	平均回收率/% Average recovery	变异系数/% CV
肝脏 Liver	0.05	0.049±0.003 0	97.82	5.19
	0.50	0.409±0.033 0	81.81	8.17
	5.00	4.433±0.165 0	88.67	3.72
肾脏 Kidney	0.05	0.046±0.000 5	92.82	1.05
	0.50	0.464±0.014 0	92.87	3.05
	5.00	4.512±0.473 0	90.24	10.5
肌肉 Muscle	0.02	0.019±0.002 0	96.09	8.99
	0.20	0.179±0.004 0	89.64	2.34
	2.00	1.551±0.045 0	77.56	2.90
皮肤和脂肪 Skin and fat	0.02	0.018±0.000 8	91.57	4.62
	0.20	0.192±0.017 0	96.21	8.87
	2.00	1.623±0.013 0	81.15	0.78

2.5 磷酸替米考星在猪组织中的残留消除

将在不同时间点剖杀受试猪后所采取的肝脏、肾脏、肌肉和脂肪进行处理以后, 上机检测, 外标法定量测定各个组织中替米考星的含量, 所得结果如表 2、表 3。

从表 2 可以看出, 10% 磷酸替米考星可溶性粉

的代谢物替米考星在肝脏和肾脏中的含量较高, 在肌肉、皮肤和脂肪中的含量较低。猪按推荐剂量连续用药 7 d 后, 各组织中残留消除速度不同, 其中以在肝脏和肾脏中的下降速度快, 而肌肉、脂肪和皮肤组织中的残留量原本就已经很低, 因此下降趋势相对平缓, 但也都呈现出明显的下降趋势。

表2 猪投药后不同时间点肝、肾、肉、脂肪和皮肤中药物浓度的残留值

Table 2 Residues in different swine tissues at different time after oral administration

时间/ d Time	肝 Liver		肾 Kidney		肌肉 Muscle		脂肪和皮肤 Skin and fat	
	实测值/ ($\mu\text{g/g}$) Determined	变异系数/% CV						
0.5	1.230±0.203	16.6	1.038±0.259	24.9	0.223±0.108	48.5	0.189±0.038	20.0
3.0	0.852±0.063	7.4	0.518±0.026	5.1	0.123±0.005	3.9	0.144±0.007	4.5
5.0	0.705±0.085	12.1	0.454±0.041	9.1	0.076±0.012	15.5	0.117±0.018	15.4
7.0	0.410±0.075	18.2	0.278±0.037	13.2	0.055±0.009	15.5	0.092±0.055	60.0
9.0	0.580±0.491	84.6	0.187±0.050	26.5	0.065±0.012	18.5	0.323±0.142	43.9
11.0	0.097±0.013	13.8	0.130±0.020	15.2	0.075±0.061	81.8	0.052±0.009	17.0
13.0	0.087±0.031	36.1	0.089±0.029	32.2	0.032±0.011	36.2	0.039±0.011	27.3
14.0	0.102±0.067	65.5	0.107±0.073	68.1	0.031±0.006	20.3	0.030±0.013	34.8
16.0	0.054±0.011	20.4	0.045±0.010	21.6	0.024±0.003	11.6	0.028±0.008	29.4
19.0	0.047±0.020	43.2	0.033±0.011	34.0	0.029±0.007	24.3	0.019±0.013	68.6

表3 各组织休药期

Table 3 Withdrawal time in each swine tissues

指标 Index	肝脏 Liver	肾脏 Kidney	肌肉 Muscle	皮肤和脂肪 Skin and fat
休药期/d WDT	5.73	3.75	11.57	10.91

从图3可以看出,从停药开始到停药后19 d,受试猪各种组织中替米考星的残留量逐渐降低。10%磷酸替米考星可溶性粉停药后3 d,替米考星在受试

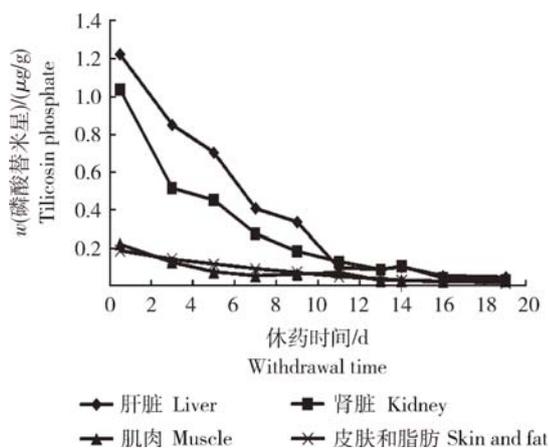


图3 10%磷酸替米考星可溶性粉在猪各种组织中的消除曲线

Fig. 3 Eliminate curve of 10% tilmicosin phosphate in swine tissues

猪肝脏和肾脏中的残留分别为0.852和0.518 $\mu\text{g/g}$,已经低于国家规定^[6]的最高残留限量;而猪肌肉组织中替米考星的残留在停药后第5天为0.076 $\mu\text{g/g}$,低于国家规定的最高残留限量;皮肤和脂肪组织中替米考星的残留为0.052 $\mu\text{g/g}$,在停药后的第11天也低于国家规定的最高残留限量。将试验所测得组织药物浓度-时间数据用WT1.4软件进行处理,如表3所示猪肝脏的休药期(WDT)为5.73 d,肾脏的WDT为3.75 d,肌肉的WDT为11.57 d,皮肤和脂肪的WDT为10.91 d。根据农业部最高残留限量标准^[3],按双单侧95%置信区间计算替米考星在猪的休药期为12 d。

3 讨论

3.1 色谱条件

本试验所采取的色谱条件是在国家标准(农业部1025号公告-10-2008 动物性食品中替米考星残留检测 高效液相色谱法)^[7]的色谱条件基础上,以乙腈-四氢呋喃-磷酸二丁胺缓冲液-超纯水(体积比130:55:25:790)作为流动相。经过反复试验,将其流动相比例修正为乙腈-四氢呋喃-磷酸二丁胺缓冲液(pH2.5)-超纯水(体积比100:50:50:800)^[5,8]。结果显示,替米考星的出峰时间及峰形都达到最佳,响应值高,替米考星与其他组分的分离

良好,色谱峰峰形较佳。在进行磷酸替米考星检测中还发现,选用1 mL流动相比选用1 mL酸稀释液定容呈现出分离度更好的色谱峰,峰形更尖锐。另外,结合相关文献记载的方法^[6,9],净化选用BondElut C18固相萃取柱(500 mg/6 mL),回收率结果和空白添加色谱图均说明该固相萃取柱具有良好的净化和保留效果。

3.2 组织样品前处理方法

猪的各种组织成分复杂,对替米考星的检测效果会造成不同程度的干扰,因此客观上需要对样品进行前处理。根据国家标准及相关文献^[7,10]的前处理方法,将受试猪组织进行匀浆后,用乙腈和磷酸二氢钾缓冲溶液(pH 2.5)分二次进行提取,以确保提取充分,并用水调节其极性^[11-12]。提取液再用固相萃取柱进行净化、氮气吹干、定容和上样^[13-15]。结果证实,组织样品前处理方法进行改良后,该方法分离药物的效果明显提高,能将大部分杂质去除,准确度高,回收率达到要求,具有良好的准确性和重现性。

3.3 残留消除规律及休药期

按照资料所显示的兽药残留标准,替米考星在猪肝脏、肾脏、肌肉、脂肪和皮肤中的最高残留量(MRL)分别为1.0、1.0、0.10和0.10 $\mu\text{g/g}$ ^[6,16]。从本试验结果可以看出,10%磷酸替米考星可溶性粉在猪组织中的残留消除规律以在肝脏和肾脏中的残留浓度最高,肌肉、皮肤和脂肪组织中的残留较低,这与文献中报道的替米考星的残留结果相一致^[16]。投服磷酸替米考星7 d后,肝脏、肾脏中替米考星的残留量在停药后第3天即低于国家最高限量1 000 $\mu\text{g/kg}$,而在肌肉、脂肪和皮肤中的残留量在投药后的5和13 d后低于国家最高残留限量100 $\mu\text{g/kg}$,而且肌肉、脂肪和皮肤组织中替米考星的残留量从停药开始就明显低于肝脏、肾脏组织,其消除曲线也相对平滑。另外,利用休药期计算软件得出肝、肾、肌肉、皮肤和脂肪的休药期(WDT)分别为5.73、3.75、11.57和10.91 d,国家药典规定替米考星的休药期为14 d,因为药物剂型的改变或试验动物个体的差异,理论值与实际值之间难免存在一定的偏差。为此,参考农业部规定的替米考星最高残留限量标准,综合各组织中的药物残留消除情况,并依据临床试验结果,认为治疗猪支原体肺炎时推荐剂量为60~80 mg/L时,以上限80 mg/L剂量作为推荐剂量使用,连续饮用7 d,建议磷酸替米考星在猪的休药期为12 d。

参 考 文 献

- [1] 张辉,李玉欣,谢寿理. 替米考星对猪影响的研究进展[J]. 饲料研究,2010(10):71-73
- [2] Fittipaadi N, Klopfenstein C, Gottschalk M. Assessment of the efficacy of tilmicosin phosphate to eliminate *Actinobacillus Pleuropneumoniae* from carrier pigs[J]. Can J Vet Res, 2005, 69(2):146-150
- [3] 中华人民共和国农业部. 农牧发[2003]1号-1-2003兽药残留试验技术规范(试行)[S]. 北京:中华人民共和国农业部,2003
- [4] 王斌斌,肖文疆,钟新强,等. 替米考星在猪生产中的应用研究[J]. 猪业科学,2010(5):92-94
- [5] 刘德金,刘爱玲,刘桂兰. 检测替米考星含量的高效液相色谱法改良[J]. 南京农业大学学报,2011(3):135-139
- [6] 中华人民共和国农业部. 农业部235号公告-12-2002年动物性食品中兽药最高残留限量[S]. 北京:中华人民共和国农业部,2002
- [7] 中华人民共和国农业部. 农业部1025号公告-10-2008动物性食品中替米考星残留检测:高效液相色谱法[S]. 北京:中华人民共和国农业部,2008
- [8] Wayne C, Geoff C G, Craig D C S. Determination of tylosin and tilmicosin residues in animal tissues by reversed-phase liquid chromatography [J]. Journal of Association of Official Analytical Chemists, 1994, 77(2):331-333
- [9] Modric S, Webb A I, Derendorf H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle[J]. J Vet Pharmacol Ther, 1998(6):444-452
- [10] Jiang, H, Ding S, Li J, et al. Residue depletion of tilmicosin in cattle after subcutaneous administration [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(14):5208-5213
- [11] 李建成,沈建忠,张素霞,等. 替米考星预混剂在肉鸡体内残留消除规律的研究[J]. 中国兽医杂志,2006,11(42):73-74
- [12] 李存,沈建忠,江海洋,等. 猪组织中替米考星残留的高效液相色谱检测方法研究[J]. 畜牧兽医学报,2005,36(10):1075-1078
- [13] Clark C, Dowling P M, Ross S. Pharmacokinetics of tilmicosin in equine tissues and plasma [J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2008, 31(1):66-70
- [14] Chris R, Clark C, Patricia M, et al. Development and validation of a method for determination of tilmicosin residues in equine plasma and tissues using HPLC [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2009, 32:2839-2856
- [15] Carolyn M, Srobb W, Jen P C. Determination of tilmicosin residues in chicken, cattle, swine, and sheep tissues by liquid chromatography[J]. Journal of AOAC International, 2000(4):837-846
- [16] 杜向党,张素梅,吴宁鹏,等. 动物性食品中替米考星残留的检测方法[J]. 动物医学进展,2006,27(8):105-107

责任编辑:苏燕